

第一種使用規程承認申請書

令和2年7月10日

厚生労働大臣 殿
環境大臣 殿

氏名 アストラゼネカ株式会社
申請者 代表取締役社長 ステファン・ヴォックストラム 印
住所 大阪府大阪市北区大深町3番1号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>E1及びE3遺伝子を欠失し、SARS-CoV-2（nCoV-19）のスパイク糖タンパク質をコードする遺伝子を含む非増殖型遺伝子組換えチンパンジーアデノウイルス Y25 型（ChAdOx1 nCoV-19、治験成分記号：AZD1222）</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>ヒトの予防接種用ワクチンの開発を目的とした治験における投与、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>本遺伝子組換え生物等の原液の保管 (1) 本遺伝子組換え生物等の保管は、容器に密封された状態で、遺伝子組換え生物等である旨を表示し、治療施設内の適切に管理された冷蔵庫において行う。</p> <p>本遺伝子組換え生物等の投与液の調製及び保管 (2) 本遺伝子組換え生物等の投与液の調製は、治療施設内の他の区画と明確に区別された作業室内で行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。 (3) 調製後の投与液は、容器に密封された状態で保管する。</p> <p>運搬 (4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。</p> <p>被接種者への投与 (5) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設内の他の区画と明確に区別された治療室内で、被接種者の筋肉内に注入することにより行う。投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。</p> <p>投与後の被接種者からの排出等の管理 (6) 投与後、被接種者の創部を消毒し、創部から排出される本遺伝子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。 (7) 被接種者の排出物等から第三者への本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限とするために、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。 (8) 投与を受けた被接種者が当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された被接種者であることが情報提供</p>

されるよう、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。

被接種者検体の取扱い

- (9) 被接種者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。
- (10) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、検体の検査が外部の受託機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、本遺伝子組換え生物等が漏出しない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された被接種者の検体である旨を情報提供して行う。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。
- (11) 検体の廃棄は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和 45 年法律 137 号）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従って行う。

感染性廃棄物等の処理

- (12) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。
- (13) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあたっては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (14) 被接種者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、厳重に密閉した状態で廃棄する。
- (15) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、本遺伝子組換え生物等の原液は、漏出しない密封容器に入れた上で、他の医療廃棄物と区別して保管し、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、廃棄物の処理及び清掃に関する法律施行令（昭和 46 年政令第 300 号）の別表第 1 の 4 の項に定める感染性廃棄物（以下「感染性廃棄物」という。）として廃棄する。
運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等を含む廃棄物である旨を情報提供して行う。
- (16) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び検体を漏出しない密封容器に入れ、本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材は厳重な密閉を行った上で感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。
- (17) 治療施設外で保管された未開封の本遺伝子組換え生物等を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌により不活化処理を行い、廃棄する。

生物多様性影響評価書

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1. 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

ChAdOx1 ベクターは、1969年に米国ジョンホプキンス大の Hillis らによって分離されたチンパンジーアデノウイルス分離株 Y25 (ChAdY25) に由来している (Hillis et al 1969)。ChAdY25 はアデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されている (NCBI:txid1123958)。サルアデノウイルス (SAdV) 及びヒトアデノウイルス (HAdV) は系統発生的に判別不能であり、8 種類の共通するカテゴリー (A、B1、B2 及び C~G) に分類される。ChAd63、ChAdY25 及び ChAd68 (ChAdOx2 の由来宿主) は、これまでに分離された多くの SAdV と同様に、E 種に属する。E 種のヒトウイルスは HAdV-4 のみである。

ヒトアデノウイルスは伝染性が高く、軽度の呼吸器疾患の原因であることが知られている。ChAdY25 のヒトへの感染性は報告されていない。ChAdY25 に対する中和抗体の保有率は、英国成人コホート (n=100) で 0%、西アフリカのガンビア成人コホート (n=57) で 9%であった (Dicks et al 2012)。

2. 使用等の歴史及び現状 (人用若しくは動物用医薬品としての利用の歴史又は産業的な利用の歴史及び現状を含む。)

ChAdOx1 nCoV19 の臨床試験として、First In Human 試験 (COV001 試験) のほか、複数の大規模第 III 相試験が海外で実施中であり、現時点で結果は得られていない。

一方、過去に同じ ChAdOx1 ベクターに病原体の遺伝子を導入したワクチン (インフルエンザウイルス、結核菌等) では、既に臨床試験を実施しており、現在までに約 320 例以上の健康成人に ChAdOx1 ベクターを用いたワクチンが投与されているが、安全性の問題は認められていない (Antrobus et al 2014、Coughlan et al 2018、Wilkie et al 2020)。SARS-CoV-2 と同じベータコロナウイルス属に分類される MERS ウイルスのスパイク (S) タンパク質をコードする遺伝子を ChAdOx1 ベクターに導入した ChAdOx1 MERS でも、第 I 相臨床試験を実施しており、MERS001 試験 (英国) 及び MERS002 試験 (サウジアラビア) の 2 本の臨床試験において、健康成人 31 例に ChAdOx1 MERS を投与した結果、いずれの試験でも重篤な副反応は報告されておらず、ChAdOx1 MERS の安全性及び忍容性は概ね良好であった (Folegatti et al 2020)。

3. 生理学的及び生態学的特性

(1) 基本的特性

ChAdY25 のようなサルアデノウイルスは、直径 80~100 nm、エンベロープを持たない、正二十面体粒子であり、12 の頂点にファイバー突起を有し、二本鎖 DNA ゲノムの単一のコピーを含む。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

アデノウイルスは、36°C で 1 週間、室温で数週間、4°C で数カ月間安定である。アデノウイルス

スは、乾燥した一般的な無生物表面上で7日～3カ月間生存する。水道水、下水、海水中でも生存できる ([Pathogen Safety Data Sheets](#))。ChAdY25は、HEK293A細胞で継代された ([Dicks et al 2012](#))。遺伝子組換え ChAdY25 (ChAdOx1 ベクター) は、実験的にマウス、ブタ及び非ヒト霊長類細胞に遺伝子導入できることから、これらの動物でも ChAdOx1 ベクターの侵入は起こりうると考えられる。

(3) 捕食性又は寄生性

アデノウイルスは、動物細胞に感染することを除いては、その自然界における捕食者、被食者、寄生生物、競合生物及び共生生物はない。

(4) 繁殖又は増殖の様式

ChAdY25 は主としてチンパンジーの細胞に感染するが、他のアデノウイルスと同様に、感染した細胞の核内では染色体外遺伝子として存在する。E1A、E1B、E2 及び E3 などの初期遺伝子の発現に続き、ウイルス DNA の複製及びウイルス粒子構成タンパク質の産生が起こり、ウイルス粒子が形成される。感染細胞の溶解に伴い、ウイルス粒子が放出される。

(5) 病原性

ChAdY25 は無症候性チンパンジーの消化管より分離されている ([Roy et al 2009](#)) ため、病原性はない可能性がある。ChAdY25 が属する E 種のヒトウイルスである HAdV-4 は、急性呼吸器疾患、結膜炎、下気道疾患を引き起こすことが知られているが、これらは概して軽度である

([Pathogen Safety Data Sheets](#))。

(6) 有害物質の産生性

感染細胞内で宿主ゲノム由来のタンパク質が産生されるが、細胞外に分泌される遊離有害物質は知られていない。

(7) その他の情報 (不活化条件等を含む。)

