

また、申請者は、SEC を用いた試験により RNA 多量体を管理する必要性について、以下のように説明した。

RNA 多量体は、[] であり、本原薬と同様に、[] [] [] [] の検討によって、RNA 多量体が [] を有することが示されている。すなわち、[] [] [] が、単量体と二量体で大きく変わらなかったことから、mRNA の多量体の存在は翻訳に影響を及ぼさないと考えられる。したがって、RNA 多量体を [] として管理する必要はなく、原薬の規格及び試験方法に設定している [] [] []) において、RNA 多量体が [] を含めて測定し、[] [] として管理することが適切と考える。

機構は、mRNA 純度及び目的物質由来不純物、5'-Cap 付加体率、ポリ A 鎖付加体率及び [] [] [] [] の規格値について、製造実績を踏まえ、より厳格に設定すること、また、残留 DNA の規格値についても、製造工程における除去能及び製造実績を踏まえて厳格に設定することを検討するよう申請者に求めた。

申請者は以下のように説明した。

現在、世界各国で本剤の製造販売承認申請が行われていること、実生産スケールでの製造実績が限られていることから、現時点で規格値を変更することは困難であるが、今後、製造実績が得られた段階で、最終的な規格値を設定する予定である（2021 年 6 月頃）。

機構は、申請者の説明を了承した。なお、二本鎖 RNA の管理については、別添のとおりである。

2.R.3 生物活性の管理について

機構は、本剤の力価を評価するために、抗原タンパク質の発現誘導活性（生物活性）を定量的に管理する試験を、製剤の規格及び試験方法として設定する必要はないか、申請者に説明を求めた。

申請者は以下のように説明した。

製剤の *in vitro* 翻訳試験において、mRNA (CX-024414) にコードされた目的タンパク質に相当する分子量のバンド及びロット間のバンドパターンの一貫性を確認することにより、翻訳された抗原タンパク質の同一性を管理している。これに加えて、RNA 含量、mRNA 純度及び LNP の生物物理学的特性を管理することにより、治験薬ロットと同等であることを確認できると考えることから、抗原タンパク質の発現を定量的に管理する試験は不要と考える。なお、[] の製法変更前後の同等性を評価する特性解析試験として、細胞を用いたタンパク質発現試験を実施している。

機構は、製剤の規格及び試験方法に設定されている *in vitro* 翻訳試験は定性的な試験であり、本剤の力価を定量的に評価できる試験ではないと考える。また、本剤が生物学的機能を発揮するためには、mRNA と LNP が同時に存在する必要がある旨、LNP の [] がタンパク質発現レベル、免疫原性及び活性を有意に調節する旨、[] のわずかな変化でも mRNA の活性を完全に阻害することが観察されている旨等を申請者が説明していることを踏まえると、製剤の *in vitro* 翻訳、RNA 含量、mRNA 純度、LNP の試験等によって、本剤の力価としての生物活性を管理することは困難と考える。機構は、LNP の作用（細胞への効率的な取り込み等）を含めた生物活性の評価が可能な試験を設定することが重要と考えることから、[] の特性解析試験として実施している細胞を用いたタンパク質発現試験等、力価試験として適切な試験を、製剤の規格及び試験方法に設定することを検討するよう求めた。

申請者は以下のように説明した。

で実施している細胞を用いたタンパク質発現試験は、細胞に を添加して培養し、細胞に取り込まれた mRNA (CX-024414) により に発現した抗原タンパク質を、により定量する試験であり、一定の分析能 (真度、精度、直線性及び特異性) を有することが確認されている。本試験を、製剤の工程管理試験として設定し、生物活性を定量的に管理する。今後、製剤ロットのデータを収集し、試験方法の分析能の評価を継続して行うとともに、製造実績が得られた段階で、管理値の適切性を再検討する。また、本試験を用いて製剤の有効期間内の安定性を評価すること、今後、製剤の有効期間を延長する場合は、本試験の結果も含めて安定性を説明できるようにすること並びに製剤の規格及び試験方法として設定することについても、引き続き検討する。

