

【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
三価孵化鶏卵ワクチンを対照とした第 III 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⁾・朝比奈誠太郎²⁾・永井 英明³⁾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³⁾ 国立病院機構東京病院呼吸器センター

(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 を単回皮下接種した時の免疫原性について、三価孵化鶏卵不活化インフルエンザワクチン (ETIV) を対照に、二重盲検群間比較法により非劣性を検証した。また、安全性についても検討した。20 歳以上 65 歳未満の成人男女を対象とし、ASP7374 45 μ g/株または ETIV 15 μ g/株を皮下に単回接種した。

免疫原性 [赤血球凝集阻止 (HI) 抗体価] について、事前に定義した非劣性に関する基準を満たし、ASP7374 の ETIV に対する免疫原性の非劣性が検証された。また、ASP7374 は中和抗体価の結果からも、ETIV に劣らない免疫原性が示唆された。ASP7374 接種で発現した有害事象は ETIV 接種と同程度であった。また、ASP7374 接種で発現し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 45 μ g/株の皮下接種は、既存のインフルエンザワクチンに劣らない免疫原性をもち、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。

Key words: influenza, HA vaccine, phase III 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⁾。ASP7374 は、孵化鶏卵を用いた製造方法とは異なる方法で製造されることから、現行のインフルエンザワクチンのいくつかの課題を改善することが期待される。

インフルエンザは、インフルエンザウイルスが気道粘膜の上皮細胞に感染することによって起こる急性呼吸器感染症である。インフルエンザの症状は、突然の 38°C を超える発熱、頭痛、関節痛、筋肉痛に加え、鼻汁、咽頭痛、咳等の上気道炎症症状が特徴的で、全身倦怠感等の全身症状を伴う。健康なヒトではおよそ 1 週間で回復するが、肺炎を併発し、最悪の場合には死にいたることもある²⁾。そのためインフルエンザワクチンを接種することで、死亡や重篤な合併症のリスクを軽減することが必要とされている。インフルエンザ対策においては、ハイリスク群と呼ばれる小児および高齢者などが予防または治療の対象として優先順位が高いとされている。しかし、インフルエンザは飛沫感染や空気感染により感染が拡大することが知られており、家族内感染も含めた周囲への感染拡大予防の

観点からも、成人に対するインフルエンザ予防は重要であると考えられる。

ASP7374 について、米国では PSC が開発しているが、接種経路は筋肉内接種が用いられている³⁻⁶⁾。一方、国内においては、既承認の不活化季節性インフルエンザワクチンはすべて皮下接種であり、ASP7374 についても皮下接種での開発を計画した。これまで、国内第 I/II 相試験において、皮下接種 45 μ g/株での免疫原性が期待される結果が得られたため、今回、成人を対象に ETIV との免疫原性に関する非劣性試験を計画した。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、多施設共同試験として 2013 年 9 月から 11 月に 5 施設の医療機関で実施した (Clinical-Trials.gov 登録番号 NCT01961947)。

*東京都新宿区信濃町 35

1. 対象

組み入れ条件として、年齢は20歳以上65歳未満の健康な被験者または既往歴・合併症の状態が医学的に安定していると判断された被験者とし、性別は不問とした。

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℃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、治験薬接種前にインフルエンザの確定診断がされた被験者および治験薬接種前に発熱性疾患(37.5℃以上)または急性疾患に罹患した被験者、肝疾患、腎疾患、呼吸器系疾患、血液疾患または発育障害を合併する被験者および心臓病、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) 対照薬

ETIVは1バイアル中(1 mL)にインフルエンザウイルス由来のHA(A/H1N1, A/H3N2およびB株)をおのおの30 μg/株以上含有する。なお、本試験に使用した対照薬はデンカ生研株式会社より提供を受けた。

3) ワクチン製造株

ASP7374およびETIVのワクチン製造株は、本試験を実施した2013/2014年インフルエンザシーズンの国内インフルエンザワクチン製造株であるA/カリフォルニア/7/2009(A/H1N1), A/テキサス/50/2012(A/H3N2)およびB/マサチューセッツ/2/2012を使用した。

4) 割り付け

ASP7374群またはETIV群のいずれかに1:1の比で

ランダムに被験者を割り付けた。割り付けの結果は被験者、治験実施者(医師等)、治験実施依頼者のいずれにも知らされず、試験期間をとおして盲検性を維持した。

5) 盲検化の手順(識別不能性)

本試験では、ASP7374およびETIVのバイアルが識別可能なため、治験薬をシリンジに充填した状態での外観の識別不能性によって、盲検性を確保した。手順としては、非盲検担当者が治験薬をシリンジに充填し、識別不能な状態にしたうえで、治験薬を接種する医師に手渡した。

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、ASP7374(45 μg/株)(ASP7374群)またはETIV(15 μg/株)(ETIV群)0.5 mLを皮下に単回接種した。