ChAdY25 のようなアデノウイルスは、熱 ([Maheshwari et al 2004](#))、UV ([Eischeid et al 2004](#)) 及び環境表面の化学消毒剤 (CDC)、飲料水中の遊離塩素により不活化される可能性がある ([Wold et al 2013](#))。アデノウイルス 5 型を 70°C を超える温度に曝すと、感染価対数減少値が 8 log₁₀ より高くなる可能性がある ([Maheshwari et al 2004](#))。また、アデノウイルスは、56°C で 30 分間、60°C で 2 分間加熱することで不活化され、オートクレーブ処理により感染性は失われ ([Pathogen Safety Data Sheets](#))、アデノウイルスは 5 倍希釈された漂白剤と 1 分間、又はアルコールベースの手指用ゲルと 2 分間接触させることでも不活化される ([Pathogen Safety Data Sheets](#))。

II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1. 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

ChAdOx1 nCoV-19 は、供与核酸として、SARS-CoV-2 のスパイク糖タンパク質をコードする遺伝子、tPA シグナル配列をコードする遺伝子、ウシ成長ホルモン（以下、BGH）遺伝子のポリアダニル化配列をコードする遺伝子、サイトメガロウイルス（以下、CMV）プロモーター、及び Tet オペレーター（以下、TetO）を有する。また、ChAdOx1 nCoV-19 は、E1 及び E3 遺伝子を欠失し、E4 領域のオープンリーディングフレームの 4、6 及び 6/7 遺伝子がヒトアデノウイルス 5 型の遺伝子に置換されている（別紙 2 の表 1 参照）。

(2) 構成要素の機能

ヒトアデノウイルス（例えばヒトアデノウイルス 5 型）に対してはヒト体内に免疫が既に存在しており、ヒトアデノウイルスを用いたウイルスベクターでは免疫応答が誘導されない懸念があるため、チンパンジーアデノウイルスを用いたウイルスベクターが開発された。本ワクチンの ChAdOx1 ベクターは、サルアデノウイルス Y25 に由来し、E1 遺伝子（ウイルスの DNA 複製開始に必要な ATP 依存性 DNA ヘリカーゼ）及び E3 遺伝子（免疫調節性タンパク質）を欠失し、E4 領域の中にコードされるオープンリーディングフレームの 4、6 及び 6/7 遺伝子をヒトアデノウイルス 5 型の遺伝子に置換したもの（収率を改善し、マーカーを使用せずにウイルス力価測定のためにヘキソンの発現量を改善）である。ChAdOx1 ベクターは、ウイルス増殖に必須である E1 遺伝子が欠失しているため、ヒトの体内の細胞では増殖しない。ChAdOx1 ベクターは、HEK293 細胞及びそれらの誘導細胞、又は類似する細胞株のような E1 遺伝子を発現する細胞でのみ増殖する。

ChAdOx1 nCoV-19 において、SARS-CoV-2 のスパイク糖タンパク質（GenBank 登録番号：MN908947 の遺伝子配列から得た S タンパク質）の配列と、ウシ成長ホルモン遺伝子のポリアダニル化配列をコードするように、ChAdOx1 ベクターを改変した。

SARS-CoV-2 の S タンパク質：S タンパク質は、SARS-CoV-2 ウイルスエンベロープの表面に局在する I 型の三量体膜貫通型タンパク質であり、SARS-CoV-2 ウイルス粒子のスパイク状の突起を形成する。S タンパク質サブユニットは、受容体結合ドメインを介して細胞受容体 angiotensin converting enzyme-2（ACE-2）と結合し、ウイルスと細胞の膜融合を誘導する。その結果、SARS-CoV-2 が標的細胞へ侵入する。S タンパク質はウイルスの侵入に重要な役割を果たし、組織や細胞への親和性、及び宿主域を決定する。受容体との結合、及び膜融合において重要な役割を持つ S タンパク質は、ワクチン及び抗ウイルス薬開発の標的となる。

ChAdOx1 nCoV-19 において、S タンパク質は、テトラサイクリン応答性 CMV プロモーターの制御下で、32 個のアミノ酸残基からなる tPA シグナル配列を N 末端に付加して発現する。tPA シグナル配列を付加した S タンパク質をコードした DNA 構成体を、GeneArt で合成した。S タンパク質をコードする塩基配列は、ヒトの細胞で発現するようコドン最適化した。tPA シグナル配列は、Modified Vaccinia virus Ankara（以下、MVA）ベクターを利用した結核ワクチンや、ChAdOx1 ベクターを利用した MERS ワクチンにおいて免疫原性を高めるために有益であることが示されている。プロモーター制御に関する詳細な情報は「4. 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性」参照。

構成要素、起源及び構築の詳細は別紙 1 参照。

なお、供与核酸由来の産物に発がん性又は毒性は報告されていない。また、供与核酸により、ウイルスの組織指向性に影響はない。

2. ベクターに関する情報

- (1) 名称及び由来
- (2) 特性

3. 遺伝子組換え生物等の調製方法

- (1) 宿主内に移入された核酸全体の構造

ChAdOx1 ベクターは、サルアデノウイルス Y25 に由来する。ChAdOx1 nCoV-19 は、Y25 の E1 及び E3 遺伝子を除去し、E4 領域のオープンリーディングフレームの 4、6 及び 6/7 遺伝子をヒトアデノウイルス 5 型の遺伝子と置換した改変型 Y25 に供与核酸を挿入したものである。

構成体の移入方法は別紙 1 参照。

配列情報は別紙 2 参照。

- (2) 宿主内に移入された核酸の移入方法

DNA 構成体である p5713 pDESTChAdOx1 nCoV-19 は、ウイルスゲノム（ベクター及び供与核酸配列）をコードする。構成体の詳細は「1. 供与核酸に関する情報」に示した。

ウイルス構築及び HEK 293 T-REx 増幅のため、直鎖状とした DNA 構成体をリポフェクタミンを用いて MCB1 細胞に移入し、1 つの分離株を選択した。この分離株を用いて、ウイルス増殖し、さらにマスターウイルスシードストックを作製した。マスターウイルスシードストックを用いて、マスターウイルスバンクを作製（GMP）した。

- (3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

HEK293 T-REx (MCB) を融解し、増殖させ、ウイルスシードに感染させる。細胞ハーベストの判定基準に適合する時、バルクハーベストを採取する。溶解物を精製し、原薬を得る。精製した原薬を目標濃度となるように希釈後、無菌ろ過し、バイアルに充填し製剤とする。製造場所、製造方法及び品質管理については別紙 3～9 参照。

4. 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

供与核酸の配列及び p5713 pDEST-ChAdOx1-nCoV19 のプラスミド DNA マップは別紙 2 参照。

遺伝子組換えウイルスに移入された核酸は遺伝子組換えウイルスのゲノムの一部として存在し、凍結保存中は安定に存在する。

SARS-CoV-2 の S タンパク質は、テトラサイクリン応答性 CMV プロモーター制御下で発現する。遺伝子組換えアデノウイルスの増殖のために使用する HEK293 T-REx マスター・セル・バンク (以下、MCB) は、転写活性を阻害するための機能的なテトラサイクリンリプレッサー (以下、TetR) を安定して発現させる。