機構は、申請者の説明を了承した。

2.R.4 製剤の不純物等の管理について

申請者は、製剤の純度試験 [mRNA 純度及び目的物質由来不純物 (RP-HPLC)] の規格値の妥当性について、以下のように説明した。

製剤の mRNA 純度の規格値は、海外第Ⅲ相臨床試験における接種時点の mRNA 純度 () で、有効性が示されたこと等に基づき設定した。mRNA 純度の低下は、有効性に影響を及ぼす可能性はあるが、mRNA の分解生成物は天然のヌクレオチドで構成されるものであり、内因性 RNA と同じ代謝経路で分解されるため、不純物量の増加や不純物の種類の変動が、製剤の安全性プロファイルに影響を及ぼすことはないと考ええる。なお、海外市販用製剤 ロットについて、出荷時の mRNA 純度はロット間で一貫しており、平均値及び標準偏差はそれぞれ %及び %であった。また、個々の不純物の量及び種類にも変動は認められなかった。

機構は、現在までの製造実績に加えて、長期保存試験 (保存期間 6 カ月) において mRNA 純度に経時的な変化が認められていないこと等から、mRNA 純度及び目的物質由来不純物 (RP-HPLC) の規格値を厳格に設定することを検討するよう申請者に求めた。

申請者は、欧州では、保存時等における mRNA 純度の損失を考慮し、出荷時規格をより厳格に設定しているが、本邦においても出荷時点の mRNA 純度の管理をするとともに、今後、実生産スケールでの製造実績等を踏まえて、mRNA 純度及び個々の不純物の規格値を見直すとして説明した (2021 年 6 月予定)。

また、機構は、RNA 封入率及び個々の脂質不純物の規格値についても、製造実績を踏まえ、より厳格に設定することを検討するよう申請者に求め、申請者は、今後検討すると述べた。

機構は、mRNA 純度の規格下限値は、現在までの製造実績と比べて低く、下限値をより高い値に設定する余地があると考えるが、海外市販用製剤のロット分析結果等からロット間の一貫性が認められていること、出荷時点の管理がされたこと等を考慮し、現在の COVID-19 流行状況及び本剤の社会的必要性から、規格値等の再検討が事後的になることはやむを得ないと判断した。

2.R.5 新添加剤について

製剤には、添加剤として、使用前例がない SM-102 及び PEG2000-DMG、「特定の製剤や特定の条件下においてのみ使用が認められた添加物の取扱いについて」(平成 21 年 6 月 23 日付け事務連絡)におい

2.R.5.2 安全性について

申請者は、SM-102、PEG2000-DMG、コレステロール及びトリモタモール塩酸塩の単回投与毒性、反復投与毒性、遺伝毒性及び生殖発生毒性について、提出された毒性試験成績（CTD 4.2.3.2-1~6、4.2.3.3.1-1~4、4.2.3.3.2-1、4.2.3.5.3-1、4.2.3.7.7）等から、安全性に懸念がないと説明している。

機構は、以下のように考える。

本新添加剤については、いずれも本剤の製剤特性を担保するために必要と考えられる。また、本添加剤を含む他の mRNA-LNP 製剤を用いたラットにおける反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1~4、4.2.3.2-6）では、肝細胞の単細胞壊死及び空胞化並びに精嚢上皮の単細胞壊死が認められているが、いずれも毒性学的意義は低いと考えられる（5.R.1 参照）ため、これらの添加剤を本剤に使用することは受け入れ可能と考える。しかしながら、SM-102 及び PEG2000-DMG は使用前例がない添加剤であり、他の mRNA-LNP 製剤を用いたラットにおける反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1~6）では長期の安全性が評価されていないことから、これらの添加剤は、本剤の用法・用量に限った使用とすべきであり、使用前例として取り扱わないことが適切と判断した。



