

4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略

本剤又は本薬を用いた非臨床薬物動態試験は実施されていない。

サイトメガロウイルスの6種類の糖タンパク質（gB、gH、gL、UL128、UL130及びUL131A）をそれぞれコードするmRNA（各mRNAの目標質量比1:1:1:1:1:1）を、本剤のLNPと同じ組成のLNPに封入したmRNA-1647を用いた生体内分布試験の成績が提出された。

ラットの血漿及び組織中のmRNAの濃度は分岐DNAを用いたハイブリダイゼーション法（定量下限：gB及びUL130をコードするmRNAでは0.05 ng/mL、gH、gL、UL128及びUL131AをコードするmRNAでは0.01 ng/mL）により測定された。

なお、特に記載のない限り、PKパラメータは平均値で示している。

4.1 分布

4.1.1 ラットの生体内分布（CTD 4.2.2.3.1）

ラット（雄5例/時点）にmRNA-1647が6種類のmRNAの総RNA量として100 µg単回筋肉内投与（大腿側部）され、投与前及び投与2～120時間後までの計7時点において血漿中及び各組織中（筋肉（投与部位）、膝窩リンパ節、腋窩リンパ節、脳、眼、骨髄、心臓、肺、腎臓、肝臓、脾臓、精巣、胃及び空腸）のmRNA濃度が測定された。

血漿では、mRNA-1647を構成する6種類のmRNAはいずれも投与2時間後に最高値を示し、gB、gL、UL128、UL130及びUL131AをコードするmRNAは投与48時間後に検出限界以下、gHをコードするmRNAは投与120時間後に検出限界値又は検出限界以下となった。

組織中のmRNAは、腎臓以外のすべての検討組織で検出された。mRNA濃度は筋肉（投与部位）、膝窩リンパ節、腋窩リンパ節、脾臓の順に高く、これらの組織では120時間後でも検出可能であり、血漿中AUC_{0-t}に対する組織中AUC_{0-t}の比はそれぞれ939、201、62.8及び13.4、消失半減期（6種類のmRNAの消失半減期の平均値）はそれぞれ14.9時間、34.8時間、31.1時間及び63.0時間であった。その他の組織では24～72時間後には検出下限未満となった。

4.R 機構における審査の概略

提出された資料及び以下の検討より、機構は、本剤に関する非臨床薬物動態に、特段の問題はないと判断した。

4.R.1 本剤の非臨床薬物動態について

申請者は、本剤の非臨床薬物動態について、以下のように説明した。

本申請時に提出した非臨床薬物動態試験の被験物質であるmRNA-1647は、本剤に含まれるLNPと同じ製造方法及び組成のLNPにmRNAを封入した製剤である。通常、mRNAは生体内に投与されると、生体内の核酸と同様に速やかに代謝されるが、LNPに封入することでmRNAが代謝されることなく細胞内に取り込まれ、細胞質内でタンパク質を発現することが可能となる。そのため、LNPに封入したmRNA製剤の体内動態は、封入されているmRNAによる影響を受けることなく、主にLNPの組成や大きさに依存すると考えられ（Mol Ther Nucleic Acids 2019; 15: 1-11、Nanomedicine (Lond) 2016; 11: 673-92）、それらが本剤と同等であるmRNA-1647の生体内分布試験の結果は、本剤に外挿可能であると考えた。

mRNA-1647をラットに筋肉内投与したときの生体内分布を評価した試験の結果（4.1 参照）、mRNAは主に投与部位及びリンパ節に分布し、他の筋肉内接種ワクチンと同様にリンパ系を介して分布すること

が示唆された。また、その他の組織への mRNA の分布も認められたが、投与部位、リンパ節及び脾臓以外の組織ではいずれの mRNA も投与 24～72 時間後までに定量下限未満となった。

前述のとおり、mRNA-1647 の生体内分布試験の結果は本剤に外挿可能であると考えられることから、本剤の生体内分布は mRNA-1647 と同様と推察される。

機構は、申請者の説明を了承し、提出された非臨床薬物動態試験成績から、本剤の薬物動態特性について一定の把握は可能と判断した。

5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略

本剤の毒性を評価する試験として、本剤を用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の他、本剤とは異なるウイルスタンパク質をコードした mRNA を、本剤の LNP と同じ組成の LNP に封入した製剤（以下、「他の mRNA-LNP 製剤」）を用いた反復投与毒性試験等の成績が提出された。

5.1 単回投与毒性試験

本剤を用いた単回投与毒性試験は実施されていないが、本剤の単回投与時の毒性（急性毒性）は、ラットにおける反復筋肉内投与毒性試験（GLP 非適用）（CTD 4.2.3.7.7）の初回投与後の結果から評価され、本剤投与による死亡はなく、本剤投与部位における浮腫、消瘦等が認められている。

5.2 反復投与毒性試験

5.2.1 本剤を用いた試験

本剤を用いたラットにおける反復筋肉内投与毒性試験（GLP 適用）は 2021 年 4 月 26 日時点で実施中である。当該試験前に、本剤を用いて、ラットにおける反復筋肉内投与免疫原性及び毒性試験（GLP 非適用）が実施された（表 7）。主な所見は、投与部位における炎症性変化であった。

