

## 【原著・臨床】

高齢者を対象とした 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 相試験永井 英明<sup>1)</sup>・加藤 研一<sup>2)</sup>・大泉 由紀<sup>2)</sup>・草分 知弘<sup>2)</sup>  
大川 澄人<sup>2)</sup>・坂谷 泰史<sup>2)</sup>・岩田 敏<sup>3)</sup><sup>1)</sup> 国立病院機構東京病院呼吸器センター\*<sup>2)</sup> アステラス製薬株式会社開発本部<sup>3)</sup> 慶應義塾大学医学部感染症学教室

(平成 27 年 6 月 29 日受付・平成 28 年 1 月 5 日受理)

新規インフルエンザワクチンである ASP7374 を高齢者に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、非劣性の検証および安全性の検討を行った。65 歳以上の被験者に ASP7374 45  $\mu\text{g}$ /株または ETIV 15  $\mu\text{g}$ /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。ASP7374 接種での局所反応および全身性反応の発現時期はほとんどが接種後 3 日以内であり、いずれも短期間に消失した。

以上より、高齢者に対する ASP7374 45  $\mu\text{g}$ /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, elderly

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<sup>1)</sup>。

インフルエンザに罹患すると、高齢者では、入院を必要とするような肺炎、気管支炎等の重篤な疾患を合併し、死亡の危険性が数倍から数百倍にも増加するといわれており、ハイリスク群としてワクチン接種による予防の重要性がいられている<sup>2)</sup>。しかし、高齢者は一般に免疫応答が低下しており、成人と比較して抗体価があがりづらいことが知られており、既存のインフルエンザワクチンでは十分な免疫が付与されない可能性もある<sup>3)</sup>。よって、高齢者に対しても、高い免疫を付与することができる新しいワクチンが求められている。

国内において、既承認の不活化季節性インフルエンザワクチンの接種経路はすべて皮下接種のため、ASP7374 についても国内で一般的に使用されている皮下接種での開発を計画した。これまでに国内第 I/II 相試験において、皮下接種 45  $\mu\text{g}$ /株での免疫原性が期待される結果が得られたため、今回、ワクチン接種対象者として重要な 65 歳以上の成人男女を対象に

既承認の 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 2012 年 10 月から 12 月に 8 施設の実施医療機関で実施した (ClinicalTrials.gov 登録番号 NCT01767896)。

##### 1. 対象

組み入れ条件として、65 歳以上で歩行可能かつ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

\*東京都清瀬市竹丘 3-1-1

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2012/2013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/ビクトリア/361/2011(A/H3N2)およびB/ウイスコンシン/1/2010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)およびインフルエンザ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-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

Table 1. Criteria for immunogenicity

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

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

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），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<sup>4)</sup>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<sup>5)</sup>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<sup>4)</sup>を用いた評価も行った（Table 1）。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 65 歳以上であり，高齢者の EMA 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」「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。

## 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，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

Table 2. Disposition of subjects

	Number of subjects
Informed consent	1,268
Randomized	1,060
Not randomized	208
Not eligible for inclusion/exclusion criteria	137
Withdrawal of consent	23
Other reason	48
Treated	1,060
ASP7374	531
ETIV	529
Completed	1,058
ASP7374	529
ETIV	529
Discontinued	2
ASP7374	2 <sup>a</sup>
ETIV	0

ETIV: egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine

<sup>a</sup>: Withdrawal of consent

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。

Table 3. Analysis set

Analysis set	Number of subjects (%)
PPS	
ASP7374	527 (99.2)
ETIV	527 (99.6)
FAS	
ASP7374	529 (99.6)
ETIV	528 (99.8)
SAF	
ASP7374	531 (100.0)
ETIV	529 (100.0)

