

20050107/A

厚生労働省科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

ワクチンの製造株の品質管理に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 加藤 篤

平成 18(2006)年 3 月

目 次

平成 17 年度

I. 研究の概要	2
II. 総括研究報告書	
ワクチン製造株の品質管理に関する研究 加藤 篤	5
III. 分担研究報告書	
1. 麻疹、風疹およびおたふくかぜ弱毒生ワクチン製造株のシードロット・システム導入に関する研究 田代真人	10
2. シードロットシステムへの移行に伴うシード及びワクチンの品質管理上の問題に関する研究 海野幸子	14
3. 弱毒生麻しんワクチンの評価および品質管理に関する研究 沼崎 啓	17
4. 弱毒生ウイルスワクチンの品質管理に関する研究 五味康行	19
5. 武田薬品における麻しん、風しん及びおたふくかぜワクチン株のシードウイルスの設定 仁田義弘	20
6. シードロットシステムに基づくワクチン製造株のマスターシード設定について 李 富雄	23
7. 弱毒生ウイルスワクチンのシードロットシステム移行における研究 大隈邦夫	26
8. シードロットシステム導入後のワクチンの品質管理に関する臨床・疫学的研究 岡部信彦	28
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	30

研究概要

(1) 研究課題：ワクチン製造株の品質管理に関する研究(H17-医薬-059)
3年計画の2年目

(2) 研究者：本研究は、以下の分担研究者、協力研究者によって行われた。

区分	氏名・所属・職名
主任班	加藤 篤 国立感染症研究所・ウイルス第三部 室長
協力 研究者	木所 稔 国立感染症研究所・ウイルス第三部 主任研究官
	佐藤大作 厚生労働省・医薬食品局・審査管理課 課長補佐
	伊藤 治 動物医薬品検査所・検査第一部 部長
	中村成幸 動物医薬品検査所・ウイルス製剤第二検査室 室長
田代班	田代真人 国立感染症研究所・ウイルス第三部 部長
岡部班	岡部信彦 国立感染症研究所・感染症情報センター センター長
協力 研究者	多屋馨子 国立感染症研究所・感染症情報センター 室長
沼崎班	沼崎 啓 国立感染症研究所・ウイルス第三部 室長
協力 研究者	菅井敏行 国立感染症研究所・ウイルス第三部 研究官
	染谷健二 国立感染症研究所・ウイルス第三部 研究官
海野班	海野幸子 国立感染症研究所・ウイルス第三部 室長
協力 研究者	大槻紀之 国立感染症研究所・ウイルス第三部 研究官
大隈班	大隈邦夫 化学及血清療法研究所・品質管理部 部長
協力 研究者	倉永雅彦 化学及血清療法研究所・第一製造部第二課 課長
	上田謙二 化学及血清療法研究所・第一製造部 上級技術員
仁田班	仁田義弘 武田薬品工業・生物製剤部 部長
協力 研究者	末原章宏 武田薬品工業・生物製剤部 生物技術グループ マネジャー
	渡辺秀夫 武田薬品工業・生物製剤部 生物第一グループ マネジャー
李班	李 富雄 北里研究所・製造第三部門 部門長
協力 研究者	佐々木学 北里研究所・品質保証部門 部門長
	服部信章 北里研究所・品質保証部門 部門長
五味班	五味康行 阪大微研・研究技術部・研究グループ 課長補佐
協力 研究者	宮武克昌 阪大微研・製造部 部長
	通山哲郎 阪大微研・製造部・製造第二課 課長
	石川豊数 阪大微研 副理事
	合田英雄 阪大微研 理事

(3) 研究の概要

生ワクチンは、多くの動物実験、ヒトでの臨床試験を経て有効且つ安全と認められた生ウイルスワクチン株(製造承認株)から製造される。しかし、ウイルスを含む微生物は、本来的に環境に適応する能力、すなわち変異し易い生き物であるためワクチン株を継代中あるいは増殖中にさへ変化を起こす可能性がある。そのためワクチン品質間の差をまったく無くすことは生物学的に不可能である。しかし、医薬品として一度認可を受けた後は、可能な限り一定品質のワクチンを製造することが必須である。製造過程の再現性・均一性を図るために導入されたのが生物製剤 GMP である。これにより製造工程、環境及び製造に利用する資材の管理が厳密に行われる様になった。しかしながら、ワクチンの原材料となるワクチン株は、生物学的製剤規準に製造承認株から5代以内を使用すると定められているだけで、その規程内の運用方法については定めておらず、5代を期限として限定する科学的根拠も必ずしも明確にされてはいない。

昨年までの調査によると過去に実用化された生ワクチン株のいくつかは、ワクチン原株、野外試験株、製造用保存種株の間の継代歴上の位置付けが開発製造所社ごとに一定しておらず、また、製造に用いるまでの継代方法、使用する順番についても統一性が認められないケースがあった。幸い、現在使われている生ワクチンで株の変異に由来すると思われる大きな事故は起きていないが、生ワクチンを有効で安全な医薬品として供給するためには、市場に出されるワクチンの製造方法がロットによらず恒に同じであり、克つ用いる株の継代歴が承認株から一定であることが必要である。

そのために本研究班では、性状の不安定さがつきまとう生ワクチンの製造管理にシードロットシステムを導入して、品質的に同等であるワクチンを製造するための株の管理方法を製造現場に還元する道筋をたて、その品質を検証する手段を確立することを目標とした。