5. 併用禁止薬および併用禁止療法

本剤の免疫原性および安全性の評価に影響を与える可能性のある薬剤および療法として、試験期間中は不活化ワクチン・トキシイド、インターフェロン製剤、免疫抑制剤等の免疫系に作用する薬剤、全身性コルチコステロイド、吸入コルチコステロイド製剤、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、マクロファージコロニー刺激因子(M-CSF)、生ワクチン、ヒト免疫グロブリン製剤、血液製剤、輸血、ヒト免疫グロブリン製剤の大量療法(200 mg/kg以上)、季節性インフルエンザHAワクチンおよびパンデミックインフルエンザHAワクチンの併用を禁止した。

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またはETIVを単回接種した時のA/H1N1, A/H3N2およびB株に対するHI抗体価および中和抗体価を、治験薬接種前および接種28日後に採血した検体を用いて測定した。

HI抗体価は中央検査施設として、三菱化学メディエンス株式会社(東京都, 日本)で測定した。採取した血清検体を、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、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。抗原はワクチン製造株に対応するパキユロウイルス発現組換えHAたん白質を用い、赤血球はモルモット由来赤血球を用いた。

中和抗体価は中央検査施設として、Southern Research Institute(Alabama州, 米国)で測定した。血清検体を1:10から2倍段階希釈し、ウイルス液[鶏卵培養ウイルス]を加えたウイルス液-血清検体混合液にMadin-

Table 1. Criteria for immunogenicity

FDA criteria for noninferiority of immunogenicity (need to satisfy both criteria)			
<ul style="list-style-type: none"> ・ ≤ 1.5 of the upper limit of two-sided 95% CI for the postvaccination GMT ratio (ETIV/ASP7374) ・ $\leq 10\%$ of the upper limit of two-sided 95% CI for the seroconversion rate difference (ETIV - ASP7374) 			
FDA criteria for immunogenicity			
Age			
< 65 years	<ul style="list-style-type: none"> ・ $\geq 40\%$ of the lower limit of two-sided 95% CI for the seroconversion rate ・ $\geq 70\%$ of the lower limit of two-sided 95% CI for the postvaccination seroprotection rate 		
≥ 65 years	<ul style="list-style-type: none"> ・ $\geq 30\%$ of the lower limit of two-sided 95% CI for the seroconversion rate ・ $\geq 60\%$ of the lower limit of two-sided 95% CI for the postvaccination seroprotection rate 		
EMA criteria for immunogenicity			
Age	Seroconversion	Seroprotection	GMT ratio
18-60 years	>40%	>70%	>2.5
≥ 61 years	>30%	>60%	>2.0

CI: confidence interval, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, GMT: geometric mean titer

Darby canine kidney (MDCK) 細胞を加えて培養した。その後、ELISA により中和抗体価を測定した。

3) 安全性

接種 28 日後までに発現した有害事象を調査した。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、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

主要評価項目は、HI 抗体価の幾何平均抗体価(接種 28 日後)および抗体陽転率とした。

副次評価項目は、HI 抗体価の抗体保有率(接種 28 日後)および幾何平均抗体価増加倍率、中和抗体価の抗体陽転率、抗体保有率(接種 28 日後)、幾何平均抗体価(接種 28 日後)および幾何平均抗体価増加倍率とした。

なお、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 28 日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。

免疫原性 (HI 抗体価) の評価基準について、ETIV に対する非劣性の評価基準として、FDA ガイドラインの非劣性に関する基準 (非劣性に関する FDA 基準⁷⁾を用いて評価した。また、各免疫原性評価項目について欧州医薬品庁 (EMA) ガイドラインの基準 (EMA 基準⁸⁾お

よび FDA ガイドラインの免疫原性に関する基準 (免疫原性に関する FDA 基準⁷⁾を用いた評価も行った (Table 1)。なお、EMA 基準には高齢者 (61 歳以上) および非高齢者 (60 歳以下) の 2 つの基準がある。本試験の対象被験者集団の年齢は 20~64 歳であり、EMA 基準の高齢者および非高齢者両方を含む集団であるが、一括してより厳しい非高齢者の基準で評価した。

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、「否定できる」「関連あるかもしれない」「たぶん関連あり」の 3 段階で判定し、「関連あるかもしれない」または「たぶん関連あり」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。

8. 症例の取り扱いと開鍵

本試験は、ASP7374 または ETIV の区別が不可能な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薬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。

Table 2. Disposition of subjects

	Number of subjects
Informed consent	1,116
Randomized	900
Not randomized	216
Not eligible for inclusion/exclusion criteria	101
Withdrawal of consent	34
Other reason	81
Treated	900
ASP7374	448
ETIV	452
Completed	898
ASP7374	447
ETIV	451
Discontinued	2
ASP7374	1 ^a
ETIV	1 ^b

ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine

a: Withdrawal of consent, b: Adverse event

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、Fisherの直接確率検定またはt検定を用いて、群間比較を事後的に行った。

