

平成18年度

政策創薬総合研究  
重点研究報告書（Ⅱ）

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成18年度

政策創薬総合研究

重点研究報告書（Ⅱ）

# 目 次

KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法 (DLI) の実用化	藤原成悦 ……	589
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 ……	636
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 ……	656
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 ……	671
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 ……	680
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 ……	691
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 ……	707
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 ……	720
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 ……	728
KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 ……	740
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 ……	761
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 ……	772
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 ……	783
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 ……	795
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 ……	814
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	826
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 ……	836
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 ……	839
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 ……	919
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 ……	939
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一 ……	951
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 ……	966

KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 979
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間 正充 …… 1000
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森 静志 …… 1021
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾 和人 …… 1042
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野 泰雄 …… 1054
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田 康文 …… 1070
KHB1201	タンパクリン酸化酵素SIKの糖・脂質代謝における役割と創薬標的評価系の開発	竹森 洋 …… 1080
KHB1202	家族性黄斑変性カニクイザルを用いた加齢黄斑変性の新規治療及び予防薬の開発	寺尾 恵治 …… 1086
KHC1203	弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究	大隈 邦夫 …… 1090
KHC1204	チオレドキシシンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発	井上 達 …… 1096
KHC2206	腹膜癒着予防剤の開発と応用	土肥多恵子 …… 1106
KHD1205	ヒト乾燥羊膜の機能再生医療材料への実用化に関する研究	阿久津英憲 …… 1111
KHD2207	ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究	後藤 雄一 …… 1115



## 弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究

所属 (財)化学及血清療法研究所 品質管理部  
研究者 大隈 邦夫

### 研究要旨：

乾燥細胞培養痘そうワクチン LC16m8 は、世界保健機関(WHO)の天然痘撲滅活動で中心的な役割を果たした Lister 株をウサギ初代腎細胞で低温馴化することにより橋爪らが開発した国産の弱毒痘そうワクチンである。このワクチンは1973～1974年に種痘研究班により約90,000例の小児への接種が実施され、そのうち約10,000例については詳細な臨床症状観察が実施され、従来のワクチン株と比較して高い安全性が確認された。1975年には国の製造承認を得ている。しかしながら、翌年にわが国では痘そうワクチンの定期接種が中止されたため、このワクチンが世間一般に広く使用される機会はなく、更に、1980年のWHOによる天然痘撲滅宣言により法律的にも種痘(痘そうワクチン接種)が廃止されたため、その後長い間製造されることもなかった。だが、2001年9月の米国同時多発テロ等により世界情勢が変化し、生物化学兵器によるテロの危険性が高まっていることを受けて、天然痘ウイルスによる生物テロ対策の一環として、痘そうワクチン LC16m8 の再製造が行われている。

本研究では、弱毒生ウイルスワクチンを代表して、この痘そうワクチン LC16m8 の品質及び生産性向上に関する研究並びに安全性及び有効性に関する非臨床または疫学的研究を行い、以下の結果を得た。

