

- shedding of cytomegalovirus in healthy pregnant women using real-time PCR: Correlation of CMV in the vagina and adverse outcome of pregnancy. *J Med Virol* 2006, 78:757-759.
5. Koizumi Y, Ndembu N, Miyashita M, Lwembe R, Kageyama S, Mbanya D, Kapture L, Numazaki K, Fujiyama Y, Ichimura H. Emergence of ART resistance-associated primary mutations among drug-naïve HIV-1 individuals in rural western Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006, 43: 15-22.
  6. Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. *Vaccine* 2007, 25: (in press).
  7. Numazaki K. Current concepts of management for congenital cytomegalovirus infection. *Trends in Developmental Biology* 2007, 3: (in press).
  8. 沼崎 啓. 小児に多い感染症とその対策—当院での対応—8.マイコプラズマ肺炎. *小児看護* 2005, 28: 618-624.
  9. 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* 2005, 58: 2575-2583.
  10. 田中香織、堤 裕幸、沼崎 啓. サイトメガロウイルス感染症. *小児科診療* 2005, 68: 2116-2121.
  11. 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.
  12. 沼崎 啓. サイトメガロウイルス感染症. *小児科診療* 2006, 69: 増刊号 小児の治療指針 209-212.
  13. 沼崎 啓. 診断・治療のポイントマイコプラズマ感染症. *Infectious Diseases Report* 2006, No. 37.
  14. 福村 忍、黒岩由紀、木下和子、沼崎 啓、中田修二、堤 裕幸、遠藤高夫、秦史壮. 小腸血管腫より出血を来たした Blue Rubber Bleb Nevus syndrome の1例. *臨床小児医学* 2006, 54: 45-47.
  15. 沼崎 啓. 先天性感染と HCMV. *日本臨床増刊号 ヘルペスウイルス学 基礎・臨床研究の進歩*, 2006, 496-499.
  16. 沼崎 啓. 突発性発疹. *小児内科小児外科編集委員会共編. 小児内科* 2006, 38: 増刊号 小児疾患の診断治療基準. 東京, 東京医学社, 2006, 318-319.
- (2) 学会発表
1. 沼崎 啓. 小児におけるマイコプラズマおよびクラミジアの病原性. 東北小児感染症懇話会 2005 特別講演, 2005, 1. 15, 仙台.
  2. 沼崎 啓. 小児科でよくみられる呼吸器感染症の新しい話題. 平成 17 年京都市学校医会、小児科医学会学術講演会 特別講演, 2005, 3. 5, 京都.
  3. 沼崎 啓. 小児科領域のクラミジア感染症と感染制御戦略. 第 19 回北海道クラミジア・感染・免疫研究会 特別講演, 2005, 5. 27, 札幌
  4. 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ラ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.
  5. 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.
  6. 沼崎 啓. 小児呼吸器感染症の最近の動向と治療戦略 マイコプラ

- ズマおよびクラミジアを中心に、  
第7回浜松呼吸器感染症セミナー特別講演, 2005 10. 15, 浜松.
7. Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. 4th Global Measles & Rubella Laboratory Network meeting, WHO HQ, Geneva, Switzerland, August 28-30, 2006.
  8. 沼崎 啓. 小児呼吸器感染症の新しい概念と治療戦略. 平成 18 年相模原市医師会小児科医会総会特別講演, 2006 3. 15, 相模原.
  9. 沼崎 啓. マイコプラズマ・クラミジア小児呼吸器感染症の新しい概念. 平成 18 年江戸川区小児科医会学術講演会特別講演, 2006 7. 29, 東京.
  10. 沼崎 啓、岡野素彦（司会）. シンポジウム「ウイルスの分子疫学」. 衛生微生物技術協議会第 27 回研究会, 2006 6. 29-30, 札幌.
  11. Numazaki K. Current problems of measles control in Japan and western pacific region. Symposium 1, Progress in Infectious Pathogens Vaccines and Immunization, Fifth World Congress on Vaccines, Immunization & Immunotherapy. Montreal, Quebec, November 6-9, 2006.
  12. 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.
- H. 知的財産権の出願・登録状況**  
(予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## ワクチンの製造株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 宮武克昌 財団法人阪大微生物病研究会 製造部 部長  
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 課長

**研究要旨** 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ロットシステムの運用にあたり、株の継代歴や製品の供給期間について調査するとともに、ワクチンの品質を担保する方法について検討した。その結果、どちらのウイルスについても、(1) 生物学的製剤基準と WHO の基準 (TSR840) を満たす継代歴であること、(2) 培養条件が製造承認書や作業手順書によって詳細に定められていること、(3) 十分な量のワーキングシードが保管されているため、同一継代数の製品を半永久的に製造し続けることが可能であること、が確認された。麻しんウイルスのワーキングシードと原液については、生物学的性状（プラークサイズ、増殖性、温度感受性）に差が無いことが確かめられた。現在、塩基配列を利用した品質管理方法を確立しているところである。風しんワクチンのワーキングシードと原液については、構造蛋白質 (C/E2/E1) 遺伝子の塩基配列を比較した結果、変異の無いことが確かめられた。

### A. 研究目的

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ロットシステム運用にあたり、株の継代歴や製品の供給期間について調査するとともに、ワクチン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。

### B. 研究方法

ワクチン株の継代歴については、生物学的製剤基準は勿論のこと、WHO の TRS840 (Requirements for measles, mumps, and rubella vaccines and combined vaccine [live], WHO Technical Report Series No.840, 1994) を満たしていることを確認した。製品供給期間については、シードウイルスの保存量から今後の製造可能な量を推測した。また、GMP による品質の同一性確保のための書類整備状況を確認すると

ともに、科学的な品質の同一性の検証を行った。

(倫理面への配慮)

特に記載事項無し。

### C. 研究結果

1) 弱毒生麻しんワクチン田辺株について

(1) 継代歴、及び在庫量

本研究班で設定された弱毒生麻しんウイルス田辺株のマスターシードは臨床試験に用いられたオリジナルシードウイルスに由来するものである。ワーキングシードはマスターシードから1代で作製され、原液はワーキングシードから1代で作製される。これは、生物学的製剤基準は勿論のこと、WHO の TRS840 を満たしている。

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50年以上製造できる規模があるため、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できる。

