

5.3 遺伝毒性試験

本剤を用いた遺伝毒性試験は実施されていないが、他の mRNA-LNP 製剤を用いた *in vivo* 遺伝毒性試験、及び新添加剤（SM-102 及び PEG2000-DMG）を用いた *in vitro* 試験の結果（表 9）を踏まえて、本剤の遺伝毒性が評価された。mRNA-1706 を用いた *in vivo* 小核試験では、雄動物のみで、明確な用量反応性のない軽度な小核の増加が認められた。当該所見は、高用量の静脈内投与で認められたものであり、臨床での用量・用法を踏まえると、極めて高い曝露量下での結果と考えられることから、毒性学的意義は低いと申請者は説明している。さらに、本剤に含まれる mRNA は天然型の核酸から構成されること、新添加剤（SM-102 及び PEG2000-DMG）の *in vitro* 試験における陰性結果も踏まえて、本剤の遺伝毒性のヒトでのリスクは低いと申請者は判断している。

表 9 遺伝毒性試験

被験物質	試験の種類		試験系	S9 (処置)	<i>in vivo</i> : 用量 (mg/kg) <i>in vitro</i> : 濃度 (µg/mL)	試験 成績	添付資料 CTD
mRNA-1706 ^{a)}	<i>in vivo</i>	小核試験	雌雄ラット (SD) 骨髓		単回静脈内投与 雄 : 0 ^{b)} 、1.3 ^{c)} 、2.6、5.2 ^{d)} 雌 : 0 ^{b)} 、0.6、1.3、2.6 ^{e)}	陽性	4.2.3.3.2-1
SM-102	<i>in vitro</i>	細菌を用いる 遺伝子突然変異試験	ネズミチフス菌 : TA98、TA100 TA1535、TA1537 大腸菌 : WP2uvrA	+	0、1.58、5、15.8、50、158、500 ^{f)} 、1581 ^{f)} 、5000 ^{f)}	陰性	4.2.3.3.1-1
				— (3 日間)	0、1.58、5、15.8、50、158、500、1581 ^{f)} 、5000 ^{f)}		
		ほ乳類細胞を用いる 試験	ヒト末梢血リンパ球	+	0、163、286、500	陰性	4.2.3.3.1-2
				— (4 又は 24 時間)	0、163、286、500 ^{f)}		
PEG2000-DMG	<i>in vitro</i>	細菌を用いる 遺伝子突然変異試験	ネズミチフス菌 : TA98、TA100 TA1535、TA1537 大腸菌 : WP2uvrA	+	0、50、158、500、1581、5000 ^{f)}	陰性	4.2.3.3.1-3
				— (3 日間)	0、50、158、500、1581、5000		
		ほ乳類細胞を用いる 試験	ヒト末梢血リンパ球	+	0、163、286、500	陰性	4.2.3.3.1-4
				— (4 又は 24 時間)	0、53.3、93.3、163 ^{d)} 、286 ^{g)} 、500 ^{g)}		

a) ジカウイルスワクチン

b) PBS

c) 投与 24 時間後 : $p \leq 0.001$

d) 投与 24 時間後 : $p \leq 0.01$ 、投与 48 時間後 : $p \leq 0.001$

e) 投与 48 時間後、統計学的に有意な小核の増加 ($p \leq 0.05$) がみられたが、背景データの範囲内であった

f) 被験物質の析出あり

g) 24 時間処理後に S9 非存在下で細胞毒性あり

5.4 がん原性試験

本剤は臨床での使用が 6 カ月以上継続される医薬品ではないことから、本剤を用いたがん原性試験は実施されていない。

5.5 生殖発生毒性試験

本剤を用いて、マウスにおける生殖発生毒性試験が実施された（表 10）。本剤投与による親動物及び次世代への安全性上の懸念は低いと判断されている。

表 10 生殖発生毒性試験

試験の種類	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
受胎能及び着床までの初期胚発生、胚・胎児発生、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能試験	雌 ラット (SD)	筋肉内	交配前 28 日 ～妊娠 13 日 (4 回 ^{a)})	0 ^{b)} 、100	母動物 100 ^{c)} ：なし 胚・胎児 100 ^{c)} ：波状肋骨 ^{d)} F1 出生児 100 ^{c)} ：なし	母動物（一般毒性、生殖能）：100 胚・胎児：100 F1 出生児：100	4.2.3.5.3-1

a) 交配前 28 日及び 14 日、妊娠 1 及び 13 日に、200 $\mu\text{L/site}$ で大腿部に投与

b) 20 mM トリス、8.7%スクロース、17.5mM 酢酸ナトリウム含有水溶液 (pH 7.5)

c) 試験 15 日（交配前 14 日）、妊娠 1、13 及び 21 日（帝王切開時）並びに分娩後 21 日における母動物において S タンパク質特異的抗体産生が確認され、妊娠 21 日（帝王切開時）の胎児、及び分娩後 21 日の F1 出生児において母動物からの S タンパク質特異的抗体移行が認められている

d) 本剤投与群の F1 出生児において波状肋骨の発生頻度増加が認められたが、当該所見は、母動物の一時的な状態悪化に起因する二次的な影響であり、毒性学的意義は低いと判断されている