- 1) LC16m8 株は、Lister 株から低温馴化により選択された温度感受性株である。このため、生物学的製剤基準で当該ワクチンの「マーカー試験」の一つとして、「増殖温度感受性試験」により温度感受性を確認することが規定されている。本研究では、現行試験法より更に適切な試験法の可能性を検討した結果、RK13細胞を用いたウイルスの一次増殖測定試験法が有望な代替え法であると考えられた。
- 2) LC16m8 株の安全性リスク評価の一環として、本来は接種禁忌または要注意対象である湿疹またはアトピー性皮膚炎患者およびその既往歴者に対する安全性リスク評価を想定した種痘性湿疹リスク評価動物モデルの構築を試みている。その病理学的解析のための基礎検討として、これまで我々が実施したポックスウイルス感染実験後の動物の皮膚病変を病理学的に再検討した。その結果、サル、ウサギとも皮膚病変におけるポックスウイルス抗原陽性細胞は、残存した表皮、ときに毛根、汗腺を含む上皮細胞、表皮直下に浸潤した組織球に局限した。また、痂皮の壊死部はウイルス抗原陰性であった。また、封入体を含む細胞、ウイルス抗原の検出時期は限定されていると考えられた。
- 3) LC16m8 株の初代ウサギ腎細胞でのプラーク形成温度上限は、Lister 株では41℃以上であるのに対し、LC16株、LC16m0株、LC16m8株は41℃ではプラークを形成しない。そこで、LC16m0株の温度感受性の安定性、責任遺伝子のマッピング等に関して解析した結果、LC16m0株は温度感受性のリバータントは容易にはできないことが明らかになった。また、温度感受性の責任遺伝子が複数存在することが示唆された。
- 4) カニクイザルにおいて、LC16m8株1回接種の時点からサル痘発症予防効果誘導までの最短期間を検討し、ワクチン未接種のカニクイザルに $10^6$  PFUのサル痘ウイルス Zr-599株を皮下接種経路で感染させると致死的なサル痘を発症した。しかし、ワクチン接種から1週間後に同ウイルスを感染させると、3頭中3頭でサル痘発症を完全に阻止した。ワクチン接種から3日後にサル痘ウイルスを感染させると、3頭中3頭で軽症のサル痘を、ワクチン接種と同時にサル痘ウイルスを感染させると3頭中2頭で軽症のサル痘を発症した。これらの成績から、痘瘡ウイルスに感染したと考えられる時点でLC16m8株を接種することにより、天然痘の軽症化を誘導することが示唆された。
- 5) LC16m8株の善感率は、初種痘94.4%、再接種者86.6%と、再接種者で有意に低い傾向が示されている( $p < 0.001$ )。また、種痘が実施されていた1975年以前に出生した者のうち、初種痘と判断された者が約20%存在する。その善感率は93.8%と、同世代の再接種者の善感率86.1%に比べ有意に高い傾向を示す。これらの1975年以前に出生した者における接種前の抗体価のレベルについて検討した結果、既接種世代において中和抗体価が極めて低い者が約20%程度含まれており、特に過去1回のみの接種しか行ってい



ない世代において多い傾向が認められた。

- 6) 2002 年以來、成人に LC16m8 株を接種しているが、これまでに心膜炎を示唆する臨床症状は認められない。そこで、血清検査として、血清 troponin T の値を検討したが、無症候性の接種者には、血清 troponin T の異常を認めなかった。
- 7) 痘そうワクチン LC16m8 接種者の善感判定および副反応に関するデータをまとめた。その結果、善感判定及び副反応の発生率に関する大きな変化は認めなかった。また、胸部 X 線、心電図を含めた各種臨床検査データの変化も同様であった。
- 8) 痘そうワクチン LC16m8 接種者で善感と判定された者より、4 世代から各 50 人を抽出し、ワクチン接種前後の LC16m8 または Dryvax に対する中和抗体価を測定し、解析を行った。各世代で接種後に十分な抗体価の上昇を認めたものの、過去の接種履歴の異なる世代間において、中和抗体価の上昇に差異を認めた。
- 9) LC16m8 株の有効期間延長に関するデータを取得し、精度の高い品質試験成績を蓄積するために、力価試験法やマーカー試験等生ウイルスに関わる主要な検査項目についての検討を行った。
- 10) 国内外の痘そうワクチン製剤及びワクチニアウイルスの研究動向を調査評価し、LC16m8 株について動物モデルを用いて安全性・有効性に関する評価を行った。特に有効性評価においては、マウス感染モデルを用いて痘そうワクチン LC16m8 が中和抗体上昇の認められない免疫後早期でも発症抑制効果を有することを明らかにし、更に、ノックアウトマウスを用いてその感染防御機序について解析した。

分担研究者：

倉根一郎  
国立感染症研究所 ウイルス第一部  
佐多徹太郎  
国立感染症研究所 病理部  
森川 茂  
国立感染症研究所 ウイルス第一部  
西條政幸  
国立感染症研究所 ウイルス第一部  
金谷泰宏  
防衛医科大学校 防衛医学研究センター  
高瀬凡平  
防衛医科大学校 防衛医学研究センター  
桑原紀之  
自衛隊中央病院 保健管理センター  
藤井達也  
自衛隊中央病院  
中村幸嗣  
自衛隊中央病院  
竹内 勤  
慶應義塾大学医学部  
横手公幸  
(財)化学及血清療法研究所 第一製造部