## (2) GMP による品質の同一性の管理方法

cGMP に則り、以下に示す事項の手順書を作成し、記録を残すことで厳重な管理を行っている。

### ■ワーキングシードの作製に関する事項

- ・製造用種ウイルス作製作業手順書(培地組成細胞濃度、マスターシード希釈率、ウイルス培養温度・時間、精製方法・条件、保存条件等)
- ・製造用シードの再小分けに関する手順書

### ■各シードの保管に関する事項

- ・製造用種ウイルス保存容器へのラベリング方法、使用後の容器の保存に関する手順書
- ・製造用シード保管庫の鍵管理に関する手順書
- ・管理温度確認手順書

### ■各シードの使用に関する事項

- ・製造用シードの出納記録に関する手順書(保管管理責任者指定書、使用指示/承認書、保管出納記録、等)

以上のように培養温度や時間、シードウイルスの接種時の希釈率等が製造承認書や作業手順書によって詳細に定められているため、培養条件は極めて同等であると考えられる。また、シードの保管管理や使用についても各種手順書によってミスが起こらないように厳格に管理されている。さらに上述のとおり、風しんウイルスワクチンについても十分な量のワーキングシードが保管されていることも併せて考えると、同一継代数で、かつ、品質の安定した製品を半永久的に製造し続けることが可能だといえる。

## (3) 科学的な品質の同一性の検証

(プラークサイズの測定結果)

適度に希釈したワーキングシード、及び原液を Vero 細胞に感染させ、37°Cでのプラークサイズを測定した。その結果、平均プラークサイズはどちらのウイルス液も約 1.6mm でほぼ同じであった。プラークサイズ分布も 1.4 - 1.6mm を頂点とする単峰性のピークで、非常によく似ており、t 検定で有意差は認められなかった。現在、製造と同じ条件で培養することによって高継代株を作製中である。今後、この高継代株についてもプラークサイズを測定する予定である。

(増殖性の調査結果)

ワーキングシード、及び原液を Vero 細胞に感染させた後、32°Cで培養し、経時的に感染価を測定した。その結果、両ウイルス液の増殖曲線は相似していることが分かった。今後、高継代株についても、増殖性の解析を行う予定にしている。

(温度感受性の調査結果)

ワーキングシード、及び原液を Vero 細胞に感染させた後、32°Cと 39°Cで培養し、それぞれ経時的に感染価を測定した。ワーキングシードの感染価の比 (39°C/32°C) は、3 日目と 4 日目でそれぞれ 0.83、0.72 であった。同様に原液ではそれぞれ 0.87 と 0.80 であり、ワーキングシードとほぼ同等であった。

(塩基配列の解析結果)

弱毒生麻しんウイルス田辺株の全塩基配列(15894b)を、Edmonston 株 (Accession No. K01711) 及び AIK-C ワクチン株 (Accession No. AF266286) の全塩基配列と比較したところ、田辺株と Edmonston 株の間には 82 の塩基置換 (51 アミノ酸置換) が、田辺株と AIK-C 株の間には 88 の塩基置換 (55 アミノ酸置換) が検出された。Edmonston 株と

比較して塩基置換が最も多かったのは N 遺伝子（1.00%）で、アミノ酸置換が多かったのは N 遺伝子（1.91%）と P 遺伝子（1.97%）であった。同様に AIK-C 株と比較した場合、塩基置換、アミノ酸置換ともに P 遺伝子（それぞれ 1.20%、2.76%）が最も多かったが、N 遺伝子にはさほど置換は集中していなかった。尚、置換が最も少なかったのは L 遺伝子であった。また、田辺株とこれらの 2 株の間には、塩基の欠損や挿入が認められたが、全ての挿入と欠損は非翻訳領域に存在していたので、アミノ酸のフレームシフトをおこすものではなかった。これら 3 株とも挿入塩基と欠損塩基の数が同じであったので、ゲノムの全塩基数も同じ 15894b であり、“Rule of Six”にもあてはまっていた。

また、この解析において塩基の混在している部位が検出された。このことから、弱毒生麻しんウイルス田辺株は mixed population であると考えられた。この塩基混在部位は、Edmonston 株の cDNA の塩基番号で 8798 番目（H タンパクの C 末側）に位置しており、A と C の塩基が混在するものであった（それぞれイソロイシンとロイシンをコードしていた）。

（Mixed population 部位の SNP 解析結果）

本研究班平成 18 年度報告書に記載したとおり、SNP 解析（Allelic Discrimination Assay）による塩基混在比の測定方法を開発した。この方法の信頼性を確認するとともに、高継代株についても解析を行い、今後品質管理のための規格値を導き出したい。

2) 弱毒生風しんウイルス松浦株に

ついて

#### (1) 継代歴、及び在庫量

弱毒生風しんウイルス松浦株のマスターシードはオリジナルシードウイルスに由来するものである。ワーキングシードはマスターシードから 1 代で作製され、原液はワーキングシードから 1 代で作製される。これは、生物学的製剤基準は勿論のこと、WHO の TRS840 を満たしている。

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 50 年以上製造できる規模がある。従って麻しんワクチンと同様に、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。

#### (2) GMP による品質の同一性の確保

麻しんワクチンと全く同様の記録を行っている。培養温度や時間、シードウイルスの接種時の希釈率等が製造承認書や作業手順書によって詳細に定められているため、培養条件は極めて同等であると考えられる。また、シードの保管管理や使用についても各種手順書によってミスが起こらないように厳格に管理されている。さらに上述のとおり、十分な量のワーキングシードが保管されていることも併せて考えると、同一継代数で、かつ、品質の安定した製品を半永久的に製造し続けることが可能だといえる。

#### (3) 品質の同一性の科学的検証 （生物学的性状の解析）

現在、製造と同じ条件で培養することによって高継代株を作製中である。今後、高継代株、ワーキングシード、原液についてプラークサイズ、増殖性、温度感受性に

ついて調査する予定である。

（塩基配列の解析結果）

弱毒生風しんウイルス松浦株原液の全塩基配列(9751b)を決定し、TO-336 ワクチン株 (Accession No. AB047329) の全塩基配列、アミノ酸配列と比較したところ、80 の塩基置換が検出された。アミノ酸置換は、非構造蛋白 (NSP; nonstructural protein) 遺伝子に 18 箇所、構造(SP; structural protein)遺伝子に 11 箇所存在した。また、TO-336 ワクチン株の progenitor (TO-336 野外株) の全塩基配列、アミノ酸配列とも比較したが、松浦株と TO-336 ワクチン株だけに共通な塩基置換(ワクチン特異的変異) は全く検出されず、弱毒性に関与している塩基を推測することはできなかった。