(4) 研究の目的と必要性及び期待される成果

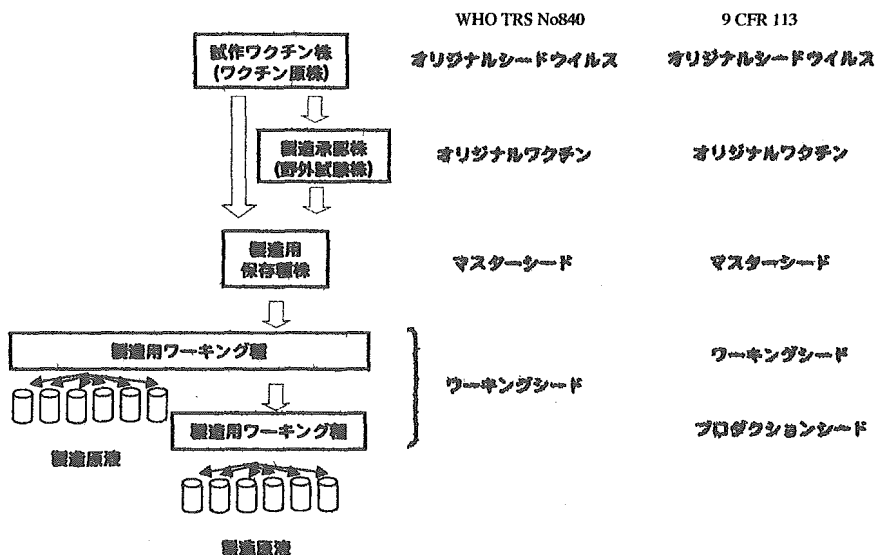
本研究では、野外試験株、製造用保存種株の継代歴に関する制限を設定するとともに、その品質を担保する方法について検討することを目的とする。より具体的には、製造用シードロットシステムの導入である。近年の遺伝子工学的手法の進歩により、ワクチン株がどのような遺伝学的性状をもったウイルスの集団であるかを決定することが容易になった。何代以内の継代ならばよいという従来から言われてきた漠然とした制限ではなく、科学的根拠に乗っ取った制限とその検証手段を実際の生ワクチン製造の現場に導入することが、大切である。本研究は、すでにシードロットシステムが採用されている水痘ワクチン、今後不活化へ変更の道筋が決められているポリオウイルスワクチンを除いた、麻疹、風疹、おたふくかぜ生ワクチンを対象として株の継代、ならびに性状の管理方法を定めて、実際の製造現場に採用していくことを目標としている。このような株の管理方法を採用する事により、有効性と安全性の担保された一定品質の生ワクチンが供給されるようになる。その結果、多くの時間と費用を要するロット毎の国家検定の試験数をいづれは減らせる事が可能となり、ワクチン単価の引き下げ製造各所社の国際競争力を高めていくことが期待される。

(5) 動物用ワクチンの動向と協調

動物用ワクチンは、ヒト用に比べて対象動物も養殖魚、家畜からペットに至まで広く、それに応じてワクチンの品数並びにロット数が多く、これら全てのロットを検定することは困難になっている。また、おおくのワクチンが既に輸入に頼っており、欧米との協調せざるを得ない現実がある。特に現在、日米欧で進めている承認基準の調和作業(いわゆるVICH)では、先行する欧米で制度化されているシードロットシステムを日本においても同じ様に制度化することは避けて通れない課題となっている。

そのために米国の製剤の規格基準等を定めた9CFR、EUの基準であるEP等を参考として、マスターシード(製造用株として選定され、ワーキングシードの元株として保存されるウイルス株又は菌株)、ワーキングシード(マスターシードに由来し規定の範囲で継代されるウイルス株又は菌株)及びプロダクションシード(ワーキングシードに由来し、製剤の製造段階において有効成分の作製に直接使用されるウイルス株又は菌株)と定義し、全製剤に導入する事を提案している(下図)。生ワクチンに限った議論を進めている人体用生物学的製剤とは、その点で異なっている。

シードロットシステム概念図



ワクチン製造株の品質管理に関する研究（H17-医薬-059）

主任研究者 加藤 篤 国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長

研究要旨 ワクチンの基になっている微生物は、環境に適応するとう本来的な生物の特性により変異しやすい性質を持つ。しかし、有効性と安全性といった規準を満たし製剤として認可された以上は、製品として一定の品質を保つ事が要求される。均一な製品を安定的に製造・供給する方法として考えられたのが、シードロットシステムである。我が国の生物製剤の品質管理方法において、シードロットシステムに関する議論は昭和 50 年から行われてきた。しかしそれから、およそ 20 年が経過しても昭和 61 年に認可された新しい水痘生ワクチンを除いて他の旧来からある生ワクチンをシードロットシステムへ切替える作業は進まなかった。本研究班では、製造各所社のワクチン株の継代履歴をもとに、生物製剤規準にある「製造承認株からの継代は 5 代以内」という大原則を壊さない範囲でシードロットシステムを実行する方策を検討し、その実施案を各社、各生ワクチン製剤毎に設定し、一步を踏み出した。

A. 研究目的

有効で且つ安全と認められた生ウイルスワクチン原株から製造される生ワクチンといってもウイルスが本来的に変異しやすい生き物であるために、品質間の差をまったく無くすることは困難である。とは言っても、できる限り一定品質のワクチンを製造することは、医薬品としてのワクチンには必須な事である。そのため生物製剤 GMP が導入されて、製造施設、環境、資材、製造方法が管理化され、製造過程の再現性・均一性が図れるようになった。ところが一方、製造に用いるワクチン原液について調査したところ、過去に実用化された生ワクチン株のいくつかは、ワクチン原株(オリジナルシードウイルス、試作ワクチン株)、野外試験株(製造承認株、オリジナルワクチン)、製造用保存種株(マスターシード)の間の継代歴上の位置付けが開発製造所社ごとに一定しておらず、また、製造承認

株から 5 代以内なら使えるという生物学的製剤規準の枠内で、ロット毎にさまざまな継代歴のものが規則性もなく使われていたことが明らかになった。幸い、現在使われている生ワクチンで株の変異に由来すると思われる大きな事故は起きていない。有効かつ安全と認められたワクチン原株と製造されたワクチンに含まれるワクチンが、品質的に同等であることを積極的に示す検証方法が採用されていない以上は、同一継代歴のワクチンを安定的に市場に供給する事がワクチン品質の同等性を確保する方法と考える。そのために本研究では、ワクチンの製造管理にシードロットシステムを導入することを目的として、株の管理方法の確立とその方法を製造現場に還元する道筋をたてるものである。

