

9. ミャンマー

1. 審査・承認

1.1 法的根拠

薬品法(National Drug Law 1992年)による

1.2 所轄機関

ミャンマー食品薬品委員会 (Myanmar Food and Drug Board of Authority, MFDBA) .

薬品専門家委員会 (Drug Advisory Committee 技術委員会)

1.3 承認済み製剤の種類

承認済みワクチンは表1を参照。

Chiron (狂犬病、DPT 等)、Pasteur Merieux Connaught serum & vaccine(MMR、生経口ポリオ、BCG、水痘、DPT、Hib 等)、Swiss Berne (抗 B 型肝炎免疫グロブリン製剤、抗狂犬病免疫グロブリンとウマ血清、DT、抗破傷風血清等)、韓国グリーンクロスとインド Serum Institute から (HepB) の様々なワクチン、抗毒素製剤の約50品目を輸入し用いられている。国内製造としては、Myanmar Pharmaceutical Factory で破傷風トキソイド、抗破傷風血清、6種の抗蛇血清を製造している。血液製剤は韓国、インド、中国から約10種を輸入している。

2. 審査・承認の相互承認

無し

3. 国家検定

3.1 法的根拠

薬品法(National Drug Law 1992年)による

3.2 所轄機関

保健省(Department of Health, DOH)食品医薬品局 (Food and Drug Administration, FDA)

3.3 試験機関の認証規格

無し

3.4 検定 (書類審査)

国内製造品は製造承認書(コピー)、医薬品登録書(コピー)とSLP(2008年1月から導入)をFDAガイドラインに従って評価。輸入品の場合には輸入業者は製剤が港に到着時点でFDAに報告し、通関後一週間以内に申請する。申請書類は輸出国の検定証書、医薬品登録書およびSLP形式は2008年版のSummary Production Protocolに準拠

3.5 検定 (試験)