3) 免疫原性

主要な解析として、HI抗体価の幾何平均抗体価および抗体陽転率について、PPSで接種28日後のHI抗体価の幾何平均抗体価の群間比とその両側95%信頼区間および抗体陽転率の群間差とその両側95%信頼区間を算出し、非劣性に関するFDA基準を用いて非劣性を検証した。また、主要評価の副次的な解析として、FASでも主要な解析と同様の解析を行った。また、HI抗体価の幾何平均抗体価について、治験薬接種前および接種28日後の点推定値およびその両側95%信頼区間を接種群別に算出した。さらに、HI抗体価の抗体陽転率について、点推定値およびその両側95%信頼区間を接種群別に算出した。副次評価項目の解析として、HI抗体価の抗体保有率について、治験薬接種前および接種28日後の点推定値およびその両側95%信頼区間を接種群別に算出し、接種28日後の群間差とその両側95%信頼区間を算出した。HI抗体価の幾何平均抗体価増加倍率(接種28日後/治験薬接種前)について、点推定値およびその両側95%信頼区間を接種群別に算出し、群間比とその両側95%信頼区間を算出した。また、中和抗体価の抗体陽転率、抗体保有率、幾何平均抗体価、幾何平均抗体価増加倍率についても、HI抗体価と同様の解析を行った。幾何平均抗体価の点推定値および両側95%信頼区間は、対数変換した抗体価の平均値、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。幾何平均抗体価の群間比および両側95%信頼区間は、対数変換した抗体価の群間差、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

Table 3. Analysis set

Analysis set	Number of subjects (%)
PPS	
ASP7374	447 (99.8)
ETIV	451 (99.8)
FAS	
ASP7374	447 (99.8)
ETIV	451 (99.8)
SAF	
ASP7374	448 (100.0)
ETIV	452 (100.0)

ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, FAS:

full analysis set, PPS: per protocol set, SAF: safety analysis set

ASP7374: N = 448, ETIV: N = 452

た。幾何平均抗体価増加倍率についても、幾何平均抗体価と同様に算出した。

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。発現割合の両側95%信頼区間を事後的に算出した。

II. 結 果

1. 症例の内訳

本試験では、900名(ASP7374群448名、ETIV群452名)がランダム化され、治験薬を接種された(Table 2)。ASP7374群では、治験薬接種後に1名が同意の撤回で中止となり、447名が試験を完了した。ETIV群では治験薬接種後に1名が有害事象で中止となり、451名が試験を完了した。ASP7374群およびETIV群で各1名を「接種後の免疫原性データなし」の理由でPPSおよびFASから除外した(Table 3)。また、治験薬を接種されたすべての被験者をSAFとした。

2. 被験者背景

性別の割合は、ASP7374群で男性が50.2%、女性が49.8%、ETIV群で男性が48.9%、女性が51.1%であった(Table 4)。年齢の平均値はASP7374群が40.6歳、ETIV群が40.8歳、身長平均値はASP7374群が163.93 cm、ETIV群が164.19 cm、体重の平均値はASP7374群が60.43 kg、ETIV群が60.58 kg、BMIの平均値はASP7374群が22.37 kg/m²、ETIV群が22.35 kg/m²、既往症がある被験者の割合はASP7374群が0.9%、ETIV群が1.8%、合併症がある被験者の割合はASP7374群が12.1%、ETIV群が12.2%であった。

3. 免疫原性評価

1) 主要評価項目

(1) HI抗体価の幾何平均抗体価の群間比

接種28日後のHI抗体価の幾何平均抗体価は、ASP7374群およびETIV群で、A/H1N1株では368.50および192.11、A/H3N2株では306.40および127.84、B株で

Table 4. Characteristics of subjects (SAF)

Characteristic	ASP7374 (N = 448)	ETIV (N = 452)	Total (N = 900)	Test
	Number of subjects (%)			Fisher: P value
Sex				
Male	225 (50.2)	221 (48.9)	446 (49.6)	0.739
Female	223 (49.8)	231 (51.1)	454 (50.4)	
Age (year)				
20 to 49	321 (71.7)	325 (71.9)	646 (71.8)	0.941
50 to 64	127 (28.3)	127 (28.1)	254 (28.2)	
Medical history				
No	444 (99.1)	444 (98.2)	888 (98.7)	0.385
Yes	4 (0.9)	8 (1.8)	12 (1.3)	
Concomitant disease				
No	394 (87.9)	397 (87.8)	791 (87.9)	1.000
Yes	54 (12.1)	55 (12.2)	109 (12.1)	
		Mean \pm SD		t: P value
Age (year)	40.6 \pm 12.9	40.8 \pm 12.9	NC	0.870
Height (cm)	163.93 \pm 8.79	164.19 \pm 8.65	NC	0.656
Weight (kg)	60.43 \pm 12.23	60.58 \pm 11.66	NC	0.858
BMI (kg/m ²)	22.37 \pm 3.46	22.35 \pm 3.23	NC	0.944

BMI: body mass index, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, NC: not calculated, SAF: safety analysis set
Fisher: Fisher's exact test, t: t-test

Table 5. Primary endpoints: HI antibody titer and response rate (PPS)