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

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

ASP7374: N = 531, ETIV: N = 529

## II. 結 果

### 1. 症例の内訳

本試験では、1,060 名 (ASP7374 群 531 名, ETIV 群 529 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 2 名が同意の撤回で中止となり、529 名が試験を完了した。ETIV 群では全 529 名が試験を完了した。ASP7374 群で 4 名 (「接種後の免疫原性データなし」1 名, 「併用禁止薬を使用」2 名, 「接種後の免疫原性データなしかつ併用禁止薬を使用」1 名), ETIV 群で 2 名 (「接種後の免疫原性データなし」, 「併用禁止薬を使用」各 1 名) を PPS から除外し, ASP7374 群で 2 名, ETIV 群で 1 名を「接種後の免疫原性データなし」の理由で 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 46.3%, 女性が 53.7%, ETIV 群で男性が 46.5%, 女性が 53.5% であった (Table 4)。年齢の平均値は ASP7374 群が 70.3 歳, ETIV 群が 69.9 歳、身長平均値は ASP7374 群が 157.94 cm, ETIV 群が 158.21 cm, 体重の平均値は ASP7374 群が 57.90 kg, ETIV 群が 58.30 kg, BMI の平均値は ASP7374 群が 23.13 kg/m<sup>2</sup>, ETIV 群が 23.20 kg/m<sup>2</sup>, 既往症がある被験者の割合は ASP7374 群が 3.0%, ETIV 群が 1.3%, 合併症がある被験者の割合は ASP7374 群が 54.4%, ETIV 群が 54.1% 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 173.14 および 91.37, A/H3N2 株では 188.59 および 112.77, B 株では 296.11 および 207.32 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 0.53 [0.47, 0.59], A/H3N2 株では 0.60

Table 4. Characteristics of subjects (SAF)

Characteristic	ASP7374 (N = 531)	ETIV (N = 529)	Total (N = 1,060)	Test
				Fisher: P value
Number of subjects (%)				
Sex				
Male	246 (46.3)	246 (46.5)	492 (46.4)	1.000
Female	285 (53.7)	283 (53.5)	568 (53.6)	
Age (year)				
65 to 74	445 (83.8)	467 (88.3)	912 (86.0)	0.041
≥75	86 (16.2)	62 (11.7)	148 (14.0)	
Medical history				
No	515 (97.0)	522 (98.7)	1,037 (97.8)	0.090
Yes	16 (3.0)	7 (1.3)	23 (2.2)	
Concomitant disease				
No	242 (45.6)	243 (45.9)	485 (45.8)	0.951
Yes	289 (54.4)	286 (54.1)	575 (54.2)	
Mean ± SD				t: P value
Age (year)	70.3 ± 3.8	69.9 ± 3.7	NC	0.064
Height (cm)	157.94 ± 8.32	158.21 ± 8.53	NC	0.597
Weight (kg)	57.90 ± 10.38	58.30 ± 10.28	NC	0.530
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.13 ± 3.23	23.20 ± 2.98	NC	0.714

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 = 527)	ETIV (N = 527)	
GMT			
Virus type	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1			
Pre	34.52 (32.54, 36.63)	33.32 (31.39, 35.36)	NC
Post	173.14 (158.87, 188.68)	91.37 (84.52, 98.76)	0.53 (0.47, 0.59)
A/H3N2			
Pre	20.29 (18.69, 22.03)	21.22 (19.46, 23.14)	NC
Post	188.59 (171.45, 207.45)	112.77 (101.27, 125.57)	0.60 (0.52, 0.69)
B			
Pre	70.23 (66.22, 74.49)	65.16 (61.37, 69.18)	NC
Post	296.11 (279.11, 314.14)	207.32 (195.75, 219.58)	0.70 (0.64, 0.76)
Seroconversion rate			
Virus type	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	72.1 (68.1, 75.9)	41.2 (36.9, 45.5)	-30.9 (-36.6, -25.2)
A/H3N2	81.8 (78.2, 85.0)	58.1 (53.7, 62.3)	-23.7 (-29.1, -18.4)
B	66.0 (61.8, 70.1)	51.4 (47.1, 55.8)	-14.6 (-20.5, -8.7)

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

[0.52, 0.69], B株では0.70 [0.64, 0.76]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72.1%および41.2%、A/H3N2株で81.8%および58.1%、B株では66.0%および51.4%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-30.9 [-36.6, -25.2], A/H3N2株では-23.7 [-29.1, -18.4], B株では-14.6 [-20.5, -8.7]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、