同じ方法によって、松浦株ワーキングシードの構造蛋白質 (C/E2/E1) 遺伝子の塩基配列も決定した。

原液の塩基配列と比較した結果、塩基置換は全く認められなかったもので、継代による抗原性の変化はないものと思われる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

1. 研究発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

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

## ワクチン製造株の品質管理に関する研究

分担研究者 仁田義弘 武田薬品工業（株）生物製剤部  
協力研究者 末原章宏 武田薬品工業（株）生物製剤部 生物技術グループ  
協力研究者 渡辺秀夫 武田薬品工業（株）生物製剤部 生物第一グループ

**研究要旨** 麻しんワクチン、風しんワクチン及びおたふくかぜワクチン製造用ウイルス株の「シードロットシステム」導入として、マスターシードの設定及び品質管理方法の検討を行った。マスターシード、ワーキングシード及びワーキングシードを1代継代して製造するワクチン原液は、いずれのワクチン株についてもオリジナルワクチンから5代以内の継代歴で製造が可能であるが、市場への製品供給の観点から、「シードロットシステム」移行までの措置として、マスターシードウイルスから1代継代して製造した原液の一部をワーキングシードウイルスとして確保することが現実的と考えられる。品質管理方法の検討を行うために、風しんワクチン株のマスターシード（オリジナルワクチンから2代）から、ワーキングシード（3代）、ワクチン原液（4代）そして過継代原液（5代）を製造スケールで作製した。得られた試料のウイルス含量はいずれも $10^{5.5\sim 5.8}$  PFU/mLであり同等であった。また、遺伝子解析を行うため構造遺伝子の1つであるE1遺伝子領域のシーケンスを解析したところ、マスターシードから過継代原液まで安定であることが確認された。現在検討中である温度感受性、増殖性、ブラックサイズ及びマーカー試験を実施し併せて評価する。なお、麻しんワクチン製造用ウイルス株については2007年6月、おたふくかぜワクチン製造用ウイルス株については2007年10月を目処にウイルス試料の作製および品質管理方法の検討を実施する予定である。

### A. 研究目的

野外試験で安全性と有効性が確認されているウイルス株に由来した麻しんワクチン、風しんワクチン及びおたふくかぜワクチンは、これまで多くの小児に対し接種され感染症予防に寄与している。しかしながら、生ワクチンウイルス自体、本質的に変異しやすい性状を有していることより、野外試験で使用されたウイルス株と同じ品質のワクチンを安定供給するためには、株の継代管理を厳密に行うことが重要となる。

その品質を担保するため、既に欧米で採用され、1986年に弱毒生水痘ワクチン製造認可に際し採用されて

いる「シードロットシステム」をワクチン製造現場に導入することを目的として、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でウイルス株の管理方法の確立及び導入方法について検討されることとなった。

現在、生ワクチンの製造に用いるウイルス株は生物学的製剤基準に準じて、製造承認ウイルスから4代までをワーキングシードとして使用するよう管理しているが、ワーキングシードが消費された段階で、1代継代培養して次のワーキングシードを作製している。

「シードロット導入」を実現するた

め、長期的に実行可能なマスターシードロットを設定し、更にシードロットシステムを導入するにあたり必要となる品質管理方法を検討することを研究目的とした。

## B. 研究方法

これまで、昭和50～52年「シードロットシステムに関する基礎的検討」及び平成6～8年「弱毒生ウイルスワクチンの品質管理に関する研究」において、本システム導入のための検討が行われてきた。

本報告書では、「シードロットシステム」導入のための検討として、(1) 現在のシードウイルスの設定、(2) シードウイルスバンク登録、(3) マスターシード、ワーキングシードそしてワクチン原液の継代歴、(4) シードウイルス製造管理及び文書記録法、(5) マスターシード及びワーキングシードの保管量及び運用方法そして(6) 品質管理方法の検討について現状及び考え方などについて検討する。なお、(6) 品質管理方法の検討については次のとおり実施した。

### 1. ウイルス試料の作製

#### 風しんワクチン(TO-336株)

風しんオリジナルワクチンを継代して得られたマスターシード(2代)から、1代継代したワーキングシード(3代)、更に1代継代したワクチン原液(4代)、これを更に1代継代した過継代原液(5代)を実生産設備内で製造条件に従い作製した。

なお、麻しんワクチン株及びおたふくかぜワクチン株の試料については、2007年度に作製予定である。

#### 麻しんワクチン(シュワルツFF-8株)

麻しんオリジナルワクチンを麻しんワクチン原液製造方法で継代して得られたマスターシード(3代)か

ら、1代継代して得られたワーキングシード(4代)をこれまでに作製している。今後、1代継代したワクチン原液(5代)、これを更に1代継代した過継代株(6代)を、各々、麻しんワクチン実生産と同じ設備・製造条件で2007年度に作製予定である。

#### おたふくかぜワクチン(鳥居株)

おたふくかぜオリジナルワクチンをおたふくかぜワクチン原液製造方法で継代してマスターシード(1代)をこれまでに作製している。今後、1代継代したワーキングシード(2代)、更に1代継代したワクチン原液(3代)、これを更に1代継代した過継代株(4代)を、各々、おたふくかぜワクチン実生産と同じ設備・製造条件で2007年度に作製予定である。

## 2. 品質管理方法の検討項目の設定

マスターシード、ワーキングシード、ワクチン原液及び過継代原液の継代株間の品質的安定性評価を目的として、品質管理方法の検討を行うため、次に示す項目を設定した。

#### 風しんワクチン(TO-336株)

- ・温度感受性
- ・増殖性
- ・ブラックサイズ
- ・マーカー試験
- ・E1遺伝子配列

#### 麻しんワクチン(シュワルツFF-8株)

- ・温度感受性
- ・増殖性
- ・ブラックサイズ

#### おたふくかぜワクチン(鳥居株)

- ・温度感受性
- ・増殖性
- ・ブラックサイズ
- ・マーカー試験



## C. 研究結果

### (1) 現在のシードウイルスの設定

現在のシードウイルスの運用法は、麻しん、風しん及びおたふくかぜのいずれも、製造承認ワクチンを継代培養して製造したワクチン原液の一部を製造用種ウイルスとして保存している。ワクチン原液が消費された段階で、保存した製造用種ウイルスを1代継代培養してワクチン原液及び次の製造用種ウイルスの製造を行っており、製造承認ワクチンから継代が4代を超えないよう規定されている。