調査中

3.6 検定の頻度

全ロット

3.7 検定品の種類と数

EPI 関連ワクチン

3.8 検定品の抜き取り、提出方法

地方GMP査察官の提出ワクチン

3.9 検定事務処理時間

21日

3.10 検定の相互承認

UN機関からロットリリースされたワクチン

4. GMP査察

4.1 所轄機関

FDA

4.2 査察の頻度

定期査察:最低2年間に1回、

5. 標準品

制定されていない

6. 感染症情報、副作用情報

6.1 所轄機関

DOHの中央疫学ユニット(Central Epidemiological Unit)とFDAが共同。市販後製品の安全性試験はFDAが行う

6.2 収集・分析方法等

副作用情報は中央疫学ユニットが収集する。報告(Passive system)による。

表1 ミャンマーの承認ワクチン一覧

List of registered vaccines in Myanmar

SR NO	GENERIC NAME / BRAND NAME	OWNER/ MANUFACTURER	COUNTRY OF
1	Rabipur Vaccine(Rabies Virus (Flury LEP) Inactivated 2.5IU Pen Immunizine Dose 1ml.)	Chiron Behring GmbH & Co.,	Germany
2	Hepuman Berna Injection (Anti-hepatitis B immunoglobulin 200 IU/ml)	Swiss serum and vacine Institute Berne	Switzerland
3	Traimovax Merieux (ROR)Injection (Attenuated live measles virus (Schwarz strain not less than 1,000 CCID50,Attenuated Live mumps virus (Urable Am 9 strain) not less than 5,000 CCID50 and Attenuated live rubella virus (Wistar RA27/3 strain) not less than 1,000 CCIS50/0.5 ml)	Pasteur Merieux Connaught serwm & Vacine	France
4	Oral Polimyelitis Vaccine(Multidose) Poliomyelitis Vaccine (Polimyelitis virus type 1 -Strain LSc 2 ab at least 1,000,000 TCID 50, type 2- Strain P712,Ch 2 ab at least 100,000 TCID 50,Type 3- strain leon 12 a1b at least 600,000 TCID 50 /0.1 ml immunizing	Pasteur Merieux Connaught serwm & Vacine	France
5	Oral Polimyelitis Vaccine (Single Dose) Poliomyelitis Vaccine (Polimyelitis virus type 1 - Strain LSc 2 ab at least 1,000,000 TCID 50, type 2- Strain P712,Ch 2 ab at least 100,000 TCID 50,Type 3 - strain leon 12 a1b at least 600,000 TCID 50 /0.5 ml sing dose)	Pasteur Merieux Connaught serwm & Vacine	France
6	Vaccire BCG Lyophilise Injection(Intradermal) Freeze-dried Vaccine Attnuated live germs(attenuated live bacilli,Mereux seed derived from 1077 strain) between 800,000 and 3,200,000 units/0.1 ml	Pasteur Merieux Connaught serwm & Vacine	France
7	Rudivax Injection (Rubella virus, live attenuated virus at least 1,000 TCID50 and Neomycin sulfate less than 25mcg /0.5ml)	Pasteur Merieux Connaught serwm & Vacine	France
8	Rabies Antiserum Berna Injection (Antirabies Globulin 200 iu/ ml (Antirabies Serum Horse)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
9	Pasteur Antirabies Serum 1000 i.u(ERIG) Injection. (Antirabies Serum , Purified 1000 I.U/5 ml)	Pasteur Merieux Serum & Vaccins	France
10	Dite Anatoxal Berna (For Adults) Injection. (Diphtheria antigen 2 Lf(Corresp >8 IU) and tetanus antigen 20 Lf (Corresp > 80 IU)	Swiss Serum & Vaccine Institute Berne, Switzerland.	Switzerland
11	D.T COQ/D.T.P Injection. (Diphtheria toxoid , Purified a minimum of 30 iu, purified Tetanus toxoid , a minimum of 60 iu and Bordetella pertusis, a minimum of 4 iu per 0.5ml)	Pasteur Merieux Serums & Vaccins.	France
12	DIFTET ALL (Single dose) Injection (Diphtheria toxoid not less than 30IU of , 40 IU of Tetanus toxoid / 0.5ml.)	Chiron S. P. A.	Italy
13	Act-HIB Injection. (Haemophilus Influenza Type b Polysaccharide Conjugated to Tetanus Protein (Lyophilisate) 10mcg + 2.0mg Sodium Chloride in 0.5ml water for Injection as Diluent.	Pasteur Merieux Serums & Vaccines.	France
14	Buccalin Berna Tablet. (Haemophilus influenzae 1.5 10 ⁹ cells, Pneumococcus I,II,III 1 10 ⁹ cells, streptococcus 1 10 ⁹ cells and staphylococcus 1 10 ⁹ cells.)	Swiss Serum & Vaccine Institute Berne, Switzerland.	Switzerland
15	Euvax - B Injection Vial (HBS Purified antigen 20 ug / ml)	LG Chemical Ltd.	Korea

16	Havrix Injection (Hepatitis A Viral (HAV) Inactivated Antigen strain HM 175 1440 E.U(Elisa Units) per dose)	Smith Kline Beechem Biologicals	Belgium
17	Engerix - B Injection (Hepatitis B Virus Purified Surface Antigen Protein , 20 mcg/ ml of Vaccine (0.5 ml, 1 ml, 10 ml)	SmithKline Beecham Biologicals	Belgium
18	Globuman Berna Injection (Immunoglobulin ,Human Normal 160 mg / ml) (2 ml)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
19	Tetuman Berna Injection (Immunoglobulin 125 IU/ ml) (2 ml vial)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
20	Triviraten Berna Vaccine (Measle Virus , live,1000 TCID 50 ,5000 TCID 50 Live Mumps Virus,1000 TCID 50 Live Rubella Virus.)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
21	Moraten Berna Vaccine (Measles Virus 1000 TCID50 Live)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
22	Morbilvax (10 dose) Injection.(Measles virus not less than 1,000 TCID 50 a residue of Neomycin B Sulfate not more than 5mcg.)	Chiron S. P. A.	Italy
23	Broncasma Berna Injection (Pneumococcus I,II,III / Streptococcus pneumoniae 791,7978,7466,7465 50x106, Haemophilus influenzae 9795 40x106, Staphylococcus/ Staphylococcus aureus: 31 Staphylococcus epidermidis 34 500x106 Streptococcus/ Streptococcus faecal 40x106,Pyogens; Streptococcus -haemoliticus Gaffkya tetragena/Micrococcus tetragenus 1 20x106,Kelbsiella pneumoniae(Friedlander)4+9 40x106 Neisseria catarrhalis/Branhamella, Catarrhalis NCTC 4103 60x106, Pseudomonas aeruginosa H1,12,1012 250x106/ml	Swiss Serum & Vaccine Institute Berne, Switzerland.	Switzerland
24	Polioral Trivalent Oral Drops (10 doses each)[Poliomyelitis Vaccine (Poliovirus Strain LSc 2 ab type 1-1,000,000 TCID 50, Poliovirus Strain P712, Ch 2 ab type 2- 100,000 TCID 50, Poliovirus strain leon 12 a1 b type 3- 300,000 TCID 50 per each human dose) (2 drops)]	Biocine S.P.A.	Italy
25	Polioral Trivalent Oral Drops. (1 dose each)[Poliomyelitis Vaccine (Poliovirus Strain LSc 2 ab type 1- 1,000,000 TCID 50, Poliovirus Strain P712, Ch 2 ab type 2 -100,000 TCID 50, Poliovirus strain leon 12 a1 b type 3- 300,000 TCID 50 per each human dose) (2 drops)	Biocine S.P.A.	Italy
26	Rabuman Berna Injection (Rabies Antibodies 150 i.u And Human Immunoglobulin 100-160mg/ml.)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
27	TRCS- Verorab Injection. (Rabies vaccine Inactivated prepared on Vero Cells 2.5iu)	Pasteur Merieux Serum & Vaccins	Thailand
28	Lyssavac N Berna Inj: [Rabies Vaccine, Purified Duck Embryo (10 Mouse LD of intact virus or an antigenic value of 2.5 i.u per dose)].	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
29	Gunevax 1 dose Injection. [Rubella virus not less than 1,000 TCID50 of and a residue of not more than 5mcg of Neomycin B sulphate) / 0.5ml.]	Biocine S. P. A.	Italy
30	Typhim Vi Injection. (Salmonella typhi ,Purified Vi Capsular Polysaccharide of 0.025 mg/0.5 ml.)	Pasteur Merieux Serum & Vaccins.	France
31	Vivotif Berna Capsule (Salmonella Typhi Vaccine, attenuated Ty 21 a Berna , at least IX 109 Viable Organisms per capsule)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland

32	Te Anatoxal Berna Injection (Tetanus Antigen 10 LF/ 0.5 ml)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
33	Tetanus Antitoxin Berna Injection (Tetanus Antitoxin 1500 IU/ ml (1 ml vial)	Swiss Serum & Vaccine Institute	Switzerland
34	Tetavax Injection (Tetanus Toxioid Purified \geq 40 IU / 0.5 ml)	Pasteur Merieux Serums & Vaccines	France
35	Anatetall (1 dose each) Injection (Tetanus toxoid Purified 40 IU/ 0.5ml dose)	Biocine S.P.A.	Italy
36	Anatetall (10 dose each) Injection (Tetanus toxoid Purified 40 IU/ 0.5ml dose)	Biocine S.P.A.	Italy
37	Anti Snake Venom Serum (Bivalent)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
38	Anti Snake Venom Serum (Cobra)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
39	Anti Snake Venom Serum (Cobra)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
40	Anti Snake Venom Serum (Viper)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
41	Anti Snake Venom Serum (Viper)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
42	Anti Snake Venom Serum(Bivalent) Freeze Dried	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
43	Anti Tetanus Serum (Prophylatic) (A.T.S (Prophylatic) 1500 I.U./1ml)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
44	Anti Tetanus Serum (Therapeutic)(A.T.S (Therapeutic) 10000 I.U/ 2.5ml)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
45	Cholera Vaccine	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
46	DMR-HB Vaccine. Intramuscular Injection.[HBsAg (Heat-inactivated) 10mcg/1ml.]	Department of Medical Research	Myanmar
47	Anti Rabies Vaccines (Freeze Dried)(Rabies Vaccine)	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
48	Tetanus Toxioid (Formal) 20 ml	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
49	Tetanus Toxioid (Adsorbed) 5ml	Myanmar Pharmaceutical Factory	Myanmar
50	Hepavax -Gene Injection (Purified Hepatitis B surface antigen 20 mcg/1ml vial)	Korea Green Cross Corp	Korea
51	Twinrix - Adult suspension for injection (Each syringe contains Absorbed inactivated Hepatitis A	Smith Kline Beecham Biologicals .	Belgium
52	Viavac Vaccine Injection (Purified vi-Antigen from S.typhi Tyz- 0.025 mg per dose (0.5 ml)	ATV-D Team Co	Russia
53	Triple Antigen (Absorbed Diphtheria , Tetanus & Pertussis Vaccine) {Diphtheria Toxioid \leq 25 Lf(\geq 30	Serum Institute of India Ltd. India	India
54	Measles Vaccine Live B.P (Lyophilised) (Live, attenuated Measles Virus (Edmonston -Zagreb strain)	Serum Institute of India Ltd. India	India
55	Measles, Mumps and Rubella Virus Vaccine Live B.P (Lyophilised) (Trivalent attenuated Live virus	Serum Institute of India Ltd. India	India
56	Revac B (Hepatitis B) Vaccine 1 ml, 10 ml (20 mcg HBs Ag B.P DNA (Recombanant)/ml	Intas Pharmaceutical Ltd, India	India
57	Revac-B (0.5 ml) (Hepatitis B Vaccine (DNA) BP 0.5 ml (Purified HBs Ag BP 10 mcg, Aluminium	Intas Pharmaceutical Ltd, India/ Bharat Biotech International Ltd,	India
58	Rubella Vaccine Live B.P (Lyophilised) Live attenuated Rubella virus (Wister RA 27/3 strain)	Serum Institute of India Ltd. India	India
59	Tetract HIB Powder and Suspension for Injection (I.M) (Haemophilus influenzae type b	Pasteur Merieux Serum & Vaccine Institute. Sweden	Sweden
60	Shanvac - B (Hepatitis B (r-DNA) vaccine BP (Hepatitis B Surface antigen(Purified) 20 mcg,	Shantha Biotechnics Pvt. Ltd. India.	India