5.6 局所刺激性試験

本剤の局所刺激性は、他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2.1～6）の結果から評価され、投与部位に回復性のある炎症性変化が認められている。

5.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、現時点において本剤の毒性に特段の懸念はないと判断した。

5.R.1 反復投与毒性について

機構は、本剤の反復投与毒性を、他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1～6）の試験成績（5.2.2、表 8 参照）で評価可能と考える理由を説明するよう申請者に求め、申請者は以下のように説明した。

他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1～6）の試験成績で本剤の反復投与毒性が評価可能と考える理由は以下のとおりである。

- ① 本剤と、他の mRNA-LNP 製剤の製造原理、製造工程、製造管理及び品質管理等は同様であること。
- ② LNP に封入した mRNA の生体内分布は LNP の組成に影響されると考えられ（4.R.1 参照）、本剤及び他の mRNA-LNP 製剤に含まれる mRNA は、いずれも分布した器官・組織において抗原タンパク質として翻訳され、同様の免疫応答を惹起すると考えられること。
- ③ 反復筋肉内投与毒性試験で使用された被験物質の品質試験成績から、mRNA の塩基配列以外、本剤と他の mRNA-LNP 製剤は同等と考えられること。

なお、実施中の本剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（GLP 適用）では、2021 年 4 月 26 日時点で安全性上の懸念は認められないが、試験終了後、速やかに試験結果を機構に報告する。

機構は、他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1~4、4.2.3.2-6）において、肝臓及び精嚢への影響が認められることから、本剤接種によるヒトでの安全性を説明するよう申請者に求め、申請者は以下のように、いずれの所見もヒトでのリスクを示唆するものではないと考えたと説明した。

① 肝臓への影響について

mRNA-1706 を用いた試験（CTD 4.2.3.2-2）において、肝細胞の単細胞壊死（軽微～軽度）が少数例に認められた。当該所見は、被験物質投与に伴い類洞内に蓄積した炎症細胞に隣接して認められたことから、炎症細胞の蓄積による微小環境の変化によって惹起されたと考えられる。また、mRNA-1706、mRNA-1653、mRNA-1893 及び mRNA-1443 を用いた各試験（CTD 4.2.3.2-1、4.2.3.2-3~4、4.2.3.2-6）では、肝細胞空胞化の発現頻度増加が認められた。いずれの所見も回復性が認められ、血液生化学的検査において肝臓に関連したパラメータの変化も認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考える。また、本剤接種によるヒトでの安全性について、海外第Ⅲ相試験（mRNA-1273-P301 試験、7.4 参照）では、肝胆道系の有害事象の発現頻度は低値（0.1%以下）であり、本剤群とプラセボ群で明らかな差は認められなかった。

② 精嚢への影響について

mRNA-1893 を用いた試験（CTD 4.2.3.2-4）において、精嚢上皮の単細胞壊死（軽微～軽度）が高用量群に認められた。当該所見には回復性が認められ、精嚢以外の生殖器官（精巣、前立腺、精巣上体）の重量及び病理組織学検査結果にも被験物質投与による影響は認められなかった。これらの結果から、当該所見は、被験物質投与によるストレスに起因するものと考えられ（Toxicol Pathol 2013; 41: 560-614）、毒性学的意義は低いと考える。

機構は、申請者の説明を了承し、本剤の反復筋肉内投与毒性試験（GLP 適用）の結果を確認することは必要であるが、現時点では、本剤の反復投与毒性を、他の mRNA-LNP 製剤を用いた反復筋肉内投与毒性試験（CTD 4.2.3.2-1~6）の試験成績で評価することは受入れ可能であり、本剤の反復投与毒性に特段の懸念はないと考える。

6. 生物薬剤学試験及び関連する分析法、臨床薬理試験に関する資料並びに機構における審査の概略

6.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

被験者のベースライン時のウイルス感染の評価において、血清中のウイルス遺伝子が RT-PCR 法により、血清中の抗ヌクレオタンパク質抗体が電気化学発光法を用いたイムノアッセイによりそれぞれ測定された。免疫原性の評価において、被験者の血清中の SARS-CoV-2 S タンパク質特異的抗体が ELISA 法、中和抗体が SARS-CoV-2 臨床分離株（USA-WA1/2020 株）を用いたマイクロ中和法（*in situ* ELISA）（TAK-919-1501 試験、mRNA-1273-P201 試験及び mRNA-1273-P301 試験）及びシュードウイルスを用いたルシフェラーゼアッセイ（20-0003 試験（101 試験））により測定された。また、細胞性免疫の評価において、20-0003 試験の被験者の血液より末梢血単核球が分離され、CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞応答が細胞内サイトカイン染色法により測定された。

6.2 臨床薬理試験

本申請において、臨床薬理試験は実施されていない。