

がん免疫療法開発のガイダンス 2016
がんワクチン・アジュバント非臨床試験ガイダンス
(案)

厚生労働省医薬品等審査迅速化事業費補助金
革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業
ガイダンス作成のための検討委員会

がんワクチン・アジュバント非臨床試験ガイダンス作成ワーキンググループ
(報告書)

平成 28 年 5 月 24 日(案作成)

目次

1. 背景.....	2
2. がんワクチン	2
2.1. ワクチン抗原	3
2.2. アジュバント	4
2.3. がんワクチンと感染症予防ワクチンの差異.....	5
3. 本ガイドランスの目的と適用範囲.....	5
3.1. 目的.....	6
3.2. 適用範囲.....	6
4. がんワクチンの非臨床試験に免疫の種差が及ぼす影響	7
4.1. ワクチン抗原の作用における免疫の種差の影響.....	7
4.2. アジュバントの作用における免疫の種差の影響.....	8
4.3. 遺伝子改変動物の利用による非臨床試験における免疫の種差の影響の克服.....	9
5. 効力を裏付ける試験.....	9
6. 非臨床安全性試験	11
6.1. 安全性薬理試験.....	13
6.2. 急性毒性試験	13
6.3. 反復投与毒性試験	13
6.4. 生殖発生毒性試験	14
6.5. 遺伝毒性試験・がん原性試験	14
6.6. 局所刺激性試験.....	14
7. 非臨床薬物動態試験.....	14
8. 参考文献.....	15
9. 用語説明.....	17
別表 1. 主な腫瘍関連抗原	20
別表 2. 主なアジュバント	21
別表 3. がんワクチンと感染症予防ワクチンの差異.....	23

1. 背景

腫瘍に対する免疫応答の解明が進み、がんの発生・成立や治療後の予後を宿主の免疫応答が大きく左右していることが明らかとなった。今日では、宿主側の腫瘍免疫応答の存在は免疫監視機構として広く知られている。この腫瘍免疫学の進展を基に、腫瘍免疫応答を利用したがん治療法であるがん免疫療法の開発が国内外で急速に進んでいる。がんワクチンはその一つで、免疫系が腫瘍細胞を認識する際の目印となる抗原を患者に投与することにより、腫瘍細胞に対する特異的免疫応答を患者体内に誘導又は増幅することを目的とする。その結果として、腫瘍特異的免疫応答の腫瘍への作用を通じた腫瘍増大・転移・再発の抑制、生存期間の延長等が期待される。

がんワクチンで用いられるワクチン抗原の形態は多様で、大きく分けてペプチドワクチン、タンパク質ワクチン、核酸ワクチン及び細胞ワクチンに分類できる。国内外で様々な抗原形態のがんワクチンが開発中で、2015年時点で米国では約70製品が臨床評価の段階にある。¹⁾ 米国食品医薬品庁 (Food and Drug Administration, FDA) の Breakthrough Therapy Designation を受けているがんワクチンもあり、開発の成功に期待が寄せられている。本邦ではペプチドワクチンの開発が特に進んでいるが、将来は様々な抗原形態のがんワクチンが本邦でも開発されることが予想される。

過去に実施されたがんワクチンの第I相臨床試験の成績に関する体系的分析から、がんワクチンの投与による重篤な副作用のリスクは極めて低いことが示されている。⁸⁾ 一方で、がんワクチンの後期臨床試験において有効性の証明に失敗するケースが続いている。²³⁾ そこで、ワクチン抗原の設計を改善し、種々のアジュバント (ワクチンの効果を増強する物質、デリバリーシステムを含む) を使用することによって、がんワクチンの免疫原性及び効力を高める工夫が広く模索されている。⁴⁷⁾ こうした工夫の意義について非臨床試験で明確に示される必要がある。また、こうした工夫ががんワクチンの安全性に未知の影響を及ぼす可能性があることから、非臨床試験において適切な安全性評価が必要である。

2. がんワクチン

がんワクチンは、腫瘍関連抗原 (主にタンパク質) に由来し腫瘍特異的免疫応答を誘導するためのワクチン抗原を含んでいる。代表的な腫瘍関連抗原を別表1に示す。多くの場合、がんワクチンは、ワクチン抗原が誘導する特異的免疫応答を増強するためのアジュバントも含んでいる。代表的なアジュバントを別表2に示す。

多くの場合、ワクチン抗原はがんワクチンが標的とする腫瘍関連抗原タンパク質に基づいて設計される。がんワクチンに含まれるワクチン抗原は、生体に投与された後、抗原提示細胞（主として樹状細胞及びマクロファージ）に貪食され、その細胞内部で処理されて、8 から 15 残基程度のアミノ酸から成るエピトープペプチドとなり、主要組織適合遺伝子複合体（major histocompatibility complex（以下、「MHC」））クラス I 又はクラス II と結合した複合体として、抗原提示細胞の表面で提示される。キラーT 細胞とヘルパーT 細胞の表面に発現する T 細胞受容体（T cell receptor（以下、「TCR」））は、それぞれ MHC クラス I / ペプチド複合体又は MHC クラス II / ペプチド複合体を特異的に認識する。その結果、これら T 細胞は活性化されて抗腫瘍効果を発揮する。即ち、キラーT 細胞はワクチン抗原に含まれているのと同じエピトープペプチドを提示する腫瘍細胞を認識・破壊し、ヘルパーT 細胞はインターフェロン（interferon（以下「IFN」）） γ やインターロイキン（interleukin（以下「IL」））-2 等のサイトカイン及びケモカインの分泌を通じてキラーT 細胞の働きを増強する。ヘルパーT 細胞には、CD40 リガンド（CD40L）/ CD40 経路を介して抗原提示細胞の抗原提示能力や B 細胞の抗原特異的 IgG 抗体産生を増強する働きもある。

2.1. ワクチン抗原

ワクチン抗原としてペプチド抗原を用いるがんワクチンが最も盛んに開発されてきた。³⁾ ペプチド抗原は鎖長の違いにより短鎖ペプチド抗原と長鎖ペプチド抗原に大別でき、いずれも主に化学合成法で製造される。

