

【原著・臨床】

成人を対象とした ASP7374 (組換えインフルエンザ HA ワクチン) の第 I/II 相試験

岩田 敏¹⁾・加藤 研一²⁾・大泉 由紀²⁾・草分 知弘²⁾・大川 澄人²⁾・坂谷 泰史²⁾¹⁾ 慶應義塾大学医学部感染症学教室*²⁾ アステラス製薬株式会社開発本部

(平成 27 年 6 月 29 日受付・平成 27 年 11 月 17 日受理)

新規インフルエンザワクチンである ASP7374 を健康成人に皮下 (2 用量) または筋肉内 (1 用量) に単回接種した時の免疫原性および安全性を比較し、臨床推奨用量を検討した。20 歳以上 50 歳未満の成人男女を対象とし、ASP7374 15 μ g/株皮下接種群、45 μ g/株皮下接種群または 45 μ g/株筋肉内接種群のいずれかに 1:1:1 の比でランダムに被験者を割り付けた。筋肉内接種群は非盲検、皮下接種群は二重盲検とした。

免疫原性 [赤血球凝集阻止 (HI) 抗体価] について、治験薬接種により、いずれの接種群でもすべてのウイルス株 (A/H1N1, A/H3N2, B 株) で HI 抗体価の上昇が確認された。幾何平均抗体価増加倍率および抗体陽転率はいずれのウイルス株でも、45 μ g/株筋肉内接種群が最も高く、次いで 45 μ g/株皮下接種群、15 μ g/株皮下接種群の順であった。接種 28 日後の抗体保有率はいずれの接種群でもほぼ 100% であった。有害事象の発現割合は、45 μ g/株筋肉内接種群 (43.6%) に比べ 15 μ g/株皮下接種群 (60.0%) および 45 μ g/株皮下接種群 (65.5%) でやや高く、局所反応および全身性反応も同様であった。局所反応および全身性反応のほとんどは、接種後 2 日以内に発現し、事象発現から 8 日以内に消失した。以上より、ASP7374 接種による免疫原性が確認され、インフルエンザ予防ワクチンとして問題ない安全性を有すると考えられた。また、臨床推奨用量は ASP7374 45 μ g/株皮下接種または 45 μ g/株筋肉内接種であると考えられた。

Key words: influenza, HA vaccine, phase I/II study, adult

ASP7374 は、米国 Protein Sciences Corporation (PSC) で開発された組換えインフルエンザ HA ワクチンであり、ヘムアグルチニン (HA) 遺伝子由来の組換えたん白質を、昆虫細胞を用いた組換えたん白質製造技術を用いて発現、精製したものである¹⁾。

米国では PSC が開発を進め、2013 年 1 月に 18 歳以上 50 歳未満の成人、2014 年 10 月に 50 歳以上において筋肉内接種 45 μ g/株の承認を取得している (米国での登録商標: Flublok[®])。

国内では、健康成人を対象に ASP7374 の皮下接種 2 用量および筋肉内接種 1 用量での免疫原性および安全性を比較し、ASP7374 の臨床推奨用量を検討することを目的とした試験を計画した。以下に、その成績を報告する。

なお、本試験は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令 (GCP)、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドラインおよび適応される法律および規制に従って実施された。

I. 対象および方法

本試験の治験実施依頼者はアステラス製薬株式会社

(東京都、日本) であり、2011 年 6 月から 10 月に医療機関 1 施設で実施した (ClinicalTrials.gov 登録番号 NCT 01393951)。

1. 対象

組み入れ条件として、20 歳以上 50 歳未満の健康成人男女を対象とした。

また、免疫原性および安全性の評価に影響を及ぼす可能性がある、以下のような被験者を除外した。すなわち、試験参加期間中に別のワクチン接種予定がある被験者、スクリーニング検査前 180 日以内にインフルエンザ HA ワクチンの接種を受けた被験者、治験薬接種前 28 日以内に生ワクチンの接種を受けたまたは接種予定のある被験者、治験薬接種前 7 日以内に不活化ワクチン・トキシイドの接種を受けたまたは接種予定のある被験者、過去に免疫不全の診断をされた被験者、近親者 (3 親等以内) に先天性免疫不全症の患者がいる被験者、本剤の免疫原性評価に影響を及ぼすと考えられる薬剤 (免疫抑制剤等) または療法を受けた被験者、食物や医薬品に対するアレルギーの既往がある被験者、前回の予防接種 (インフルエ

*東京都新宿区信濃町 35

ンザワクチンおよびその他のワクチン) で接種後 2 日以内に 39.0°C 以上の発熱があった被験者、けいれん、ギラン・バレー症候群、急性散在性脳脊髄炎の既往がある被験者、治験薬接種前 7 日間以内に上部消化器症状を発現した被験者および肝疾患、心臓病、呼吸器疾患、消化器疾患、腎疾患、脳血管障害、悪性腫瘍の既往または合併がある被験者は除外した。

2. 被験者の同意

被験者からの同意は、実施医療機関の治験審査委員会で承認された被験者への説明文書および同意書を用いて、あらゆる治験に関連する行為の開始前に文書にて取得された。

3. 試験薬剤

1) 被験薬

ASP7374 は 1 バイアル中 (0.5 mL) にインフルエンザウイルス由来の組換え HA (A/H1N1, A/H3N2 および B 株) をおのおの 45 µg/株含有する。

2) ワクチン製造株

ASP7374 のワクチン製造株は A/ソロモン諸島/03/2006 (A/H1N1), A/ウイスコンシン/67/2005 (A/H3N2) および B/マレーシア/2506/2004 を使用した。

3) 割り付け

ASP7374 15 µg/株皮下接種群, 45 µg/株皮下接種群または 45 µg/株筋肉内接種群のいずれかに 1:1:1 の比でランダムに被験者を割り付けた。