B. 研究方法

(1) 仮想製造履歴を基にしたシードロ

ット概念の共通化

国内ワクチン製造所社である武田薬品工業(株)、(社)北里研究所、(財)化学及び血清療法研究所、(財)阪大微生物病研究会で製造する、弱毒生麻疹、風疹、おたふくかぜワクチンの製造現場にシードロットシステムを導入することを目的に、ワクチンの仮想製造履歴をもとにシードロットシステムを導入するとしたらどのような方法が望ましいのかを検討した。

(2) 導入案の具体的検討

各製造所者の継代履歴については社外秘事項も含まれるため、全体会議では議論せずに製造所社の分担研究者、協力研究者と感染研所属分担研究者、協力研究者が個別に会議を行い、それぞれ製剤についての検討を行った。製造承認株から現在までに至る製造に用いた種株の継代履歴を個別に示してもらいシードロットシステムの導入方法と導入した場合にどれくらいの期間、どのくらいの量を供給可能かを具体的に考えながら導入方法を検討した。

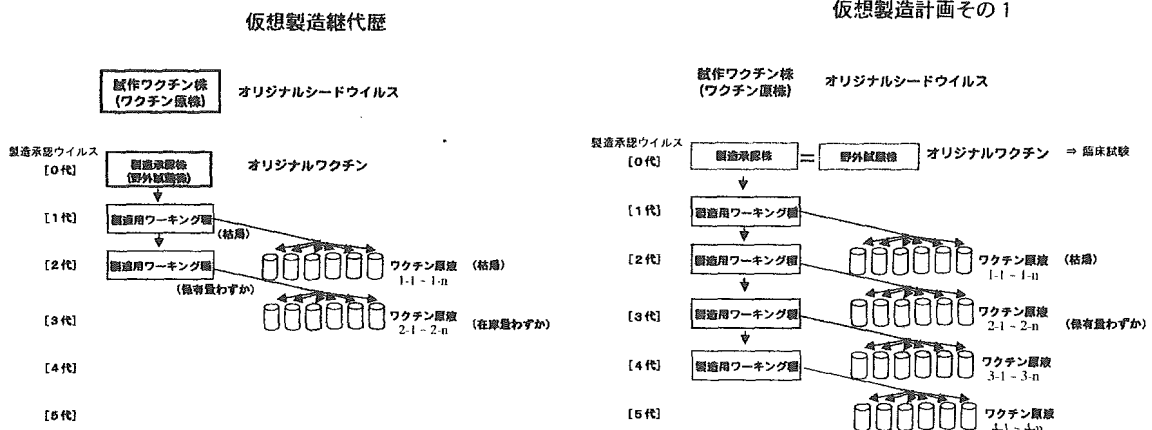
C. 研究結果

(1) 仮想継代歴におけるシードロット導入

モデル回答を三つ用意した。モデル1

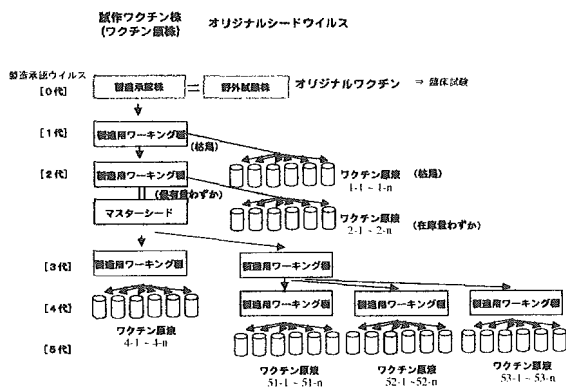
は、マスターシードからワーキングシードを作製し、そこからワクチンを作る限り作る。ワーキングシードが無くなりそうになったら、それを元に2代目のワーキングシードを作り、そこからまたワクチンを作る限り作る。2代目ワーキングシードが無くなりそうになったら、それを元に3代目、4代目とワーキングシード直線的に作って行く。ワーキングシード4代目を作るとそこから作るワクチン原液がマスターシードからの継代が5代目になるので、そこが生物学的製剤規準上の限界点になる。この方法では、段階的に製造承認を受けたものから継代履歴が進み、ワーキングシードの代が重なる毎に製品の品質が変わる可能性を持つ。しかし、製品が接種された後の状況を恒に監視しながら製造を行えば、急激な変化がでる可能性は少ないので全体としては許容される範囲に収まる。

モデル2は、2代目のワーキングシードの残りをマスターシードと位置づけ枯渇する事が無い様に恒久的に保存する。ただし、製造承認株から2代を経ているので、このマスターシードからの新たなる継代は、3代以内とする。このマスターシードから1代目ワーキンシードを作るが、十



分量のワーキングシードを確保できないので、ワーキングシードをもとに2代目ワーキングシードをつくると、十分量が確保できる。これをプロダクションシードと読み替えることもできる。この2代目ワーキングシードは製造承認株から数えて4代目になるので、そこから作るワクチン原液がマスターシードからの継代が5代目になるので、そこが生物学的製剤規準上の限界点になる。この方式でワクチンを作ると、表では製造承認株から数えて3代目が市場にワクチンと出荷されているところに、シードロットシステムを導入すると、いきなり4代目を通りこして5代目が出荷されることになる。3代から5代目にジャンプしても同じ様に有効性と安全性が、確保できるかどうかはわからない。そこで、1代目ワーキングシード(製造承認株から数えて3代目)の一部を用いてワクチン原液(同4代目)を作ると、3代目→4代目→5代目とジャンプせずに連続的にワクチンを市場に出す事ができ、ワクチン製造承認株と同等であることを、接種後の動向から知る事が可能である。5代目は、品質的に同等とみなせる同一継代歴のものをかなりの規模で市場に出すことが可能である。