取得することを目的とした。更に、LC16m8 株について最近の科学水準において必要な追加解析に関する調査を実施することも目的とした。このためには、国内外の痘そうワクチン及びワクチニアウイルスの研究動向を調査評価し、LC16m8 株に関する更なる科学的データを集積し、現行ワクチンの品質向上の検討課題を明らかにするとともに、非臨床及び臨床両面から安全性と有効性に関する成績を取得することを目的とした。

## B. 研究方法

a) 細胞培養痘そうワクチンの温度感受性試験法に関する研究

温度感受性のないクローン L0#4 及び LC16m8 を種々の multiplicity of infection (moi) でウサギ初代腎細胞または RK13 細胞に感染させ 35℃、41℃ で培養し細胞変性効果 (CPE) の出現を見た。また、24hpi 及び 48hpi にウイルスを回収した。ウイルスの回収に際しては、細胞ごと凍結し、凍結融解を 2 回行った後、超音波破碎して 3,000rpm, 10min 遠心した上清を得た。ウイルスの力価は、RK13 細胞を用いたプラーク法により測定した。

b) 種痘後の副反応評価動物モデルの構築のための病理学的研究

サル痘ウイルス感染実験あるいは痘そうワクチンの安全性評価試験で作製した皮膚組織標本を用いて、各動物におけるポックスウイルスによる皮膚病変を病理学的、免疫組織化学的、電子顕微鏡学的に再検討し、皮膚におけるウイルス動態と病変形成について基礎検討を行った。

## A. 研究目的

本研究では、弱毒生ウイルスワクチンを代表して、製造再開されている痘そうワクチン LC16m8 のロットについて、品質、生産性の向上の研究並びに非臨床及び臨床的安全性及び有効性に関する研究成績を



c) 細胞培養痘そうワクチンの温度感受性に関する研究

LC16m8 株は、B5R 遺伝子の変異により Vero 細胞での増殖が極めて悪いため、Vero 細胞で効率良く増殖する LC16m0 株 (m0#2) を用いた。m0#2 および温度感受性クローン L0#6 を Vero E6 細胞に感染後 40.5°C で培養してウイルスを回収し、Vero E6 細胞に感染後 35°C で培養して高力価のウイルスを得た。この 40.5°C 培養、35°C 増幅のステップを繰り返し 5 回行い、温度感受性のリバートアウト出現の有無を検討した。

温度感受性のないクローン L0#4 DNA から PCR により 9-14kbp の全長をカバーする amplicon を作製し、LC16m0 株感染細胞に導入して温度感受性の相補が可能か否かにより責任遺伝子部位のマッピングを行った。

d) 細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の霊長類におけるサル痘発症予防: 治療的ワクチン接種による効果

カニクイザルを用いた感染動物モデルを用いて、細胞培養痘そうワクチン LC16m8 株の治療的ワクチン投与のサル痘発症阻止効果を解析した。12 頭のカニクイザル (*Macaca fuscicularis*) を用いた。3 頭 (naive 群) にはワクチン接種することなく、3 頭 (D0 群) にはワクチン接種と同時に、3 頭 (D3 群) にはワクチン接種 3 日後に、残る 3 頭 (D7 群) にはワクチン接種から 7 日後に、皮下接種経路で  $10^6$  pfu のサル痘ウイルス Zr-599 株を感染させた。痘そうワクチンのカニクイザルへの接種は、ヒトの場合と同様に、二股針を用いた多圧法によった。

e) 痘そうワクチン LC16m8 の疫学的有効性及び安全性評価に関する研究

1. 既接種世代における LC16m8 ワクチン接種前の抗体保持状況に関する研究

1975 年以前に出生した者における痘そうワクチン LC16m8 接種前の中和抗体価のレベルについて検討を実施した。中和抗体については、plaque reduction neutralization test (PRNT) を用いて、LC16m8 及び Dryvax に対する中和抗体価を測定した。

2. 殊に心臓副作用についての検討

対象者に、LC16m8 接種前、接種当日、接種後 14 日後に臨床症状を問診により評価した。心膜心筋炎の頻度を検討するために、血清 troponin T 値を接種前、接種後 30 日後に測定した。また、通常の 12 誘導心電図を接種前、接種後 30 日、接種後 90 日に測定した。