4) 盲検下の手順

筋肉内接種群は非盲検とし、皮下接種群 (15 µg/株皮下接種群または 45 µg/株皮下接種群) は二重盲検とした。なお、本試験では、割り付け責任者および被験者に治験薬を接種する医師 (治験薬接種者) は盲検化の対象外とした。

割り付け責任者は、被験者への治験薬接種に立ち会い、盲検性が確保されていることを確認した。治験薬接種は、治験実施医療機関外の医師が担当し、被験者への接種以外に当該試験にかかわらなかった。治験薬接種者は、割り付け責任者の立ち合いの下、ランダム割り付け表に従い、被験者に治験薬を接種した。

4. 接種方法および接種期間

同意取得後、治験薬接種前にスクリーニング検査を実施し適格性を確認した。適格と判断された被験者はランダム化され、15 µg/株皮下接種群には ASP7374 0.17 mL を皮下に、45 µg/株皮下接種群には 0.5 mL を皮下に、45 µg/株筋肉内接種群には 0.5 mL を筋肉内に単回接種した。

5. 併用禁止薬および併用禁止療法

有害事象に対する治療を除き、併用治療 (治験薬以外の薬剤の使用および療法) を禁止した。

6. 調査項目

1) 被験者背景

スクリーニング期間中または治験薬接種前に性別、年齢、既往症、合併症、身長、体重、体格指数 (BMI) を調査した。

2) 免疫原性

ASP7374 を単回接種した時の治験薬接種前および接種 28 日後 (±3 日) に採血した検体を用いて、A/H1N1, A/H3N2 および B 株に対する HI 抗体価を Cincinnati Children's Hospital Medical Center (Ohio 州, 米国) で測定した。HI 抗体価測定方法の概要は以下のとおりである。測定に供する血清検体を、非特異的赤血球凝集抑制因子を除去するため、Receptor Destroying Enzyme で処理した後、初期希釈倍率 1:10 から、2 倍段階希釈により抗体価を測定した。HI 試験において、抗原はワクチン製造株に対応するバキュロウイルス発現組換え HA たん白質を用い、赤血球は七面鳥由来赤血球を用いた。

3) 安全性

接種 28 日後までに発現した有害事象、臨床検査およびバイタルサインを調査した。有害事象のうち、治験薬との関連性が否定できない事象を副反応とした。また、有害事象のうち、接種 7 日後までに発現したワクチン接種に伴う事前に定義した事象を局所反応および全身性反応とした。局所反応は、疼痛、挫傷 (皮下出血)、紅斑/発赤、硬結、腫脹、そう痒、熱感、全身性反応は嘔気、嘔吐、下痢、頭痛、倦怠感、筋肉痛、悪寒、関節痛、アレルギー反応、発熱と定義した。局所反応および全身性反応は、被験者日誌を用いて調査し、被験者日誌の情報を基に医師が医学的判断を加えて有害事象として評価した。

7. 評価方法および基準

1) 免疫原性

免疫原性は HI 抗体価における抗体陽転率、接種 28 日後の抗体保有率、幾何平均抗体価および幾何平均抗体価増加倍率を評価した。抗体陽転率は①接種前の抗体価が 10 未満で接種 28 日後の抗体価が 40 以上、あるいは②接種前の抗体価が 10 以上で接種後の抗体価が接種前と比較して 4 倍以上に上昇した被験者の割合、抗体保有率は抗体価が 40 以上の被験者の割合、幾何平均抗体価増加倍率は接種前後の抗体価増加倍率の幾何平均値とした。

本試験は免疫原性の評価基準として、欧州医薬品庁 (EMA) ガイドラインの基準 (EMA 基準)²⁾を用いた (Table 1)。

2) 有害事象

有害事象は、治験薬との関連性の有無にかかわらず、治験薬を接種された被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごとと定義した。有害事象の症状の程度は、「軽度」「中等度」「高度」「生命を脅かす可能性」の 4 段階で判定した。また、治験薬との因果関係は、「否定で

Table 1. EMA criteria for immunogenicity

| Age | Seroconversion | Seroprotection | GMT ratio |
|-------------|----------------|----------------|-----------|
| 18–60 years | >40% | >70% | >2.5 |
| ≥61 years | >30% | >60% | >2.0 |

GMT: geometric mean titer

きる]「関連あるかもしれない」「多分（おそらく）関連あり」の3段階で判定し、「関連あるかもしれない」または「多分（おそらく）関連あり」のいずれかに該当したものを、「治験薬との関連性が否定できない有害事象（副反応）」と定義した。なお、臨床検査値およびバイタルサインの異常は有害事象として評価した。

8. 症例の取り扱いと開鍵

筋肉内接種群は非盲検とし、皮下接種群（15 μ g/株皮下接種群、45 μ g/株皮下接種群）は二重盲検下で実施した。すべての被験者の観察・評価が完了した後に、解析上の症例の取り扱いについて、医学専門家等の意見および助言を参考として症例検討を行い決定した。統計解析計画書を最終化し、すべてのデータを固定した後に、割り付け情報を開鍵した。

9. 統計解析

1) 解析対象集団

治験薬を接種され、接種後の免疫原性評価が1つ以上ある被験者を Full analysis set (FAS) とした。FASのうち、組み入れ基準を満たし、併用禁止薬あるいは併用禁止療法が使用されなかった被験者を Per protocol set (PPS) とした。さらに、治験薬を接種された被験者を安全性解析対象集団 (SAF) とした。免疫原性の主要な解析は PPS を、安全性の解析は SAF を対象とした。