### (2) シードウイルスバンク登録

シードウイルスバンキングについては、第三者の要請により研究などに分与されるものではなく、事故などで使用不能になることを回避するため製造所の他に、国立感染症研究所などの公的機関で分散保管することが望ましいと思われる。

シードウイルスとしては、保有量などの観点からワーキングシードが対応可能であると思われる。公的機関などへのバンキングに際し、寄託の数量・保管温度・管理条件などの規定が今後の検討課題となる。

### (3) マスターシード、ワーキングシードそしてワクチン原液の継代歴

上述したとおり、シードウイルスの継代は、製造承認ワクチン（オリジナルワクチン）から継代が4代を超えない範囲内、すなわち、マスターシードは3代以内、ワーキングシードは4代以内で作製することになる。シードロットシステムを構築するため、生物学的製剤基準では製造承認ワクチンから継代4代を超えない範囲でワーキングシードの再作製

が必要となるが、製造に用いるウシ血清の規制（薬食発第0218004号）により、各ワクチンの出発材料からのシードウイルス継代歴は以下のとおりとなる。

#### 麻しんワクチン(シュワルツFF-8株)

治験ワクチンLot. F8Aをオリジナルワクチンとし、それより3代継代して作製するウイルス液をマスターシードとし、4代継代して作製するウイルス液がワーキングシードとして設定されることになり、原液はオリジナルワクチンから5代以内の継代となる。

#### 風しんワクチン(TO-336株)

治験ワクチンLot. TO336Gをオリジナルワクチンとし、それより2代継代して作製するウイルス液をマスターシードとし、3代継代して作製するウイルス液がワーキングシードとして設定されることになり、原液はオリジナルワクチンから5代以内の継代となる。

#### おたふくかぜワクチン(鳥居株)

治験ワクチンLot. Lをオリジナルワクチンとし、それより1代継代して作製するウイルス液をマスターシードとし、2代継代して作製するウイルス液がワーキングシードとして設定されることになり、原液はオリジナルワクチンから5代以内の継代となる。

### (4) シードウイルス製造及び文書記録法

シードウイルスの製造については、標準製造法、製造指図記録書など現行のワクチン原液製造時に用いる手順書及び記録様式を準用し対応することを想定している。

また、保管管理の必須事項として保管責任者、保管場所、保管庫、保管温度、保管有効期間、保管管理項

目、異常時の措置などを定めた手順書を作成するとともに、使用記録などが明確にできるように出納管理方法を規定する必要がある。

#### (5) マスターシード及びワーキングシードの保管量及び運用方法

現在、ウシ血清の規制（薬食発第0218004号）に伴い、区分Cに分類されるBSE発生以前の製造用種ウイルスを使用して、ワクチン原液の製造を行っている。麻しんワクチン株及び風しんワクチン株については、これらワクチン原液の一部をマスターシードとして既に確保している。マスターシードの保管量は、麻しんワクチン株で4000L以上、風しんワクチン株で1800L以上のワーキングシードを作製可能とするものである。また、おたふくかぜワクチン株については、マスターシードとして作製を行った。その保管量は、2000L以上のワーキングシードを作製可能とするものである。

ワーキングシードについては、いずれのワクチン株も未だ確保していないが、シードロットへ移行するまでは上述したウシ血清規制及び市場への製品供給の観点から、マスターシードと同様の考え方に基つき、マスターシードロットから製造したワクチン原液の一部を、第1ワーキングシードのロットとして確保することを想定している。

#### (6) 品質管理法の検討

設定を予定しているシードウイルスは、現行の製造法を準用し、生物学的製剤基準で規定されている製造承認ワクチンから継代が4代を超えない範囲で作製されることより、生物学的製剤基準の各ワクチンの個別培養細胞、ウイルス浮遊液及び原

液の各工程で規定されている規格及び試験に準拠し、管理することが妥当と考える。なお、原液工程で規定されているサル接種試験（麻しんワクチンの弱毒確認試験、風しん及びおたふくかぜワクチンの神経毒力試験）は、連続5回のワクチンロットについて確認されているワクチン株については、この規定を免除することが可能と思われる。

しかしながら、シードロットシステムの導入にあたっては、上記管理項目に加え、ウイルスシード製造のバリデーションとして、継代株間の品質的安定性を担保するための品質管理の管理項目を設定する必要がある。このため、品質規格とは別に、上述した品質管理の検討項目について検討を開始した。

なお、遺伝子解析については、製造承認ワクチンから8代継代まで、麻しんワクチン株はN、P/V、C、M、F、H領域、風しんワクチン株はNS、C、E2、E1領域、おたふくかぜワクチン株ではN、P、V/P、M、F、SH、HN領域の可変領域を含むと考えられる塩基配列に変化のないことが、これまでの研究班での研究成果として確認されている。

#### 1. ウイルス試料の作製

##### 風しんワクチン(TO-336株)

風しんオリジナルワクチンより作製したマスターシード(2代)から、初代ウサギ腎細胞及び牛血清を使用して、ワーキングシード(3代)、ワクチン原液(4代)そして過継代原液(5代)を製造スケールで作製した。

安定剤を加えた試料のウイルス含量を、RK細胞を用いたプラーク法により測定した。算出されたウイルス含量は表1のとおりであり、マス

ターシードのウイルス含量が 5.8 log PFU/mL、ワーキングシードが 5.6 log PFU/mL、ワクチン原液が 5.5 log PFU/mL そして過継代原液が 5.6 log PFU/mL であり、各継代株間で差異を認めなかった。