TetR システムは、大腸菌の Tn10 にコードされるテトラサイクリン耐性オペロンの制御配列を利用した、テトラサイクリン制御遺伝子発現システムである。TetR タンパク質は、ホモダイマーを形成し、TetO と呼ばれる DNA モチーフに結合する。TetO がコアプロモーター領域内に存在するとき、TetR タンパク質の相互作用により転写活性を抑制する。通常、TetR システムは、転写活性を高度に抑制するために、近接する 2 つの TetO 領域を利用する。テトラサイクリン又はその類似体存在下では、それらが TetR タンパク質に結合し、立体構造変化を引き起こし、TetO 領域への TetR タンパク質の結合が抑制されるため、転写は通常の状態に戻る。HEK293 T-REx MCB における SARS-CoV-2 の S タンパク質をコードする遺伝子の発現抑制により、遺伝子組換えアデノウイルスの収率は向上する。一方、ワクチン接種後、動物又はヒト体内においては、TetR タンパク質は存在しないため、S タンパク質をコードする遺伝子が転写され、発現する。

ChAdOx1 nCoV-19 の S タンパク質は野生型と同一のアミノ酸配列であり膜融合能を保持しているため、体内で ChAdOx1 nCoV-19 感染細胞と ACE2 発現細胞の間で細胞融合が起こる可能性はあるが、ChAdOx1 nCoV-19 を用いた臨床試験において現時点で特段の副作用は認められておらず、DPP4 発現細胞を認識する ChAdOx1 MERS を用いた海外臨床試験においても安全性及び忍容性は概ね良好であった (Folegatti et al 2020)。

5. 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

ChAdOx1 nCoV-19 を検出及び識別する方法は確立していない (現在検討中)。ChAdOx1 nCoV-19 を用いた排出試験は実施していない。

ChAdOx1 nCoV-19 と類似の非増殖型遺伝子組換えウイルスベクター (ChAd63 ME-TRAP) の排出試験では、ME-TRAP 抗原をコードする塩基配列を特異的に増幅し検出するプライマーを用いており、ChAd63 ME-TRAP に特異的であり、野生型 Y25 は検出しない。検出限界は 2,000 コピー/mL (尿) であった (別紙 10 参照)。

6. 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点

ChAdOx1 nCoV-19 は、HAdV 及び SAAdV に含まれる複製に必須の E1 遺伝子を欠失しているため、ウイルス複製を起こさない。また、N 末端にヒト組織プラスミノーゲン活性化因子 (tPA) を持つ S タンパク質が産生されるよう改変されている。

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1. 使用等の内容

ヒトの予防接種用ワクチンの開発を目的とした治験における投与、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

2. 使用等の方法

本遺伝子組換え生物等の原液の保管

- (1) 本遺伝子組換え生物等の保管は、容器に密封された状態で、遺伝子組換え生物等であることを表示し、治療施設内の適切に管理された冷蔵庫において行う。

本遺伝子組換え生物等の投与液の調製及び保管

- (2) 本遺伝子組換え生物等の投与液の調製は、治療施設内の他の区画と明確に区別された作業室内で行い、作業室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。
- (3) 調製後の投与液は、容器に密封された状態で保管する。

運搬

- (4) 本遺伝子組換え生物等の治療施設内での運搬は、密封した状態で行う。

被接種者への投与

- (5) 本遺伝子組換え生物等の投与は、治療施設内の他の区画と明確に区別された治療室内で、被接種者の筋肉内に注入することにより行う。投与時は、治療室内での本遺伝子組換え生物等の拡散を最小限に留める。

投与後の被接種者からの排出等の管理

- (6) 投与後、被接種者の創部を消毒し、創部から排出される本遺伝子組換え生物等の環境への拡散が最小限となるよう、医師の判断により必要とされる期間対策を講じる。
- (7) 被接種者の排出物等から第三者への本遺伝子組換え生物等の伝播を最小限とするために、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。
- (8) 投与を受けた被接種者が当該治療施設以外の医療施設（以下「外部医療施設」という。）で治療を受ける場合には、本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの間、外部医療施設に対し第一種使用等の承認を受けた遺伝子組換え生物等が投与された被接種者であることが情報提供されるよう、本遺伝子組換え生物等の投与を受ける被接種者に適切な指導を行う。

被接種者検体の取扱い

- (9) 被接種者から採取した検体（以下「検体」という。）は、治療施設その他の外部医療施設（以下「施設等」という。）の規定に従って取り扱う。
- (10) 本遺伝子組換え生物等の投与後、排出等の管理が不要となるまでの期間、検体の検査が外部の受託機関（以下「検査機関」という。）に委託される場合は、本遺伝子組換え生物等が漏出ししない容器に入れ、施設等から検査機関へ運搬する。運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等が投与された被接種者の検体であることを情報提供して行う。検体は検査機関の規定に従って取り扱う。
- (11) 検体の廃棄は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律（昭和45年法律137号）に基づいて施設等又は検査機関で定められた医療廃棄物の管理に係る規程（以下「医療廃棄物管理規程」と

いう。)に従って行う。

感染性廃棄物等の処理

- (12) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄は、治療施設内で不活化処理を行った上で、医療廃棄物管理規程に従って行う。
- (13) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材の廃棄は、医療廃棄物管理規程に従って行う。再利用する機器及び器材にあたっては、不活化処理を行い、十分に洗浄する。
- (14) 被接種者が自宅で用いたドレッシング材及び洗浄に用いた器材等は、厳重に密閉した状態で廃棄する。
- (15) 本遺伝子組換え生物等の原液の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、本遺伝子組換え生物等の原液は、漏出しない密封容器に入れた上で、他の医療廃棄物と区別して保管し、感染性廃棄物処理業者へ運搬し、廃棄物の処理及び清掃に関する法律施行令（昭和46年政令第300号）の別表第1の4の項に定める感染性廃棄物（以下「感染性廃棄物」という。）として廃棄する。
運搬は、第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え生物等を含む廃棄物である旨を情報提供して行う。
- (16) 本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び検体の廃棄を感染性廃棄物処理業者に委託する場合には、本遺伝子組換え生物等の原液の希釈液及び検体を漏出しない密封容器に入れ、本遺伝子組換え生物等が付着した可能性のある機器及び器材は厳重な密閉を行った上で感染性廃棄物処理業者へ運搬し、感染性廃棄物として廃棄する。
- (17) 治療施設外で保管された未開封の本遺伝子組換え生物等を廃棄する場合は、密封された状態で高圧蒸気滅菌により不活化処理を行い、廃棄する。

3. 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

ChAdOx1 nCoV-19 は、増殖に必須である E1 遺伝子を欠失しているため、ヒト体内において複製又は感染播種を起こす可能性はない。同様に E1 遺伝子を欠失した類似の遺伝子組換えウイルスベクターを用いた生体内分布試験（マウス）及びヒト排出試験の結果から、接種部位以外への感染播種はなく、ヒト尿中への排出もないことが確認されている。これらの点を踏まえ、本品の動態、生体内分布、排出に関する評価、試験、本品の水平伝達又は垂直伝達に関する評価、試験、本品の環境への放出及び生残に関する評価、試験の要否について検討中である。

4. 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置 該当なし

5. 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果 非臨床試験

BALB/c 及び CD-1 マウスを用いた試験から、ChAdOx1 nCoV-19 は免疫原性を持つことが示されている。ChAdOx1 nCoV-19 の生体内分布試験は実施していない（現在検討中）。ChAdOx1 HBV を用いた生体内分布試験は現在実施中である。ChAdOx1 と同様の機序（E1 遺伝子の欠失）により複製能を失わせた類似の ChAd ワクチン（ChAd63 ME-TRAP、ChAd63 MSP-1 及び ChAd3NSmut）をマウスに筋肉内投与した生体内分布試験の結果によると、被験動物体内でのウイルスの複製または感染播種は認められなかった。また、ChAdOx1 nCoV-19 を用いた毒性試験もこれまで実施していない。しかし、ベータコロナウイルス表面の S タンパク質を発現する ChAdOx1 を用いたマウス毒性試験は実施しており、重篤な毒性所見は認められていない。