2) 被験者背景

SAF を対象として、接種群別に度数集計または要約統計量の算出を行った。有意水準 5% とし、 χ^2 乗検定または分散分析を用いて、群間比較を事後的に行った。

3) 免疫原性

A/H1N1, A/H3N2 および B 株について、抗体陽転率の点推定値および両側 95% 信頼区間を接種群別に算出した。A/H1N1, A/H3N2 および B 株について、抗体保有率の点推定値および両側 95% 信頼区間を接種群別に算出した。HI 抗体価の幾何平均値を幾何平均抗体価、治験薬接種前に対する接種 28 日後の抗体価の比の幾何平均値を幾何平均抗体価増加倍率とし、A/H1N1, A/H3N2 および B 株について、治験薬接種前と接種 28 日後の幾何平均抗体価および幾何平均抗体価増加倍率（接種 28 日後/治験薬接種前）の点推定値および両側 95% 信頼区間を接種群別に算出した。幾何平均抗体価の点推定値および両側 95% 信頼区間は、抗体価を対数変換し、その平均値、両側 95% 信頼下限値および上限値を逆対数変換して算出した。また、幾何平均抗体価増加倍率の点推定値

Table 2. Disposition of subjects

| | Number of subjects |
|---|--------------------|
| Informed consent | 269 |
| Randomized | 165 |
| Not randomized | 104 |
| Not eligible for inclusion/exclusion criteria | 45 |
| Withdrawal of consent | 6 |
| Other reason | 53 |
| Treated | 165 |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 55 |
| Completed | 164 |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 54 |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 55 |
| Discontinued | 1 |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 0 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 1 ^a |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 0 |

IM: intramuscular injection, SC: subcutaneous injection

^a: Withdrawal of consent

と両側 95% 信頼区間は、抗体価増加倍率を対数変換し、その平均値、両側 95% 信頼下限値および上限値を逆対数変換して算出した。有意水準 5% とし、Fisher の直接確率検定または対数変換値に対する t 検定を用いて群間比較（15 μ g/株皮下接種群 vs. 45 μ g/株皮下接種群、45 μ g/株皮下接種群 vs. 45 μ g/株筋肉内接種群）を事後的に行った。

4) 安全性

有害事象、副反応の発現例数および発現割合を集計した。また、局所反応および全身性反応、局所反応および全身性反応以外の有害事象の発現例数および発現割合を算出した。各群の発現割合の両側 95% 信頼区間、発現割合の群間差と両側 95% 信頼区間（45 μ g/株皮下接種群 – 15 μ g/株皮下接種群、45 μ g/株筋肉内接種群 – 45 μ g/株皮下接種群）を事後的に算出した。

II. 結 果

1. 症例の内訳

本試験では 165 名がランダム化され、治験薬を接種された (Table 2)。治験薬接種後に、45 μ g/株皮下接種群の 1 名が同意の撤回のために中止となり、164 名が試験を完了した。治験薬を接種されたすべての被験者を SAF とし、試験を途中で中止した 1 名を治験薬接種後の免疫原性データがまったくないために PPS および FAS から除外した (Table 3)。

2. 被験者背景

接種群ごとの年齢の平均値は 32.2~34.2 歳、体重の平均値は 57.41~58.03 kg、BMI の平均値は 20.92~21.53 kg/m²であった (Table 4)。既往症を有する被験者はいなかった。また、全体で 39 名の被験者が合併症を有していたが、いずれも季節性アレルギー（花粉症）またはアレ

ルギー性鼻炎であった。

3. 免疫原性評価

1) 幾何平均抗体価および幾何平均抗体価増加倍率

治験薬接種前および接種 28 日後の HI 抗体価の幾何平均抗体価は、A/H1N1 株で 15 μ g/株皮下接種群がそれぞれ 118.24, 386.59, 45 μ g/株皮下接種群が 160.00, 615.82, 45 μ g/株筋肉内接種群が 193.29, 813.15, A/H3N2 株で 15 μ g/株皮下接種群が 32.70, 164.08, 45 μ g/株皮下接種群が 29.77, 253.98, 45 μ g/株筋肉内接種群が 27.06, 396.46, B 株で 15 μ g/株皮下接種群が 102.93, 198.23, 45 μ g/株皮下接種群が 114.60, 263.96, 45 μ g/株筋肉内接種群が 94.24, 251.86 であった (Table 5)。接種 28 日後の幾何平均抗体価は、いずれの接種群でもすべてのウイルス株 (A/H1N1, A/H3N2, B 株) について HI 抗体価の上昇が確認された。接種群ごとの幾何平均抗体

価増加倍率は、15 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群で、A/H1N1 株がそれぞれ 3.27, 3.85, 4.21, A/H3N2 株がそれぞれ 5.02, 8.53, 14.65, B 株がそれぞれ 1.93, 2.30, 2.67 であった。

2) 抗体陽転率

15 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株筋肉内接種群の抗体陽転率は、A/H1N1 株がそれぞれ 41.8%, 44.4%, 49.1%, A/H3N2 株がそれぞれ 50.9%, 74.1%, 87.3%, B 株がそれぞれ 21.8%, 27.8%, 36.4% であった (Table 5)。

3) 抗体保有率

15 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株筋肉内接種群の接種 28 日後の抗体保有率は、A/H1N1 株がいずれも 100%, A/H3N2 株がそれぞれ 92.7%, 100%, 100%, B 株がそれぞれ 98.2%, 100%, 100% であり、いずれの接種群もすべてのウイルス株ではほぼ 100% の抗体保有率が得られた (Table 5)。

4. 安全性評価

1) 有害事象の概要

有害事象の発現割合は、15 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群でそれぞれ 60.0%, 65.5%, 43.6%, 副反応の発現割合はそれぞれ 60.0%, 61.8%, 43.6%, 局所反応および全身性反応の発現割合はそれぞれ 58.2%, 61.8%, 43.6% であった (Table 6)。また、試験期間中に死亡、重篤な有害事象はみられなかった。