61	Shanvac - B (Hepatitis B r-DNA vaccine) Injection (Hepatitis B _e Surface antigen/ml)	Shantha Biotechnics Pvt. Ltd. India.	India
62	Avaxim Suspension for Injection in prefilled syringe (Inactivated & Adsorbed Hepatitis A Vaccine)	Aventis Pasteur S.A. France.	France
63	Tetanol (Adsorbed Tetanus Vaccine) Suspension for Injection (Tetanus toxoid adsorbed not less than 40	Chiron Behring GmbH & Co., Germany	Germany
64	Tetglob 250 I.U (Tetanus Immunoglobulin B.P) (Human) Injecction (Human Tetanus	Bharat Serums & Vaccine Ltd, India	India
65	Tetglob 500 I.U (Tetanus Immunoglobulin B.P) (Human) Injecction (Human Tetanus	Bharat Serums & Vaccine Ltd, India	India
66	Avaxim 80 U Paediatric suspension for Injection (Inactivated adsorbed Hepatitis A vaccine)	Aventis pasteur S.A, France	France
67	Dual Antigen (Adsorbed Diptheria & Tetanus Vaccine B.P)	Serum Institute of India Ltd. India	India
68	Varilrix injection (Live attenuated varicella virus (OKA strain) <2000 (PFU)	SmithKline Beecham Biologicals	Belgium
69	Rabies Serum Berna Solution for Injection (Antirabies immunoglobulin 200 IE/ml)	Swiss Serum & Vaccine Institute Berna, Switzerland.	Switzerland
70	Typheri X TM Solution for Injection. (Vi Polysaccharide of Salmonella typhi 25 mcg ,Sodium	SmithKline Beecham Biologicals	Belgium
71	Priorix TM Injectable Vaccine (Trivalent) (Live attenuated mumps (RIT 4385 strain) not <103.7	SmithKline Beecham Biologicals	Belgium
72	Hiberix TM Injection Lyophilized vaccine (Conjugate Haemophilus Influenza type b purified Menigococcal Polysaccharide vaccine A+C injectable.	SmithKline Beecham Biologicals	Belgium
	Rabipur (Rabies vaccine BP) 1 dose	Aventis Pasteur S.A	France
	Tritarix for Injection	Chiron Behring vaccine Privte Ltd	India
	Twin rix – Junior injection 0.5 ml, Pre filled Syringe	Glaxo Smithkline (Thai) Ltd. Thailand, Glaxo Smithkline Biological SA Belgium.	Thailand
	Pentaxim Powder & suspension for injection (Diphtheria toxoid , tetanus toxoid, Bordetella pertussis antigen toxoid, Filamentous haemagglutinin, Inactivated type 1,2,3 poliomyelitis haemophilus influenzae type b polysaccharide conjugated to tetanus protein)	Smithkline Beecham Biologicals (Belgium)/ Smithkline Beecham P' cal	Belgium
	Okavax Injection (Live attenuated Varicella virus (Live attenuated OKA Strain) at Least 1000 PFU (plaque Forming Unit)/ 0.5 ml)	Aventis Pasteur S.A	France
	Tetglob 1000 IU (Tetanus immunoglobulin BP (Human) Injection (Human Tetanus Immunoglobulin eq. to Tetanus Antitoxin 1000 IU/ Vial)	The Research Formulation for microbial disease of Osaka University (BIKEN) Japan.	Japan
	Adsorbed Tetanus vaccine BP (Tetanus toxoid)	Bharat Serums & Vaccine Ltd, India.	India.
	Tetanea injection (Equine tetanus immunoglobulin fab 2 fragments 1500 IU/ ml)	Serum Institute of India Ltd, India.	India
		Aventis Pasteur S.A France	France
SR NO	GENERIC NAME / STRENGTH	BRAND NAME/ DOSAGE FORM/ PRESENTATION	OWNER/ MANUFACT
1	Attenuated live measles virus (Schwarz strain not less than 1,000 CCID50, Attenuated Live mumps	Traimovax Merieux (ROR)Injection Glass Tubular vial of 3ml e Glass	Pasteur Merieux
2	Poliomyelitis Vaccine (Polimyelitis virus type 1 - Strain LSc 2 ab at least 1,000,000 TCID 50, type 2-	Oral Polimyelitis Vaccine(Multidose) Oral Solution Glass vial of 1 ml (10	Pasteur Merieux