仮想製造計画その2

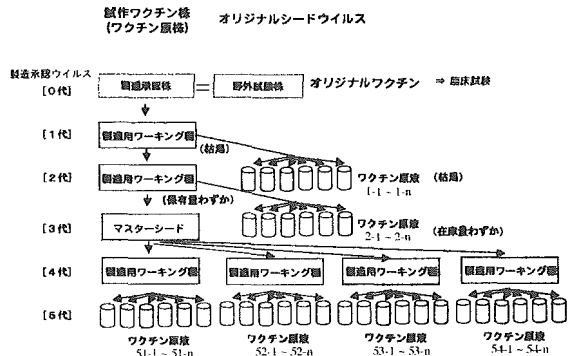


モデル3は、モデル2同様に2代目のワーキングシードの残りをマスターシードと位置づけ枯渇する事が無い様に恒久的に保存する。ただし、製造承認株から2代を経ているので、このマスターシードからの新たなる継代は、3代以内とする。このマスターシードから1代目ワーキングシードを作るが、十分量のワーキングシードを確保できないので、ワーキングシード(プロダクションシード)を作り、十分量を確保する事を優先する。品質的に同等とみなせる同一継代歴(5代目)のものをかなりの規模で市場に出すことが可能である。2代目ワーキングシードは製造承認株から数えて4代目になるので、そこから作るワクチン原液がマスターシードからの継代が5代目になり、そこが生物学的製剤規準上の限界点になる。モデル2でも指摘したが、この方式でワクチンを作ると、5代目が出荷されることになる。3代から5代目にジャンプしても同じ様に有効性と安全性が、確保できるかどうかについて接種後の動向調査が重要である。これについては岡部班の報告を参照されたい。

(2) 導入案の具体的検討

製造所社のそれぞれ製剤について

仮想製造計画その3



の検討結果について、武田薬品工業(株)の麻疹、風疹、おたふくかぜワクチンについては仁田研究班、(社)北里研究所の麻疹、風疹、おたふくかぜワクチンについては李研究班、(財)化学及び血清療法研究所の風疹、おたふくかぜワクチンについては大隈研究班、(財)阪大微生物病研究会の麻疹、風疹ワクチンについては五味研究班の報告書を参照されたい。製造履歴の詳細を示すことはできないが、製剤によっては継代履歴の若いものが残っており、一次ワーキングシードと二次ワーキングシード(プロダクションシード)と2代継代を進めて、そこからワクチン原液を作製しても現在市場に出しているワクチンの製造承認株からの継代数の枠内に収まるものもあったが、現在の継代履歴を1代超えてしまう場合もあり、運用上の注意が必要とされた。いずれのシードロットシステム運用案も、現在の製造ペースで使用した場合50年以上の期間にわたって供給が可能であり、安定性という点での問題はなかった。

D. 考察

我が国の生物製剤の品質管理方法において、シードロットシステムに関する議論は昭和50年から行われてき、過去においても何度か研究班も組織され研究成果が公表された。本研究班で調査したころ、ワクチン製造所社は、シードロットシステムの必要性は理解しシードロットシステムの理念を導入しようつ努力している姿勢が見られた。しかし、本来恒久的に保存されるべき製造承認株＝マスターシードが存在しないか、有ってももはや継代できるほど残っていないのが現状であった。一方、生

物製剤規準に規程されている「その株が適当と認められた後、定められた培養条件で継代を行い、かつ、その継代数が5代を超えてはならない」の"5代以内ならば使用可"の解釈により継代の枠内で次々と異なる継代歴のワクチンが市場に出荷される"モデル1"の様な状況が生まれていた。

生ワクチン株は、本来的にウイルスの遺伝形質が変り易いという性質を利用して、有効性を損なわない範囲でヒトに対して安全性が増した株を選択したものである。「その株が適当と認められた」後は、本来変り易いという性質をできるかぎり抑えて、製剤として均一な状態を保たなくてはならない。一般に遺伝子の変化は遺伝子の複製中に起こるとされているので、ウイルスの複製増殖回数が増えれば増える程、遺伝形質が変化する可能性が増す。従って、同一継代の物は同一品質の物と見なす事ができる。同一継代歴の物(同一品質の物)を安定的に供給する事を保証するためのシステムがシードロットシステムである。

異なる継代歴のもの適当にワクチンの原液製造に使っている様な状態では、たとえ生物製剤規準に合致して、かつ株の継代がきちんと書類上管理されているからといっても、それはシードロットシステムとは言えないのである。

今回の研究班で、シードロットシステムを製造現場に設定する最大の問題点は、すでに製造承認株が無いか、あるいは、ほとんど無いに近い状態である点であった。それについては、恒久的に保存される必要があること、ワーキングシードを何ロットも作るに足る量があること、尚かつ、製造承認株からの継代数が若

い事を条件に、各製造所各製剤毎に改めてマスターシードに相当するものを設定し、モデル3方式を現場に導入することを決定した

ただし、マスターシードに相当とは言っても、ここから新たに5代の継代を許すものではなく、継代数は製造承認株から5代以内の原則を壊すものではない。したがって、仮に製造承認株から数えて3代目の保存株をマスターシード相当した場合には、この株からは2代以内の継代しかできない。

今後の問題点として、設定によっては市場に出されるワクチンの継代歴が、間にワーキングシードの作る作業を挟むために、現在市場に出されているワクチンよりも継代歴が1代～2代進んでしまうことがあり得る。この継代歴が進んだワクチンの安全性と有効性をどう見積もり、その確認をどの様に行うかが課題として残った。

来年度は、以上の問題点の他に、設定したマスターシードの恒久的管理方法、ワーキングシード、プロダクションシードの品質管理方法について、文書管理並びに科学的検証方法の立場から検討することを計画し

ている。

E. 結論

同一品質のワクチンを安定的に供給することは、国民の健康管理上重要なことである。現状の生ワクチン製造と生物学的製剤規準の枠組みの中で、製造承認株から数えて同一継代歴のワクチンを安定的に市場に出すべくシードロットシステムを導入することを決定し、その具体的方法を各製造所の各製剤毎に検討した。