(1) 有害事象

接種群合計で発現割合が 10% 以上であった有害事象は、紅斑 (30.9%), 疼痛 (18.8%), 熱感 (15.8%), 腫脹 (15.2%), そう痒症 (13.3%) であった (Table 7)。

Table 3. Analysis set

| Analysis set | Number of subjects |
|------------------------------|--------------------|
| PPS | |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 54 |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 55 |
| FAS | |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 54 |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 55 |
| SAF | |
| ASP7374 15 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain SC | 55 |
| ASP7374 45 μ g/strain IM | 55 |

FAS: full analysis set, IM: intramuscular injection, PPS: per protocol set, SAF: safety analysis set, SC: subcutaneous injection

Table 4. Characteristics of subjects (SAF)

| Characteristic | ASP7374 | | | Total (N = 165) | Test χ^2 : P value |
|--------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|----------------------------|
| | 15 μ g/strain SC (N = 55) | 45 μ g/strain SC (N = 55) | 45 μ g/strain IM (N = 55) | | |
| | Number of subjects (%) | | | | |
| Sex | | | | | |
| Male | 28 (50.9) | 26 (47.3) | 30 (54.5) | 84 (50.9) | 0.748 |
| Female | 27 (49.1) | 29 (52.7) | 25 (45.5) | 81 (49.1) | |
| Age (year) | | | | | |
| 20 to 29 | 18 (32.7) | 22 (40.0) | 25 (45.5) | 65 (39.4) | 0.572 |
| 30 to 39 | 19 (34.5) | 17 (30.9) | 12 (21.8) | 48 (29.1) | |
| 40 to 49 | 18 (32.7) | 16 (29.1) | 18 (32.7) | 52 (31.5) | |
| | Mean \pm SD | | | ANOVA: P value | |
| Age (year) | 34.2 \pm 8.67 | 32.9 \pm 8.96 | 32.2 \pm 9.89 | NC | 0.517 |
| Height (cm) | 164.22 \pm 8.566 | 165.10 \pm 8.668 | 163.83 \pm 8.936 | NC | 0.736 |
| Weight (kg) | 57.53 \pm 9.670 | 57.41 \pm 9.677 | 58.03 \pm 8.769 | NC | 0.934 |
| BMI (kg/m ²) | 21.23 \pm 2.402 | 20.92 \pm 1.995 | 21.53 \pm 1.997 | NC | 0.333 |

BMI: body mass index, IM: intramuscular injection, NC: not calculated, SAF: safety analysis set, SC: subcutaneous injection

χ^2 : chi-square test, ANOVA: analysis of variance

Table 5. HI antibody titer (PPS)

| Endpoint Virus type | ASP7374 | | | Test (15 µg/strain SC vs. 45 µg/strain SC) | Test (45 µg/strain SC vs. 45 µg/strain IM) |
|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|--|--|
| | 15 µg/strain SC (N = 55) | 45 µg/strain SC (N = 54) | 45 µg/strain IM (N = 55) | | |
| GMT | | | | | |
| | GM (95% CI) | | | t: P value | |
| A/H1N1 | | | | | |
| Pre | 118.24 (86.75, 161.17) | 160.00 (109.99, 232.75) | 193.29 (134.42, 277.95) | NC | NC |
| Post | 386.59 (290.72, 514.07) | 615.82 (469.58, 807.60) | 813.15 (641.52, 1,030.70) | 0.019 | 0.124 |
| A/H3N2 | | | | | |
| Pre | 32.70 (22.37, 47.78) | 29.77 (21.32, 41.58) | 27.06 (20.34, 36.01) | NC | NC |
| Post | 164.08 (121.36, 221.85) | 253.98 (182.45, 353.56) | 396.46 (297.19, 528.89) | 0.053 | 0.044 |
| B | | | | | |
| Pre | 102.93 (78.71, 134.61) | 114.60 (86.26, 152.25) | 94.24 (71.62, 124.02) | NC | NC |
| Post | 198.23 (154.86, 253.74) | 263.96 (208.36, 334.39) | 251.86 (207.25, 306.07) | 0.096 | 0.759 |
| GMT ratio (Post/Pre) | | | | | |
| | GM (95% CI) | | | t: P value | |
| A/H1N1 | 3.27 (2.40, 4.46) | 3.85 (2.61, 5.67) | 4.21 (2.97, 5.97) | 0.510 | 0.733 |
| A/H3N2 | 5.02 (3.51, 7.19) | 8.53 (5.84, 12.46) | 14.65 (10.05, 21.35) | 0.044 | 0.045 |
| B | 1.93 (1.55, 2.39) | 2.30 (1.77, 2.99) | 2.67 (2.10, 3.40) | 0.290 | 0.403 |
| Seroconversion rate | | | | | |
| | % (95% CI) | | | Fisher: P value | |
| A/H1N1 | 41.8 (28.7, 55.9) | 44.4 (30.9, 58.6) | 49.1 (35.4, 62.9) | 0.848 | 0.702 |
| A/H3N2 | 50.9 (37.1, 64.6) | 74.1 (60.3, 85.0) | 87.3 (75.5, 94.7) | 0.017 | 0.094 |
| B | 21.8 (11.8, 35.0) | 27.8 (16.5, 41.6) | 36.4 (23.8, 50.4) | 0.512 | 0.413 |
| Seroprotection rate (Post) | | | | | |
| | % (95% CI) | | | Fisher: P value | |
| A/H1N1 | 100.0 (93.5, 100.0) | 100.0 (93.4, 100.0) | 100.0 (93.5, 100.0) | NC | NC |
| A/H3N2 | 92.7 (82.4, 98.0) | 100.0 (93.4, 100.0) | 100.0 (93.5, 100.0) | 0.118 | NC |
| B | 98.2 (90.3, 100.0) | 100.0 (93.4, 100.0) | 100.0 (93.5, 100.0) | 1.000 | NC |