	ASP7374 (N = 447)	ETIV (N = 451)	
GMT			
Virus type	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1			
Pre	45.92 (41.96, 50.25)	51.15 (46.69, 56.04)	NC
Post	368.50 (332.87, 407.93)	192.11 (173.41, 212.83)	0.52 (0.45, 0.60)
A/H3N2			
Pre	31.11 (27.95, 34.63)	36.03 (32.13, 40.40)	NC
Post	306.40 (280.06, 335.22)	127.84 (115.10, 141.99)	0.42 (0.36, 0.48)
B			
Pre	92.41 (82.82, 103.11)	89.09 (80.95, 98.04)	NC
Post	366.22 (338.81, 395.84)	222.99 (205.82, 241.60)	0.61 (0.54, 0.68)
Seroconversion rate			
Virus type	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	83.0 (79.2, 86.4)	52.3 (47.6, 57.0)	-30.7 (-36.4, -24.9)
A/H3N2	79.6 (75.6, 83.3)	45.5 (40.8, 50.2)	-34.2 (-40.1, -28.3)
B	56.2 (51.4, 60.8)	35.9 (31.5, 40.5)	-20.2 (-26.6, -13.8)

CI: confidence interval, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, GM: geometric mean, GMT: geometric mean titer, NC: not calculated, PPS: per protocol set

Difference: ETIV - ASP7374, Ratio: ETIV/ASP7374, Pre: before vaccination, Post: 28 days postvaccination

は 366.22 および 222.99 であり、いずれの接種群でも接種前に比べ抗体価が上昇した (Table 5)。

ETIV 群の ASP7374 群に対する接種 28 日後の幾何平均抗体価の群間比 (ETIV/ASP7374) [95% 信頼区間] は、A/H1N1 株では 0.52 [0.45, 0.60]、A/H3N2 株では 0.42 [0.36, 0.48]、B 株では 0.61 [0.54, 0.68] であり、すべてのウイルス株で事前に定義した非劣性に関する FDA 基準を満たした。また、すべてのウイルス株で群間比の両側 95% 信頼区間は 1 を含まなかった。

(2) HI 抗体価の抗体陽転率の群間差

接種 28 日後の HI 抗体価の抗体陽転率は、ASP7374 群および ETIV 群で、A/H1N1 株で 83.0% および 52.3%、A/H3N2 株で 79.6% および 45.5%、B 株では 56.2% および 35.9% であった (Table 5)。

ASP7374 群および ETIV 群の抗体陽転率の群間差 (ETIV - ASP7374) [95% 信頼区間] は、A/H1N1 株では -30.7 [-36.4, -24.9]、A/H3N2 株では -34.2 [-40.1, -28.3]、B 株では -20.2 [-26.6, -13.8] であ

Table 6. Secondary endpoints (HI antibody titer) (PPS)

Endpoints Virus type	ASP7374 (N = 447)	ETIV (N = 451)	
GMT ratio (Post/Pre)	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1	8.02 (7.30, 8.82)	3.76 (3.38, 4.17)	0.47 (0.41, 0.54)
A/H3N2	9.85 (8.73, 11.11)	3.55 (3.19, 3.94)	0.36 (0.31, 0.42)
B	3.96 (3.59, 4.37)	2.50 (2.29, 2.74)	0.63 (0.55, 0.72)
Seroconversion rate	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	83.0 (79.2, 86.4)	52.3 (47.6, 57.0)	-30.7 (-36.4, -24.9)
A/H3N2	79.6 (75.6, 83.3)	45.5 (40.8, 50.2)	-34.2 (-40.1, -28.3)
B	56.2 (51.4, 60.8)	35.9 (31.5, 40.5)	-20.2 (-26.6, -13.8)
Seroprotection rate (Post)	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	98.9 (97.4, 99.6)	96.7 (94.6, 98.1)	-2.2 (-4.1, -0.3)
A/H3N2	99.3 (98.1, 99.9)	89.1 (85.9, 91.9)	-10.2 (-13.2, -7.2)
B	99.6 (98.4, 99.9)	99.8 (98.8, 100.0)	0.2 (-0.5, 1.0)

CI: confidence interval, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, GM: geometric mean, GMT: geometric mean titer, PPS: per protocol set
Ratio: ETIV/ASP7374, Difference: ETIV - ASP7374, Pre: before vaccination, Post: 28 days postvaccination

り、すべてのウイルス株で事前に定義した非劣性に関する FDA 基準を満たした。また、すべてのウイルス株で群間差の両側 95% 信頼区間は 0 を含まなかった。

すべてのウイルス株で事前に定義した非劣性に関する FDA 基準 (幾何平均抗体価, 抗体陽転率) を満たし, ASP 7374 の ETIV に対する免疫原性に関する非劣性が検証された。

2) 副次評価項目

(1) HI 抗体価の抗体保有率

接種 28 日後の HI 抗体価の抗体保有率は, ASP7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 98.9% および 96.7%, A/H3N2 株では 99.3% および 89.1%, B 株では 99.6% および 99.8% であり, すべてのウイルス株でほぼ 100% の抗体保有率が得られた (Table 6)。

(2) HI 抗体価の幾何平均抗体価増加倍率 (接種 28 日後/治験薬接種前)

HI 抗体価の幾何平均抗体価増加倍率は, ASP7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 8.02 および 3.76, A/H3N2 株では 9.85 および 3.55, B 株では 3.96 および 2.50 であった (Table 6)。