F. 健康危険情報

現段階では、ワクチンの継代歴の違いによる具体的な健康被害の報告はない。

G 研究発表

巻末に一覧表を載せた。

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

麻疹、風疹およびおたふくかぜ弱度生ワクチン製造株の シードロット・システム導入に関する研究

分担研究者 田代真人 国立感染症研究所 ウイルス第三部長
研究協力者 海野幸子 国立感染症研究所 ウイルス第三部
研究協力者 加藤 篤 同上
研究協力者 大槻紀之 同上
研究協力者 木所 稔 同上
研究協力者 棚林 清 同 獣医科学部
研究協力者 佐藤大作 厚生労働省医薬食品局血液対策課

研究要旨 ウイルスワクチンの製造における最終製品の恒常性、再現性を確保するためには、製造承認を受けたワクチン株およびその増殖に用いる細胞株のマスターシードに基づいた保存・継代に関するシードロットシステムと、製造過程・操作のすべてを適切な SOP に基づいて管理する GMP 体制の両者が不可欠である。そこで、我が国におけるワクチン製造株の管理の実態を把握し、シードロットシステムの導入が可能なのか否かを明らかにすること、次に、この現状を基盤として、我が国における既存の生ワクチン製造体制の中で、どの様なシードロットシステムを構築し、移行・導入すべきか、その際に将来にわたって安全性・有効性に関する再現性が保証されたワクチン製造と安定供給が保証されるのかを検討した。

A. 研究目的

ウイルスワクチンの製造における最終製品の恒常性、再現性を確保するためには、製造承認を受けたワクチン株およびその増殖に用いる細胞株のマスターシードに基づいた保存・継代に関するシードロットシステムと、製造過程・操作のすべてを適切な SOP に基づいて管理する GMP 体制の両者が不可欠である。GMP に関しては、生物学的製剤に関する GMP が導入されて、製造過程における品質管理体制は大幅に改善された。しかし、我が国で製造されている生ワクチンの多くは、この様な認識が普及する以前に製造承認がなされており、その後のワクチン製造株の管理方法に関する規則もないのが現状である。昭和 50 年前後からシードロッ

トシステムに関する議論がなされ、我が国においてもシードロットシステム導入の必要性が提言されてきた。その後、水痘ワクチンがシードロットシステムを採用した初めてのワクチンとして認可されたが、他の現行生ワクチンについてはシードロットシステムへの転換作業は進んでいない。そこで、我が国におけるワクチン製造株の管理の実態を把握し、シードロットシステムの導入が可能なのか否かを明らかにすること、次に、この現状を基盤として、我が国における既存の生ワクチン製造体制の中で、どの様なシードロットシステムを構築し、移行・導入すべきかの具体的な検討を目的とした。

昨年度は、各メーカーの各製品に使用しているワクチンウイルス株に

関して、臨床試験、野外試験、製造承認株、マスターシード、製造用ワーキングシード、ワクチン製剤等の継代歴を調査した。その結果、製造承認株の使用記録及び保存管理に不備があり、製造承認株、製造用マスターシード、製造用ワーキングシード等の区別が必ずしも明確ではなく、その継代歴においてもシードロットシステム概念に合致せず、一部が混合されている場合等があった。

本年度は、この結果に基づき、各所社において、生物学的製剤基準の範囲内で、実際にどの継代ウイルスを新たなマスターシードとして認定して、今後のシードロットシステムをどの様に構築するのか、その際に、将来にわたって安全性・有効性に関する再現性が保証されたワクチン製造と安定供給が保証されるのかを検討した。

生ワクチンは、動物実験や臨床試験において有効且つ安全と認められて承認されたワクチン原株から製造される。ワクチン製造に用いる製造用シードウイルスおよびこれを用いて製造した最終製品は、すべて、製造承認された原株を継代したものである。RNA ウイルスは増殖過程において特に遺伝子変異を起こしやすいために、同じシードを用いても品質間の差をまったく無くすることは不可能であり、さらに継代歴が異なるシードを用いた場合には、最終製品の恒常性、再現性は保証されない可能性がある。このような宿命的条件下においても、最終製品の恒常性を保ち、安全性と有効性を確保することは必須である。

生物学的製剤における再現性・恒常性は、理論的には、原材料の恒常性と製造方法の恒常性の両者によっ

て担保出来る。生ウイルスワクチンにおいては、前者についてはシードロットシステムにより、後者については GMP によって、極力その再現性・恒常性が図ることが国際的に合意されているが、我が国においてはシードロットシステムの導入は、水痘ワクチン以外には実施されていない。

昭和 50 年以来我が国においても、シードロットシステムの導入の必要性が強く指摘されてきたが、それが実現出来なかった背景を明らかにし、また現段階において、各メーカーの各製品について、シードロットシステムへの移行が可能であるのか否かを明らかにする必要がある。そのために、昨年度は、まず国内各メーカーの各製品のワクチン製造用ウイルス株について、その継代歴と管理方法の実態について調査した。その結果、麻疹、風疹、おたふくかぜワクチンでは、各メーカーとも当初からシードロットシステムは導入されておらず、既に継代歴の若いウイルス株が枯渇しているものもあった。従って、直ちに承認された原株からのシードロットシステムへの移行は困難であることが示唆された。そこで、この現状に沿って、生物学的製剤基準および科学的、法的、及びメーカーの経済的問題のいずれをも満足させるような移行方法を早急に検討する必要がある、これを検討した。

B. 研究方法

国内において生ウイルスワクチンを製造している 4 社に対して、麻疹、風疹、おたふくかぜ弱毒生ワクチンに関して、開発からの継代歴、臨床試験に用いたワクチンの由来、製造承認株、マスターシード、ワクチン

製造用ワーキングシード等について、この継代歴、製造ロット、管理方法、管理実態等に関する記録の調査をアンケート形式で行った。更にこの調査結果に基づいて、各社に対して疑問点に関する質問を文書および面談で行ない、継代歴、現在保存されているウイルス量に関する情報を得た。