表1 ウイルス含量

試料	代数	ウイルス含量 (log PFU/mL)
マスターシード	2	5.8
ワーキングシード	3	5.6
ワクチン原液	4	5.5
過継代原液	5	5.6

## 2. 品質管理方法の検討

### 風しんワクチン株(TO-336 株)

構造遺伝子の一つである E1 遺伝子配列の継代株間の同等性検討を行うために、ウイルス液を超遠心によりペレット状とし、RNAiso で RNA を抽出した。続いて、タカラバイオ(株)にて、RNA を鋳型として Prime Script High Fidelity RT-PCR Kit を用いて RT 反応により cDNA を作製した。この cDNA を鋳型として表 2 に示す PCR プライマー及び LATaq を用いて、表 3 に示す条件で PCR (TAKARA Thermal Cycler DICE) を行った。そして 2w/v% Lo3 アガロースゲル電気泳動及び ExoSAP-IT (GE ヘルスケアバイオサイエンス社) により PCR 産物を精製し、ダイナーミネーター法によりシーケンス解析を行った。その結果、図 1 に示すシーケンス結果が得られ、E1 遺伝子領域のシーケンスには継代株間における差異は認められなかった。

### 温度感受性、増殖性、プラックサイズ

温度感受性、増殖性、プラックサイズは RK 細胞を使用して実施中

ある。

### マーカー試験

マーカー試験は、生物学的製剤基準・乾燥弱毒生風しんワクチンの 3.3.6 マーカー試験に準じ、モルモットを使用して実施中である。

## D. 考察

シードロット導入のため、麻しんワクチン株 (シュワルツ FF-8 株)、風しんワクチン株 (TO-336 株) 及びおたふくかぜワクチン株 (鳥居株) のマスターシード並びにワーキングシード設定の検討を行った。

いずれのウイルス株についてもオリジナルワクチンから 5 代以内の継代歴でワクチン原液製造が可能となり、マスターシードに関しては、いずれのワクチン株についても確保を完了した。

WHO の勧告のようにワーキングシードを単一な構成とし大量に調製すると、製造に用いる生物由来原料などの変更が生じた場合、保管している大量のワーキングシードの廃棄などが懸念される。このようなリスクを回避するためには、第 1 番目のワーキングシードが消費された段階で、マスターシードから新たに第 2 番目のワーキングシードを作製することが、現実的であると考えられる。

シードウイルスの品質管理として、ワーキングシードについては、現在、国家検定に合格したワクチン原液の一部を採取して保管することを想定しているが、シードロット導入後は、サル接種試験を除く生物学的製剤基準で規定されている品質項目を自家試験で確認することで問題ないのか等、今後の検討課題となる。

シードロット導入にあたり品質管理方法を検討するため、風しんワク

チン株(TO-336株)のマスターシード、ワーキングシード、ワクチン原液そして過継代原液を製造スケールで作製した。これらを試料として継代株間の安定性を検討した結果、風しんワクチン株の構造遺伝子である E1 遺伝子のシーケンスについては同等であった。

よって継代株間の安定性を評価するにあたり、品質管理方法の 1 項目とすることの可能性が示唆された。しかしながら、PCR 産物のシーケンス解析ではミックスポピュレーション中のマイナーポピュレーションの検出は困難であることから、遺伝子配列を含めた複数の品質管理項目の設定が必要であると考えられた。

#### E. 結論

- ・麻しん、風しん及びおたふくかぜワクチン株のマスターシードを確保した。
- ・ワーキングシードの確保は、シードロット移行時期を見据えて確保する予定である。
- ・風しんワクチン株の E1 遺伝子のシーケンスは、マスターシード、ワーキングシード、ワクチン原液そして過継代原液で安定であることを確認した。他項目については検討を

継続する。

- ・麻しんワクチン株については、製造用種ウイルスのプロセスバリデーションとして 2007 年 6 月を目処に、ウイルス試料の作製および品質管理方法の検討を実施する予定である。
- ・おたふくかぜワクチン株については、製造用種ウイルスのプロセスバリデーションとして 2007 年 10 月を目処に、ウイルス試料の作製および品質管理方法の検討を実施する予定である。

#### F. 健康危険情報

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・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表2 PCR プライマー

方向	配列	PCR 産物 (bp)
Sense	GTCCCGTGGGTCCTGATA	620
Antisense	GAGAGTTGCCAGACGGTCTT	
Sense	AGCGACGCGGCCTGCTGGGG	506
Antisense	CCAGCGCGTATGTGGAGTCC	
Sense	TTGTGGGGGCCACGCCAGAG	550
Antisense	TGTGTGCCATACACCACGCC	
Sense	CTCACCTCAATGGCGAGGA	398
Antisense	CTATGCAGCAACGGGTGCGG	

表3 PCR 反応

試料調製法	PCR 反応条件
cDNA 10ng	94°C、4分
Primer sense 5pmol	↓
Primer Anti 5pmol	94°C、30秒
2*LATAq GC buffer I 10.0μL	62°C、30秒
dNTP mixture 3.2μL	72°C、1分
LATAq 0.2μL	35 サイクル
H <sub>2</sub> O up to 20μL	↓
	72°C、2分