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

Endpoints Virus type	ASP7374 (N = 527)	ETIV (N = 527)	
GMT ratio (Post/Pre)	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1	5.02 (4.65, 5.41)	2.74 (2.56, 2.94)	0.55 (0.49, 0.61)
A/H3N2	9.29 (8.44, 10.24)	5.31 (4.77, 5.92)	0.57 (0.49, 0.66)
B	4.22 (3.93, 4.52)	3.18 (2.97, 3.41)	0.75 (0.68, 0.83)
Seroconversion rate	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	72.1 (68.1, 75.9)	41.2 (36.9, 45.5)	-30.9 (-36.6, -25.2)
A/H3N2	81.8 (78.2, 85.0)	58.1 (53.7, 62.3)	-23.7 (-29.1, -18.4)
B	66.0 (61.8, 70.1)	51.4 (47.1, 55.8)	-14.6 (-20.5, -8.7)
Seroprotection rate (Post)	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	97.9 (96.3, 99.0)	93.4 (90.9, 95.3)	-4.6 (-7.0, -2.1)
A/H3N2	95.4 (93.3, 97.1)	85.2 (81.9, 88.1)	-10.2 (-13.8, -6.7)
B	100.0 (99.3, 100.0)	100.0 (99.3, 100.0)	0.0 (-, -)

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

ASP7374 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 97.9% および 93.4%、A/H3N2 株では 95.4% および 85.2%、B 株では両群ともに 100.0% 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 5.02 および 2.74、A/H3N2 株では 9.29 および 5.31、B 株では 4.22 および 3.18 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 51.0% および 36.2%、A/H3N2 株では 74.8% および 56.9%、B 株では 58.3% および 56.9% 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 54.5% および 43.6%、A/H3N2 株では 99.1% および 96.2%、B 株では 89.9% および 87.1% 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、ASP7374 群および ETIV 群で、A/H1N1 株では 56.60 および 35.06、A/H3N2 株では 397.82 および 269.17、B 株では 152.67 および 133.41 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 7.14 および 4.19、A/H3N2 株では 8.40 および 5.62、B 株では 5.41 および 5.34 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 49.0% および 47.4%、副反応の発現割合は、それぞれ 46.0% および 45.0% 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 45.6% および 43.9% であった。

試験期間中に重篤な有害事象が ASP7374 群で 1 件 (背部痛) 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 群または ETIV 群で発現割合が 10% 以上であった有害事象は、紅斑 (ASP7374 群 32.0%、ETIV 群 33.3%)、そう痒症 (ASP7374 群 19.8%、ETIV 群 14.0%)、腫脹 (ASP7374 群 13.6%、ETIV 群 13.0%)、熱感 (ASP7374 群 12.2%、ETIV 群 14.9%) の 4 事象であった (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 (ASP7374 群 32.0%、ETIV 群 33.3%)、そう痒 (ASP7374 群 19.8%、ETIV 群 14.0%)、腫脹 (ASP7374 群 13.6%、ETIV 群 13.0%)、熱感 (ASP7374 群 12.2%、ETIV 群 14.9%) 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 3 日後に発現しており、接種 4 日後以降に初めて局所反応お

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

Endpoints Virus type	ASP7374 (N = 527)	ETIV (N = 527)	
GMT	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1			
Pre	7.93 (7.42, 8.49)	8.36 (7.76, 9.01)	NC
Post	56.60 (48.03, 66.71)	35.06 (30.49, 40.31)	0.62 (0.50, 0.77)
A/H3N2			
Pre	47.39 (42.98, 52.24)	47.86 (43.32, 52.87)	NC
Post	397.82 (359.76, 439.91)	269.17 (241.79, 299.66)	0.68 (0.58, 0.78)
B			
Pre	28.23 (25.92, 30.74)	24.99 (22.87, 27.30)	NC
Post	152.67 (137.71, 169.25)	133.41 (120.17, 148.11)	0.87 (0.75, 1.01)
GMT ratio (Post/Pre)	GM (95% CI)		Ratio (95% CI)
A/H1N1	7.14 (6.19, 8.22)	4.19 (3.67, 4.79)	0.59 (0.48, 0.71)
A/H3N2	8.40 (7.56, 9.32)	5.62 (5.05, 6.27)	0.67 (0.58, 0.78)
B	5.41 (4.88, 5.99)	5.34 (4.76, 5.99)	0.99 (0.85, 1.15)
Seroconversion rate	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	51.0 (46.7, 55.4)	36.2 (32.1, 40.5)	- 14.8 (- 20.7, - 8.9)
A/H3N2	74.8 (70.8, 78.4)	56.9 (52.6, 61.2)	- 17.8 (- 23.5, - 12.2)
B	58.3 (53.9, 62.5)	56.9 (52.6, 61.2)	- 1.3 (- 7.3, 4.6)
Seroprotection rate (Post)	% (95% CI)		Difference (95% CI)
A/H1N1	54.5 (50.1, 58.8)	43.6 (39.4, 48.0)	- 10.8 (- 16.8, - 4.8)
A/H3N2	99.1 (97.8, 99.7)	96.2 (94.2, 97.7)	- 2.8 (- 4.7, - 1.0)
B	89.9 (87.1, 92.4)	87.1 (83.9, 89.8)	- 2.8 (- 6.7, 1.0)