免疫原性

マウス（BALB/c 及び CD-1）に、ChAdOx1 nCoV 又は緑色蛍光タンパク質（GFP）を発現させた ChAdOx1（ChAdOx1 GFP）を接種した。接種から 9 日後又は 10 日後に、脾臓を摘出して IFN- γ ELISpot により T 細胞応答を評価し、血清検体を採取し ELISA にて S タンパク質サブユニット S1 及び S2 に対する抗体反応を評価した。本試験の結果から、ChAdOx1 nCoV の単回接種によりマウスにおける免疫原性が示された。

生体内分布

生体内分布試験は、E1、E3 欠失サルアデノウイルスに基づく組換えウイルスベクターワクチン 3 種（ChAd63 ME-TRAP、ChAd63 MSP-1 及び ChAd3NSmut）及びヒトアデノウイルス 6 ベクターワクチン 1 種（Ad6NSmut）を用いて実施している。主要な評価に用いた ChAd63 ベクターと ChAdOx1 ベクターとの構造上の相違点を下表に要約する。

ChAdOx1 ベクタープラスミドと ChAd63 ベクタープラスミドの主要な相違点

領域	ChAdOx1 nCoV-19	ChAd63 ME-TRAP
リーダー	tPA シグナル配列を有する	tPA シグナル配列を有さない
プロモーター	CMV プロモーター+イントロン A (TOx2 を有する)	CMV プロモーター+イントロン A (TOx2 を有さない)
バックボーン	細菌人工染色体 (BAC)	プラスミド起源

tPA：組織型プラスミノゲン活性化因子、CMV：サイトメガロウイルス、TOx2：ホモ二量体のテトラサイクリンリプレッサー結合サイト

ChAd63 は tPA シグナル配列を有さず、また、CMV プロモーターに TOx2 を有さない点において ChAdOx1 とは異なる。したがって、プロモーター制御に関わる領域に違いがあることから、目的遺伝子の発現機序は 2 つのベクター間で異なっていると考えられる。また、ChAdOx1 nCoV-19 と ChAd63 ME-TRAP では導入された目的遺伝子そのものが異なるため、ウイルスベクター由来の発現タンパク質は根本的に異なっている。さらに、ChAd63 のベクターバックボーンは、BAC ではなく、プラスミド起源であるため、導入可能な遺伝子サイズには違いがあるものの、この違いによるベクター機能への直接的な影響は不明であるが、生体内分布試験に用いた ChAd63 ベクターと ChAdOx1 ベクターとの構造的な違いは限られており、いずれの相違点も、生体内分

布試験の結果の解釈において問題となる差異ではないと考えられた。

また、ChAdOx1 はチンパンジーアデノウイルス分離株 Y25 に由来しており、ヒトアデノウイルス E 種に属する (Dicks et al 2012)。ChAd63 もまた、ヒトアデノウイルス E 種に属しており、ヘクソンタンパク質及びファイバータンパク質の DNA 配列に基づいて構築した系統樹から Y25 の近縁種に分類される。ヘクソンタンパク質及びファイバータンパク質は、ウイルス表面のカプシドの主要な構成要素であり、ベクターの指向性及び血清によるウイルス中和の主要な決定因子であると考えられている。したがって、生体内分布試験に用いた ChAd63 ベクターと ChAdOx1 の間で感染宿主域又は組織指向性が変化している可能性は極めて低いと考えられる。さらに、ChAdOx1 及び ChAd63 は、いずれも複製に必須な E1 遺伝子を欠失していることから、HEK293 等の特殊な培養細胞系を除けば、正常な哺乳類の細胞中でその複製能が復元する可能性は低いため、ワクチンとして接種後に接種部位以外への感染播種が生じたり、ベクター遺伝子が体外へ排出される可能性は極めて低いと考えられる。以上の考察から、ChAd63 で取得した生体内分布試験の結果を ChAdOx1 に外挿して評価することは妥当と考えた。

生体内分布試験の結果を以下に要約する。

- 2006 年に実施された最初の試験の目的は、ChAd63 ME-TRAP を被験薬として BALB/c マウスの左右耳介にそれぞれ 3.3×10^9 vp を単回皮下投与し、8 日後まで組織内分布を評価することであった。この GLP 準拠非臨床試験は Huntingdon Life Sciences Ltd. が実施し、生体内分布試験の解析はオックスフォード大学が担当した。検討した組織は、投与部位 (耳介)、卵巣、精巣、精巣上体、脾臓、肝臓、及び頸部リンパ節であった。その結果、投与部位を除くいずれの内臓器官においても、感染性の ChAd63 ME-TRAP ウイルス粒子は検出されなかった (HEK293 細胞による培養後 RT-PCR により陽性となったウエルを検出)。この結果から、皮下注射後 1 週間までに ChAd63 ME-TRAP が検出されるのは注射部位に限られることが確認された。1 週間後に検出された ChAd63 ME-TRAP ウイルス量は、1 日目検体での検出量より大幅に減少していた。ウイルス複製または感染播種を示す証拠は認められなかった。したがって、この結果は非増殖型ウイルスを接種した場合と一致していた。
- 別の試験では、ChAd63 MSP-1 を筋肉内投与 (ChAdOx1 nCoV-19 の臨床試験で現在使用している投与経路) により接種後の組織内分布を評価した。検討した組織は、投与部位 (両肢の筋肉及び皮膚)、卵巣、精巣、精巣上体、脾臓、肝臓 (すべての主要な肝葉からの切片)、下顎リンパ節 (投与部位遠位)、及び左右膝窩リンパ節 (投与部位近位) であった。その結果、接種直後に注射部位でウイルスが検出されたが、1 週間後には内臓器官及び注射部位のいずれにおいても検出されなかった (HEK293 細胞による培養後抗ヘクソン抗体染色により同定)。上記の試験と同様、24 時間後にはいずれの部位でもウイルスが検出できなかったことから、この結果は非増殖型ウイルスを接種した場合と一致していた。
- C 型肝炎ワクチン ChAd3NSmut の試験も実施されており、四頭筋にそれぞれ 6.08×10^9 vp を筋肉内投与した。1 日目及び 8 日目に、リンパ節排出液で感染性ウイルス粒子が検出された。接種 1 時間後に、感染性 ChAd3NSmut 粒子が四頭筋 (注射部位) 及び所属リンパ節で認められたが、他の内臓器官 (肝臓、脾臓、生殖器) では検出されなかった。筋肉内投与から 1 週間後には、ChAd3NSmut は所属リンパ節でわずかに検出されたにすぎなかった。ウイルス複製または感染播種を示す証拠は認められなかった。この結果は非増殖型ウイルスを接種した場合と一致していた。

- 更に、非増殖型ヒトアデノウイルスベクターC型肝炎ワクチン Ad6NSmut を用いた試験も実施している。接種1時間後、感染性 Ad6NSmut 粒子が四頭筋（注射部位）及び所属リンパ節で認められたが、その他の内臓器官では認められなかった。筋肉内投与1週間後には、Ad6NSmut は所属リンパ節でわずかに検出されたにすぎなかった。ウイルス複製または感染播種を示す証拠は認められなかった。この結果は非増殖型ウイルスを接種した場合と一致していた。