図1 E1 領域のシーケンス結果

1	GAGGAGGCCTTCACCTACCTCTGCACTGCACCGGGGTGCGCCACTCAAAC	50
51	ACCTGTCCCGTGCCTCGCTGGCGTCCGCTTTGAGTCCAAGATTGTGG	100
101	ACGGCGCTGCTTTGCCCATGGGACCTCGAGGCCACTGGAGCCTGCATT	150
151	TGCGAGATCCCCACTGATGTCTCGTGCAGGGCTTGGGGGCCTGGGTACC	200
201	CACAGCCCCTTGCGCGCGCATCTGGAATGGCACACAGCGCGCGTGCACCT	250
251	TCTGGGCTGTCAACGCCTACTCCTCTGGCGGGTACGCGCAGCTGGCCTCT	300
301	TACTTCAACCCTGGCGGCAGCTACTACAAGCAGTACCACCCTACCGCGTG	350
351	CGAGGTTGAACCTGCCTTCGGACACAGCGACGCGGCCTGCTGGGGCTTCC	400
401	CCACCGACACCGTGATGAGCGTGTTCGCCCTTGCTAGCTACGTCCAGCAC	450
451	CCTCACAAGACCGTCCGGGTCAAGTTCCATACAGAGACCAGGACCGTCTG	500
501	GCAACTCTCCGTTGCCGGCGCGTTCGTCGAACGTCACCACAGAACACCCGT	550
551	TCTGCAACACGCCGCACGGACAACCTGGAGGTCCAGGTCCCGCCCGACCCC	600
601	GGGACCTGGTTGAGTACATTATGAATTACACCGCAATCAGCAATCCCG	650
651	GTGGGGCCTCGGGAGCCCGAATTGTCATGGCCCCGATTGGGCCTCCCGG	700
701	TTTGCCAACGCCATTCGCCCTGACTGCTCGCGGCTTGTTGGGGGCCACGCCA	750
751	GAGCGTCCCCGGCTGCGCCTGGTTCGACGCCGACGACCCCTGCTGCGCAC	800
801	TGCCCTGGGCCCGCGAGGTGTGGGTACGCCCCTTATAGGCTCTCAGG	850
851	CGCGCAAGTGGGACTCCACATACGCGCTGGACCGTACGGCCATGCTACC	900
901	GTCGAAATGCCGAGTGGATTTCGCGCCACACCACCAGCGACCCCTGGCA	950
951	CCCACGGGGCCCTTGGGGCTGAAGTTCAAGACAGTTCGCCCCGGTGGCCC	1000
1001	TGCCACGCGGTTAGCGCCACCCCGCAATGTGCGTGTGACCGGGTGCTAC	1050
1051	CAGTGGGTACCCCGCGCTGGTGGAAAGCCTTGCCCCGGGGGAGGGAA	1100
1101	TTGCCATCTACCCTCAATGGCGAGGACGTCGGCGCCTTCCCCCTGGGA	1150
1151	AGTTCGTACCGCCGCCCTCCTCAACACCCCCCGCCCTACCAGGTCAGC	1200
1201	TGCGGGGGCGAGAGCGATCGCGCGAGCGCGGGTCAATTGACCCCGCCG	1250
1251	GCAATCGTTTACCGCGTGGTGTATGGCACACACCACTGCTGTGTGCGG	1300
1301	AGACCCGGCAGACCTGGGCGGAGTGGGCTGCTGCCATTGGTGGCAGCTC	1350
1351	ACTCTGGGCGCCATTTGCGCCCTCCTACTCGCTGGCTTACTCGCTTGCTG	1400
1401	TGCCAAATGCTGTACTACTTGCAGCGCGCTATAGCGCCGCGCTAG	1450

## ワクチン製造株の品質管理に関する研究

分担研究者 李 富雄 北里研究所 生物製剤研究所 製造第3部門 部門長  
協力研究者 佐々木 学 北里研究所 生物製剤研究所 品質部門 部門長  
協力研究者 服部 信章 北里研究所 生物製剤研究所 品質保証部門 部門長  
協力研究者 中山 哲夫 北里生命科学研究所 ウイルス感染防御研究室1 教授

**研究要旨** 弊所の弱毒生ワクチン（麻しん、風しん、おたふくかぜ）のシードロットシステム導入のために、新たにマスターシードを設定し、マスターシードからワクチン原液製造まで一定継代数で長期にワクチンが安定供給できることを確認した。ワーキングシードは、ワクチン原液製造と同一方法で、単一ロットで作製する、その製造管理を検討した。継代におけるウイルス性状の品質評価は、温度感受性、プラックサイズ、ウイルス遺伝子を確認する。麻しんワクチン（AIK-C株）のウイルス遺伝子は、温度感受性の性状を主として規定するP蛋白質439番目のプロリンは、マスターシード、1代継代のBulk #M22とも保持されており、安定していた。ウイルス品質評価は継続して研究する。また、シードロットシステム導入のスケジュールを計画し、実施に向けて国立感染症研究所と継続協議する。

### A. 研究目的

一定品質の生ワクチンを恒常的に製造するために、シードロットシステムを導入することが求められ、そのために以下の事項を検討した。

1. シードウイルスの継代歴と保管状況を調査し、シードロットシステム導入のためのマスターシード設定
2. 本研究班提案の仮想継代歴におけるシードロット導入
3. ワーキングシードの作製及び製造管理
4. 継代におけるウイルス性状の安定性に関する品質評価
5. シードロットシステム導入に向けてスケジュール計画

### B. 研究方法

1. マスターシード設定
  - 1) 製造承認株からの継代数ができるだけ少ない、2) 製造用株として使用実績がある、3) 神経毒力試験（弱毒確認試験）を含む原液の試験

に適合している、4) ウイルス量が十分に保管されている。

- これらの条件を満たすシードウイルスをマスターシードに設定した。
2. 今回設定したマスターシードから1代でワーキングシード作製、ワーキングシードから1代でワクチン原液を製造する仮想シードロットの導入について検討した。
3. ワーキングシードは、ワクチン原液製造と同一の方法で、単一ロットで工程処理して作製する。その製造管理を検討した。
4. 継代におけるウイルス安定性に関する品質評価項目を設定し、ウイルスの生物学的性質及びウイルス遺伝子解析を一部確認した。
5. シードロットシステム導入に向けてワーキングシード作製及び品質評価のスケジュールを検討した。

### C. 研究結果及び考察

1. 麻しんワクチン（AIK-C株）は

Seed Lot #0-1（オリジナルワクチンより1代継代）、風しんワクチン（高橋株）はSeed Lot #0-2（オリジナルワクチンより1代継代）、おたふくかぜワクチン（星野株）はSeed Lot #0-2（オリジナルワクチンより1代継代）をマスターシードとして設定することにより、生物学的製剤基準に規定する5代以内の継代数でシードロットシステムを導入することが可能となった。

2. 設定したマスターシードから1代継代してワーキングシードを作製する。ワーキングシードから1代でワクチン原液を作製する。この方式により同一継代数の製品を長期に安定供給できる。但し、麻しんワクチン（AIK-C株）及び風しんワクチン（高橋株）は過去に出荷したワクチンの継代範囲内であるが、おたふくかぜワクチン（星野株）は1代進むことになる。作製するワーキングシード1ロット分は、麻しんワクチン約30年分、風しんワクチン約60年分、おたふくかぜワクチンに約300年分に相当するワクチン原液製造が可能である。

3. ワーキングシード作製は、培養温度、培養期間、培養液、ウイルス接種時の感染条件をワクチン原液製造と同一の方法で作製する。使用する生物由来原料は、生物由来原料基準に準拠する。ワーキングシードウイルスは、原液製造における1バッチ分（培養）で、単一ロットで作製する。ワーキングシードウイルスは、生物製剤基準で規定されている個別別培養細胞の試験、ウイルス浮遊液の試験、原液の試験を適用して、自家試験で確認する。その他、生物学的製剤基準以外の品質評価を確認するが、現在、検討中である。