表 7 本剤を用いた反復投与毒性試験

試験系	投与経路	投与期間	用量 ($\mu\text{g RNA/body}$)	主な所見	無毒性量 ($\mu\text{g RNA/body}$)	添付資料 CTD
雌雄 ラット (SD)	筋肉 内	22 日間 (2 回 ^{a)}) + 休薬 13 日間	0 ^{b)} 、30、60、100	病理組織学的検査：実施なし ≥ 30 ^{c)} ：投与部位の浮腫、好中球及び好酸球の増加 回復性：あり		参考 4.2.3.7.7

a) 試験 1 及び 22 日に、200 $\mu\text{L/site}$ で大腿部に投与

b) 20 mM トリス、87 mg/mL スクロース及び 10.7 mM 酢酸ナトリウム含有水溶液 (pH 7.5)

c) 試験 35 日に S タンパク質に対する特異的抗体産生が確認されている

5.2.2 他の mRNA-LNP 製剤を用いた試験

他の mRNA-LNP 製剤を用いて、ラットにおける反復筋肉内投与毒性試験（GLP 適用）が実施された（表 8）。主な所見は、投与部位における炎症性変化であった。

表 8 他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復投与毒性試験

被験物質	試験系	投与経路	投与期間	用量 ($\mu\text{g RNA/body}$)	主な所見	無毒性量 ($\mu\text{g RNA/body}$)	添付資料 CTD
mRNA-1706 ^{a)}	雌雄 ラット (SD)	筋肉 内	4 週間（3 回 ^{d)} ） + 休薬 2 週間	13 ^{f)} 、65、129、又は PBS	$\geq 13^{\text{j)}$ ：投与部位の腫脹及び炎症、白血球、好中球及び好酸球の増加、フィブリノゲンの増加、肝細胞の空胞化 129：IP-10 及び MCP-1 の増加 ^{k)} 回復性：あり	129	4.2.3.2-1
				10 ^{f)} 、50、100、又は PBS	$\geq 10^{\text{j)}$ ：体重増加量の減少、投与部位の腫脹及び炎症、白血球、好中球、単球、好酸球及び大型非染色細胞の増加、APTT の延長、フィブリノゲンの増加、クッパー細胞の肥大 ≥ 50 ：副腎皮質の肥大 100：IP-10、MIP-1 α 及び MCP-1 の増加 ^{k)} 、肝臓の小葉中心性壊死/変性 回復性：あり	100	4.2.3.2-2
mRNA-1653 ^{b)}				10 ^{g)} 、50、150、又は PBS	$\geq 10^{\text{j),d)}$ ：投与部位の腫脹及び炎症、白血球、好中球、好酸球及び大型非染色細胞の増加、フィブリノゲンの増加 ≥ 50 ：体重増加量の減少、APTT の延長 150：IP-10、MIP-1 α 及び MCP-1 の増加 ^{k)} 、肝細胞の空胞化 回復性：あり	150	4.2.3.2-3
mRNA-1893 ^{a)}			6 週間（4 回 ^{e)} ） + 休薬 2 週間	10 ^{h)} 、30、96、又は PBS	$\geq 10^{\text{j),d)}$ ：投与部位の腫脹及び炎症、好中球及び好酸球の増加、フィブリノゲンの増加、APPT の延長、クッパー細胞の肥大 ≥ 30 ：単球及び白血球の増加、 α_1 -酸性糖タンパク質、 α_2 -マクログロブリン、IL-1 β 及び IP-10 の増加 ^{k)} 、肝細胞の空胞化 96：精囊上皮の単細胞壊死	96	4.2.3.2-4
mRNA-1647 ^{c)}				8.9 ⁱ⁾ 、27、89、又は PBS	$\geq 8.9^{\text{j),m)}$ ：体重増加量の減少、投与部位の腫脹、炎症及び浮腫、好中球、好酸球及び大型非染色細胞の増加、 α_1 -酸性糖タンパク質及びフィブリノゲンの増加、APPT の延長 ≥ 27 ： α_2 -マクログロブリンの増加 89：血小板の減少、IP-10 及び MCP-1 の増加 ^{k)}	89	4.2.3.2-5
mRNA-1443 ^{c)}				9.6 ⁱ⁾ 、29、96、又は PBS	$\geq 9.6^{\text{j),m)}$ ：投与部位の炎症、好酸球の増加、フィブリノゲンの増加、肝細胞の空胞化 ≥ 29 ：投与部位の腫脹、好中球の増加、 α_1 -酸性糖タンパク質及び α_2 -マクログロブリンの増加、APPT の延長 96：白血球の増加、血小板の減少、IP-10 の増加 ^{k)}	96	4.2.3.2-6

a) ジカウイルスワクチン

b) ヒトメタニューモウイルス及びパラインフルエンザウイルス 3 型ワクチン

c) サイトメガロウイルスワクチン

d) 試験 1、15 及び 29 日に、200 $\mu\text{L/site}$ で大腿部に投与

e) 試験 1、15、29 及び 43 日に、200 $\mu\text{L/site}$ で大腿部に投与

f) 20 mM トリス緩衝液及び 8%スクロース（pH 7.4）

g) 93 mM トリス、7%プロピレングリコール及び 1 mM DTPA 含有水溶液（pH 7.4）

h) 100 mM トリス、7%プロピレングリコール及び 1 mM DTPA 含有水溶液（pH 7.5）

i) 93 mM トリス、7%プロピレングリコール及び 60 mM 塩化ナトリウム含有水溶液

j) 試験 30 及び 43 日に mRNA がコードするタンパク質特異的抗体産生が確認されている

k) PBS 群及び高用量群のみ測定

l) 投与部近傍の坐骨神経周辺に炎症が認められた。本所見は、投与液量がラット大腿四頭筋あたり過剰量であったために生じた炎症性変化であり、ラットを用いた本試験に特有のものと判断されている。

m) 試験 43 及び 57 日に mRNA がコードするタンパク質特異的抗体産生が確認されている