(3) 中和抗体価の抗体陽転率

中和抗体価の抗体陽転率は, ASP7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 70.9% および 53.2%, A/H3N2 株では 73.2% および 52.5%, B 株では 45.4% および 31.9% であった (Table 7)。

(4) 中和抗体価の抗体保有率

接種 28 日後の中和抗体価の抗体保有率は, ASP7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 81.2% および 80.7%, A/H3N2 株では 99.3% および 96.7%, B 株では 79.2% および 67.8% であった (Table 7)。

(5) 中和抗体価の幾何平均抗体価

接種 28 日後の中和抗体価の幾何平均抗体価は, ASP

7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 170.24 および 119.57, A/H3N2 株では 770.89 および 455.11, B 株では 83.36 および 51.54 であり, いずれの接種群でも接種前に比べ抗体価が上昇した (Table 7)。

(6) 中和抗体価の幾何平均抗体価増加倍率

中和抗体価の幾何平均抗体価増加倍率は, ASP7374 群および ETIV 群で, A/H1N1 株では 12.29 および 7.63, A/H3N2 株では 11.05 および 5.10, B 株では 4.11 および 2.71 であった (Table 7)。

4. 安全性評価

1) 有害事象の概要

有害事象の発現割合は, ASP7374 群および ETIV 群でそれぞれ 60.9% および 59.5%, 副反応の発現割合は, それぞれ 59.2% および 57.7% であった (Table 8)。局所反応および全身性反応の発現割合は, ASP7374 群および ETIV 群でそれぞれ 59.2% および 57.5% であった。

試験期間中に重篤な有害事象が ETIV 群で 1 件 (皮膚剥脱) みられた。なお, この重篤な有害事象と治験薬との因果関係は否定された。また, 死亡にいたった有害事象はみられなかった。

(1) 有害事象

ASP7374 群で発現割合が 10% 以上であった有害事象は, 紅斑 (40.4%), 腫脹 (26.1%), 熱感 (25.9%), そう痒症 (20.8%), 疼痛 (20.3%) であった。ETIV 群で発現割合が 10% 以上であった有害事象は, 紅斑 (39.6%), 腫脹 (27.7%), 熱感 (25.9%), 疼痛 (21.2%), そう痒症 (16.4%) であった (Table 9)。

(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, ASP7374 群, ETIV 群ともに紅斑/発赤 (ASP 7374 群 40.4%, ETIV 群 39.6%), 腫脹 (ASP7374 群 26.1%, ETIV 群 27.7%), 熱感 (ASP7374 群 25.7%, ETIV 群

Table 7. Secondary endpoints (Neutralization antibody titer) (PPS)

Endpoints Virus type	ASP7374 (N = 447)	ETIV (N = 451)	
GMT	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1			
Pre	13.85 (12.30, 15.59)	15.66 (13.91, 17.64)	NC
Post	170.24 (145.72, 198.88)	119.57 (104.75, 136.49)	0.70 (0.57, 0.86)
A/H3N2			
Pre	69.79 (59.76, 81.51)	89.15 (76.21, 104.30)	NC
Post	770.89 (714.20, 832.08)	455.11 (410.81, 504.17)	0.59 (0.52, 0.67)
B			
Pre	20.28 (18.05, 22.79)	19.02 (17.12, 21.13)	NC
Post	83.36 (74.34, 93.46)	51.54 (46.36, 57.31)	0.62 (0.53, 0.72)
GMT ratio (Post/Pre)	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1	12.29 (10.66, 14.18)	7.63 (6.52, 8.94)	0.62 (0.50, 0.77)
A/H3N2	11.05 (9.58, 12.74)	5.10 (4.52, 5.76)	0.46 (0.38, 0.56)
B	4.11 (3.66, 4.62)	2.71 (2.43, 3.02)	0.66 (0.56, 0.77)
Seroconversion rate	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	70.9 (66.5, 75.1)	53.2 (48.5, 57.9)	-17.7 (-23.9, -11.5)
A/H3N2	73.2 (68.8, 77.2)	52.5 (47.8, 57.2)	-20.6 (-26.8, -14.4)
B	45.4 (40.7, 50.2)	31.9 (27.6, 36.5)	-13.5 (-19.8, -7.2)
Seroprotection rate (Post)	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	81.2 (77.3, 84.7)	80.7 (76.8, 84.3)	-0.5 (-5.6, 4.6)
A/H3N2	99.3 (98.1, 99.9)	96.7 (94.6, 98.1)	-2.7 (-4.5, -0.8)
B	79.2 (75.1, 82.9)	67.8 (63.3, 72.1)	-11.3 (-17.1, -5.6)

CI: confidence interval, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, GM: geometric mean, GMT: geometric mean titer, NC: not calculated, PPS: per protocol set

Ratio: ETIV/ASP7374, Difference: ETIV - ASP7374, Pre: before vaccination, Post: 28 days postvaccination

Table 8. Overview of adverse events (SAF)