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 = 531)		ETIV (N = 529)	
	Number of subjects (%)	[95% CI]	Number of subjects (%)	[95% CI]
Adverse events	260 (49.0)	[44.6, 53.3]	251 (47.4)	[43.1, 51.8]
Age (year)				
65 to 74	229/445 (51.5)	[46.7, 56.2]	227/467 (48.6)	[44.0, 53.2]
≥75	31/86 (36.0)	[26.0, 47.1]	24/62 (38.7)	[26.6, 51.9]
Drug-related adverse events	244 (46.0)	[41.7, 50.3]	238 (45.0)	[40.7, 49.3]
Age (year)				
65 to 74	215/445 (48.3)	[43.6, 53.1]	214/467 (45.8)	[41.2, 50.5]
≥75	29/86 (33.7)	[23.9, 44.7]	24/62 (38.7)	[26.6, 51.9]
Local or systemic reactions	242 (45.6)	[41.3, 49.9]	232 (43.9)	[39.6, 48.2]
Age (year)				
65 to 74	213/445 (47.9)	[43.1, 52.6]	210/467 (45.0)	[40.4, 49.6]
≥75	29/86 (33.7)	[23.9, 44.7]	22/62 (35.5)	[23.7, 48.7]
Local reactions	215 (40.5)	[36.3, 44.8]	210 (39.7)	[35.5, 44.0]
Age (year)				
65 to 74	187/445 (42.0)	[37.4, 46.8]	191/467 (40.9)	[36.4, 45.5]
≥75	28/86 (32.6)	[22.8, 43.5]	19/62 (30.6)	[19.6, 43.7]
Systemic reactions	62 (11.7)	[9.1, 14.7]	55 (10.4)	[7.9, 13.3]
Age (year)				
65 to 74	58/445 (13.0)	[10.0, 16.5]	52/467 (11.1)	[8.4, 14.3]
≥75	4/86 (4.7)	[1.3, 11.5]	3/62 (4.8)	[1.0, 13.5]
Adverse events other than local or systemic reactions	47 (8.9)	NC	43 (8.1)	NC
Drug-related adverse events other than local or systemic reactions	7 (1.3)	NC	12 (2.3)	NC
Death	0	NC	0	NC
Serious adverse event	1 (0.2)	NC	0	NC