短鎖ペプチド抗原は最小エピトープペプチドであり、その鎖長は、キラーT 細胞の誘導を目的とする場合は 8 から 11 アミノ酸残基程度、ヘルパーT 細胞の誘導を目的とする場合は 12 から 17 アミノ酸残基程度である。短鎖ペプチド抗原は抗原提示細胞に取り込まれずとも、細胞表面の MHC に直接結合可能である。

長鎖ペプチド抗原は、1 個から複数個の最小エピトープペプチドを含むように設計された比較的長いペプチドであり、その鎖長は 20 から 50 アミノ酸残基程度である。腫瘍関連抗原タンパク質の天然アミノ酸配列をそのまま用いるものもあれば、複数のエピトープペプチドを連結した人工的なアミノ酸配列を用いるものもある。長鎖ペプチド抗原は通常、MHC に直接結合できないため、抗原提示細胞に取り込まれて、その細胞内部でエンドソーム内のプロテアーゼやペプチダーゼ、細胞質のプロテアソーム等の働きによってエピトープペプチドへとプロセスされる必要がある。

タンパク質抗原は、腫瘍関連抗原タンパク質の全長又は部分長をワクチン抗原として用いる。組換えタンパク質として大腸菌等を用いて製造されることが多い。タンパク質抗原も MHC に直接結合できないため、抗原提示細胞に取り込まれて、その細胞内部でエピトープペプチドへとプロセスされる必要がある。

その他に、ペプチド抗原又はタンパク質抗原をコードする DNA 又は mRNA を投与する核酸ワクチン (DNA ワクチン又は RNA ワクチン) も開発されている。これら核酸ワクチンでは、投与した DNA 又は mRNA が抗原提示細胞の核内又は細胞質に移行して目的のペプチド抗原又はタンパク質抗原が合成される必要があるために、核酸ワクチンの免疫原性及び効力においてはデリバリーシステムが非常に重要な役割を果たす。その目的でリポソームをはじめとする種々のマイクロ粒子性又はナノ粒子性デリバリーシステム、ウイルス等の微生物ベクターが用いられる。ペプチド抗原又はタンパク質抗原の添加、あるいはペプチド抗原又はタンパク質抗原をコードする DNA 又は mRNA の導入といった処理を施した抗原提示細胞 (主に樹状細胞) 自体をがんワクチンとして用いることもある。腫瘍関連抗原を含有する腫瘍細胞自体を不活化してがんワクチンとすることもある。抗原提示細胞や腫瘍細胞を用いるがんワクチンを細胞ワクチンと呼ぶ。

腫瘍関連抗原の発現又は腫瘍関連抗原に対する免疫応答には個人差がある。そこで、各患者が発現する腫瘍関連抗原や治療前から患者体内に存在している腫瘍特異的免疫応答を解析し、個々の患者の状況に応じた「個別化がんワクチン (personalized cancer vaccine)」の開発が始まっている。例えば、予め用意された複数のペプチド抗原の中から、各患者が反応し得るペプチド抗原を患者血液検査によって選択して投与するペプチドワクチンが開発されている。⁹⁾ 欧米では、次世代シーケンズ解析技術を用いて各患者の腫瘍に固有の変異を同定し、変異部分を含むように設計したペプチド抗原またはそれをコードする mRNA を患者毎に合成してがんワクチンとして投与する個別化がんワクチンの開発が始まっている。¹⁰⁾

2.2. アジュバント

アジュバントは、ワクチンに添加、混合、又は同時投与することによって、ワクチン抗原に対する特異的免疫応答を増強する物質の総称である。アジュバントは、ワクチン抗原が誘導する獲得免疫応答の性質 (Th1 型、Th2 型又は Th17 型免疫応答等) にも影響し得る。アジュバントは、概念的に自然免疫レセプター賦活型とデリバリーシステム型の 2 種類に大別される。

自然免疫レセプター賦活型としては、主に細菌、ウイルス、真菌等の微生物の構成成分に由来する物質又はそれらの誘導体が良く知られている。これらは、宿主細胞に発現する自然免疫レセプターに作用し、炎症反応の一種である自然免疫反応を惹起することで、ワクチン抗原に対する特異的免疫応答を増強する。

デリバリーシステム型アジュバントとして、アルミニウム塩等の鉱物塩、水-油系エマルジョン、リポソーム等が知られている。これらはワクチン抗原の滞留性又はリンパ器官への移行、並びに抗原提示細胞によるワクチン抗原等の取り込みを改善することで、ワクチン抗原に対する特異的免疫応答を増強すると考えられる。

当初はデリバリーシステム型アジュバントと考えられていたアルミニウム塩にも、自然免疫レセプターの1つである NACHT, LRR and PYD domains-containing protein (NLRP) 3 を活性化する作用が後に示され、また、水-油系エマルジョンにおいても投与局所に炎症反応が惹起される等により、アジュバントを自然免疫レセプター賦活型とデリバリーシステム型に区別することは必ずしも容易ではないことに留意する必要がある。

リンパ球又は抗原提示細胞に作用するサイトカイン等の生理活性タンパク質も、ワクチン抗原に対する特異的免疫応答を増強するために用いる場合はアジュバントと見做せる。

近年、複数のアジュバント、特に自然免疫レセプター賦活型とデリバリーシステム型を組み合わせた複合型アジュバントも開発されている。

2.3. がんワクチンと感染症予防ワクチンの差異

世界保健機構（World Health Organization、WHO）及び各国規制当局から感染症予防ワクチンの非臨床試験に関するガイドライン又はガイダンスが公表されており、がんワクチンの非臨床試験の計画にあたって参考となる部分が多い。¹¹⁻¹⁵⁾ しかしながら、感染症予防ワクチンとがんワクチンでは別表 3 に示すような差異がある。