以上の結果において、生殖器系を含めた内臓器官への分布はいずれも認められなかったことから、ChAdベクターに導入されたウイルス遺伝子の生殖細胞への取り込みリスクは極めて低く、ベクター又は導入遺伝子が精液に移行する可能性も低いと考えられた。したがって、性行為を介した垂直伝達の可能性は低いことが推定された。

以上に加え、2種の非増殖型チンパンジーアデノウイルスベクターワクチン

(ChAdV63.HIVconsv 及び ChAd63 AMA1) が、生体内分布試験を別途実施することなく、承認された臨床試験で用いられている。これは、E1 及び E3 を欠失した非増殖型 ChAd63 に基づくワクチンの生体内分布に関する情報は十分得られており、それ以上の試験を実施するのは、有用な情報が得られないにもかかわらず、実験動物を無駄に使用することになると判断されたためである。

ChAdOx1 NP+M1 の第 I 相試験 (FLU004 試験、ChAdOx1 ベクターワクチンの最初の臨床使用) に先立って、このワクチンに特化した生体内分布試験は必要なしと判断した。サルアデノウイルス (SAdV) 及びヒトアデノウイルス (HAdV) は系統発生的に判別不能であり、8種類の共通するカテゴリー (A、B1、B2 及び C~G) に分類される。ChAd63、ChAdOx1 及び ChAdOx2 は、これまでに分離された多くの SAdV と同様、E 種に属するが、E 種のヒトウイルスは 1 種類 (HAdV-4) しかない。HAdV-4 をはじめとするアデノウイルスのほとんどの種と同様、ChAd63、ChAdOx1 及び ChAdOx2 は、ウイルスのカプシドとコクサッキーウイルス・アデノウイルス受容体及び細胞インテグリンの相互作用を介して細胞に侵入する。これらの相互作用を担うファイバータンパク質及びペントンタンパク質の領域は、ChAd63、ChAdOx1 及び ChAdOx2 を含む E 種のアデノウイルスの間で極めてよく類似していることから、筋肉内投与後にこれらのワクチンに由来する E1/E3 欠失ワクチンベクターにより感染する細胞の種類及び数に相違があるとは考えにくい。より重要なことには、アデノウイルスの転写機構は、アデノウイルスの同一種内のみならず、異なる種間でも極めてよく類似しているため、ChAd63、ChAdOx1 及び ChAdOx2 から E1 を欠失した効果として、3 種のウイルスのいずれも (HAdV の場合と同様に) 増殖能が失われる。

生体内分布試験では、概して、増殖型ウイルスを投与したときの方が得られる情報が多い。なぜならば、投与後に被験体 (実験動物又はヒト被験者) の体内に存在するウイルス量が増加することで、一部のウイルスは特定臓器に蓄積する傾向があることが知られているからである。例えば、ワクシニアウイルスは卵巣に高力価で認められることがあり、また、アデノウイルスは肝臓に蓄積する。他方、非増殖型ウイルスは注射部位の細胞を感染させることが知られており、一部の感染性ウイルス粒子が局所リンパ節を介して排出され、血流に乗ることで体内の他の部位に移動することはあるものの、血中及び他の組織では希釈され、これらの部位におけるウイルス濃度は非常に低くなる。したがって、リンパ節での検出も確実ではなく、体内のそれ以外の場所で感染性ウイルスが検出される可能性は極めて低い。生体内分布試験は、投与後に予想外のウイルス複製が生じている可能性を確認するのに適しているかもしれない。しかし、これは増殖型ウイルスの検出に適した試験法ではなく、そのような目的には、ワクチン調製時にごく少量の増殖型ウ

ウイルスでも検出可能な、より高感度の *in vitro* 定量法が適している。なお、上記の考察で言及したすべてのワクチンについては、臨床的安全性が既に報告されており、いずれも良好な安全性プロファイルが示されている。

非臨床毒性試験

ChAdOx1 nCoV-19 の毒性試験は、これまでのところ実施していない。しかし、完全長スパイクタンパク質を発現した ChAdOx1 ベクター-MERS-CoV ワクチンである ChAdOx1 MERS ワクチンについては、マウスを用いた毒性試験が実施されている。ChAdOx1 MERS のマウス毒性試験の詳細を参考として記載する。

- マウス筋肉内投与毒性試験 [████████ 試験番号 ████████]

ChAdOx1 MERS の GLP 準拠非臨床毒性試験を、██████████ (██████████) で実施した。

本試験の目的は、マウスに ChAdOx1 MERS を 14 日間隔で 2 回接種したのち 13 日間観察して、ChAdOx1 MERS の毒性を評価することであった。

規制要件の準拠

本試験は、英国の医薬品医療製品規制庁 (MHRA) の臨床試験許可 (CTA) 要件を満たすデザインとなっている。本試験は、国際的に認められている現行 GLP の要件及び英国の動物 (科学的処置) 法 1986 の該当条項を順守して実施した。

動物種

動物種としては、規制当局に受け入れられる種であるマウスを選択した。系統としては、ワクチン評価に適した系統である BALB/c を選択した。

投与経路

臨床投与経路と同じ筋肉内に投与した (1 日目及び 15 日目)。

試験群

群	投与内容	動物数 (動物番号)	1 日目投与	15 日目投与
1	PBS 対照	雄 6 + 雌 6 (雄: 1~6、雌: 51~56)	35 μ L、右後肢	35 μ L、右後肢
2	ChAdOx1 MERS	雄 10 + 雌 10 (雄: 17~26、雌: 67~76)	1×10^{10} vp 35 μ L、右後肢	1×10^{10} vp 35 μ L、右後肢

接種用量

本試験と同様の接種用量を用いた過去のチンパンジーアデノウイルスワクチン (ChAd63 ME-TRAP、ChAdOx1 MP+N1) 投与マウス試験では、明らかな毒性は認められていない。本試験で使用する接種用量であれば、重篤な毒性が生じることはないと考えられる。臨床接種用量を BALB/c マウスに筋肉内投与することは、かなりの液量をマウス筋肉内に投与することになるため、手技的に不可能である。しかし、体重換算すると、マウスへの接種用量を 1×10^{10} vp、臨床接種用量を 5×10^{10} vp としたとき、下記の式により ChAdOx1 MERS の安全域は 602 倍と

算出される。

マウスに対する接種用量／マウス平均体重（20 g）

_____ = x 倍（安全幅）

臨床接種用量／ヒト平均体重（60 kg）

マウスには、接種液量として 35 μ L の ChAdOx1 MERS を 2 週間おいて 2 回接種した。本試験でマウスに接種した ChAdOx1 MERS は、臨床接種用量に対し 602 倍の安全域が存在する。

