

3.1.2.2 T細胞応答（CTD 4.2.1.1.2～5、4.2.1.1.7～8）

本剤投与後のマウスの脾臓細胞又はサル末梢血単核球を、S1及びS2ペプチドプールにより刺激した後、サイトカイン応答（マウス：マルチプレックス法、マウス及びサル：フローサイトメトリー／細胞内免疫染色法）を検討した結果は以下のとおりである。

本剤投与後のマウス脾臓細胞において、CD4陽性T細胞応答及びCD8陽性T細胞応答が認められ、Th1関連サイトカイン（IFN- γ 、TNF- α 及びIL-2）がTh2関連サイトカイン（IL-4、IL-5及びIL-13）よりも高値であった。

本剤投与後のサル末梢血単核球において、CD4陽性T細胞応答及び低いCD8陽性T細胞応答が認められ、Th1関連サイトカイン（IFN- γ 、TNF- α 及びIL-2）が認められ、Th2関連サイトカイン（IL-4、IL-5及びIL-13）は低値又は検出限界以下であった。また、Sタンパク質刺激により、CD40L発現CD4陽性T細胞並びにIL-21産生CD4陽性T細胞の誘導が認められた。

3.1.3 攻撃試験による感染防御／発症予防効果の検討（CTD 4.2.1.1.4～8）

本剤投与後のマウス、ハムスター及びサルにおける、SARS-CoV-2曝露後の感染防御／発症予防効果の検討結果は表6のとおりである。これらの結果から、本剤のSARS-CoV-2に対する感染防御／発症予防効果が確認されたと申請者は説明している。

表6 攻撃試験の結果の概要^{a)}

動物 (例数/群)	本剤の用法・用量、 ウイルス曝露方法	主な結果の概要	添付資料 CTD
BALB/cJ マウス 若齢 (雌 20)	本剤 0.1 又は 1 μ g を 21 日間 隔で 2 回筋肉内投与 本剤 2 回目投与 4 週後にマウ ス馴化 SARS-CoV-2 ^{b)} (1 \times 10 ⁴ PFU/body) を鼻腔内接種	ウイルス RNA (肺及び鼻甲介) : 0.1 μ g 群では、ウイルス曝露 2 日及び 4 日後の肺及び鼻腔内のいずれでもウイルスが検出されたが、4 日後でより低値であった。1 μ g 群では、ウイルス曝露 2 日後の鼻腔内に低値で検出されたが、それ以外のいずれの測定時点及び検体でも検出限界以下であった。 肺出血 (ウイルス曝露 7 日後) : 陰性対照群では、1 匹を除き肺出血の所見がみられたが、0.1 μ g 群及び 1 μ g 群 (1 匹を除く) では、肺出血の所見はみられなかった。 肺組織学的検査 (剖検日: ウイルス曝露 4 日後) : 陰性対照群では、中等度～重度の炎症所見、ウイルス抗原陽性細胞がびまん性に認められた。 0.1 μ g 群では、軽度～中等度、1 μ g 群は軽微～軽度の炎症所見が認められたが、好酸球優位の炎症反応は認められず、ウイルス抗原陽性細胞の減少又は消失が認められた。	4.2.1.1.4 VRC05
BALB/c マウス 老齢 (雌 10)	本剤 0.1 又は 1 μ g を 21 日間隔 で 2 回筋肉内投与 本剤 2 回目投与 4 週後にマウ ス馴化 SARS-CoV-2 ^{b)} (1 \times 10 ³ PFU/body) を鼻腔内接種	ウイルス RNA (肺及び鼻甲介) : 0.1 μ g 群では、ウイルス曝露 2 日及び 4 日後の肺及び鼻腔内のいずれでもウイルスが検出されたが、肺では 4 日後でより低値であった。1 μ g 群は、2 日後には数例でウイルスが検出されたが、肺に低値で検出された 1 例を除き 4 日後には検出限界以下となった。 肺出血 (ウイルス曝露 4 日後) : 陰性対照群、0.1 μ g 群 (1 匹を除く) では肺出血の所見がみられたが (0.1 μ g 群は陰性対照群よりも範囲が減少)、1 μ g 群では肺出血の所見はみられなかった。 肺の病理組織学的検査 (剖検日: ウイルス曝露 4 日後) : 陰性対照群では、中等度から重度の炎症所見、ウイルス抗原陽性細胞がびまん性に認められた。 0.1 μ g 群では炎症が認められたが、陰性対照群と比較してウイルス抗原陽性細胞の減少が認められた。 1 μ g 群でも炎症が認められたが、ウイルス抗原陽性細胞は認められなかった。	4.2.1.1.5 VRC02