CI: confidence interval, GM: geometric mean, GMT: geometric mean titer, IM: intramuscular injection, NC: not calculated,

PPS: per protocol set, SC: subcutaneous injection

Pre: before vaccination, Post: 28 days postvaccination

t: t-test for log titer or titer ratio, Fisher: Fisher's exact test

(2) 局所反応および全身性反応

発現割合が10%以上であった局所反応および全身性反応は、15 µg/株皮下接種群では紅斑/発赤(40.0%)、そう痒(18.2%)、熱感(12.7%)、腫脹(12.7%)、45 µg/株皮下接種群では紅斑/発赤(50.9%)、熱感(30.9%)、腫脹(30.9%)、そう痒(20.0%)、疼痛(12.7%)、頭痛(10.9%)、

45 µg/株筋肉内接種群では疼痛(34.5%)であった(Table 8)。挫傷、嘔吐、関節痛、アレルギー反応は発現しなかった。ほとんどの局所反応および全身性反応は治験薬接種日から接種2日後までに発現しており、接種3日後以降に初めて局所反応および全身性反応が発現したのは15 µg/株皮下接種群の1名のみであった。局所反応およ

Table 6. Overview of the adverse events (SAF)

| | ASP7374 | | | | | |
|--|---------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------|--|--|
| | 15 µg/strain SC (N = 55) | 45 µg/strain SC (N = 55) | 45 µg/strain IM (N = 55) | Total (N = 165) | 45 µg/strain SC - 15 µg/ strain SC | 45 µg/strain IM - 45 µg/ strain SC |
| | Number of subjects (%) [95% CI] | | | | Difference [95% CI] | |
| Adverse events | 33 (60.0) [45.9, 73.0] | 36 (65.5) [51.4, 77.8] | 24 (43.6) [30.3, 57.7] | 93 (56.4) | 5.5 [- 12.6, 23.5] | - 21.8 [- 40.0, - 3.7] |
| Drug-related adverse events | 33 (60.0) [45.9, 73.0] | 34 (61.8) [47.7, 74.6] | 24 (43.6) [30.3, 57.7] | 91 (55.2) | 1.8 [- 16.4, 20.1] | - 18.2 [- 36.5, 0.2] |
| Local or systemic reactions | 32 (58.2) [44.1, 71.3] | 34 (61.8) [47.7, 74.6] | 24 (43.6) [30.3, 57.7] | 90 (54.5) | 3.6 [- 14.7, 21.9] | - 18.2 [- 36.5, 0.2] |
| Local reactions | 27 (49.1) [35.4, 62.9] | 32 (58.2) [44.1, 71.3] | 21 (38.2) [25.4, 52.3] | 80 (48.5) | 9.1 [- 9.5, 27.7] | - 20.0 [- 38.3, - 1.7] |
| Systemic reactions | 14 (25.5) [14.7, 39.0] | 11 (20.0) [10.4, 33.0] | 6 (10.9) [4.1, 22.2] | 31 (18.8) | - 5.5 [- 21.1, 10.2] | - 9.1 [- 22.5, 4.3] |
| | Number of subjects (%) | | | | | |
| Death | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Serious adverse event | 0 | 0 | 0 | 0 | | |
| Adverse events other than local or systemic reactions | 4 (7.3) | 3 (5.5) | 2 (3.6) | 9 (5.5) | | |
| Drug-related adverse events other than local or systemic reactions | 2 (3.6) | 0 | 0 | 2 (1.2) | | |

CI: confidence interval, IM: intramuscular injection, SAF: safety analysis set, SC: subcutaneous injection

Difference: difference in incidence

Table 7. Number and percentage of subjects with adverse events (SAF)

| | ASP7374 | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|
| | 15 µg/strain SC (N = 55) | 45 µg/strain SC (N = 55) | 45 µg/strain IM (N = 55) | Total (N = 165) |
| | Number of subjects (%) | | | |
| Any adverse events | 33 (60.0) | 36 (65.5) | 24 (43.6) | 93 (56.4) |
| Erythema | 22 (40.0) | 28 (50.9) | 1 (1.8) | 51 (30.9) |
| Pain | 5 (9.1) | 7 (12.7) | 19 (34.5) | 31 (18.8) |
| Feeling hot | 7 (12.7) | 17 (30.9) | 2 (3.6) | 26 (15.8) |
| Swelling | 7 (12.7) | 17 (30.9) | 1 (1.8) | 25 (15.2) |
| Pruritus | 10 (18.2) | 11 (20.0) | 1 (1.8) | 22 (13.3) |
| Headache | 5 (9.1) | 6 (10.9) | 4 (7.3) | 15 (9.1) |
| Diarrhoea | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 12 (7.3) |
| Malaise | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 1 (1.8) | 9 (5.5) |
| Induration | 1 (1.8) | 1 (1.8) | 2 (3.6) | 4 (2.4) |
| Nausea | 1 (1.8) | 0 | 2 (3.6) | 3 (1.8) |
| Nasopharyngitis | 1 (1.8) | 0 | 1 (1.8) | 2 (1.2) |
| Pyrexia | 0 | 1 (1.8) | 1 (1.8) | 2 (1.2) |
| Palpitations | 1 (1.8) | 0 | 0 | 1 (0.6) |
| Periodontitis | 1 (1.8) | 0 | 0 | 1 (0.6) |
| Chills | 1 (1.8) | 0 | 0 | 1 (0.6) |
| Gastroenteritis | 1 (1.8) | 0 | 0 | 1 (0.6) |
| Pharyngitis | 0 | 1 (1.8) | 0 | 1 (0.6) |
| Upper respiratory tract infection | 0 | 1 (1.8) | 0 | 1 (0.6) |
| Enteritis infectious | 0 | 1 (1.8) | 0 | 1 (0.6) |
| Myalgia | 0 | 1 (1.8) | 0 | 1 (0.6) |
| Blood creatine phosphokinase increased | 0 | 0 | 1 (1.8) | 1 (0.6) |