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

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

	ASP7374	ETIV
	(N = 531)	(N = 529)
	Number of subjects (%)	
Any adverse events	260 (49.0)	251 (47.4)
Erythema	170 (32.0)	176 (33.3)
Pruritus	105 (19.8)	74 (14.0)
Swelling	72 (13.6)	69 (13.0)
Feeling hot	65 (12.2)	79 (14.9)
Induration	51 (9.6)	48 (9.1)
Pain	43 (8.1)	39 (7.4)
Malaise	34 (6.4)	23 (4.3)
Headache	28 (5.3)	21 (4.0)
Nasopharyngitis	19 (3.6)	11 (2.1)
Diarrhoea	17 (3.2)	21 (4.0)
Myalgia	13 (2.4)	14 (2.6)
Chills	11 (2.1)	10 (1.9)
Arthralgia	11 (2.1)	6 (1.1)
Nausea	10 (1.9)	6 (1.1)
Vomiting	4 (0.8)	1 (0.2)
Oropharyngeal pain	3 (0.6)	0
Pyrexia	2 (0.4)	2 (0.4)
Upper respiratory tract inflammation	2 (0.4)	0
Rash	2 (0.4)	0
Periodontitis	1 (0.2)	2 (0.4)
Rhinorrhoea	1 (0.2)	2 (0.4)
Vertigo positional	1 (0.2)	1 (0.2)
Injection site haemorrhage	1 (0.2)	1 (0.2)
Contusion	1 (0.2)	1 (0.2)
Back pain	1 (0.2)	1 (0.2)
Musculoskeletal stiffness	1 (0.2)	1 (0.2)
Deafness	1 (0.2)	0
Blepharitis	1 (0.2)	0
Stomatitis	1 (0.2)	0
Pharyngitis	1 (0.2)	0
Rhinitis	1 (0.2)	0
Tooth abscess	1 (0.2)	0
Injury	1 (0.2)	0
Nasal congestion	1 (0.2)	0
Urticaria	1 (0.2)	0
Vertigo	0	2 (0.4)
Ear pain	0	1 (0.2)
Angle closure glaucoma	0	1 (0.2)
Vision blurred	0	1 (0.2)
Conjunctivochalasis	0	1 (0.2)
Dental caries	0	1 (0.2)
Herpes zoster	0	1 (0.2)
Upper respiratory tract infection	0	1 (0.2)
Joint sprain	0	1 (0.2)
Periarthritis calcarea	0	1 (0.2)
Osteoarthritis	0	1 (0.2)
Spondylolisthesis	0	1 (0.2)
Cough	0	1 (0.2)
Eczema	0	1 (0.2)

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

よび全身性反応が発現した被験者は少なかった (ASP 7374 群 4 名, ETIV 群 7 名)。局所反応および全身性反応の持続期間は、大半が 1~6 日間であった。ASP7374 群で

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

	ASP7374	ETIV
	(N = 531)	(N = 529)
	Number of subjects (%)	
Any local or systemic reactions	242 (45.6)	232 (43.9)
Local reactions	215 (40.5)	210 (39.7)
Erythema/redness	170 (32.0)	176 (33.3)
Pruritus	105 (19.8)	74 (14.0)
Swelling	72 (13.6)	69 (13.0)
Feeling hot	65 (12.2)	79 (14.9)
Induration	51 (9.6)	47 (8.9)
Local pain	43 (8.1)	39 (7.4)
Systemic reactions	62 (11.7)	55 (10.4)
Fatigue	29 (5.5)	22 (4.2)
Headache	24 (4.5)	20 (3.8)
Diarrhoea	13 (2.4)	17 (3.2)
Muscle pain	10 (1.9)	12 (2.3)
Chills	8 (1.5)	9 (1.7)
Nausea	8 (1.5)	6 (1.1)
Joint pain	8 (1.5)	4 (0.8)
Vomiting	2 (0.4)	1 (0.2)
Fever	1 (0.2)	2 (0.4)
Hypersensitivity	1 (0.2)	0

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

は、2 名 (紅斑および皮疹) 以外はいずれも事象発現から 14 日以内に回復した。15 日以上持続した 2 名も、処置なしで接種 28 日後までに回復した。

### III. 考 察

インフルエンザは、主に冬季に流行するウイルス感染症であり、毎年繰り返し流行する。一般健康成人では罹患しても 1 週間程度で回復するが、高齢者では、予後が一般健康成人と比較して著しく悪いといわれている。米国ではインフルエンザ流行による超過死亡は数万人と推定されており、その 80% 以上が 65 歳以上の高齢者であるとされている。その死亡の原因の多くは、インフルエンザによる肺炎と考えられている<sup>6)</sup>。インフルエンザは、依然として高齢者の生命を脅かしており、その対策の一つとしてワクチン接種は重要なものであると言える。インフルエンザワクチンの有効性については、ワクチン接種により血清中の抗体が上昇しているかどうかで検討することが多く、一般に赤血球凝集抑制試験 (hemagglutination inhibition test) における HI 抗体価の測定が用いられている。高齢者において、現行の鶏卵インフルエンザワクチンを接種した際の免疫原性を調べた成績は多数報告されており、ワクチン接種による抗体価の上昇が確認されている。しかし、その上昇の程度は、年度ごとに異なること、また、基本的に高齢者では免疫応答は低下しており、インフルエンザワクチンに対する抗体反応も低くなっているため、現行のワクチンではその効果は十分と言えず現行のワクチンの免疫原性には、限界がある