3. 本ガイダンスの目的と適用範囲

3.1. 目的

本ガイダンスは、新規がんワクチンの開発に際して、規制当局、開発企業及びアカデミアにとって有用な非臨床試験（in vivo 試験及び in vitro 試験を含む）の一般的原則を提供する。この考え方に基づいた非臨床試験を実施することで、がんワクチンの特性（免疫原性、効力及び安全性の評価を含む）が明らかとなり、臨床試験への円滑な移行と臨床試験の成功率向上を含むがんワクチンの効率的な開発が促進されることが期待される。

3.2. 適用範囲

本邦におけるがんワクチンの開発状況を鑑み、本ガイダンスの適用範囲は、短鎖ペプチド、長鎖ペプチド又はタンパク質をワクチン抗原に用いるがんワクチンの非臨床試験とする。核酸ワクチン及び細胞ワクチンは本ガイダンスの対象としないが、本ガイダンスは核酸ワクチン及び細胞ワクチンの非臨床試験においても参考にできる部分を含むと考えられる。また、本ガイダンスはがんワクチン以外のがん免疫療法の非臨床試験においても参考にできる可能性がある。

本ガイダンスは、がんワクチンに含まれるワクチン抗原及びアジュバントの非臨床評価を取り扱う。本ガイダンスは治療を目的として用いられるがんワクチンを対象とし、がんの発症予防のために用いられるがんワクチンは対象としない。

本ガイダンスは、がんワクチンがアジュバントを伴う場合と伴わない場合のいずれも対象とする。アジュバントを伴う場合は、予めがんワクチンに添加されているもの、がんワクチンに添付されており投与時にワクチン抗原と混合して用いられるもの、又はがんワクチンに添付されており同時投与で用いられるものを対象とする。具体的には以下を対象とする。

- ワクチン抗原及びアジュバントのいずれもが既承認薬に含まれていない場合。
- ワクチン抗原又はアジュバントのいずれか又は両方が既承認薬に含まれているが、新規の組合せとして開発される場合。
- 既承認のがんワクチンの処方、用法又は用量が変更される場合。

一部のアジュバント（toll-like receptor（以下、「TLR」）に対するアゴニスト等）は種々のサイトカイン産生や抗原提示細胞等の免疫細胞の活性化を強力に惹起する作用

を有し、アジュバント単独で抗腫瘍効果を示すことがある。こうした薬理作用に基づき、アジュバントが単独で抗悪性腫瘍薬として開発されることがあるが、本ガイダンスでは対象としない。

4. がんワクチンの非臨床試験に免疫の種差が及ぼす影響

ヒトと動物では、自然免疫と獲得免疫において下記の様な種々の差異があることを十分に考慮して、非臨床試験を計画する必要がある。

- MHC 及び TCR の差異
- 標的抗原の配列及び発現する臓器・細胞の差異
- 自然免疫レセプター（TLR 等）の違いやその発現の差異¹⁶⁻¹⁸⁾

4.1. ワクチン抗原の作用における免疫の種差の影響

がんワクチンの非臨床試験において考慮すべき免疫の種差の中でも MHC の種差は特に重要である。臨床上用いられる予定のがんワクチンは、標的とするヒト腫瘍関連抗原タンパク質のアミノ酸配列に基づいて設計されるが、そのがんワクチンに含まれヒト MHC に結合して目的の特異的免疫応答を誘導するエピトープペプチドは、多くの場合、動物の MHC には結合しない。そのため、臨床上用いられる予定のがんワクチンは通常、ヒトと同様の薬理作用を動物では示さない。

一方、長鎖ペプチドワクチン又はタンパク質ワクチンでは、臨床上用いられる予定のがんワクチンに、ヒト MHC に結合するエピトープペプチドのアミノ酸配列とは別に、用いる動物の MHC に結合して特異的免疫応答を誘導できるエピトープペプチドのアミノ酸配列が含まれる場合がある。この場合は、臨床上用いられる予定のがんワクチンの効力を裏付ける試験又は非臨床安全性試験を、動物を用いて実施できる可能性があるが、^{19,20)} がんワクチンが誘導する特異的免疫応答の動物相同タンパク質への交差反応性及び動物相同タンパク質の発現様式を確認し、試験条件の妥当性が示される必要がある。なお、異種間の反応であるために、がんワクチンの免疫原性が本来よりも高く観察される可能性にも留意する必要がある。

臨床上用いられる予定のがんワクチンの効力を裏付ける試験の実施に際して、動物を用いることは困難であり、類似のがんワクチン、例えば同一の投与ルートで同一のアジュ

バントシステムを用いる場合等において、効力に関して既に十分な知見が蓄積されている場合には、必ずしも必要ではない。しかしながら、新規の作用機序（新規アジュバントの添加を含む）を有する新規性の高いがんワクチンの場合には、ヒト抗原の動物相同タンパク質のアミノ酸配列に基づいて設計されたワクチン抗原（以下、「相同ワクチン抗原」）、ワクチン研究で汎用されるモデルワクチン抗原（例としてオボアルブミンタンパク質又はその一部等）（以下、「モデルワクチン抗原」）又は後述の遺伝子改変動物を用いた動物試験の実施を検討すべきである。

相同ワクチン抗原は用いる動物にとって自己抗原であることから、ヒト抗原のアミノ酸配列に基づくワクチン抗原及びモデルワクチン抗原と比較して、がんワクチンの免疫原性及び抗腫瘍効果をより適切に評価できる可能性がある。一方、モデルワクチン抗原は異種抗原であることが多く、がんワクチンの免疫原性及び抗腫瘍効果が本来よりも高く観察されやすい点に留意する必要がある。また、相同ワクチン抗原及びモデルワクチン抗原を用いたがんワクチンと臨床上用いられる予定のがんワクチンの間で、製造工程、不純物及び混入物質の程度、並びに体内・細胞内での動態が異なる可能性についても留意する必要がある。

免疫の種差の影響から、臨床上用いられる予定のがんワクチンが誘導する特異的免疫応答に伴う毒性（以下、「オン・ターゲット毒性」）について動物を用いた試験で評価することは困難である場合が多い。しかしながら、臨床上用いられる予定のがんワクチンの製造過程で混入する不純物の影響及び意図しない受容体へのワクチン抗原の結合等に基づく毒性（以下、「オフ・ターゲット毒性」）は、動物を用いて評価可能である。²¹⁾