C. 研究結果

各社の製造記録等は、企業秘密に属する次項であるので、各ワクチン株の継代・管理に関する具体的な調査結果については今回公表出来ない。

(1) 製造各所社で、製造承認取得後に、ワクチン製造の用いたウイルス株の継代歴、原液製造量、小分け製品製造量、種ウイルスの使用量、残存量を詳細に調べた。

(2) その結果に基づいて、今後、生物学的製剤基準に定められた5代以内の継代数において、将来にわたって安定したワクチン製造・供給が可能な製造用ウイルスシードロットの作製が可能なウイルス株ロットの候補を特定した。

(3) これに基づいて、今後シードロットシステムを構築した際のモデルを作成し、継代数、製造量、供給量、製造株および最終製品のウイルス学的な均一性、製品の再現性および法的適合性を検証した。その結果、いずれもの条件をも満たすようなシードロットシステムの構築が可能であると判断された。

(4) しかし、中には、新たな原株とするウイルスの継代歴が3代を経過しているものもあり、新たなシードロットシステムを構築した場合に、最終製品が5代目となるものも存在した。これらを含めて、市販後の安全性、有効性の継続的調査が必要であ

ると考えられ、その方法に関する検討を進めた。

(5) 新たなシードロットシステムの管理、運営に関する SOP 案の作成と、その実用性、可能性等を検討した。まず、継代方法、接種条件、培養条件、感染価、培養温度、培養時間等に関する定義を定め、これに基づいた共通認識をもとに、SOP とその運用を図ることが必要である。

D. 考察

昨年の調査から、近代的な品質管理の概念が導入される以前に製造承認された多くの生ワクチン製剤については、製造原料であるワクチン製造用シードの管理、継代における品質管理が不十分であったことは否めない。これは、各メーカーのみならず、当時の審査当局においても、ワクチン株の継代・管理の意義に対する認識が十分では無かったことが背景にあると考えられる。当時の生物学的製剤に対する国際的な学問的レベルを勘案すると、許容せざるを得ないものと考えられる。

生物学的製剤の品質管理に関しては、我が国でも GMP が導入されて、製造過程の再現性・恒常性を確保する努力がなされている。しかし、原材料の恒常性・その由来が曖昧であれば、GMP に基づいていくら製造過程の再現性を厳密に管理しても、出発材料における不均一性・非再現性が、そのまま最終製品にも反映される可能性がある。すなわち、GMP の導入が行われたものの、シードロットシステムの導入が無ければ、ワクチンにおける品質管理は片手落ちと言わざるを得ない。

従って、我が国においても、早急にシードロットシステムの導入を实

施する必要がある。しかし、既に長期間にわたって製造が行われ、従来の概念の中で継代・管理されてきた既存のワクチン株については、直ちにシードロットシステムへの移行は困難である。

しかし、本年度の調査研究から、これらの問題点を解決して、科学的、法的、及びメーカーおける経済的問題のいずれをも満足させるような方法を検討した結果、個々の製剤について、現在使用している製造用シードから、どの段階に戻ってシードロットを構築するのか、その場合の製造承認株との継代関係に関する根拠は何か、科学的に許容されるのか、今後の継代に関して、生物学的製剤基準の規定を満足させるか、等の問題を具体的に検討した。

その結果、各製造所社の各製品について、どの継代歴のウイルス株を今後の製造原株とするか、その管理、製造、維持等に関する計画とその妥当性、将来の安定したワクチン製造・供給に対する保証等において、いずれもほぼ満足の行く解決方法を得ることが出来た。

今後は、この具体的な導入方法と、その際に保証されるべき臨床試験等の製造承認時の成績の再現性の検証、市販後調査の在り方等の検討を経て、来年度には、すべての製剤でシードロットシステムの導入を図ることを可能としたい。

なお問題点として、来年度から MR ワクチンの 2 回接種が導入されるが、これに伴い、ワクチン製造量が 2 倍

に増加することが予想される。更に、経過阻止として、当面は各々の単味ワクチンの製造も抵抗して継続される。そのため、製造用シードロットの数量を従来の算定よりも 2 倍以上余裕を持って準備しておく必要が生じており、この検討も来年度の課題となっている。

E. 結論

既に承認済みの生ワクチン株については、ウイルス株の継代歴、管理方法について調査した結果、製造承認株から直ちにシードロットシステムへの移行は困難であるが、この現状に沿って、科学的、法的、及びメーカーの経済的問題のいずれをも満足させるような移行方法を検討し、その可能性を明確にした。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
無し
2. 学会発表
無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

4. 特許取得
無し
5. 実用新案登録
無し
6. その他
無し

シードロットシステムへの移行に伴うシード及びワクチンの 品質管理上の問題に関する研究

分担研究者 海野幸子 国立感染症研究所ウイルス第三部 室長
協力研究者 大槻紀之 国立感染症研究所ウイルス第三部 研究員

研究要旨 各製造所によってシードロットの設定案が示され、それらの現行の製造における位置が明らかになった。同時にシードロットシステムとはかけ離れたこれまでのワクチン製造の変遷を知ることになった。多くの製造所は製造承認株から継代をすすめて新しいシードを設定した。これまで市場に出たことのない継代数のワクチンが製造される場合は市販後調査が必要だった。また、シードロットシステムにおいて国際的な調和をはかり、且つ試験を合理的に実施するために品質管理方法の一部を変更する必要があった。

A. 研究目的

安全且つ有効なワクチンを長期的に一貫性をもって製造することのできるシードロットシステムへ移行するためには、各ワクチン製造所の実情と過去の実績を踏まえて実現可能な具体案を立てる必要がある。生物学的製剤基準で麻しん、風しん、おたふくかぜ各ワクチンは製造承認株（オリジナルワクチン）からの継代数が5代を越えてはならないと規定されているため、承認株から4代までの間にマスターシードとワーキングシードを設定しなくてはならない。各製造所から示されたシードロット設定案の問題点を明らかにし、シードロットシステムへの理解を深めると同時に、新しくシードを設定することによって派生する問題と、ワクチンの安全性と有効性を確保するために今後シードとワクチンについてどのような品質管理を行う必要があるか考察することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