3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略

本剤の非臨床薬理試験として、効力を裏付ける試験成績が提出された。なお、本剤又は本薬の用量は mRNA 量として示す。

3.1 効力を裏付ける試験

提出された試験の概略（評価資料）は表 5 のとおりである。

表 5 効力を裏付ける試験の概略（評価資料）

細胞又は動物 雌雄	例数	添加量又は用法・用量 投与経路：いずれも筋肉内投与	主な評価項目 (結果概要の項番号)	添付資料 CTD
HEK293T 細胞	—	・本薬 0.003125、0.00625、0.0125、0.025、0.05、0.1、0.2 µg	<i>in vitro</i> 抗原発現 ^{a)} (3.1.1.1)	4.2.1.1.9 MOD-
BALB/c マウス 雌	本剤群：各群 6 PBS 群：4	・本剤 2、10 µg ・PBS 単回	<i>in vivo</i> 抗原発現 ^{b)} (3.1.1.2)	4112.1273
BALB/c マウス 若齢 雌	本剤 10 µg 群、 SARS-CoV-2 S タ ンパク質+アジュ バント群：各群 8 本剤 1 µg 群：7 PBS 群：3	・本剤 1、10 µg ・SARS-CoV-2 S タンパク質 10 µg+アジュバント ^{c)} ・PBS 2 回 (14 日間隔)	抗体産生 ^{d)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ^{e)} (3.1.2.2)	4.2.1.1.2 MOD3937
BALB/c マウス 若齢 雌	<MOD-3938> 本剤 0.08 µg 群、PBS 群：各群 4 他の本剤群：各群 8 <MOD-3940> 本剤群：各群 8 PBS 群：8	・本剤 0.0025、0.005、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32、0.63、1.25、2.5、5、10、20 µg ・PBS 2 回 (21 日間隔)	抗体産生 ^{f)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ^{g)} (3.1.2.2)	4.2.1.1.3 MOD3938 / MOD3940
BALB/c マウス 若齢 雌	各群 30	・本剤 0.1、1 µg ・二重不活化 SARS-CoV 0.2、1 µg+アジュバント ^{c)} ・SARS-CoV-2 変性 S タンパク質 0.2、1 µg+アジュバント ^{c)} ・PBS 2 回 (21 日間隔)	抗体産生 ^{h)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ⁱ⁾ (3.1.2.2) 感染防御/発症予防 (3.1.3)	4.2.1.1.4 VRC05
BALB/c マウス 老齢 (約 1 年齢) 雌	各群 10	・本剤 0.1、1 µg ・二重不活化 SARS-CoV 0.1 µg+アジュバント ^{c)} ・PBS 2 回 (21 日間隔)	抗体産生 ^{j)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ^{k)} (3.1.2.2) 感染防御/発症予防 (3.1.3)	4.2.1.1.5 VRC02
シリアンハムスタ ー 雌	各群 15	・本剤 1、5、25 µg、2 回 (21 日間隔) ・本剤 25 µg 又は PBS、単回	抗体産生 ^{l)} (3.1.2.1) 感染防御/発症予防 (3.1.3)	4.2.1.1.6 UTMB01
アカゲザル 雌雄	各群 8	・本剤 10、100 µg ・PBS 2 回 (4 週間隔)	抗体産生 ^{m)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ⁿ⁾ (3.1.2.2) 感染防御/発症予防 (3.1.3)	4.2.1.1.7 VRC04
アカゲザル 雌雄	各群 6	・本剤 2.5、30 µg ・PBS ・ノンコーディング mRNA 100 µg 2 回 (4 週間隔) ・本剤 100 µg、単回	抗体産生 ^{o)} (3.1.2.1) T 細胞応答 ^{p)} (3.1.2.2) 感染防御/発症予防 (3.1.3)	4.2.1.1.8 VRC07

a) 試料採取日：24、48 及び 72 時間後

b) 試料採取日：24、48 及び 72 時間後

c) 水酸化アルミニウム

d) 試料採取日：2 回目投与 13 日後

e) 試料採取日：2 回目投与 18 日後

f) 試料採取日：2 回目投与前日及び 14 日後

g) 試料採取日：2 回目投与 14 日後

h) 試料採取日：2 回目投与 14 日後及び 17 日後

i) 試料採取日：1 回目投与 14 日後及び 2 回目投与 14 日後

j) 試料採取日：ウイルス曝露 2 日及び 4 日後

k) 試料採取日：2 回目投与前日及び 20 日後

l) 試料採取日：1 回目投与 1 週前、投与日、投与 2 週、4 週、6 週、8 週後、ウイルス曝露日、7 日及び 14 日後

m) 試料採取日：1 回目投与 8 週後、ウイルス曝露 2 日及び 4 日後

n) 試料採取日：1 回目投与 1 週前、投与日、投与 2 週、4 週、6 週、7 週後、ウイルス曝露 2 日、4 日及び 7 日後

o) 試料採取日：1 回目投与 6 週後

3.1.1 抗原発現 (CTD 4.2.1.1.9)