4.2. アジュバントの作用における免疫の種差の影響

臨床上用いられる予定の自然免疫レセプター賦活型アジュバントについて、試験に用いる動物においてレセプターの発現や結合活性が明らかとなっている場合は、そのオン・ターゲット毒性を動物で評価できる可能性がある。

臨床上用いられる予定の自然免疫レセプター賦活型アジュバントが、動物のレセプターに対する結合活性が低い等の理由により目的の動物で動作しない場合は、がんワクチンの効力を裏付ける試験において、用いる動物で動作する類似のアジュバントの情報がある場合がある。なお、不純物及び混入物質の影響等によるオフ・ターゲット毒性については、臨床上用いられる予定の自然免疫レセプター賦活型アジュバントについて動物を用いて評価は可能である。

一方、デリバリーシステム型アジュバントの場合は、自然免疫レセプター賦活型アジュバントに比べてアジュバントの作用における免疫の種差の影響は大きくないと考えられる。

4.3. 遺伝子改変動物の利用による非臨床試験における免疫の種差の影響の克服

MHC 及び標的抗原に関する種差の問題を解決するために、免疫機能の一部をヒト化した遺伝子改変動物（以下、「ヒト化動物」）が開発されている（例えば、ヒト MHC 遺伝子導入動物、ヒト抗原遺伝子導入動物、ヒト TLR 遺伝子導入動物等）。これらヒト化動物を用いることにより、がんワクチンの効力を裏付ける試験を実施できる可能性がある。しかしながら、ヒト化動物の毒性学的背景情報の蓄積が限定的であること及び動物の供給の点から、ヒト化動物を用いた非臨床安全性試験の実施は限定的と考えられる。

5. 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験の実施は、がんワクチンでは免疫の種差のために容易ではない。しかしながら、効力を裏付ける試験を省略して有効性に関する情報や根拠を欠いた状況でがんワクチンの臨床試験を実施することにより、臨床試験に参加する患者に不利益をもたらし、がんワクチンの開発成功率を損なう可能性がある。そのため、特に新規性の高いワクチンでは、相同ワクチン抗原、モデルワクチン抗原又はヒト化動物も必要に応じて利用して効力を裏付ける試験を実施し、ワクチン抗原の設計、用いるアジュバント、製剤処方 の妥当性を示す必要がある。合理性のある効力試験の実施が推奨されるが、理由を適切に説明出来る場合は、その効力試験は必ずしも必要としない。

がんワクチンと他剤の併用を想定している場合には「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」（平成 22 年 6 月 4 日付け薬食審査発 0604 第 1 号）も踏まえ、併用投与の根拠を説明する必要がある。

以下に示す例のように、効力を裏付ける試験における *in vivo* 試験では、がんワクチンの免疫原性（特異的／非特異的免疫応答）又は効力（抗腫瘍効果）についての評価が可能である。

- がんワクチンの投与による標的腫瘍に対する抗腫瘍効果（増殖抑制、拒絶、転移・

再発抑制、腫瘍血管新生抑制、腫瘍間質阻害等)。

- がんワクチンが誘導する抗原特異的免疫応答の種類(細胞性免疫、液性免疫)、性質(Th1型、Th2型等)及び強度(頻度、力価等)。これらががんワクチンの効力に及ぼす影響。
- アジュバントの作用(がんワクチンが誘導する特異的免疫応答の変化)と機序(抗原提示細胞への影響、ワクチン抗原の体内動態の変化等)。新規性の高いアジュバントを用いる場合は、血中又は組織中の各種サイトカインの濃度等の免疫学的パラメータを探索的に評価することで、安全性の評価又は予測にも有用な情報が得られることがある。

In vivo 試験において抗腫瘍効果を評価する場合には、予防的条件(腫瘍塊形成前のがんワクチン投与)と治療的条件(腫瘍塊形成後のがんワクチン投与)での実施が可能であるが、予定する臨床試験において想定される状況を鑑み、適切に選択する必要がある。治療用のがんワクチンであっても、再発予防を目的とする場合は、予防的条件での試験の実施が適切である可能性がある。投与経路及び投与部位はがんワクチンの免疫原性と効力に大きく影響することから、効力を裏付ける試験で用いる投与経路及び投与部位は、臨床試験で予定している投与経路及び投与部位と極力同じにする必要がある。がんワクチンの免疫原性と効力に投与スケジュールが及ぼす影響を検討できる可能性もあるが、動物と、担がん状態で抗がん剤投与を経験したヒトの間では、投与スケジュールが及ぼす影響に差が生じる可能性に注意する必要がある。

临床上用いられる予定のがんワクチンの評価は、in vivo 試験では多くの場合は困難であるが(4.1.参照)、ヒト培養細胞等を用いた in vitro 試験の実施によって、がんワクチンの活性及び作用機序を示すデータ、並びに、ワクチン抗原の設計、用いるアジュバント、製剤処方 of 妥当性を示すデータが得られ、in vivo 試験の限界を補える可能性がある。临床上用いられる予定のがんワクチンを用いて in vitro で誘導したヒトエフェクター細胞を用いて、ヒト腫瘍に対する効果を評価可能なこともある。デリバリーシステム型アジュバントの効果を in vitro 試験で確認することは容易ではない場合もある。なお、この種の in vitro 試験を通じて、タンパク質抗原、長鎖ペプチド抗原又はアジュバントの品質管理を行う上で重要な生物活性測定試験法が確立される可能性もある。

以下に示す例のように、効力を裏付ける試験として行う in vitro 試験では、がんワクチンが免疫応答を誘導する活性や機序についての検討が可能である。これらの in vitro 試験を通じて、临床上用いられる予定のがんワクチンに含まれるワクチン抗原がヒト抗原提示細胞によって実際に提示されるか否か、提示されたエピトープペプチドを認識するヒトT細胞が存在するか否かについて重要な情報が得られる可能性がある。これらの試験