IM: intramuscular injection, SAF: safety analysis set, SC: subcutaneous injection

び全身性反応の持続期間は、いずれの接種群でも大半が 1~5 日間であり、15 µg/株皮下接種群の 1 名 (処置なし

で接種 28 日後までに回復)を除き、事象発現から 8 日以内に回復した。

Table 8. Number and percentage of subjects with local or systemic reactions (SAF)

| | ASP7374 | | | |
|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------------------|
| | 15 μ g/strain SC (N = 55) | 45 μ g/strain SC (N = 55) | 45 μ g/strain IM (N = 55) | Total (N = 165) |
| | Number of subjects (%) | | | |
| Any local or systemic reactions | 32 (58.2) | 34 (61.8) | 24 (43.6) | 90 (54.5) |
| Local reactions | 27 (49.1) | 32 (58.2) | 21 (38.2) | 80 (48.5) |
| Erythema/redness | 22 (40.0) | 28 (50.9) | 1 (1.8) | 51 (30.9) |
| Local pain | 5 (9.1) | 7 (12.7) | 19 (34.5) | 31 (18.8) |
| Feeling hot | 7 (12.7) | 17 (30.9) | 2 (3.6) | 26 (15.8) |
| Swelling | 7 (12.7) | 17 (30.9) | 1 (1.8) | 25 (15.2) |
| Pruritus | 10 (18.2) | 11 (20.0) | 1 (1.8) | 22 (13.3) |
| Induration | 1 (1.8) | 1 (1.8) | 2 (3.6) | 4 (2.4) |
| Systemic reactions | 14 (25.5) | 11 (20.0) | 6 (10.9) | 31 (18.8) |
| Headache | 5 (9.1) | 6 (10.9) | 4 (7.3) | 15 (9.1) |
| Diarrhea | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 12 (7.3) |
| Fatigue | 4 (7.3) | 4 (7.3) | 1 (1.8) | 9 (5.5) |
| Nausea | 1 (1.8) | 0 | 2 (3.6) | 3 (1.8) |
| Fever | 0 | 1 (1.8) | 1 (1.8) | 2 (1.2) |
| Chills | 1 (1.8) | 0 | 0 | 1 (0.6) |
| Muscle pain | 0 | 1 (1.8) | 0 | 1 (0.6) |

IM: intramuscular injection, SAF: safety analysis set, SC: subcutaneous injection

III. 考 察

現在、国内で用いられている季節性インフルエンザワクチンは、インフルエンザウイルス株を発育鶏卵で増殖させたのち、精製、濃縮したウイルスをエーテル処理にて分解し、脂質成分を除去したスプリットワクチンであり、一般に HA ワクチンと呼ばれている³⁾。

一方、ASP7374 は、インフルエンザウイルスの HA たん白質の全長遺伝子を組換え技術によりバキュロウイルスに挿入後、ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) 由来の *expresSF* + 細胞に感染させ、培養することにより発現させた HA たん白質をクロマトグラフィーなどにより精製して製造されるサブユニットワクチンである。

現行の季節性インフルエンザワクチンは、前述のように、発育鶏卵を使用してウイルスを増殖させるため、ワクチンの製造量は、発育鶏卵の供給量に依存し、スケールアップするには、発育鶏卵の増産から再計画が必要で、急な増産には対応が困難である。そのため、2009 年の A/H1N1 のような、ひとたびパンデミックインフルエンザが発生し、パンデミック用のワクチン製造に多くの発育鶏卵が使用された場合、そのシーズンの季節性のワクチン製造に支障を来すことが想定される。また、発育鶏卵を使用したワクチン製造方法のもう一つの課題は、ワクチン製造に使用するウイルスを発育鶏卵に馴化しなければ製造できず、その過程で抗原変異を起こす可能性があることである⁴⁾。

よって、ASP7374 のように昆虫細胞を用いることで発育鶏卵に依存せず効率よく大量に製造でき、抗原変異を起こしにくい特徴をもつ、組換えインフルエンザ HA

ワクチンの開発が望まれている。

ASP7374 は、PSC が米国において、孵化鶏卵三価不活化インフルエンザ HA ワクチンとの比較試験や、成人を対象とした発症予防効果を確認する試験等を実施した⁵⁻⁸⁾。これらの試験で良好な成績が得られたため、国内でも開発を進めることとした。

本試験は組換え HA インフルエンザワクチンとして、初めて日本人に接種された試験であり、健康成人を対象に ASP7374 の皮下接種 2 用量および筋肉内接種 1 用量での免疫原性および安全性を比較し、ASP7374 の臨床推奨用量を検討した。ASP7374 の接種用量として 15 μ g/株皮下接種、45 μ g/株皮下接種、45 μ g/株筋肉内接種を設定した。海外で実施された ASP7374 の臨床試験⁵⁻⁸⁾の接種経路は、いずれも筋肉内接種として実施されている。一方、国内における従来のインフルエンザワクチンの接種経路は皮下接種である。そこで、海外での臨床推奨用量である 45 μ g/株の各接種経路別の免疫原性を比較検討する目的で、皮下接種群および筋肉内接種群を設定した。また、15 μ g/株については、国内で一般的に使用されている接種経路での用量反応関係を検討する目的で、皮下接種とした。本試験における ASP7374 のワクチン製造株について、海外試験成績と探索的な比較を行うために、米国の 2007/2008 年インフルエンザシーズン株である、A/ソロモン諸島/03/2006 (A/H1N1)、A/ウイスコンシン/67/2005 (A/H3N2) および B/マレーシア/2506/2004 を使用した。