と考られている<sup>6)</sup>。そのため、米国では、高齢者の抗体反応を高めるために成人の接種量の4倍量を含んだ高齢者用のインフルエンザワクチンが認可されており、国内でも高齢者に高い免疫を付与できるワクチンが望まれている<sup>3)</sup>。

ASP7374 は、野生株と同一のアミノ酸配列を有する組換え 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ことが想定され、現行の鶏卵ワクチンとは異なる特徴を有している。また、用量を 45  $\mu\text{g}$ /株にすることで高齢者に対しても免疫原性が期待されることから、今回、ワクチン接種対象として、重要な年代である 65 歳以上の高齢者を対象として、ETIV を対照に、免疫原性の非劣性検証および安全性を比較検討する臨床試験を行った。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、ASP7374 の成人を対象とした臨床試験と同様な FDA および EMA 基準を用いて評価を行った。

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。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 群が紅斑 11.9%、腫脹 5.1%、硬結 1.1%、悪寒、背部痛、発熱が各 0.2%、ETIV 群が紅斑 12.5%、腫脹 4.0%、硬結 0.8%、下痢 0.4% であり、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。また、ASP7374 群での局所反応および

全身性反応について、ほとんどは治験薬接種日～接種2日後に発現し、1～6日間で回復しており、ETIV 群と同様の傾向を示した。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 65 歳以上の高齢者に対しても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。

これらのことから、ASP7374 は、一般的に免疫反応が低下している高齢者に対しても高い免疫を付与することができる有用なワクチンとして、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 増子晴美、医療法人社団信濃会左門町クリニック 武士仁彦、医療法人平心会 ToCROM クリニック 松岡治、医療法人社団慶幸会ピーワンクリニック 降旗謙一、医療法人平心会大阪治験病院 大和田康子、医療法人相生会ピーエスクリニック 白源正成、財団法人メディポ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。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。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) Fiore A E, Shay D K, Broder K, Iskander J K, Uyeki T M, Mootrey G, et al: Prevention and control of influenza: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP), 2008. *MMWR Recomm Rep* 2008; 57: 1-60
- 3) 庵原俊昭：インフルエンザワクチンの効果。化療の領域 2011; 27: 68-77
- 4) 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
- 5) EMA/Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP): Note for guidance on harmonisation of requirements for influenza vaccines. CPMP/BWP/214/96, 12 Mar 1997
- 6) 池松秀之：インフルエンザワクチン。臨と微生物 2013; 40: 685-90

## A phase III comparison study on ASP7374 (cell culture-derived influenza vaccine) and an approved egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine in elderly subjects

Hideaki Nagai<sup>1)</sup>, Kenichi Kato<sup>2)</sup>, Yuki Oizumi<sup>2)</sup>, Tomohiro Kusawake<sup>2)</sup>,  
Sumito Ohkawa<sup>2)</sup>, Taishi Sakatani<sup>2)</sup> and Satoshi Iwata<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> Center for Pulmonary Diseases, National Hospital Organization Tokyo National Hospital, 3-1-1 Takeoka, Kiyose, Tokyo, Japan

<sup>2)</sup> Global Development, Astellas Pharma Inc.

<sup>3)</sup> Department of Infectious Diseases, Keio University School of Medicine

The immunogenicity (noninferiority) and safety of a single subcutaneous injection of a new influenza vaccine, ASP7374, in elderly subjects was compared with an egg-derived trivalent inactivated influenza vaccine (ETIV) in this double-blinded clinical study. Elderly healthy males and females (age:  $\geq 65$  years) were assigned to the ASP7374 45  $\mu\text{g}$ /strain group or ETIV 15  $\mu\text{g}$ /strain group with a single injection given in both groups.

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 in whom the ASP7374 injection was administered occurred within 3 days after administration, and they resolved within 14 days.

In conclusion, the ASP7374 45  $\mu\text{g}$ /strain subcutaneous injection demonstrated noninferiority of immunogenicity to an approved influenza vaccine and had a well-tolerated safety profile in elderly subjects.