3. 痘そうワクチン接種者の善感判定および副反応並びに胸部 X 線、心電図を含めた各種臨床検査データに関する研究

痘そうワクチン接種者において接種した例について、その安全性と有効性に関するデータを収集し、分析した。特に、善感判定および副反応に関するデータ、胸部 X 線・心電図の接種前後の変化、臨床検査データの接種前後の変化について調査した。

4. 中和抗体価による痘そうワクチンの免疫原性評価

成人における痘そうワクチン接種者のうち善感と判定された者より、4 世代に分けて接種者を抽出し、接種前および接種後 30 日における血清を得て中和抗体価の測定を行った。中和抗体価の測定は Plaque Neutralizing Reduction Assay により行い、50% のプラーク減少時の抗体価を判定した。チャレンジウイルスは LC16m8 および Dryvax を用い、LC16m8 による測定は化血研、Dryvax による測定は米国の試験受託機関 Focus 社に依頼した。

f) 有効性の維持の基礎的検討

乾燥細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の安定性評価を行い、有効期間延長に関するデータを取得した。さらに、精度の高い品質試験成績を蓄積するために、力価試験法やマーカー試験等生ウイルスに関わる主要な検査項目についての検討を行った。

g) 動物モデルを用いた痘そうワクチンの安全性及び有効性に関する基礎的研究

国内外の痘そうワクチン製剤及びワクチニアウイルスの研究動向を調査評価し、製造再開されている痘そうワクチン LC16m8 について、動物モデルを用いて安全性・有効性に関する評価を行った。加えて、今後検討すべき検討課題について調査した。

C. 研究結果

a) 細胞培養痘そうワクチンの温度感受性試験法に関する研究

初代ウサギ腎細胞およびウサギ腎細胞の株化細胞である RK13 細胞を用いて、35°C と 41°C での LC16m8 株と Lister 株の一次増殖を測定し、より有効な温度感受性試験法の開発の基礎データを得ることを目的とした。その結果、理論上全ての細胞が感染する  $moi=10$  程度の高い  $moi$  では、LC16m8 株感染細胞において 41°C の非許容温度での培養でも顕著な CPE が認められた。ウイルスの増殖は、35°C 培養では細胞、



moiに関わらず48hpiでウイルス力価が極大となったのに対し、41℃培養では24hpiが極大を示した。また、35℃で増殖したウイルスの力価/41℃で増殖したウイルスの力価を求めると、初代ウサギ腎細胞と比較してRK13細胞の方がはるかに大きな値となった。

#### b) 種痘後の副反応評価動物モデルの構築のための病理学的研究

痘そうワクチンおよびサル痘ウイルス接種後のウサギ、サルの皮膚病変について病理学的に再検討を行った。痘そうワクチン接種後、サル痘ウイルス皮下接種後の痘疱あるいは発痘の大きさはいずれも接種後2週目がピークであった。痘そうワクチン皮下接種後7日目のウサギ皮膚病変では、一部で細胞質内封入体形成を伴うウイルス性病変を観察することができた。

ウイルス抗原陽性細胞はサル、ウサギとも表皮、毛根、汗腺の上皮細胞と浸潤した組織球に局限した。サル痘発症サルの扁平上皮細胞における増殖形態を電子顕微鏡学的に確認したところ、ウイルス抗原の陽性強度とウイルス粒子の局在様式は一致し、特にフィラメント構造と興味深い局在関係を示した。

#### c) 細胞培養痘そうワクチンの温度感受性に関する研究

LC16m8株の温度感受性に関する遺伝子、非許容温度での増殖率の低下の機構を明らかにするために、Vero細胞で効率良く増殖するLC16m0株を用いて温度感受性の安定性、責任遺伝子のマッピング等に関して解析した結果、LC16m0株は温度感受性のリバータントは容易にはできないことが明らかになった。隣接しない2箇所のLister株の遺伝子領域によりLC16m0株の温度感受性が相補されることから、2遺伝子以上が温度感受性に関与していることが示唆された。このことから、LC16m8株の温度感受性はLC16m0株と同様に極めて安定な形質であることが示唆される。