試験期間：28 日

試験期間中に、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、及び病理組織学的検査を実施した。

結果－ChAdOx1 MERS

死亡

本試験で予定外の死亡は認められなかった。

一般状態の変化

ChAdOx1 MERS 接種と明らかに関連があると判断される一般状態の変化は認められず、接種部位でも投与に対する明らかな変化は認められなかった。

体重

雄では、概して ChAdOx1 MERS 接種群の平均体重増加量が対照群と比較して低値（対照群の 0.74 倍）であったが、これは主として 15～18 日目（2 回目接種の直後）の体重増加量が対照群と比較して少なかったことに起因する。雌では、ChAdOx1 MERS 接種群で 2 回目（15 日目）の接種後に平均値で体重減少が認められ、個別別データを検討したところ、10 匹中 7 匹で体重が減少していた。平均体重増加量も、1～4 日目に対照群と比較してやや低値であったが、4～8 日目には対照群よりも高値になった。最終的に、全体（1～28 日目）での平均体重増加量は ChAdOx1 MERS 接種群で対照群と比較して低値（対照群の 0.80 倍）となった。

摂餌量

雄では 2 回目接種後（3 週目）に ChAdOx1 MERS 接種群の平均摂餌量が対照群と比較してわずかに低かった。雌の ChAdOx1 MERS 接種群の平均摂餌量は対照群と同程度であった。

血液学的検査

28 日目に実施した血液学的検査で、ChAdOx1 MERS 接種群の雄及び雌では血中総白血球数（WBC）の平均値がやや高かったが（雄では対照群の 1.4 倍、雌では対照群の 1.3 倍）、これは主としてリンパ球数、好酸球数及び単核球数の平均値が雌雄共にわずかだが統計学的に有意に高かったこと（対照群の 1.2～1.6 倍）、また好中球数及び非染色性大型血球数の平均値が雌に限り、わずかだが統計学的に有意に高かったこと（対照群の 1.3～1.5 倍）によるものであった。血小板数平均値は雌雄共に ChAdOx1 MERS 接種群でやや高かったが（対照群の 1.1 倍）、個別別データを検討したところ、ChAdOx1 MERS 接種群の雌では全例が対照群の値の範囲内であった。その他の検査項目では、一部に統計学的有意差がみられたものもあったが（赤血球数のわずかな高値及び赤血球指数の軽微な変化等）、いずれもこの月齢及び系統のマウスで予想

される変動の範囲内であった。

血液生化学的検査

ChAdOx1 MERS 接種群の雌のアルブミン濃度平均値は対照群と比較して低く（対照群の 0.94 倍）、統計学的に有意な差が認められた。ChAdOx1 MERS 接種群の雄及び雌のグルコース濃度平均値は対照群と比較してやや高かった（雄は対照群の 1.3 倍、雌は対照群の 1.2 倍）。

ChAdOx1 MERS 接種群の雄及び雌のトリグリセリド濃度平均値は対照群と比較して低かった（雄は対照群の 0.56 倍、雌は対照群の 0.64 倍）。ChAdOx1 MERS 接種群の雄及び雌のカリウム濃度平均値は対照群と比較して高く（対照群の 1.2 倍）、雌のリン濃度平均値は対照群と比較して高かった（対照群の 1.2 倍）。個別別データを検討したところ、雄 4 匹、雌では最大 5 匹で対照群の値の範囲を上回っていた。その他にも対照群と ChAdOx1 MERS 接種群の差が統計学的有意に達した項目もあったが、差は小さく、また個別別データは両群でかなり重なっていた。

器官重量

28 日目に剖検した動物の器官重量を測定したところ、体重補正した脾臓重量（脾臓体重比）の平均値は ChAdOx1 MERS 接種群の雌で対照群と比較してわずかに高く（対照群の 1.1 倍）、体重補正した肝臓重量（肝臓体重比）の平均値は ChAdOx1 MERS 接種群の雄及び雌で対照群と比較してやや低かった（雄では対照群の 0.92 倍、雌では対照群の 0.90 倍）。

剖検

ChAdOx1 MERS を 14 日間おいて 2 回接種（1 日目及び 15 日目）をしてから 13 日間観察後に実施した剖検で、右腰リンパ節に下記の変化が認められた。35 μ L の ChAdOx1 MERS を接種した雄 1 匹及び雌の大多数で腫大が認められた。

14 日間おいて 2 回接種（1 日目及び 15 日目）を実施してから 13 日間観察後に安楽死させた動物における右腰リンパ節の所見

群／性別	群 1／雄	群 2／雄	群 1／雌	群 2／雌
接種用量 (μ L)	35	35	35	35
腫大	0	1	0	7
検査動物数	6	10	6	10

その他の所見の発現頻度及び分布は、いずれも投与とは関連なしと判断された。

ChAdOx1 MERS の接種により、右腰リンパ節、脾臓及び筋肉内投与部位に、接種に関連すると判断される変化が認められた。ChAdOx1 MERS 接種群の動物全例で、右腰リンパ節に胚中心形成の増加（軽微～中等度）が認められた。一部の動物ではこれに伴って傍皮質の細胞充実度が増し、ChAdOx1 MERS 接種動物ではその発現頻度がより高かった。特に雌では、これに伴って病理組織学的検査でもリンパ節の腫大が認められた。脾臓における胚中心形成の増加が、ChAdOx1 MERS 接種群の雄 1 匹及び雌 3 匹に認められた。ChAdOx1 MERS 接種群の雌では、これに伴って体重補正した脾臓重量（脾臓体重比）の群平均値がわずかに増加したが、統計学的有意差は認められなかった。リンパ球／単核球炎症細胞の浸潤（軽微）が、ChAdOx1 MERS 接種群の一部の動物で投与部位の筋肉及び／又は間質組織に認められた。対照群では、このような変化は認められなかった。筋肉内投与部位の変化（炎症細胞浸潤）は、ChAdOx1 MERS の

ような外来抗原物質の投与後に予想されるものである。同様に、この部位に抗原物質を注射すると局所リンパ節（この場合は右後肢が投与部位であるため右腰リンパ節）で、また場合によっては脾臓でも、免疫応答が刺激されることが予想される。それを裏付けるのが、右腰リンパ節及び脾臓での胚中心形成の増加並びに右腰リンパ節の傍皮質の細胞充実度増加であった。

結論

ChAdOx1 MERS の接種により、右腰リンパ節、脾臓及び筋肉内投与部位に、接種に起因する変化が認められた。認められた所見及びその程度は、ChAdOx1 MERS のような外来抗原物質の投与により一般的に認められる変化で、で予想された所見であることから、有害とはみなされなかった。

臨床試験

ChAdOx1 nCoV-19 並びに同様の ChAd ワクチンを用いた国内臨床試験は実施されていない。

6. 国外における使用等により得られた情報

ChAdOx1 nCoV-19 を用いた海外臨床試験の成績は得られていない。

本品と類似の非増殖型遺伝子組換えウイルスベクター（ChAd63-ME-TRAP）を用い、ヒト尿中への排出を PCR 法により測定した結果、接種 2 日後に採取したすべての尿検体中でのウイルスベクター DNA は検出されなかった。

ChAdOx1 ベクターに様々な病原ウイルスの遺伝子を導入したワクチンでは、臨床試験を実施しており、現在までに約 320 例以上の健康成人に ChAdOx1 ベクターを用いたワクチンが投与されているが、安全性の問題は認められていない（Antrobus et al 2014、Coughlan et al 2018、Wilkie et al 2020）。

中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）の候補ワクチンである ChAdOx1 MERS の安全性及び免疫原性を検討する第 I 相試験である MERS001 試験の安全性に関する結果について以下に記載する（Folegatti et al 2020）。