の実施は、“reverse immunology”で同定されたエピトープペプチド候補を用いるがんワクチンでは必要である。アジュバントを用いるがんワクチンの場合は、アジュバントを用いる妥当性をin vitroで評価できる可能性がある。

- がんワクチンを投与した抗原提示細胞による抗原提示及び特異的エフェクター細胞の活性化又は誘導（ヒト末梢血単核球からの抗原特異的T細胞の誘導、抗原特異的ヒトT細胞（クローン又はライン）の活性化、MHC／ペプチド複合体に対する抗体を用いた抗原提示の直接検出等）。アジュバントがこれらの変化に及ぼす影響を含む。
- アジュバントによる抗原提示細胞の機能的変化（細胞表面タンパク質又は分泌タンパク質の変化等）。
- がんワクチンを投与した抗原提示細胞内のワクチン抗原の動態。アジュバントがこれに及ぼす影響を含む。

なお、一般的に、免疫組織化学的解析又はイムノブロットィング解析によるタンパク質レベルでの測定、逆転写定量 PCR、マイクロアレイ又はノーザンブロットを用いた mRNA レベルでの測定により、ヒトの腫瘍組織、正常組織及び免疫細胞における標的抗原又は自然免疫レセプターの発現に関する情報を明らかにすることが望ましい。また、MHC／ペプチド複合体に対する抗体が得られている場合には、同抗体を用いた免疫組織化学的解析から、標的抗原から生じたエピトープペプチドの腫瘍組織又は正常組織での提示に関するより直接的な情報を得られる可能性がある。

6. 非臨床安全性試験

本項は、がんワクチンの臨床開発及び製造販売承認申請に際して実施される非臨床安全性試験で通常起こりうる事項を想定して述べたものである。がんワクチンの非臨床安全性試験は、「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」について（平成24年3月23日付け薬食審査発0323第1号）（以下、「ICH S6 (R1) ガイドライン」）、「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」（平成22年6月4日付け薬食審査発0604第1号）（以下、「ICH S9ガイドライン」）、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について（平成22年2月19日付け薬食審査発0219第4号）（以下、「ICH M3 (R2) ガイダンス」）、「医薬品開発におけるヒト初回投与試験の安全性を確保するためのガイダンス」について（平成24年4月2日付け薬食審査発0402第1号）等、医薬品開発のためのガイドラインを参考に適切に実施されるべきであり、対象疾患及び被験薬ごとにケ

ース・バイ・ケースで検討する必要がある。

一般的に、ワクチン抗原が誘導する特異的免疫応答に基づくオン・ターゲット毒性の評価は困難である場合が多い一方で（4.1.参照）、ワクチン抗原のオフ・ターゲット毒性は評価可能である。他方、アジュバントのうち自然免疫レセプター賦活型アジュバントについては、用いる動物においてレセプターの特性が既に明らかであり、ヒトに十分外挿可能であると考えられる場合には、そのオン・ターゲット毒性とオフ・ターゲット毒性の両方が評価可能と考えられる。デリバリーシステム型アジュバントについては、ヒトと動物の間で作用に明らかな差異を示唆する報告はこれまでに無く、そのオン・ターゲット毒性とオフ・ターゲット毒性の両方が評価可能と考えられる。以上を踏まえて、がんワクチンの潜在的な毒性が評価可能となるように、がんワクチンの非臨床安全性試験は適切に計画される必要がある。

アジュバントを伴うがんワクチンにおいて、アジュバント単独での非臨床安全性試験は必須ではない。しかしながら、新規性が高いアジュバントであって、毒性学的変化の予測が困難である場合には、がんワクチンの投与で生じる毒性学的変化を適切に解釈するために、アジュバント単独での影響を評価可能な試験を計画することが望ましい。

非臨床安全性試験におけるがんワクチンの用量の設定については、ワクチン抗原のオフ・ターゲット毒性のみを評価する場合は、臨床使用予定用量から体重換算又は体表面積換算した用量の10倍量を含むように試験群を設定する。一方、ワクチン抗原のオン・ターゲット毒性も評価可能な場合は、ワクチン抗原がその動物種で誘導する特異的免疫応答と用量の関係も踏まえて用量設定を行う。また、アジュバントについては、そのオフ・ターゲット毒性のみの評価を実施する場合、又はオン・ターゲット毒性及びオフ・ターゲット毒性の両方の評価を実施する場合のいずれにおいても、臨床予定用量から体重換算又は体表面積換算した用量を含むように試験群を設定する。ワクチン抗原とアジュバントのいずれについても、予定の最大臨床用量における安全性を評価できるように用量を設定する必要がある。また、毒性学的変化の用量依存性を評価できるように設定することが望ましい。なお、1回あたりの投与可能な量が制限される場合は、同じ投与経路を用いて複数の部位に投与することは可能である。

がんワクチンのワクチン抗原及びアジュバントの安全性評価は、通常、申請者が妥当と考える1種の動物種を用いて行う。新規性の高いアジュバントを用いる場合には、2種の動物を用いたがんワクチンの非臨床安全性試験の実施を検討する。必要に応じてアジュバント単独の非臨床安全性試験の実施も検討する。

6.1. 安全性薬理試験

安全性薬理試験は「安全性薬理試験ガイドラインについて」（平成13年6月21日付け、医薬審発第902号）（ICH S7A ガイドライン）を参考に実施されるが、生命維持に重要な器官に対するがんワクチンの影響の評価は、一般的にヒトに投与する前に行われるべきである。ただし、上記ガイドラインに記載通りのコアバッテリー試験は必ずしも必要とはせず、この評価を一般毒性試験の中で実施することは可能である。

6.2. 急性毒性試験

がんワクチンの単回投与毒性の評価は、ICH M3 (R2) ガイダンスを参考に実施する。なお、反復投与毒性試験の一部として実施することは可能である。

6.3. 反復投与毒性試験

評価項目は医薬品について通常実施される反復投与毒性試験に準じるが、リンパ節（投与部位の所属リンパ節及び遠隔リンパ節）、骨髄、胸腺、脾臓、パイエル板、気管支関連リンパ組織等の免疫組織及び免疫器官については留意すべきである。ワクチン抗原のオン・ターゲット毒性が評価可能と考えられる場合及びアジュバントが作用するレセプターが動物に発現する場合は、それぞれ抗原及びレセプターの発現組織及び発現器官の評価が重要である。