	ASP7374 (N = 448)		ETIV (N = 452)	
	Number of subjects (%)	[95% CI]	Number of subjects (%)	[95% CI]
Adverse events	273 (60.9)	[56.2, 65.5]	269 (59.5)	[54.8, 64.1]
Drug-related adverse events	265 (59.2)	[54.4, 63.7]	261 (57.7)	[53.0, 62.3]
Local or systemic reactions	265 (59.2)	[54.4, 63.7]	260 (57.5)	[52.8, 62.1]
Local reactions	253 (56.5)	[51.7, 61.1]	245 (54.2)	[49.5, 58.9]
Systemic reactions	53 (11.8)	[9.0, 15.2]	64 (14.2)	[11.1, 17.7]
Adverse events other than local or systemic reactions	32 (7.1)	NC	34 (7.5)	NC
Drug-related adverse events other than local or systemic reactions	6 (1.3)	NC	3 (0.7)	NC
Death	0	NC	0	NC
Serious adverse event	0	NC	1 (0.2)	NC

CI: confidence interval, ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, NC: not calculated, SAF: safety analysis set

25.7%), そう痒 (ASP7374 群 20.8%, ETIV 群 16.4%) および疼痛 (ASP7374 群 20.3%, ETIV 群 21.2%) であった (Table 10)。いずれの接種群でも、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被験者は少なかった (ASP7374 群 7 名, ETIV 群 3 名)。局所反応および全身性反応の持続期間は、大半が 1~8 日間であった。ASP7374 群では、すべての事象が発現から 14 日以内に回復した。ETIV 群で 15

日以上持続した 1 名も、処置なしで接種 28 日後までに回復した。

III. 考 察

現在、国内で主に流通している季節性インフルエンザワクチンは、孵化鶏卵で増殖させたウイルスから製造されているが、この方法にはいくつかの課題が指摘されている。その 1 つは、孵化鶏卵ワクチン製造用のウイルスは、鶏卵で高増殖能を有している必要があるため、ウイルスを鶏卵に馴化させる必要があることである。この馴

Table 9. Number and percentage of subjects with adverse events (SAF)

	ASP7374	ETIV
	(N = 448)	(N = 452)
	Number of subjects (%)	
Any adverse events	273 (60.9)	269 (59.5)
Erythema	181 (40.4)	179 (39.6)
Swelling	117 (26.1)	125 (27.7)
Feeling hot	116 (25.9)	117 (25.9)
Pruritus	93 (20.8)	74 (16.4)
Pain	91 (20.3)	96 (21.2)
Headache	36 (8.0)	28 (6.2)
Malaise	24 (5.4)	33 (7.3)
Induration	24 (5.4)	27 (6.0)
Myalgia	13 (2.9)	11 (2.4)
Nasopharyngitis	13 (2.9)	10 (2.2)
Diarrhoea	11 (2.5)	16 (3.5)
Chills	6 (1.3)	8 (1.8)
Arthralgia	6 (1.3)	4 (0.9)
Pyrexia	4 (0.9)	4 (0.9)
Nausea	3 (0.7)	6 (1.3)
Upper respiratory tract inflammation	3 (0.7)	2 (0.4)
Contusion	2 (0.4)	0
Injection site bruising	1 (0.2)	2 (0.4)
Vomiting	1 (0.2)	1 (0.2)
Bronchitis	1 (0.2)	1 (0.2)
Gastroenteritis	1 (0.2)	1 (0.2)
Rash	1 (0.2)	1 (0.2)
Eye inflammation	1 (0.2)	0
Stomatitis	1 (0.2)	0
Viral rash	1 (0.2)	0
Enteritis infectious	1 (0.2)	0
Oral herpes	1 (0.2)	0
Decreased appetite	1 (0.2)	0
Back pain	1 (0.2)	0
Musculoskeletal stiffness	1 (0.2)	0
Dyspepsia	0	1 (0.2)
Cystitis	0	1 (0.2)
Pharyngitis streptococcal	0	1 (0.2)
Upper respiratory tract infection	0	1 (0.2)
Hypoaesthesia	0	1 (0.2)
Oropharyngeal pain	0	1 (0.2)
Skin exfoliation	0	1 (0.2)

ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, SAF: safety analysis set

化の過程でウイルスの遺伝子が変異を起こす可能性が示唆されており、その結果、孵化鶏卵ワクチン製造株と野生株の間に抗原性の違いが生じ、この違いが年ごとの有効率に影響していると考えられていることである^{9,10}。また、孵化鶏卵を用いた製造方法では、製造に約半年もの時間を要することや¹⁰、鶏卵での増殖性の問題からすべてのウイルス株で製造ができるわけではないという課題もあり、改善が望まれている。

上述のような課題に関して、ASP7374は、野生株のHA抗原全長遺伝子を基に製造されるため、基本的にはどのようなインフルエンザウイルスであっても製造可能であり、さらに野生株と同一のアミノ酸配列を有する組

Table 10. Number and percentage of subjects with local or systemic reactions (SAF)