#### d) 細胞培養痘そうワクチンLC16m8の霊長類におけるサル痘発症予防：治療的ワクチン接種による効果

カニクイザルにおいて、細胞培養痘そうワクチンLC16m8株1回接種の時点からサル痘発症予防効果誘導までの最短期間を検討した。

ワクチン未接種のカニクイザルに $10^6$  PFUのサル痘ウイルスZr-599株を皮下接種経路で感染させると致死的なサル痘を発症した。しかし、ワクチン接種から1週間後に同ウイルスを感染させると、3頭中3頭でサル痘発症を完全に阻止した。ワクチン接

種から3日後にサル痘ウイルスを感染させると、3頭中3頭で軽症のサル痘を、ワクチン接種と同時にサル痘ウイルスを感染させると3頭中2頭で軽症のサル痘を発症した。

#### e) 痘そうワクチンLC16m8の疫学的有効性及び安全性評価に関する研究

##### 1. 既接種世代におけるLC16m8ワクチン接種前の抗体保持状況に関する研究

痘そうワクチン既接種世代(1975年以前に出生した者)にどの程度の未接種者が存在するかについて解析を行った結果、種痘回数が1回と推定されるB群(1969-1975年の間に出生した者)において比較的多くの未接種者が存在する可能性が示唆された。一方、2回以上の種痘を受けたC群(1962-1968年の間に出生した者)及びD群(1961年以前に出生した者)においては、未接種者は少ない傾向が見られた。

##### 2. 殊に心臓副作用についての検討

対象者中心膜心筋炎を示唆する臨床症状を有する者は認められなかった。内346名に血清troponin T値の検査と心電図所見を確認した。無症候性のLC16m8被接種者には血清troponin T値の異常(>0.01 ng/ml)を認める者はいなかった。また、心膜心筋炎に特徴的なST上昇等の心電図所見は認められなかった。

##### 3. 痘そうワクチン接種者の善感判定および副反応並びに胸部X線、心電図を含めた各種臨床検査データに関する研究

脳炎や全身性ワクシニア症、あるいは心臓疾患など、重大な副反応の報告は皆無であった。

接種前後で、胸部X線所見に変化は認められなかった。また、総ビリルビン値が接種前後で有意に上昇していた。肝機能異常を呈した例、尿蛋白が陽転した例も散見されたが、これらの変化が痘そうワクチンの接種によるものか否かについては、調査中である。その他の臨床検査値については、接種前後で有意な差は認められなかった。

##### 4. 中和抗体価による痘そうワクチンの免疫原性評価

痘そうワクチンLC16m8接種による免疫原性を中和抗体価で評価を行い、初回接種者、既接種者共に弱毒生ワクチンLC16m8接種による免疫原性が認められることを示した。抗体価陽転率は初回接種者よりも既接種者において低く、また、接種前の抗体価は抗体価陽転率と逆相関しており、これは、既接種者における過去の接種ワクチン株による残存する免疫能がLC16m8を防御することを示しており、根絶



期に使用されていた非弱毒化株と LC16m8 の交差防御性を示すものであった。

#### f) 有効性の維持の基礎的検討

乾燥細胞培養痘そうワクチンは、生物学的製剤基準に既定されている $-15^{\circ}\text{C}$ 以下で保存した場合、48箇月までは安定であることが示された。

RK13細胞を用いたプラーク法は、LC16m8株以外のワクチニアウイルスの力価試験としても適用可能であることが示された。

#### g) 動物モデルを用いた痘そうワクチンの安全性及び有効性に関する基礎的研究

再製造した痘そうワクチン LC16m8 を用いて実施した安全性及び有効性評価動物実験において、LC16m8 ワクチンは天然痘撲滅時に使用された Lister 株と同等の有効性を保持しており、更に米国国家備蓄品である Dryvax と比較しても十分に弱毒化された安全性の高いワクチンであることを示す成績が得られた。また、本年度よりモデル構築検討を開始した種痘性湿疹リスク評価動物モデルについては、今後の検討課題を明らかにした。

### D. 考察

本研究では、弱毒生ウイルスワクチンを代表して、乾燥細胞培養痘そうワクチン LC16m8 の品質向上及び生産方法の研究、並びに安全性及び有効性に関する非臨床または疫学的研究を実施した。