各製造所から個別に示されたシ-

ードロット設定案から、設定されたマスター及びワーキングシードのワクチン製造における位置を明確にする。同時に、これまでのワクチン製造の実態を把握し、シードロット設定案の問題点を明らかにして、シードロットシステムの導入をはかる。更に、既にシードロットシステムによるワクチン製造が行われている欧米の生物学的製剤基準を参照して、シードロットシステムにおけるシードウイルスとワクチンの国際調和をはかった品質管理方法を考察した。

C. 研究結果

1. シードロットはウイルスの変異を出来るだけ避けるために製造承認株から継代数を増やさずに設定するのが望ましいが、多くのメーカーがオリジナルワクチン及びそのオリジナルシードを使い果たしており、現行のワクチン製造と同じかそれよりも継代を進めて新しくシードロットを設定せざるを得ない状況であった。その結果、これまで製造されたことのない継代数を経たワクチンが市場に出ることになるため、ワクチンの

安全性と有効性について市販後調査が必要と考えられた。

2. オリジナルシードから製造用細胞で新たに1代継代を進めたウイルスや、オリジナルシードの1代前すなわちオリジナルシードを作製するためのシードを用いて2代継代を加えたウイルスは製造承認株と同じ継代数ではあるが製造承認株そのものではない。このように製造承認株直系ではない別の系列が実際のワクチン製造に用いられてきた事例や、製造承認株から5代までの間にいろいろな継代数のワクチンが製造されたが最終的に最も継代の進んだ5代目が製造ワクチンとして選択されている事例についてシードロットシステム概念に照らして検討した。過去数十年実際に行われてきたこのような製造の現状を包含してその上に新しいシードロットシステムを構築することになるが、今回の個別議論によって明らかにされた問題点に対する感染研と製造所の認識を共通にし、シードロットシステムへの理解を深めるために、各製造所の設定案に見られる誤った記載を訂正し、討議された内容を反映させた非公開の記録を残すことが必要と思われた。

3. 培養等の条件を守ることは製造の一貫性即ち安全性と有効性が確認された製造承認株と同等なワクチンを再現性をもって製造するために極めて重要である。当初の承認書に十分な記載がないワクチンの詳細についての記載整備が製造業の更新に伴って進められていた。

4. シードロットシステムでは、シードの性質がよく調べられていることが条件となる。WHOの基準(Technical Report Series, No. 840, 1994)ではシードウイルス株に神経毒力性

がないことを確認するよう規定されており、ワクチンウイルス浮遊液の確認試験は要求されていない。米国の基準(Code of Federal Regulations 21, 1996)では、ワクチン製造の一貫性を確立するために、シードとそれを用いて製造されたワクチンの連続5ロットについて神経毒力試験を行うことが定められている。これはシードロットシステムによる製造において適用されているもので、我国で神経毒力試験を5ロット実施したことは本質的に異なることは昨年度の本研究班報告書でも明らかである。我国のワクチンは安全に推移してきたが、新しく設定するシードについて本試験を行うか否か決める必要があった。

5. WHO及び米国の基準において対照細胞、シード、ウイルス浮遊液について行われる外来性ウイルス等否定試験で、血球吸着性を示さない外来性感染性因子の検出を目的として我国では行われていないサル細胞への接種試験がある。小動物への接種試験はWHO基準にはないが、米国の基準では規定されている。また、ウイルス浮遊液の外来性ウイルス等否定試験はろ過前のウイルス浮遊液について行うよう規定されているが、我国ではろ過前の個体別ウイルス浮遊液での細胞接種試験を、ろ過後の原液を最終バルクと同じ濃度に希釈したウイルス浮遊液で全ての試験を実施している。

6. WHO及び米国の基準では、細胞培養に用いる牛血清やトリプシンのウイルス安全性に言及している。我国でも生物由来原料基準が設けられ、BSEの混入を避けるために牛血清の産出国が制限されるようになったが、トリプシンや安定剤として使用され

るヒトアルブミン等の生物由来の試薬の品質、特にウイルス安全性に関して保証される必要があった。

D. 考察

承認株からワクチンまでの継代範囲は、異なる継代数のワクチンを用いて人への有効性を確認した成績に基づいて決められた訳ではない。ワクチン株作出の際に野外株の細胞継代を繰り返すことで病原性の弱毒化がはかられたことから、特にワクチンの免疫原性の変化に留意する必要がある。今回のシードの設定案はそれを使用した長期の製造を可能にするものであり、将来我国のワクチンをもって近隣の国々に協力することも想定し、マスター或いはワーキングシードの神経毒力試験を実施しておいた方がよいと考える。また、今回設定したシードについて無菌性や外来性ウイルス等否定試験に加えて、シードウイルスの遺伝子の塩基配列、プラークサイズやその形態、温度感受性などを調べることは、今後のワクチン製造において一貫性を確認するために有効な手段となると思われる。

製造工程の変更が必要になるが、ろ過前ウイルス浮遊液プールだけを外来性ウイルス等否定試験の対象に変更することでウイルス浮遊液の濃度が高くなり外来性感染性因子の検出感度を上げることになる上に、サル細胞接種試験を追加しても尚、省力化に通ずる。

E. 結論

シードロットシステムの趣旨は製造工程の上流即ちワクチンの製造に用いるシードウイルスや細胞を管理することで品質を確保することにある。これまでは、人に接種するワクチンに近い製造段階（中間段階品）の品質管理に重きが置かれてきたが、工程の上流で品質を確保する方法へと転換が求められることになる。したがって、ワクチンの品質管理において製造工程管理が益々重要となり、製造所の責任も重くなる。これまでの実績から我国の製造所は十分な力量があると思うが、我国独自のワクチン製造能力を保持するために国によるさまざまな支援が必要である。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願、登録情報