ワクチン抗原のオン・ターゲット毒性も評価可能な場合は、特異的免疫応答（細胞性免疫応答及び液性免疫応答）を評価項目に加えることを検討すべきである。

新規性の高いアジュバントを用いる場合は、詳細な免疫学的解析（血清サイトカイン濃度の変動等）を行うことで、臨床試験での反応の予測に有用な情報を得られる可能性がある。なお、必要に応じて免疫毒性試験を実施すべきである。²²⁾

投与スケジュールについては、ICH S9ガイドラインを参考に設定することが可能である。ワクチン抗原のオン・ターゲット毒性も評価可能な場合は、がんワクチンが誘導する特異的免疫応答の持続性等を考慮して検討する必要がある。また、回復性を評価するための回復群の設定を考慮する。

なお、トキシコキネティクスは一般に不要である。

6.4. 生殖発生毒性試験

ICH S9 ガイドラインを参考に実施を検討する。

6.5. 遺伝毒性試験・がん原性試験

通常、がんワクチンのワクチン抗原については、遺伝毒性試験及びがん原性試験の実施は不要である。アジュバントについては、ICH S9 ガイドラインを参考に遺伝毒性試験の実施を検討する。アジュバントのがん原性試験の実施は不要である。

6.6. 局所刺激性試験

がんワクチンの局所刺激性は、単回投与毒性試験又は反復投与毒性試験の一部として実施することは可能である。

7. 非臨床薬物動態試験

通常、全身暴露量と薬理作用が関連しないことを考慮し、ペプチド抗原及びタンパク質抗原についての非臨床薬物動態試験は必須ではない。

アジュバントを用いるがんワクチンにおいては、用いるアジュバント（自然免疫レセプター賦活型及びデリバリーシステム型）の新規性が高い場合には、非臨床薬物動態試験の実施を検討すべきである。その場合、臨床で予定される用法に準じた投与方法での評価が望ましい。技術的に非臨床薬物動態試験の実施が困難な場合は、実施を省略できる理由を適切に説明する必要がある。

8. 参考文献

- 1) 2015 Medicines in development for cancer, 米国研究製薬工業協会 (PhRMA), 2015.
- 2) Melero, I., et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2014;11(9):509-524.
- 3) Tan, A. C., et al. A quantitative analysis of therapeutic cancer vaccines in phase 2 or phase 3 trial. *J. Immunother. Cancer.* 2015;3:48.
- 4) Melief, C. J., et al. Therapeutic cancer vaccines. *J. Clin. Invest.* 2015;125(9):3401-3412.
- 5) Reed, S. G., et al. Key roles of adjuvants in modern vaccines. *Nat. Med.* 2013;19(12):1597-1608.
- 6) Bachmann, M. F. and Jennings, G. T. Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. *Nat. Rev. Immunol.* 2010;10(11):787-796.
- 7) Silva, M., et al. Immune system targeting by biodegradable nanoparticles for cancer vaccines. *J. Control. Release.* 2013;168(2):179-199.
- 8) Rahma, O. E., et al. Is the "3+3" dose-escalation phase I clinical trial design suitable for therapeutic cancer vaccine development? A recommendation for alternative design. *Clin. Cancer Res.* 2014;20(18):4758-4767.
- 9) Sasada, T., et al. Personalized peptide vaccine for treatment of advanced cancer. *Curr. Med. Chem.* 2014;21(21):2332-2345.
- 10) Desrichard, A., et al. Cancer neoantigens and applications for immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2016; 22(4):807-812.
- 11) Guidelines on the nonclinical evaluation of vaccine adjuvants and adjuvanted vaccines, WHO, 2014.
- 12) Pre-clinical pharmacological and toxicological testing of vaccines, EMA 1997.
- 13) Guidance for industry: Considerations for developmental toxicity studies for preventive and therapeutic vaccines for infectious disease indications, FDA, 2006.
- 14) 感染症予防ワクチンの非臨床試験ガイドライン, 薬食審査発 0527 第 1 号, 2012.
- 15) Guideline on adjuvants in vaccines for human use, EMA, 2006.

- 16) Vaure, C. and Liu, Y. A comparative review of toll-like receptor 4 expression and functionality in different animal species. *Front. Immunol.* 2014;5:316.
- 17) Ariffin, J. K. and Sweet, M. J. Differences in the repertoire, regulation and function of Toll-like Receptors and inflammasome-forming Nod-like Receptors between human and mouse. *Curr. Opin. Microbiol.* 2013;16(3):303-310.
- 18) Mestas, J. and Hughes, C. C. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *J. Immunol.* 2004;172(5):2731-2738.
- 19) Destexhe, E., et al. Non-clinical safety evaluation of single and repeated intramuscular administrations of MAGE-A3 Cancer Immunotherapeutic in rabbits and cynomolgus monkeys. *J. Appl. Toxicol.* 2015;35(7):717-728.
- 20) Garçon, N., et al. Non-clinical safety evaluation of repeated intramuscular administration of the AS15 immunostimulant combined with various antigens in rabbits and cynomolgus monkeys. *J. Appl. Toxicol.* 2016;36(2):238-256.
- 21) Matsumoto, M., et al. Considerations for non-clinical safety studies of therapeutic peptide vaccines. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2014;70(1):254-260.
- 22) 医薬品の免疫毒性試験に関するガイドラインについて（平成 18 年 4 月 18 日付け薬食審査発 0418001 号）