4. ウイルス品質評価の試料は、今回設定したマスターシード、マスターシードより1代継代及び2代継代で製造した保有ワクチン原液を用いた。

1) 麻しんワクチン（AIK-C株）は、温度感受性、ブラックサイズ、ウイルス遺伝子（P領域、F領域）。

2) 風しんワクチン（高橋株）は、温度感受性、ブラックサイズ、ウイルス遺伝子（NSのP150領域）。

3) おたふくかぜワクチン（星野株）は、温度感受性、ブラックサイズ、ウイルス遺伝子（F領域）。

これらの品質試験項目のうち、麻しんワクチン（AIK-C株）について以下の結果を得た。ブラックサイズはsmall plaqueを示し、Bulk #M22とM17のブラックサイズはマスターシードより僅かに小さかった。

一方、ブラックサイズに関与するウイルス遺伝子F278は、マスターシードもBulk #M22もlarge plaque typeを示すF278 Proであった。遺伝子レベルの結果はBioassayによるブラックサイズと相関しなかった。

ウイルス遺伝子の温度感受性の性状を主として規定するP439 Proは、マスターシードSeed Lot #0-1、1代継代のBulk #M22とも保持されており、安定していた。

5. ワーキングシード作製及び品質評価のスケジュールを計画した。

1) 麻しんワクチン（AIK-C株）

・ワーキングシード作製：2007年2-3月

・品質評価：2007年度前半

2) 風しんワクチン（高橋株）

・ワーキングシード作製：2007年6-7月

・品質評価：2007年度後半

3) おたふくかぜワクチン（星野株）

・ワーキングシード作製：2008年前半

- ・品質評価：2008年度前半

#### E. 結論

シードロットシステム導入を図るために、新たにマスターシードを設定し、マスターシードからワクチン原液製造まで一定継代数でワクチンを長期に安定供給できることを確認した。新たなシードロットシステム導入によっておたふくかぜワクチン（星野株）は継代数が1代進む製品となる。ワーキングシードの品質試験は生物学的製剤基準で規定されている個別培養細胞の試験、ウイルス浮遊液の試験、原液の試験（弱毒確認試験又は神経毒力試験を除く）を適用し、自家試験で確認する。

継代におけるウイルスの品質評価（温度感受性、プラックサイズ、ウイルス遺伝子の確認試験）は、継続して研究する。

今後、シードロットシステム実施に向けて国立感染症研究所と継続協議する。

#### F. 健康危険情報

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・登録状況

（予定を含む）

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

分担研究者 大隈邦夫 （財）化学及血清療法研究所 品質管理部長  
研究協力者 倉永雅彦 同上 第一製造部第二課長  
研究協力者 上田謙二 同上 第一製造部長付 上級技術員  
研究協力者 渡邊俊一郎 同上 第一製造部第二課

**研究要旨** 弊所の弱毒生ウイルスワクチン（風しん、おたふくかぜ）について、シードロットシステム導入についての課題を検証し、研究班活動での協議のもと、マスターシード及びワーキングシードの定義から具体的な継代株の指定を行った。おたふくかぜワクチンについては、規定された製造方法にて新規ワーキングシードを作製し、その性状評価の一部分を終了した。今後は、おたふくかぜワクチンではシードロットシステムとしての評価の達成を行い、風しんワクチンでも同等の構築を実施する。

### A. 研究目的

弱毒生ウイルスワクチンの品質保証においては、シードロットシステムが重要であることは公知である。弊所の生産する弱毒生ウイルスワクチンでは、乾燥弱毒生風しんワクチン（松葉株）、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン（宮原株）及び乾燥細胞培養痘そうワクチン（LC16m8株）が対象である。本研究では風しん及びおたふくかぜについて、シードロットシステム導入の為の課題を検証し、マスターシード及びワーキングシードの定義及び具体的な評価を行い、シードロットシステム移行を目指す。

### B. 研究方法

弊所の松葉株は 1969 年の開発であり、宮原株は 1970 年の開発である。開発当時の成績及び資料から、現在までの当該生ワクチン生産・出荷の実績を確認し、3 年間の研究班活動（加藤篤主任研究者らとの協議を踏まえ）より、具体的な評価及び検証項目として、以下の 5 項目について実施した。

1) マスターシード及びワーキングシードの定義・指定、2) 新規ワーキン

グシードの作製、3) ウイルス継代条件、4) 安定性の評価（品質試験）、5) 製造株のバンキング

### C. 研究結果

1) マスターシード及びワーキングシードの定義及び具体的指定

開発当時の成績及び資料より現在までの当該生ワクチン生産・出荷の実績を確認し、更に、研究会議での提案を踏まえて、オリジナルワクチン、オリジナルシードウイルス、マスターシード及びワーキングシードについて指定した。製造承認事項などの機密事項にも関することから、詳細は別途に加藤主任研究者に提出した。概要は下記の通り。

(1) 風しん（松葉株）

オリジナルワクチン（治験に用いたワクチン）の継代歴は RK12 代である。従って、研究会議での提案（WHO 基準など）に照らして、RK12 代がオリジナルワクチンとなる。

オリジナルシードウイルスは RK11 代、マスターシード（1 次シードロット）は RK12 代とし、ワーキングシード（2 次シードロット、製造用シード）

は RK13 代、ワクチン原液は RK14 代となる。

この結果は、弊所がこれまで出荷した製剤の継代数の範囲に相当し、使用実績の面でも問題はないと考える。

#### (2) おたふくかぜ（宮原株）

オリジナルワクチン（治験に用いたワクチン）の継代歴は CE27 代である。従って、班会議での提案（WHO 基準など）に照らして、CE27 代がオリジナルワクチンとなる。

オリジナルシードウイルスは CE26 代、マスターシード（1 次シードロット）は CE27 代とし、ワーキングシード（2 次シードロット、製造用シード）は CE28 代、ワクチン原液は CE29 代となる。

この結果は、弊所がこれまで出荷した製剤の継代数から 1 代追加となるが、従前の定義で継代した場合でも 4 代となり、基準である 5 代以内も満たしている。

#### 2) 新規ワーキングシードの作製

生ウイルスワクチン製造設備は共有施設であることから、おたふくかぜワクチンの新規ワーキングシード作製より実施した。前記 1) の具体的なワーキングシードの指定に基づき、現行の継代方法（生産スケールでの、培養温度、培養期間、moi など明記し、GMP に準拠したワーキングシード作製：後述 3) を参照のこと）に従ったワーキングシードを作製した。