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

弱毒生麻疹ワクチンの評価および品質管理に関する研究

分担研究者 沼崎 啓 国立感染症研究所ウイルス第三部 室長
協力研究者 染谷健二 国立感染症研究所ウイルス第三部 研究員
協力研究者 菅井敏行 国立感染症研究所ウイルス第三部 研究員

研究要旨 麻疹排除対策戦略計画の実行には有効性の高いワクチン接種が不可欠である。またウイルス学的及び遺伝子学的特性に基づいたワクチン株の評価および品質管理と科学的監視体制の充実も必要とされる。本研究では弱毒生麻疹ワクチンの評価に関する実験室の手技の開発、確立、標準化について検討した

A. 研究目的

現在我が国で市販されているワクチンには Enders の分離した Edmonston 株由来の AIK-C 株、Schwarz-FF8 株、田辺株由来の CAM 株、TD97 株を起源としており、最終製品はニワトリ胎児胚細胞で増殖したウイルスを含む培養上清を精製して作られている。ワクチンの製造においては株の継続台による変異を避けるためにシードロットシステムの導入が求められている。一方、ワクチンの評価および品質管理に関しても多くの課題が指摘され早急な対応が求められている。

B. 研究方法

麻疹ウイルスワクチンの評価への応用の目的で従来の Vero/hSLAM 細胞を用いた。追跡可能であったものに関しては製造承認株から五代以内の株について H 遺伝子領域の変異の有無について解析した

（倫理面への配慮）

実験室内診断に関する手技が主体であり、倫理面での配慮は必要とされなかった。

C. 研究結果

弱毒生麻疹ワクチンの力価の判定

においては Vero/SLAM 細胞の有用性が確認された。Vero/SLAM 細胞は中和抗体測定への応用も可能であった。検索し得た株に関しては H 遺伝子領域の変異は認められなかった。

D. 考察

Edmonston 株は CD46 をレセプターとして用いるが、Vero/hSLAM 細胞は CD46 のみならず CD150(SLAM) を発現する。Edmonston 株は野生株と同様に CD150 もレセプターとする。Vero/hSLAM 細胞はワクチン株の力価試験などへの応用が可能である。ワクチン株に関しても変異に関する解析が必要と思われる。

E. 結論

本研究の成果により、麻疹ワクチン株におけるウイルス馴化機構の解明、ワクチンの品質管理システムの改善などに寄与が可能であった。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

（英文）

1. Numazaki K. Human cytomegalovirus infections in

- premature infants by breastfeeding. Afr J Biotechnol 2005, 4: 867-872.
2. Tanaka K, Numazaki K, Tsutsumi H.: Human cytomegalovirus genetic variability in strains isolated from Japanese children during 1983-2003. J Med Virol 2005, 76: 356-360.

(和文)

1. 沼崎 啓. 感染制御と教育、市民(親や子ども)の教育/啓蒙・コミュニケーション—麻疹根絶に向けての取り組みを中心に—、小児科臨床 58: 2575-2583、(2005)
2. 沼崎 啓. 冬の院内ウイルス感染対策. 感染と抗菌薬 2005, 8:413-415.

2. 学会発表

(海外学会)

1. Numazaki K. Vero/SLAM cell line. WHO/WPRO Hands-on Training/Workshop on the Laboratory Diagnosis of Measles Virus Infection. 2006, March 13-18, Hong Kong

(国内学会)

1. 沼崎 啓. わが国の麻疹対策の現

状と展望—WHO 世界特別麻疹検査室および地域レファレンス検査室の役割を中心に。平成 17 年ウイルス検査技術連絡会講演, 2005 9. 16, 東京.

2. 沼崎 啓. 世界から麻疹が消える日を目指して—WHO の麻疹根絶計画—. ワクチンセミナー「麻疹根絶をめざして」特別講演, 2005 10. 7, 苫小牧

H. 知的財産権の出願、登録情報

1. 特許取得
無し
2. 実用新案登録
無し
3. その他
無し

I. 謝 辞

本研究は堤裕幸(札幌医科大学医学部・教授)、斉藤義弘(東京慈恵会医科大学・助手)の協力を得て行われた。

弱毒生ウイルスワクチンの品質管理に関する研究

分担研究者 五味康行 財団法人阪大微生物病研究会 研究・技術部 課長補佐
協力研究者 通山哲郎 財団法人阪大微生物病研究会 製造部 製造第二課 課長
協力研究者 宮武克昌 財団法人阪大微生物病研究会 製造部 部長

研究要旨 阪大微生物病研究会の弱毒生麻しんウイルス田辺株及び弱毒生風しんウイルス松浦株の今後の製造可能な量を推測した。その結果、どちらについても同一継代数の製品を、今後極めて長期に渡って市場に供給することが可能であると考えられた。

A. 研究目的

弱毒生ワクチンのシードロットシステムの導入にあたり、品質の安定した製品の供給可能期間について調べる。

B. 研究方法

当会の弱毒生麻しんウイルス田辺株及び弱毒生風しんウイルス松浦株のシードの保存量をもとにして、今後の製造可能な量を推測した。

（倫理面への配慮）

特に無し

C. 研究結果

1) 弱毒生麻しんウイルス田辺株について

ワーキングシードの保存量は、ワクチンに換算して約 1 億人分相当を製造できる規模がある。これは現在の販売量から計算すると約 150 年分に相当する。

2) 弱毒生風しんウイルス松浦株について

ワーキングシードウイルスの保存量は、ワクチンに換算して約 6 億人分相当を製造できる規模がある。これは現在の販売量から計算すると約 1000 年分に相当する。

以上のように、弱毒生麻しんウイルス田辺株及び弱毒生風しんウイルス松浦株については、どちらもワーキングシードから 1 代培養増殖させた同一継代数の製品（即ち品質の安定した製品）を、今後極めて長期に渡って市場に供給できることが分かった。

E. 結論

品質の安定した製品を、長期間市場に供給可能である。

F. 健康危険情報

特に無し

G. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
特記事項なし。