免疫原性 (HI 抗体価) について、幾何平均抗体価増加倍率は、15 μ g/株皮下接種群、45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群で、A/H1N1 株ではそれぞれ

3.27, 3.85 および 4.21, A/H3N2 株ではそれぞれ 5.02, 8.53 および 14.65, B 株ではそれぞれ 1.93, 2.30 および 2.67 であった。幾何平均抗体価増加倍率は、いずれの接種群でも A/H1N1 および B 株に比べ A/H3N2 株で高く、接種群間の比較では、いずれのウイルス株でも、45 μ g/株筋肉内接種群, 45 μ g/株皮下接種群, 15 μ g/株皮下接種群の順に高かった。幾何平均抗体価増加倍率について、A/H1N1 および A/H3N2 株ではいずれの接種群も EMA 基準²⁾(幾何平均抗体価増加倍率>2.5)を満たし、B 株では、45 μ g/株筋肉内接種群は基準を満たしたが、15 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株皮下接種群は満たさなかった。

抗体陽転率は、15 μ g/株皮下接種群, 45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群で、A/H1N1 株ではそれぞれ 41.8%, 44.4% および 49.1%, A/H3N2 株ではそれぞれ 50.9%, 74.1% および 87.3%, B 株ではそれぞれ 21.8%, 27.8% および 36.4% であった。抗体陽転率は、いずれの接種群でも A/H3N2, A/H1N1, B 株の順に高く、接種群間の比較では、いずれのウイルス株でも、45 μ g/株筋肉内接種群, 45 μ g/株皮下接種群, 15 μ g/株皮下接種群の順に高かった。抗体陽転率について、A/H1N1 および A/H3N2 株ではいずれの接種群においても、EMA 基準(抗体陽転率>40%)を満たし、B 株ではいずれの接種群も満たさなかった。

接種 28 日後の抗体保有率は、A/H1N1 株ではすべての接種群で 100%, A/H3N2 株では 15 μ g/株皮下接種群で 92.7%, 45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群で 100%, B 株では 15 μ g/株皮下接種群で 98.2%, 45 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株筋肉内接種群で 100% であり、いずれの接種群もすべてのウイルス株でほぼ 100% の抗体保有率が得られた。抗体保有率について、いずれの接種群でもすべてのウイルス株で、EMA 基準(抗体保有率>70%)を満たした。

本試験の結果、A/H1N1 および A/H3N2 株では、いずれの接種群も各免疫原性評価項目(幾何平均抗体価増加倍率, 抗体陽転率, 抗体保有率)について、EMA 基準を満たした。しかし、B 株では 15 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株皮下接種群の幾何平均抗体価増加倍率が EMA 基準を満たさず、すべての接種群で抗体陽転率について EMA 基準を満たさなかった。

HI 抗体価の上昇について、接種前抗体価が高い被験者は、低い被験者と比較して HI 抗体価の上昇程度が低く、抗体価の頭打ち現象が認められるとの報告がある^{9,10)}。本試験は 2011 年に実施したが、ワクチン製造株は比較的古い、米国の 2007/2008 年インフルエンザシーズン株を使用しており、過去のウイルスへの曝露や不顕性感染などの影響により、B 株の治験薬接種前幾何平均抗体価が高く、抗体応答の頭打ち現象が認められた可能性が考えられた。一方、A/H1N1 株も B 株同様に治験薬接種前幾何

平均抗体価が高く、頭打ち現象があると考えられるが、B 株よりも幾何平均抗体価増加倍率および抗体陽転率は高かった。すなわち、A/H1N1 株は B 株よりも抗体反応が高かったため、EMA 基準を満たした可能性がある。一般に、B 株は A 株と比較して抗体反応が低いとの報告があり^{9,11)}、本試験においても B 株の幾何平均抗体価増加倍率、抗体陽転率はすべての接種群において A/H1N1 および A/H3N2 株と比べて低く、B 株は抗体反応が低い可能性が考えられた。本試験は少数例を用いた第 I/II 相試験であることから、ASP7374 の B 株に対する免疫原性については、多数例を用いた第 III 相試験での課題の一つと考えられる。

本試験での有害事象の発現割合は、45 μ g/株筋肉内接種群に比べ 15 μ g/株皮下接種群および 45 μ g/株皮下接種群でやや高かった。局所反応および全身性反応の発現割合も同様であった。比較的多く発現した局所反応および全身性反応は、紅斑/発赤、疼痛、熱感、腫脹、そう痒、頭痛、下痢および倦怠感であり、紅斑/発赤、熱感、腫脹、そう痒および倦怠感の発現割合は皮下接種群で高く、疼痛の発現割合は筋肉内接種群で高かった。ほとんどの局所反応および全身性反応は治験薬接種日から接種 2 日後までに発現しており、接種 3 日後以降に初めて発現した局所反応および全身性反応は少なかった。局所反応および全身性反応の持続期間は、いずれの接種群でも大半が 1~5 日間であり、15 μ g/株皮下接種群の 1 名を除き、事象発現から 8 日以内に回復した。臨床検査およびバイタルサインでは、臨床的に問題と考えられる異常はみられなかった。以上より、本剤はインフルエンザ予防ワクチンとして安全性に問題はないと考えられた。