動物 (例数/群)	本剤の用法・用量、 ウイルス曝露方法	主な結果の概要	添付資料 CTD																																																		
シリアンハムスター (雌 15)	<p>・本剤 25 µg を 1 回筋肉内投与 ・本剤 1、5 又は 25 µg を 21 日 間隔で 2 回筋肉内投与</p> <p>本剤 2 回目投与 21 日後 (単回 投与群は本剤投与 42 日後) に USA-WA1/2020 株 (1 × 10⁵ PFU/body) を鼻腔内接種</p>	<p>ウイルス RNA (肺及び鼻甲介) : ウイルス曝露 4 日後には、2 回投与群のいずれの用量でもウイルス RNA は検出 限界以下であった。ウイルス複製の指標となる sgRNA は、肺では 1 µg 群の 1 例 を除き、検出限界以下、鼻甲介では陰性対照群と比較して減少した。単回投与群 では、ウイルス RNA は 1 例を除き検出限界以下であったが、sgRNA は肺及び鼻 甲介のいずれも観察された。</p> <p>肺の病理組織学的検査 (剖検日: ウイルス曝露 2、4 及び 14 日後) : 陰性対照群では、ウイルス曝露 4 日後より中等度の炎症が認められ、ウイルス曝 露 14 日後まで持続した。 本剤 2 回投与群では、陰性対照群よりも軽度な炎症であった。ウイルス曝露 4 日 後にはウイルス抗原が検出されない又はわずかに検出された。 単回投与群では、投与局所にびまん性の炎症又は多巣性の炎症が認められたが、 陰性対照群よりも軽度であった。</p>	4.2.1.1.6 UTMB01																																																		
アカゲザル (雌雄 8)	<p>本剤 10 又は 100 µg を 4 週間 隔で 2 回筋肉内投与 本剤 2 回目投与 4 週後に USA- WA1/2020 株 (7.6 × 10⁵ PFU/body) を鼻腔及び気管内 接種</p>	<p>ウイルス RNA (各群 8 例) : 本剤群のいずれの用量でも陰性対照群よりもウイルス RNA (sgRNA) コピー数 及び検出動物数は減少した。</p> <p>表 ウイルス RNA の検出例数</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>投与群</th> <th>検体</th> <th>1 日目</th> <th>2 日目</th> <th>4 日目</th> <th>7 日目</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">本剤 10 µg</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>1 例</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>4 例</td> <td>5 例</td> <td>2 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">本剤 100 µg</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>3 例</td> <td>0 例</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">陰性対照 (PBS)</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>8 例</td> <td>4 例</td> <td>1 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>6 例</td> <td>6 例</td> <td>4 例</td> <td>0 例</td> </tr> </tbody> </table> <p>肺の病理組織学的検査 (各群 4 例、剖検日: ウイルス曝露後 7 又は 8 日目) 陰性対照群は気道と肺胞に中等度から重度の炎症、肺に炎症性細胞の浸潤が認め られた。 10 µg 群は気道と肺胞に軽度の炎症が認められ、1 例にウイルス抗原が検出され た。 100 µg 群は明らかな炎症所見及びウイルス抗原は認められなかった。</p>	投与群	検体	1 日目	2 日目	4 日目	7 日目	本剤 10 µg	BAL 液	—	1 例	1 例	0 例	鼻腔スワブ	4 例	5 例	2 例	0 例	本剤 100 µg	BAL 液	—	1 例	0 例	0 例	鼻腔スワブ	3 例	0 例	1 例	0 例	陰性対照 (PBS)	BAL 液	—	8 例	4 例	1 例	鼻腔スワブ	6 例	6 例	4 例	0 例	4.2.1.1.7 VRC04											
投与群	検体	1 日目	2 日目	4 日目	7 日目																																																
本剤 10 µg	BAL 液	—	1 例	1 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	4 例	5 例	2 例	0 例																																																
本剤 100 µg	BAL 液	—	1 例	0 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	3 例	0 例	1 例	0 例																																																