	ASP7374	ETIV
	(N = 448)	(N = 452)
	Number of subjects (%)	
Any local or systemic reactions	265 (59.2)	260 (57.5)
Local reactions	253 (56.5)	245 (54.2)
Erythema/redness	181 (40.4)	179 (39.6)
Swelling	117 (26.1)	125 (27.7)
Feeling hot	115 (25.7)	116 (25.7)
Pruritus	93 (20.8)	74 (16.4)
Local pain	91 (20.3)	96 (21.2)
Induration	24 (5.4)	27 (6.0)
Systemic reactions	53 (11.8)	64 (14.2)
Headache	31 (6.9)	23 (5.1)
Fatigue	21 (4.7)	31 (6.9)
Muscle pain	12 (2.7)	11 (2.4)
Diarrhoea	9 (2.0)	15 (3.3)
Chills	4 (0.9)	6 (1.3)
Joint pain	3 (0.7)	4 (0.9)
Nausea	2 (0.4)	6 (1.3)
Fever	2 (0.4)	2 (0.4)
Vomiting	1 (0.2)	1 (0.2)
Hypersensitivity	1 (0.2)	1 (0.2)

ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine, SAF: safety analysis set

換え HA を抗原として利用可能なため、野生株との反応性が低下する心配が少ないと想定される。また、ASP7374は、昆虫細胞を宿主細胞として組換え HA を効率よく大量かつ短期間に生産可能であり、安定的にインフルエンザワクチンを供給することができる新規のインフルエンザワクチンとして期待されている。

今回、われわれは、ASP7374の有用性を検討するために、国内インフルエンザワクチンとして主に流通している ETIV を対照に、免疫原性および安全性を比較検討した。

ASP7374の免疫原性は、HI抗体価および中和抗体価を指標として評価した。感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドライン¹¹によると、一般にワクチンの臨床評価においては、発症予防効果をエンドポイントとすることが望ましいとされているが、疾患の発生頻度が低い場合等は発症予防効果を有効性のエンドポイントとして検討することが困難なこともあり、発症予防効果との相関性が確立されている抗体価等をサロゲートエンドポイントとして評価することもあるとされている。

インフルエンザワクチンでは、これまでの長期的かつ多数例での使用経験から、発症予防効果と免疫原性の関係が知られており、HI抗体価がサロゲートエンドポイントとして使用されている。世界保健機構 (WHO) ガイドライン¹²によると、HI抗体価が40以上になるとインフルエンザ様症状の発症リスクを50%に抑えらる考えられており、FDA ガイドライン⁷では、HI抗体価が適切な

評価項目であるとされている。また、EMA[®]およびFDAガイドラインでは、HI抗体価の抗体陽転率、抗体保有率および幾何平均抗体価増加倍率が免疫原性の評価項目として推奨されている。そのため本試験ではHI抗体価の抗体陽転率、抗体保有率および幾何平均抗体価増加倍率を指標としてASP7374の免疫原性を評価することとし、主要評価の非劣性の検証には、ASP7374の海外試験でも使用されているFDAガイドラインの基準を使用した。また、HI抗体価に加え中和抗体価も評価項目として設定した。中和抗体価についてはHI抗体価のような国際的な評価基準が確立されていないが、インフルエンザの血清学的診断では、急性期と回復期の血清を採取し、抗体価が4倍以上上昇したことをもって陽性と判断されていることなどをふまえ¹³⁾、HI抗体価と同様の評価基準を用いて評価した。

本試験の免疫原性に関する主要評価項目では、A/H1N1、A/H3N2、B株のHI抗体価の免疫原性評価(幾何平均抗体価の群間比および抗体陽転率の群間差)で、ASP7374群はETIV群に対して、事前に定義した非劣性に関するFDA基準を満たし、ASP7374のETIVに対する免疫原性の非劣性が検証された。また、ASP7374はすべてのウイルス株で、HI抗体価のEMA基準(抗体陽転率、抗体保有率、幾何平均抗体価増加倍率)および免疫原性に関するFDA基準(抗体陽転率、抗体保有率)を満たした。ASP7374のB株は、国内第I/II相試験においてHI抗体価の幾何平均抗体価増加倍率および抗体陽転率がA/H1N1およびA/H3N2株と比べて低く、本試験においても同様であった。B株はA株と比較して抗体反応が低いとの報告があり^{14,15)}、B株のHI抗体価は上昇しにくい可能性が考えられたが、本試験では、ASP7374は、ETIVよりも高い免疫原性を示しており、HI抗体価のEMA基準および免疫原性に関するFDA基準を満たしたことから、十分な免疫を付与できると考えられた。さらに、ASP7374はすべてのウイルス株で、中和抗体価に関するすべての評価項目(抗体陽転率、抗体保有率、幾何平均抗体価、幾何平均抗体価増加倍率)で、ETIVより高かった。中和抗体価の結果からも、ETIVに劣らない免疫原性が示唆された。