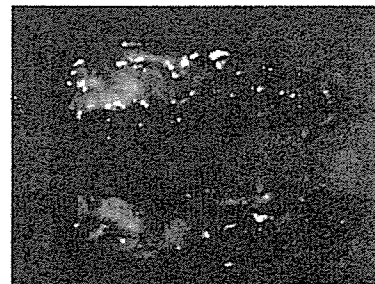
#### 3) ウイルス継代条件

製造承認事項に基づき、従来の生産方法を確認し、moi、培養温度や培養期間の明記を実施した。恒常的な生産方法について、SOP（数値化及び文書化）の充実を図った。

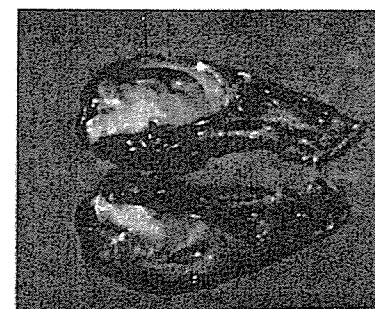
#### 4) 安定性の評価（品質試験）

新規に作製したおたふくかぜワーキングシード及びその継代株（今後の出荷製剤に該当する）について、生物学的製剤の規定に従った品質管理試験を実施している。その一部分については、成績（ウイルス価など）については、適合する結果を得ている。今後は、温度感受性、プラークサイズなどの評価結果を得るとともに、塩基レベル解析を実施する予定である。

更に、加藤主任研究者より指導頂いた「新生ラット」での神経毒力試験に着手した。最初の段階として野外株を使用した試験系の確認を達成した。今後は、新規ワーキングシードでの評価に展開する予定である。（以下の図を参照のこと。）



MEM 培地（ネガティブコントロール）



野外株（ポジティブコントロール）

（参考文献）

- ・ Steven A. Rubin, et al. The Rat-Based Neurovirulence Safety Test for the Assessment of Mumps Virus Neurovirulence in Humans: An International Collaborative Study. The Journal of Infectious Diseases 2005; 191:1123-8.
- ・ Rubin SA, Pletnikov M, Taffs R, et al. Evaluation of a neonatal rat model for prediction of mumps virus neurovirulence in humans. J Virol 2000; 74:5382-4.

5) 製造株のバンキング

ワクチン製造株という特殊性から、事故などの対応のため、リスク分散の観点からも新規ワーキングシードのバンキングは必要である。弊所内での分散管理への整備には着手した。今後は、弊所外での第3者機関も含め保管する体制やルール（保管する機関、必要な量及び種類など）の整備が必要と考える。

D. 考察

開発当時の成績及び資料より現在までの当該生ワクチン生産・出荷の実績を確認し、研究班会議での加藤篤主任研究者との協議を踏まえて、以下の5項目について実施した。

- 1) おたふくかぜ及び風しんワクチンのマスターシード及びワーキングシードの定義及び具体的な指定、2) おたふくかぜワクチンの新規ワーキングシードの作製、3) ウイルス継代条件などの明確化、4) おたふくかぜワクチン新規ワーキングシードの安定性の評価（品質試験）、5) 製造株のバ

ンキング

今後は、おたふくかぜワクチンの新規ワーキングシードの評価を継続するとともに、風しんワクチンの新規ワーキングシードの整備へ展開していく。

E. 結論

本研究の成果により、弊所の生ウイルスワクチン（おたふくかぜ、風しん）のシードロットシステム移行のための具体的な確認について、部分的には達成できた。今後も継続した検討を行う。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 研究発表  
なし
2. 学会発表  
なし

H. 知的財産の出願・登録状況

（予定を含む）

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 生ワクチン接種後の副反応に関するウイルス学的検討

分担研究者：岡部信彦 国立感染症研究所 感染症情報センター  
研究協力者：多屋馨子 国立感染症研究所感染症情報センター  
研究協力者：荒木和子 国立感染症研究所感染症情報センター  
研究協力者：佐藤 弘 国立感染症研究所感染症情報センター  
研究協力者：上野久美 国立感染症研究所感染症情報センター

**研究要旨** シードロットシステム導入後の品質管理に関する臨床・疫学的検討方法として、本分担研究班では、初年度は、現行の予防接種後副反応報告ならびに予防接種後健康状況調査を利用した副反応サーベイランスの有効利用に関する検討、次年度は、血清疫学調査を用いたワクチンの長期効果ならびに有効性の検討、最終年度は、ワクチン接種後の様々な臨床症状について、ウイルス学的な検討を実施し、副反応の識別に関する検討を実施した。予防接種後副反応報告に関しては、データ解析ファイルを作成し、迅速な集計、解析、解析目的に応じた検索を可能にした。血清疫学調査に関しては、水痘について検討した。ワクチン接種率が十分ではなく、罹患による免疫の獲得が中心であった。25歳以上で陽性率100%となるまで、年齢別の抗体保有率、感受性者の把握が可能となった。ワクチン接種後の副反応の識別については、OPV接種後のポリオウイルス排出量を血清型別に調べると共に、その他のウイルスについても検出同定および定量を行い臨床症状との関係を検討した。調査期間中の糞便材料からポリオウイルス以外にアデノウイルス2型、ノロウイルスが検出され、副反応と疑われた臨床症状はワクチン以外の原因が示唆され、シードロットシステム導入後のワクチン接種後の副反応の識別においては、詳細なウイルス学的な検討が不可欠であると考えられた。

### A 研究目的

シードロットシステム導入後の品質管理に関する臨床・疫学的検討方法について検討することを目的に、以下の3つの検討を実施した。1つ目は、現行の副反応報告について検討し、今後解析をより簡易に実施できるシステムを作成し、製造株の品質管理を副反応によって調査すること、2つ目は、ワクチンの品質管理の評価として、血清疫学調査を選択し、1987年以降1歳以上を対象に導入さ

れている水痘ワクチンに関して検討すること、3つ目は、ポリオウイルスワクチン(OPV)接種後の臨床症状がワクチンによる副反応であるか否かの識別についてウイルス学的に検討することを目的とした。

### B 研究方法

製造株の品質管理を副反応によって調査するにあたって、現在報告されている予防接種後副反応報告書から汎用ソフト(File Maker Pro)を使用