陰性対照 (PBS)	BAL 液	—	8 例	4 例	1 例																																																
	鼻腔スワブ	6 例	6 例	4 例	0 例																																																
アカゲザル (雌雄 6)	<p>・本剤 2.5 又は 30 µg を 4 週間 隔で 2 回筋肉内投与 ・本剤 100 µg を 1 回筋肉内投 与</p> <p>本剤 2 回目投与 4 週後 (単回 投与群は投与 8 週後) に USA- WA1/2020 株 (7.6 × 10⁵ PFU/body) を鼻腔及び気管内 接種</p>	<p>ウイルス RNA (各群 6 例) : 本剤群のいずれの用量でも陰性対照群よりもウイルス RNA (sgRNA) コピー数 及び検出動物数は減少した。</p> <p>表 ウイルス RNA の検出例数</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>投与群</th> <th>検体</th> <th>1 日目</th> <th>2 日目</th> <th>4 日目</th> <th>7 日目</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">本剤 2.5 µg</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>3 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>2 例</td> <td>4 例</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">本剤 30 µg</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>0 例</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">本剤 100 µg (単回)</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>0 例</td> <td>2 例</td> <td>0 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">陰性対照 (PBS)</td> <td>BAL 液</td> <td>—</td> <td>6 例</td> <td>1 例</td> <td>0 例</td> </tr> <tr> <td>鼻腔スワブ</td> <td>3 例</td> <td>4 例</td> <td>2 例</td> <td>1 例</td> </tr> </tbody> </table> <p>肺の病理組織学的検査 (各群 6 例、剖検日: ウイルス曝露後 7~9 日目) 陰性対照群では、中度から重度の炎症が認められ、全例でウイルス抗原が検出さ れた。 2.5 µg 群では、炎症がない又は軽度の炎症が認められ、3 例にウイルス抗原が検 出された。 30 µg 群では、炎症がない又は軽度の炎症が認められ、ウイルス抗原は検出され なかった。 100 µg 単回群では、炎症がない又は軽度の炎症が認められ、2 例にウイルス抗原 が検出された。</p>	投与群	検体	1 日目	2 日目	4 日目	7 日目	本剤 2.5 µg	BAL 液	—	3 例	0 例	0 例	鼻腔スワブ	2 例	4 例	1 例	0 例	本剤 30 µg	BAL 液	—	1 例	0 例	0 例	鼻腔スワブ	0 例	1 例	0 例	0 例	本剤 100 µg (単回)	BAL 液	—	0 例	0 例	0 例	鼻腔スワブ	0 例	2 例	0 例	0 例	陰性対照 (PBS)	BAL 液	—	6 例	1 例	0 例	鼻腔スワブ	3 例	4 例	2 例	1 例	4.2.1.1.8 VRC07
投与群	検体	1 日目	2 日目	4 日目	7 日目																																																
本剤 2.5 µg	BAL 液	—	3 例	0 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	2 例	4 例	1 例	0 例																																																
本剤 30 µg	BAL 液	—	1 例	0 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	0 例	1 例	0 例	0 例																																																
本剤 100 µg (単回)	BAL 液	—	0 例	0 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	0 例	2 例	0 例	0 例																																																
陰性対照 (PBS)	BAL 液	—	6 例	1 例	0 例																																																
	鼻腔スワブ	3 例	4 例	2 例	1 例																																																