本試験におけるASP7374の安全性については、有害事象、局所反応および全身性反応で評価した。一般の薬剤では、安全性に関して、局所反応および全身性反応を特別に収集することは少ないが、ワクチンは、一般の薬剤と異なり、接種による免疫獲得に際し、さまざまな反応が局所反応および全身性反応として発現することが知られている。そのため、インフルエンザワクチンの試験では、有害事象の評価に加え、局所反応および全身性反応の評価が重要な情報となる。本試験での有害事象および副反応の発現割合は、ASP7374とETIVの間で明らかな差異はみられなかった。ASP7374群およびETIV群と

もに、生命を脅かす有害事象はみられなかった。高度と判定された有害事象は、ASP7374群で、紅斑、腫脹および硬結、ETIV群で、紅斑、腫脹、硬結、下痢および皮膚剥脱であり、これらも両群間で明らかな差異はみられなかった。

局所反応および全身性反応の発現割合は、接種群間で明らかな差異はみられなかった。高度と判定された局所反応および全身性反応は、ASP7374群で、紅斑/発赤、腫脹および硬結、ETIV群で、紅斑/発赤、腫脹、硬結および下痢であり、両群間で明らかな差異はみられなかった。また、ASP7374群での局所反応および全身性反応の持続期間は、ほとんどが1~8日間であり、ETIV接種と同様に比較的短期間で回復した。これらの結果より、ASP7374接種で発現した有害事象には、ASP7374特有の事象はなく、ETIV接種で発現した事象と症状や発現割合ともに明らかな差異はないと考えられた。

以上、免疫原性および安全性の結果より、ASP7374は既存のインフルエンザワクチンに劣らない免疫原性および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、不活化ワクチンの接種経路として、筋肉内接種が皮下接種と比較して高い免疫原性を示すとの考えから、諸外国では筋肉内接種が推奨されているが、ASP7374は皮下接種においても高い免疫原性を示すことが確認された。

これらのことから、ASP7374は国内の季節性インフルエンザワクチンの新たな選択肢となることが期待される。

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皆様方に深謝いたします(敬称略、治験実施時の所属)。

医療法人相生会墨田病院 麦谷歩、医療法人社団信濃会左門町クリニック 山田浩和、医療法人相生会ピーエスクリニック 井上恵、医療法人相生会にしくまもと病院 米納誠、一般財団法人メディボリス医学研究財団シーピーシー治験病院 深瀬広幸

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。永井英明はASP7374の治験調整医師としての役割を担っている。加藤研一、大泉由紀、草分知弘、大川澄人、朝比奈誠太郎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) 長谷川秀樹：インフルエンザワクチン。化療の領域

- 2013; 29: 48-52
- 3) 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
 - 4) 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
 - 5) 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
 - 6) 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
 - 7) FDA/Center for Biologics Evaluation and Research (CBER): Guidance for industry: clinical data needed to support the licensure of seasonal inactivated influenza vaccines, May 2007
 - 8) EMA/Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP): Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines, CPMP/BWP/214/96, 12 Mar 1997
 - 9) 山本貴仁: 細胞培養インフルエンザワクチンの開発. *BIO Clinica* 2010; 25: 54-8
 - 10) 小田切孝人: インフルエンザワクチン株の選定法とワクチンが抱えている問題, 改善へ向けた将来展望. *小児科* 2012; 53: 1355-65
 - 11) 厚生労働省: 「感染症予防ワクチンの臨床試験ガイドライン」について, 平成 22 年 5 月 27 日付薬食審査発 0527 第 5 号
 - 12) WHO/Proposed Guidelines: regulatory preparedness for human pandemic influenza vaccines, Oct 2007
 - 13) 加藤真吾: インフルエンザウイルスの抗体価測定. *臨化* 2010; 39: 183-4
 - 14) 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
 - 15) 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

Comparison of the immunogenicity and safety of ASP7374 (cell culture-derived influenza vaccine) with the immunogenicity and safety of an approved egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine

Satoshi Iwata¹⁾, Kenichi Kato²⁾, Yuki Oizumi²⁾, Tomohiro Kusawake²⁾,
Sumito Ohkawa²⁾, Seitaro Asahina²⁾ and Hideaki Nagai³⁾

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

²⁾ Global Development, Astellas Pharma Inc.

³⁾ Center for Pulmonary Diseases, National Hospital Organization Tokyo National Hospital

The immunogenicity (noninferiority) and safety of a single subcutaneous injection of a new influenza vaccine, ASP7374, were compared with an egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine (ETIV) in this double-blinded clinical study. Adult healthy males and females (age range: 20–64 years) were assigned to a single injection of ASP7374 45 μ g/strain group or the ETIV 15 μ g/strain group.

The hemagglutination-inhibition (HI) antibody titer demonstrated that the immunogenicity of ASP7374 was not less than that of ETIV, satisfying the predefined noninferiority criteria. The neutralized antibody titer also suggested that the immunogenicity of ASP7374 was not less than that of ETIV. The frequency of adverse events with the ASP7374 injection was similar to that with the ETIV injection. Most of the local or systemic reactions in subjects who received the ASP7374 injection occurred within 2 days after administration, and they resolved within 8 days of onset.

In conclusion, the ASP7374 45 μ g/strain subcutaneous injection demonstrated noninferiority of immunogenicity to an approved influenza vaccine and had a well-tolerated safety profile.