9. 用語説明

用語	説明
宿主	病原体が感染・寄生する個体を示すが、腫瘍免疫では担がん状態にある個体を指す。
腫瘍関連抗原	がん細胞の排除に働く宿主免疫応答により認識される抗原。がん細胞に特異的に発現しているものから、正常細胞にも発現しているものまで種々のものがある。
免疫監視機構	遺伝子変異により日々、多くのがん化した細胞が発生しているが、これらは宿主の免疫機構により検出されて排除される。この機構を免疫監視機構といい、これを逃れたがん化細胞ががんを形成する。
免疫原性	抗体産生や細胞性免疫といった免疫応答を誘導する性質。通常、自己成分は免疫原性を有しないか、弱い免疫原性を有し、異種動物や病原体由来の成分は強い免疫原性を有する。
抗原提示細胞	T細胞はがん細胞やその成分タンパク質を直接認識できない。宿主の抗原提示細胞がこれらを取り込み（食食作用）、細胞内でエピトープペプチドへ分解した後に、MHCとの複合体として細胞表面に表出・提示する。この複合体をT細胞は認識する。樹状細胞やマクロファージはこれら一連の機能に優れており、専門抗原提示細胞と呼ばれ、抗原提示と同時に進む共刺激の活性も高い。
主要組織適合遺伝子複合体	主要組織適合遺伝子複合体は組織移植において移植片の適合性を決定する分子として発見された。ヒトの主要組織適合遺伝子複合体はヒト白血球抗原（human leukocyte antigen、HLA）と呼ばれ、ほぼ全ての体細胞に発現しているクラス I 分子（HLA-A、-B、-C）と、免疫系細胞にのみ発現しているクラス II（HLA-DP、-DQ、-DR）の 2 種がある。
エピトープペプチド、最小エピトープペプチド	T細胞は、抗原タンパク質のごく一部分のペプチドがMHCに結合した状態を認識する。このペプチドをエピトープペプチド、T細胞により認識される最小単位を最小エピトープペプチドと言う。
T細胞受容体（TCR）	T細胞の抗原認識に関わる抗原受容体。MHCと抗原ペプチドとの複合体を認識する。
抗原プロセッシング	抗原提示細胞に取り込まれたタンパク質抗原は、エンドソーム内のプロテアーゼ及びペプチダーゼ、並びに細胞質のプロテアソーム及びペプチダーゼといった分解酵素によりペプチドへと分解

	され、MHC と複合体を形成した後に細胞表面に表出される。腫瘍細胞においても、細胞内で産生されたタンパク質が同様のプロセッシングを受けてペプチドとなって MHC と複合体を形成し、細胞表面に表出している。
個別化がんワクチン	患者個人の腫瘍組織の個性（遺伝子変異、抗原の発現等）及び免疫学的個性（MHC 型、腫瘍細胞に対する既存の免疫応答の有無等）が存在し、これらに対応することで効力向上を目指す個別最適化したワクチンを指す。
アジュバント	免疫応答を促す補助剤。抗原とともに生体に投与されたとき、その抗原に対する免疫応答を増強させる物質の総称。
自然免疫	病原体を認識後早期に惹起されるインターフェロンや炎症性サイトカインの産生による発熱や炎症を含めた非特異的な免疫応答で、獲得免疫誘導にも重要な役割を果たす。
自然免疫レセプター	Toll-like receptors (TLRs)、RIG-I-like receptors (RLRs)、NOD-like receptors (NLRs) 等からなるパターン認識レセプター。病原体に由来する細胞壁成分や核酸由来成分を認識し、インターフェロンや炎症性サイトカイン (TNF- α 、IL-6、IL-12 等)の応答を誘導する。
Th1、Th2、Th17 型免疫応答	主に活性化 CD4 陽性 T 細胞が産生するサイトカインによる免疫応答の型で、Th1 型 CD4 陽性 T 細胞は IFN- γ を、Th2 型 CD4 陽性 T 細胞は IL-4 を、Th17 型 CD4 陽性 T 細胞は IL-17 を特徴的に産生し、それぞれ細胞性免疫、液性免疫、真菌に対する防御免疫等に役割を果たしている。アジュバントは、このような CD4 陽性 T 細胞の分化にも影響を与え、CpG オリゴ DNA は Th1 型 CD4 陽性 T 細胞を、アルミニウム塩は Th2 型 CD4 陽性 T 細胞を、トレハロース 6,6'-ジミコレート (TDM) や GM-CSF は Th17 型 CD4 陽性 T 細胞を誘導しやすいことが知られている。
デリバリーシステム	体内及び細胞内における薬物の分布を空間的・時間的に制御することで、薬物の効果の増強や毒性の低減を図る薬物送達技術。がんワクチンにおいては、ワクチン抗原の滞留性向上、リンパ器官又は抗原提示細胞へのワクチン抗原の選択的送達、又は抗原提示細胞内でのワクチン抗原の挙動制御を通じた抗原提示促進を目的として用いられることが多い。アジュバントとして用いられる鋳物塩や水-油系エマルジョン、リポソーム等が含まれる。
リポソーム	リン脂質二重膜で構成された小胞。小胞内部、小胞表面、又はリン脂質二重膜内に薬物を保持することで、薬物のデリバリーシ

	<p>テムとして機能する。動態・安定性の向上や目的の細胞への標的化を目指して、表面修飾して用いられることも多い。サイズは数十ナノメートルから数百ナノメートル程度であることが多い。</p>
ナノ粒子	<p>通常、数ナノメートルから 100 ナノメートル以下の粒子を指す。素材としては金属、無機化合物、有機化合物等、多様に存在するが、薬物のデリバリーシステムとしては生体適合性の高い素材が有用である。このサイズの粒子はリンパ器官への分布や抗原提示細胞への取り込みに優れる傾向がある。</p>
相同ワクチン抗原	<p>ヒトにおける標的抗原タンパク質とアミノ酸配列の相同性が高く、腫瘍組織及び正常組織における発現様式も近い動物タンパク質のアミノ酸配列に基づいて設計されたワクチン抗原。例として Melan-A/MART-1 や gp100 が挙げられる。</p>
モデルワクチン抗原	<p>免疫原性が高くエピトープペプチドが明らかであること等の理由から、ワクチン研究で汎用されるモデルワクチン抗原。その抗原に対する TCR 遺伝子導入動物等が存在し、免疫応答解析等が非常にしやすいことも特徴。例としてオボアルブミンタンパク質又はそのエピトープペプチドが挙げられる。</p>
オン・ターゲット毒性、オフ・ターゲット毒性	<p>目的の標的に対する作用を通じて発現する毒性をオン・ターゲット毒性、目的外の標的に対する作用を通じて発現する毒性をオフ・ターゲット毒性と呼ぶ。オフ・ターゲット毒性には、薬剤に含まれる不純物や混入物質の作用による毒性も含む。</p>
Reverse immunology	<p>がんワクチン等の免疫療法が標的とするタンパク質が（腫瘍特異的発現等に基づいて）先に決定されており、そのタンパク質に含まれ免疫原性を示す可能性があるエピトープペプチドの候補を <i>in silico</i> 予測して合成し、各ペプチドの免疫原性について T 細胞等を用いて評価して、エピトープペプチドを確定する手法。エピトープペプチドを認識する T 細胞が、腫瘍細胞を実際に認識できるかどうかの確認が必要となる。</p>