まず、LC16m8株の特性解析については、温度感受性の解析とその責任遺伝子の探索を実施し、LC16m8株の温度感受性は極めて安定な形質であり、その責任遺伝子は複数存在することを示唆する成績を得た。今後の研究により、温度感受性遺伝子の同定とそれに続く LC16m8株の安全性機序(弱神経毒性等)の解明が期待される。

動物モデルを用いた安全性リスク評価については、ウサギを用いた皮膚増殖性評価において、LC16m8が米国国家備蓄品 Dryvax よりも100倍以上増殖性が低いことが示された。また、本研究から構築検討を開始した種痘性湿疹評価動物モデルは、近年増大しているアトピー性様皮膚炎や湿疹患者及びその既往歴者に対する本ワクチンの安全性リスク分析ツールとして期待される。

健康成人への使用実績においても、過去小児で行われた臨床研究の結果を良く再現する LC16m8 ワクチンの高い安全性を示す成績を得た。更に、今回の疫学的調査で臨床症状、血清検査(Troponin T測定)、心電図より実施した心膜炎副作用の診断において、異常が確認されなかったことから、近年米国で問題となっている NYC86 株由来のワクチン接種に起因す

る心筋炎に対するリスクが LC16m8 では低い可能性が示唆された。更に詳細な心電図所見の検討を今後行う予定である。

有効性評価においては、サルとマウスでの発症抑制効果評価実験が実施され、LC16m8 が天然痘撲滅時に主力を担ったワクチン株である Lister 株と同様に、十分な中和抗体誘導が達成されていない免疫後早期においても発症抑制効果を有することを示した。また、その機序解明に関する成績を取得しつつある。更に、動物モデルの成績と同様に、健康成人への使用実績においても、再製造した LC16m8 ワクチンは過去小児で行われた臨床研究結果を良く再現する高い抗体陽転率を示した。

LC16m8 ワクチンの接種については、添付文書において圧刺回数が初種痘5回、再種痘10回と区別されているが、本研究において種痘を行う際の圧刺回数を種痘痕の有無のみで判断することは難しいことが示唆され、既接種世代の約80%が低いながらも中和抗体を有していることから、圧刺回数を判断するに当たっては、出生年を基準に区別することが望ましいと考えられた。

製造・品質管理工程における研究においては、生物学的製剤基準に示されている現行のマーカー試験である増殖温度感受性試験や力価測定試験法について、最近の科学水準での再解析・評価が実施され、代替試験法の提案がなされた。

製剤の保存安定性評価については、旧千葉血清研究所製造の痘そうワクチンの48箇月検体と化血研製造ロットの18箇月検体の長期保存安定性試験において、長期保存しても力価は安定であることが示されたが、安全性を評価するための追加試験が必要である。さらに、有効期間延長に関して基盤となる精度を有する品質試験成績を蓄積するために、力価試験法及びマーカー試験等について、試験方法のさらなる向上が望まれる。

### E. 結論

2002年より化血研で再製造されたロットを用いて安全性評価動物実験を実施し、LC16m8 ワクチンは天然痘撲滅時に使用された Lister 株や米国国家備蓄品である Dryvax ワクチンと比較して、十分に弱毒化された安全性の高いワクチンであることを示す成績を取得した。更に、この LC16m8 ワクチンは、これまでの成人へ接種されているが、種痘後脳炎、皮膚合併症や心筋炎などの重篤な副作用は発生していない。

サルやマウスを用いた感染・発症阻止実験を実施し、この LC16m8 ワクチンが天然痘撲滅に使用された Lister 株と比較して、遜色ない有効性を保持していることを示す成績を取得した。また、健康成人への

使用実績においても、高い抗体獲得率を示した。

痘そうワクチン LC16m8 は長期保存しても力価は安定であることが示されたが、有効期間延長に関しては、今後も品質確認に重要な試験法の精度向上や追加試験法の確立等の検討が必要である。

**F. 健康危険情報**

特に無し。

**G. 研究発表**

特に無し。

**H. 知的財産の出願・登録状況**

特に無し。

以上



---

平成18年度  
政策創薬総合研究  
重点研究報告書(Ⅱ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団  
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号  
共同ビル(小伝馬町駅前)4F  
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社