3.1.1.1 *in vitro*

SARS-CoV-2 S タンパク質¹⁶⁾ をコードした mRNA を、トランスフェクション試薬を用いて HEK293T 細胞内に導入し、S タンパク質抗原の発現がフローサイトメトリーで評価された。その結果、細胞表面に抗原が発現し、抗原の発現は 72 時間後まで確認された。

3.1.1.2 *in vivo*

BALB/c マウスに本剤を単回投与し、S タンパク質抗原の発現がフローサイトメトリーで評価された。その結果、脾臓とリンパ節から分離した形質細胞様樹状細胞及び従来型樹状細胞において、抗原の発現が確認された。抗原の発現量は、形質細胞様樹状細胞と従来型樹状細胞とで違いはなかった。

3.1.2 免疫原性

3.1.2.1 抗体産生 (CTD 4.2.1.1.2～8)

本剤投与後の血清中の S タンパク質特異的抗体価及び中和抗体価又は ACE2 受容体に対する結合阻害作用が検討された。各抗原特異的抗体 (ELISA 法) 及び中和抗体 (シュードウイルス¹⁷⁾ 若しくは SARS-CoV-2 を用いるルシフェラーゼレポーターアッセイ又は SARS-CoV-2 を用いるプラーク減少法)、又は ACE2 受容体との結合阻害作用 (電気発光法) を検討した結果は以下のとおりである。

マウスを用いた各試験において、本剤投与後の各測定時点で、S タンパク質特異的抗体及び中和抗体 (シュードウイルスを用いたルシフェラーゼレポーターアッセイ) の誘導が確認された。また、S タンパク質特異的抗体、S1 タンパク質特異的抗体、RBD 特異的抗体又は NTD 特異的抗体並びに中和抗体の用量依存的な誘導が確認された (CTD 4.2.1.1.3)。

ハムスターを用いた試験において、本剤投与後の各測定時点で、S タンパク質/RBD 特異的抗体及び中和抗体 (SARS-CoV-2 を用いるプラーク減少法) が確認され、各抗体価はいずれの用量でも 1 回目投与後よりも 2 回目投与後で高値であった。2 回目投与群の中和抗体価はいずれの用量でも、回復者血清¹⁸⁾ の中和抗体価よりも高値であったが、本剤 25 µg 単回投与群では低値であった。

サルを用いた各試験において、本剤投与後の各測定時点で、本剤投与による S タンパク質特異的抗体、RBD 特異的抗体又は S1 タンパク質の NTD 特異的抗体価、ACE2 特異的抗体価及び中和抗体 (シュードウイルス又は SARS-CoV-2 を用いたルシフェラーゼレポーターアッセイによる) の誘導が確認された。S タンパク質特異的抗体、中和抗体価及び ACE2 結合阻害能は、いずれも本剤 30 µg 2 回目投与群、本剤 100 µg 単回投与群、本剤 2.5µg 2 回目投与群の順に高く、本剤 30 µg 2 回目投与群で回復者血清¹⁹⁾ よりも高値であった (CTD 4.2.1.1.8)。

¹⁶⁾ S タンパク質を融合前の立体構造に安定化させるため、heptad repeat 1 ドメイン内に 2 つのプロリン置換を有するように修飾した完全長の SARS-CoV-2 S タンパク質

¹⁷⁾ SARS-CoV-2 (Whuhan-1 株) 由来 S タンパク質遺伝子及びルシフェラーゼレポーター遺伝子を挿入したレンチウイルス

¹⁸⁾ COVID-19 罹患歴があり、検査による SARS-CoV-2 感染の確認後 1～2 カ月経過した 18～55 歳のドナー 6 例から採取された血清検体

¹⁹⁾ COVID-19 罹患歴があり、検査による SARS-CoV-2 感染の確認後 1～2 カ月経過した 18～84 歳のドナー 42 例から採取された血清検体