MERS001 試験	
要約の項目	内容
標題	英国の健康成人被験者を対象として中東呼吸器症候群コロナウイルス（MERS-CoV）の候補ワクチン ChAdOx1 MERS の安全性及び免疫原性を検討する第 I 相試験
試験デザイン	第 I 相、非盲検、非無作為化
実施場所	英国オックスフォード
開始日	最初の被験者の初回来院：2018 年 3 月 14 日
進捗状況	実施中
被験者数	合計で最大 48 例（これまでに 27 例を組入れ）
性別	男女
年齢	成人
健康状態	健康者
用量群	Group1： 5×10^9 vp（単回接種） Group2： 2.5×10^{10} vp（単回接種） Group3： 5×10^{10} vp（単回接種） Group4： 2.5×10^{10} vp（6 か月間隔で 2 回接種） Group5： 2.5×10^{10} vp（4 週間隔で 2 回接種）
対照	なし
投与経路	全て筋肉内投与

MERS001 試験では被験者 24 例が ChAdOx1 MERS の単回接種を受け、これまでのところ重篤な有害事象は報告されていない。24 例全てについて 1 年間追跡調査した。MERS001 試験では、この他にもそれぞれ 6～12 例から成る 2 群を設け、異なる接種間隔（4 週又は 6 か月）で ChAdOx1 MERS を 2 回接種する予定となっている。これまでに 3 例が 2 回の接種を受けた。

安全性データから、ChAdOx1 MERS は 5×10^{10} vp までの接種用量で健康被験者において安全かつ忍容性が良好であることが示されたが、接種用量が高いほど反応性が高かった。局所及び全身性の特定有害事象が 124 件報告された。特定有害事象はほとんどが軽度又は中等度であり、自然に消失するものであった。特定有害事象は全て 6 日以内に完全に消失し、特定有害事象の 96% がワクチン接種後 72 時間以内に発現していた（53% は 0 日後、39% が 1 日後、4% が 2 日後）。

ChAdOx1 MERS と関連あるかもしれない、おそらく関連あり、又は明らかに関連ありと判断され、かつ追跡調査開始から 4 週以内に報告された非特定有害事象を以下に要約する。これまでに 1 件の重篤な有害事象が報告されたが、同事象は ChAdOx1 MERS と関連なしと判断された。全試験期間を通じて各来院時に被験者を観察している。24 例の被験者全てについて、接種後 2 日、7 日、14 日及び 28 日の時点で検討した。これらの時点の全てにおいて、特に問題はなかった。臨床検査値の有害事象は、ベースライン値から有意な差を示すものとし、予防ワクチンの臨床試験に組み入れた健康な成人及び青年期被験者用の FDA 毒性グレード評価尺度を参考とした局所毒性グレード評価表に従って評価した。ChAdOx1 MERS と関連あるかもしれない、おそらく関連あり、又は明らかに関連ありと判断された臨床検査値の有害事象は、軽度～中等度で、自然に消失するものであった。安全性事象について以下に要約する。

- 重篤な副反応（SAR）又は未知で重篤な副作用の疑い（SUSAR）は認められなかった。
- 報告された有害事象のほとんどが自然に消失し、重症度は軽度～中等度であった。
- 最も高頻度に報告された局所有害事象は接種部位の疼痛であり、その重症度はほとんどが軽度であった。
- ワクチンはいずれの接種用量でも忍容性が良好であったが、 5×10^{10} vp 接種ではより高い反応原性が認められた。
- 中等度又は重度の有害事象の発現頻度は、Group3 で Group2 に比較し高かったが（相対リスク 5.83、95% CI : 2.11～17.42、 $p < 0.001$ ）、その他に特記すべき所見はなかった。
- 局所及び全身性の非特定有害事象は、全て持続期間が短く、1～6 日以内に消失した。
- 6 例で、接種後 72 時間以内に短期間だが 37.5°C 超の発熱が認められた（中用量群 1 例、高用量群 5 例）。
- Group3 の 1 例は接種 0 日に 39.6°C の発熱（重度と判定）。発熱は 24 時間以内に消失した。

IV 生物多様性影響評価

1. 他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ChAdOx1 nCoV-19 の感染宿主は野生型 Y25 と同じと考えられるので、微生物への遺伝子導入は起こらず、競合又は有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

ChAdOx1 nCoV-19 の製造には、ヒト Ad5 のゲノム領域を含み、相同組換えの可能性のある HEK293 細胞が使われるが、ウイルス増殖に必須である E1A 領域のサル Ad とヒト Ad での相同性は 60%と低いこと、ChAdOx1 nCoV-19 は E1 遺伝子を欠失し複製能がないこと、実際に、HEK293 細胞等で調製した 8 種の ChAdOx1 ベクターについて測定したところ（最小量として 5×10^{10} vp を用いた）、増殖能を獲得したアデノウイルス（RCA : replication competent adenovirus）は検出されなかったこと（別紙 3 参照）から、ChAdOx1 nCoV-19 は RCA を含まないことが類推される。したがって、ChAdOx1 nCoV-19 が環境中に排出されたとしても、複製能がなく、RCA の混入もないため、野生型ウイルスに与える影響はないと考えられる。また、細菌性プラスミドやコスミド配列、細菌抵抗性遺伝子のような細菌に選択上有利に働く配列を有していないことから、微生物に影響を与えないと考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

該当せず。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、他の微生物を減少させることに起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

2. 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ChAdOx1 nCoV-19 の感染宿主は野生型 Y25 と同じと考えられるため、自然界で影響を受ける可能性のある動植物はサル及びヒトに限られる。

(2) 影響の具体的内容の評価

SARS-CoV-2 の S タンパク質は COVID-19 の病原性に関与し、ウイルス膜と細胞膜の間の膜融合を媒介することが知られている。ChAdOx1 nCoV-19 に組み込まれた SARS-CoV-2 の S タンパク質は発がん性又は毒性作用を示すことはないと考えられる。ChAdOx1 nCoV-19 は、非増殖性で病原性を示す可能性が低い。ChAdOx1 ベクターは複製能がなく、RCA を含まないことが類推され、RCA により病原性が示されることもないと考えられる。

ChAdOx1 nCoV-19 の S タンパク質は野生型と同一のアミノ酸配列であり膜融合能を保持しているため、体内で ChAdOx1 nCoV-19 感染細胞と ACE2 発現細胞の間で細胞融合が起こる可能性があるが、仮に膜融合が成立したとしても、ChAdOx1 nCoV-19 は ACE2 発現細胞内では複製されず、RCA は産生されないことが類推されるため、病原性を示す可能性は低い。なお、ChAdOx1 nCoV-19 を用いた臨床試験において現時点で特段の副作用は認められておらず、DPP4 発現細胞を認識する ChAdOx1 MERS を用いた海外臨床試験においても安全性及び忍容性は概ね良好で

あった (Folegatti et al 2020)。

(3) 影響の生じやすさの評価

ChAdOx1 nCoV-19 を含有する製品は病原性を示す可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用を行う限り、環境中への拡散は限られており、第三者に水平感染する可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれは極めて低いと考えられる。

3. 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ChAdOx1 nCoV-19 の感染宿主は野生型 Y25 と同じと考えられることから、自然界で影響を受ける可能性のある動植物はサル及びヒトに限られる。

(2) 影響の具体的内容の評価

ChAdOx1 nCoV-19 の S タンパク質は発がん性又は毒性を示さず、ChAdOx1 nCoV-19 は非増殖型で病原性を示す可能性が低いことから、有害物質は産生しないと考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

ChAdOx1 nCoV-19 を含有する製品は有害物質を産生する可能性が低く、仮に産生された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用を行う限り、環境中に悪影響を及ぼす可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