- a) いずれの試験の本剤群でも、S タンパク質特異的抗体及び中和抗体産生が確認されている (3.1.2.1 参照)。
b) 野生型 SARS-CoV-2 はマウスに感染しないため、マウスに感染するよう馴化された株が用いられた。この株は若齢マウスに感染すると
軽度の症状を誘発し、高齢マウスではより重度の症状を示す (Nature 2020; 586: 560-6)。

3.2 安全性薬理試験

本剤を用いた安全性薬理試験は実施されていないが、本剤の安全性薬理は、ラット反復投与毒性試験 (CTD 4.2.3.2)、生殖発生毒性試験 (CTD 4.2.3.5.3) における一般状態観察等で評価され、申請者は、本

剤投与による心血管系、呼吸器系、中枢神経系等の生理機能への影響は認められていないと説明している。

3.R 機構における審査の概略

3.R.1 本剤の作用機序について

機構は、本剤の作用機序について申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

本剤は、マウスへの筋肉内投与により脾臓及びリンパ節の樹状細胞に S タンパク質抗原の発現 (3.1.1.2 参照)、各種動物モデルにおいて、SARS-CoV-2 特異的抗体産生並びに CD8 陽性 T 細胞及び CD4 陽性 T 細胞応答を誘導し、SARS-CoV-2 曝露に対する一定の感染防御効果が確認された (3.1.2 及び 3.1.3 参照)。

本剤は抗原提示細胞に取り込まれ、自然免疫受容体を活性化するとともに、細胞質中では本剤の mRNA が翻訳されて S タンパク質抗原が発現する。S タンパク質抗原は、自然免疫系の活性化により B 細胞及び T 細胞を活性化する。B 細胞により産生される抗体は、気道及び全身のウイルスを中和し、抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞は気道の感染細胞を標的とすることで、感染予防効果を示すと考えられる。

機構は、本剤の作用機序に関する申請者の説明を了承した。

3.R.2 疾患増強リスクについて

機構は、本剤接種による免疫応答により、SARS-CoV-2 感染時の症状がワクチン非接種時よりも増強するリスク (疾患増強リスク) について、申請者に説明を求め、申請者は以下のように説明した。

ワクチン関連疾患増強は、二つの主要な発現機序が知られている (Front Microbiol 2018; 9: 2991、Vaccine 2009; 27: 505-12)。一つ目の機序として、初回感染時に免疫複合体形成又は補体活性化を伴う好中球と好酸球を含む骨髄系細胞により、Th2 優位な免疫応答を引き起こすことが考えられている。Th2 優位な免疫応答として、IL-4、IL-5 及び IL-13 の高値、好中球及び好酸球浸潤を伴う局所的な炎症、免疫複合体の沈着並びに肺の炎症及び閉塞を特徴とする所見が認められる。二つ目の機序として、結合能を有するが中和活性の低い抗体に起因する抗体依存性免疫増強 (ADE) が考えられ、当該抗体の結合により、Fcγ 受容体を介したウイルスのマクロファージへの侵入が促進され、ウイルス血症が加速し重症化を引き起こす可能性が示唆されている。

複数の動物種を用いた試験で、本剤投与により、高い中和活性及び Th1 優位なサイトカインの産生が認められた (3.1.2 参照)。また、マウスの試験において、本剤により産生された IgG のサブクラスは、疾患増強モデルとされるアルミニウムアジュバントと抗原を組み合わせた際の免疫反応と比較して、Th1 優位な IgG のサブクラスであることが確認された。本剤接種後のマウス、ハムスター及びサルを用いた攻撃試験では、ウイルス量の増加は認められず、肺の病理組織学的評価でも、陰性対照群と比較して炎症、免疫複合体の沈着及び免疫細胞浸潤の減少が認められ、好中球及び好酸球優位の顕著な炎症反応も認められなかった (3.1.3 参照)。以上の結果から、非臨床薬理の観点からは本剤接種による疾患増強リスクは低いと考える。

機構は、薬理の観点からの申請者の説明を了承するが、ヒトでの疾患増強リスクについては、7.R.3.4 で引き続き検討する。