以上、本試験で得られた免疫原性および安全性の結果から、ASP7374 の臨床推奨用量は 45 μ g/株皮下接種または 45 μ g/株筋肉内接種と考えられた。

謝 辞

本試験の実施に際し、ご参加いただいた下記施設の治験責任医師の先生に深謝いたします(敬称略、治験実施時の所属)。

医療法人相生会博多クリニック 白源正成

利益相反自己申告：本論文の作成においては株式会社サン・フレア野田隆洋が執筆の一部を補佐し、その費用はアステラス製薬株式会社が負担した。岩田敏は ASP7374 の医学専門家としての役割を担いアステラス製薬株式会社より委託料が提供されている。加藤研一、大泉由紀、草分知弘、大川澄人、坂谷泰史はアステラス製薬株式会社の社員である。

文 献

- 1) Cox M M, Hollister J R: FluBlok, a next generation influenza vaccine manufactured in insect cells. *Biologicals* 2009; 37: 182-9
- 2) EMA/Committee for Proprietary Medicinal Prod-

- ucts (CPMP): Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines. CPMP/BWP/214/96, 12 Mar 1997
- 3) 庵原俊昭：パンデミックインフルエンザワクチン—プロトタイプワクチンと2009インフルエンザA/H1N1ワクチン—。臨と微生物 2010; 37: 49-55
 - 4) 板村繁之：インフルエンザワクチン。化療の領域 2009; 25: 21-6
 - 5) Treanor J J, Schiff G M, Hayden F G, Brady R C, Hay C M, Meyer A L, et al: Safety and immunogenicity of a baculovirus-expressed hemagglutinin influenza vaccine: a randomized controlled trial. JAMA 2007; 297: 1577-82
 - 6) Keitel W A, Treanor J J, El Sahly H M, Gilbert A, Meyer A L, Patriarca P A, et al: Comparative immunogenicity of recombinant influenza hemagglutinin (rHA) and trivalent inactivated vaccine (TIV) among persons $>$ or $=$ 65 years old. Vaccine 2009; 28: 379-85
 - 7) Treanor J J, El Sahly H, King J, Graham I, Izikson R, Kohberger R, et al: Protective efficacy of a trivalent recombinant hemagglutinin protein vaccine (FluBlok[®]) against influenza in healthy adults: a randomized, placebo-controlled trial. Vaccine 2011; 29: 7733-9
 - 8) Baxter R, Patriarca P A, Ensor K, Izikson R, Goldenthal K L, Cox M M: Evaluation of the safety, reactogenicity and immunogenicity of FluBlok[®] trivalent recombinant baculovirus-expressed hemagglutinin influenza vaccine administered intramuscularly to healthy adults 50–64 years of age. Vaccine 2011; 29: 2272-8
 - 9) Hirota Y, Kaji M, Ide S, Goto S, Oka T: The hemagglutination inhibition antibody responses to an inactivated influenza vaccine among healthy adults: with special reference to the prevaccination antibody and its interaction with age. Vaccine 1996; 14: 1597-602
 - 10) Seidman J C, Richard S A, Viboud C, Miller M A: Quantitative review of antibody response to inactivated seasonal influenza vaccines. Influenza Other Respir Viruses 2012; 6: 52-62
 - 11) Camilloni B, Neri M, Lepri E, Basileo M, Sigismondi N, Puzelli S, et al: An influenza B outbreak during the 2007/2008 winter among appropriately immunized elderly people living in a nursing home. Vaccine 2010; 28: 7536-41

A phase I/II clinical study on ASP7374 (recombinant influenza hemagglutinin vaccine) in Japanese adults

Satoshi Iwata¹⁾, Kenichi Kato²⁾, Yuki Oizumi²⁾,
Tomohiro Kusawake²⁾, Sumito Ohkawa²⁾ and Taishi Sakatani²⁾

¹⁾ Department of Infectious Diseases, Keio University School of Medicine, 35 Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo, Japan

²⁾ Global Development, Astellas Pharma Inc.

The immunogenicity and safety of a single subcutaneous injection (2 dose regimens) and intramuscular injection (1 dose regimen) of a new influenza vaccine, ASP7374, were compared in this clinical study among healthy adults to determine a clinically recommended dose.

Adult healthy males and females (age range: 20–49 years) were randomly allocated to one of the following groups in a 1 : 1 : 1 ratio: group 1, a single subcutaneous injection of ASP7374 15 μ g/strain; group 2, a single subcutaneous injection of ASP7374 45 μ g/strain; or group 3, a single intramuscular injection of ASP7374 45 μ g/strain. Subjects were treated under open label conditions with intramuscular injections and double-blinded conditions with subcutaneous injection.

The geometric mean hemagglutination-inhibition (HI) antibody titer 28 days postvaccination was higher than that at baseline in all treatment groups among the strains (A/H1N1, A/H3N2, and B strain). The geometric mean HI antibody titer ratio (postvaccination/baseline) and seroconversion rate were highest with the intramuscular injection of ASP7374 45 μ g/strain with any vaccine strain, followed by the subcutaneous injection of ASP7374 45 μ g/strain and 15 μ g/strain. All of the treatment groups had nearly 100% seroprotection rate 28 days postvaccination. The proportion of subjects with adverse events was higher in the subcutaneous injection groups (60.0% in the ASP7374 15 μ g/strain group and 65.5% in the 45 μ g/strain group) than in the intramuscular injection group (43.6%). A similar tendency was observed for local and systemic reactions. Most of the local/systemic reactions occurred within 2 days of administering the injections, and they resolved within 8 days of onset. In conclusion, the ASP7374 influenza vaccine injection had adequate immunogenicity and a well-tolerated safety profile. The subcutaneous injection of ASP7374 45 μ g/strain and intramuscular injection of ASP7374 45 μ g/strain appeared to be the clinically recommended doses.