上記より、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、有害物質の産生に起因した生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられる。

4. 核酸を水平伝達する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ChAdOx1 nCoV-19 は野生型 Y25 と同一のカプシドタンパク質を有しており、感染宿主は野性型 Y25 と同じと考えられるので、自然界で影響を受ける可能性のある動植物は主にサル及びヒトである。

(2) 影響の具体的内容の評価

ChAdOx1 nCoV-19 は非増殖性でありヒトゲノムに組み込まれないため、水平感染とそれに続く水平伝達により供与核酸が第三者に伝播される可能性は極めて低い。一方、ChAdOx1 nCoV-19 と野性型サルアデノウイルスが共感染した場合には、相同組換えにより新たな増殖型遺伝子組換えアデノウイルスが生じる可能性は低いものの、完全には否定できない。

(3) 影響の生じやすさの評価

ChAdOx1 nCoV-19 は、野性型サルアデノウイルスの共感染により、相同組換えを起こす可能性がある。しかし、野性型サルアデノウイルスの感染は、呼吸器、消化管及び眼であり、投与部位である筋肉に感染することはない。したがって、供与核酸がウイルス間の相同組換えにより水平

伝達される可能性は極めて低いと考えられる。

ChAdOx1 nCoV-19 と野生型ヒトアデノウイルスとの共感染により遺伝子組換えアデノウイルスが増殖する可能性は否定できない。しかし、野生型ヒトアデノウイルスは主に呼吸器系や消化管に感染すること、ChAdOx1 nCoV-19 はウイルス感染症状を有さない健康なヒトに筋肉内投与され、接種部位からは拡散しないことを考慮すると、投与部位の同じ細胞に存在する可能性は極めて低いと考える。仮にヒトアデノウイルスが投与部位の同じ細胞に存在した場合であっても、両者のウイルス配列には高い相同性はないため組換えが起こる可能性は低く、野生型ヒトアデノウイルスから E1 が挿入された場合、ワクチン抗原を発現しない複製能力のあるサルアデノウイルスとなるが、その病原性は野生型ヒトアデノウイルスと同様であると考えられる。

また、ChAdOx1 nCoV-19 は、その供与核酸が第三者に水平伝達される可能性が低く、仮に排出された場合でも、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、環境中への拡散は限られており、第三者に影響を及ぼす可能性は極めて低い。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上、第一種使用規程に基づいた使用等を行う限り、核酸を水平伝達する性質に起因した生物多様性影響が生ずるおそれはないと考えられる。

5. その他の性質

V 総合的評価

ChAdOx1 nCoV-19 は、SARS-CoV-2 (nCoV-19) の S タンパク質をコードする遺伝子を含む非増殖型遺伝子組換えチンパンジーアデノウイルスベクターワクチンであり、ウイルス増殖に必須である E1 遺伝子を欠失しているため、ワクチン接種後のヒト体内においてウイルス複製又は感染播種を起こす可能性はない。ChAdOx1 ベクターを用いた生体内分布試験及び排出試験はいずれも実施していないが、同様に E1 遺伝子を欠失した類似の遺伝子組換えウイルスベクターを用いた生体内分布試験（マウス）及びヒト排出試験の結果から、接種部位以外への感染播種はなく、ヒト尿中への排出もないことが確認されている。さらに、本ワクチンは筋肉内投与にて接種されることから、創部からの注射液の漏出は殆どない。以上を勘案すると、ChAdOx1 nCoV-19 の接種後に体外に排出されたウイルスが意図しない第三者又は哺乳動物等に感染し、その体内で複製することにより環境への拡散が生じる可能性は極めて低いと考えられる。したがって、第一種使用規程申請書に記載された遺伝子組換え生物等の第一種使用等を行う限り、本遺伝子組換え生物による生物多様性への影響が生ずるおそれはないと判断される。

以上

参考文献

Antrobus et al 2014

Antrobus RD, Coughlan L, Berthoud TK, Dicks MD, Hill AV, Lambe T, et al. Clinical assessment of a novel recombinant simian adenovirus ChAdOx1 as a vectored vaccine expressing conserved Influenza A antigens. *Mol Ther.* 2014;22(3):668-674.

CDC

(参考) 米国疾病管理予防センター (CDC) は、ノロウイルスに対して有効な消毒剤の EPA リスト G についてもアデノウイルスを不活性化することを示唆している。

<https://www.cdc.gov/adenovirus/hcp/prevention-treatment.html>

Coughlan et al 2018

Coughlan L, Sridhar S, Payne R, Edmans M, Milicic A, Venkatraman N, et al. Heterologous Two-Dose Vaccination with Simian Adenovirus and Poxvirus Vectors Elicits Long-Lasting Cellular Immunity to Influenza Virus A in Healthy Adults. *EBioMedicine.* 2018;29: 146-154.

Dicks et al 2012

Dicks MD, Spencer AJ, Edwards NJ, Wadell G, Bojang K, Gilbert SC et al. A novel chimpanzee adenovirus vector with low human seroprevalence: improved systems for vector derivation and comparative immunogenicity. *PLoS One.* 2012;7(7):e40385.

Eischeid et al 2004

Eischeid AC, Meyer JN, Linden KG, UV Disinfection of Adenoviruses: Molecular Indications of DNA Damage Efficiency. *Appl Environ Microbiol.* 2009 Jan; 75(1): 23–28.

Folegatti et al 2020

Folegatti PM, Bittaye M, Flaxman A, Lopez FR, Bellamy D, Kupke A, et al. Safety and immunogenicity of a candidate Middle East respiratory syndrome coronavirus viral-vectored vaccine: a dose-escalation, open-label, non-randomised, uncontrolled, phase 1 trial. *Lancet Infect Dis.* 2020;20: S1473-3099(20)30160-2.

Hillis et al 1969

Hillis WD, Goodman R, Serologic Classification of Chimpanzee Adenoviruses by Hemagglutination and Hemagglutination Inhibition. *J Immunol.* 1969 Nov;103(5):1089-95.

Maheshwari et al 2004

Maheshwari G, Jannat R, McCormick L, Hsu D. Thermal Inactivation of Adenovirus Type 5. *J Virol Methods.* 2004 Jun 15;118(2):141-6.

NCBI:txid1123958

Chimpanzee adenovirus Y25: Taxonomy ID: 1123958

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=1123958>

Pathogen Safety Data Sheets

(参考) Pathogen Safety Data Sheets: Infectious Substances – Adenovirus types 1, 2, 3, 4, 5 and 7

<https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment/adenovirus-types-1-2-3-4-5-7-pathogen-safety-data-sheet.html>

Roy et al 2009

Roy S, Vandenberghe LH, Kryazhimskiy S, Grant R, Calcedo R, Yuan X et al. Isolation and characterization of adenoviruses persistently shed from the gastrointestinal tract of non-human primates. *PLoS Pathog.* 2009 Jul;5(7).

Wilkie et al 2020

Wilkie M, Satti I, Minhinnick A, et al. A phase I trial evaluating the safety and immunogenicity of a candidate tuberculosis vaccination regimen, ChAdOx1 85A prime - MVA85A boost in healthy UK adults. *Vaccine.* 2020;38(4):779-789.

Wold et al 2013

Wold WSM and Toth K. Adenovirus Vectors for Gene Therapy, Vaccination and Cancer Gene Therapy. *Curr Gene Ther.* 2013 Dec; 13(6): 421–433.