別表 1. 主な腫瘍関連抗原

分類	例	特徴
がん精巣抗原	MAGE ファミリー、SSX ファミリー、SAGE、XAGE、NY-ESO-1/LAGE1、KKLC1、サイクリン A1 等	腫瘍細胞と生殖細胞に発現。生殖細胞は MHC を発現しないために、腫瘍細胞が発現するがん精巣抗原だけが T 細胞によって認識されることから、腫瘍特異性が高い抗原である。エピジェネティクス修飾で発現調節される。
変異抗原	Ras、EGFRvIII、p53、CDK4、 β カテニン、カスパーゼ 8、Bcr-Abl、ETV6-AML1、各患者固有の新生変異抗原 (neoantigen) 等	遺伝子変異により、野生型タンパク質とは異なるアミノ酸配列 (変異アミノ酸配列) を含有するタンパク質抗原。変異アミノ酸配列は、それを含むペプチドの MHC との結合性に影響し、本来は提示されないペプチドが変異によって提示されるようになることがある。正常細胞には存在しない抗原であり、腫瘍特異性は高い。
過剰発現抗原	Her2/neu、WT1、p53 (野生型)、サバイビン、メソセリン、PRAME 等	腫瘍細胞と正常細胞のいずれにも発現する抗原。遺伝子発現制御の異常や遺伝子増幅等により、腫瘍細胞における発現量が正常細胞よりも多いことを特徴とする。腫瘍特異性は比較的低い。
分化抗原	チロシナーゼ、gp100、Melan-A/MART-1、gp75、TRP2、CEA、PAP、PSMA、MUC1 等	組織特異的に発現するタンパク質。腫瘍特異性は比較的低い。
ウイルス抗原	HPV E6、HPV E7、HTLV-I Tax、EBV LMP2 等	がんの原因になり得るウイルス由来のタンパク質。元は人体に存在しないことから、腫瘍特異性と免疫原性は高い。
腫瘍血管抗原 腫瘍間質抗原	VEGFR2、FAP 等	腫瘍ではなく、腫瘍を支持する腫瘍血管や腫瘍間質に多く発現するタンパク質。腫瘍特異性は比較的低い。

別表 2. 主なアジュバント

アジュバントのタイプ	特徴・由来	例 []内はレセプターを示す
自然免疫レセプター賦活型	TLR アゴニスト・細菌膜由来	リポペプチド [TLR2]、モノホスホリルリピッド [TLR4]
	TLR アゴニスト・核酸由来	ポリ IC RNA [TLR3]、イミキモド [TLR7]、レシキモド [TLR7、TLR8]、CpG オリゴ DNA [TLR9]
	RLR アゴニスト・RNA 由来	pppRNA [RIG-I]、ポリ IC RNA (MDA5)
	STING アゴニスト・ジヌクレオチド	cGAMP [STING]、c-di-AMP/c-di-GMP [STING]
	NLR アゴニスト・細菌膜由来	iE-DAP [NOD1]、FK565[NOD1] MDP[NOD2]、ムラブチド [NOD2]
	CLR アゴニスト・細菌及び真菌由来	β -グルカン [Dectin-1]、トレハロース 6, 6'-ジミコレート (TDM) [Mincle]
デリバリーシステム型	鋳物塩	水酸化アルミニウム
	水/油エマルジョン	ISA51、ISA720
	油/水エマルジョン	MF59、AS03
	リポソーム	各種リポソーム
	パーティクル	ポリ (ラクチド-co-グリコリド) 共重合体 (PLGA) 等
その他	サポニン類	Quil-A、QS-21
	サイトカイン	GM-CSF、IL-2、IL-12、IFN- α
	弱毒化・不活化菌	BCG
複合型	リポソーム+モノホスホリルリピッド+サポニン	AS01

	油/水エマルジョン+モノ ホスホリルリピッド+サ ポニン	AS02
	モノホスホリルリピッド +水酸化アルミニウム	AS04
	リポソーム+モノホスホ リルリピッド+サポニン +CpG オリゴ DNA	AS15
	油+サポニン	ISCOM、 ISCOMATRIX

別表 3. がんワクチンと感染症予防ワクチンの差異

	感染症予防ワクチン	がんワクチン
使用目的	感染又は発症予防。	治療。
投与対象者	原則として健常人。	がん患者。
ワクチン投与のリスクとベネフィット	リスク（安全性）が重視される。	疾患により生命維持が脅かされる場合が多く、ベネフィット（有効性）が重視される。
投与回数	単回又は少数回。	少数回から最大で生涯。
宿主免疫の状態	免疫抑制状態にはない。	腫瘍による局所又は全身性の免疫抑制状態にある。
ワクチンの免疫原性とオン・ターゲット毒性	標的が異種抗原であり、免疫原性は高い。原則としてヒト正常組織への交差反応性は無い。	多くの標的は自己抗原であり、免疫原性は低い。ヒト正常組織への交差反応の可能性はある。
目的とする免疫応答の種別	主として液性免疫。	主として細胞性免疫。

以上