3	Poliomyelitis Vaccine (Polimyelitis virus type 1 - Strain LSc 2 ab at least 1,000,000 TCID 50, type 2-	Oral Polimyelitis Vaccine (Single dose) oral solution Glass ampoule 0.5	Pasteur Merieux
4	Measle Virus , live,1000 TCID 50 ,5000 TCID 50 Live Mumps Virus,1000 TCID 50 Live Rubella	Triviraten Berna Vaccine Vial of Lyophilized Vaccine.	Swiss Serum & Vaccine
5	Measles Virus 1000 TCID50 Live	Moraten Berna Vaccine Vial of Lyophilized Vaccine.	Swiss Serum & Vaccine
6	Measles virus not less than 1,000 TCID 50 a residue of Neomycin B Sulfate not more than 5mcg.	Morbilvax (10 dose) Injection. Glass Vial 5ml x 10.	Biocine S. P. A.
7	Poliomyelitis Vaccine (Poliovirus Strain LSc 2 ab type 1-1,000,000 TCID 50, Poliovirus Strain P712,	Polioral Trivalent Oral Drops. (10 dose each) LDPE Dispenser for 10	Biocine S.P.A.
8	Poliomyelitis Vaccine (Poliovirus Strain LSc 2 ab type 1- 1,000,000 TCID 50, Poliovirus Strain P712,	Polioral Trivalent Oral Drops. (1 dose each) LDPE Dispenser for 1 dose(1	Biocine S.P.A.

厚生労働科学研究費補助金

(厚生労働省医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)

分担研究報告書

日本脳炎ワクチン力価試験の国際的標準化のための標準血清、参照品統一のための準備

分担研究者 高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部)

協力研究者: 田島 茂、林 昌宏、倉根一郎 (国立感染症研究所ウイルス第一部)

日本脳炎ワクチンの力価試験は、中和抗体価を測定することで評価している。中和抗体測定法としては、プラーク減少法を用いている。プラークを形成するための細胞としては、従来は鶏胚細胞を用いていたが、初代鶏胚細胞の準備が煩雑であること、ペトリ皿を大量に用いるため、インキュベーター内のスペースも必要であることから、現在、わが国では株化細胞 (Vero細胞) を用いて、6穴プレートを用いる方法で実施している。この際、基準となる参照ワクチンの力価を試験品が上回ることで合格と判定する。プラーク減少法を実施する際は、検査の再現性を確保するため、陽性コントロールとしての標準血清 (日脳中和抗体陽性血清) を使用する。この標準血清を、タイ、インドネシア、インド、日本で統一するため、タイNHIが選定した候補血清を評価した。

A. 研究目的

日本脳炎ワクチンの力価試験は、中和抗体価を測定することで評価している。中和抗体測定法としては、プラーク減少法を用いている。プラークを形成するための細胞としては、従来は鶏胚細胞を用いていたが、初代鶏胚細胞の準備が煩雑であること、ペトリ皿を大量に用いるため、インキュベーター内のスペースも必要であることから、現在、わが国では株化細胞 (Vero細胞) を用いて、6穴プレートを用いる方法で実施している。この方法は、日本脳炎不活化ワクチンを製造しているタイ、ベトナムなども統一する計画が WHO (SEARO) を通じ

て進行中である。この力価試験に際し、プラーク減少試験の正確さの指標としてに用いる標準血清 (日本脳炎中和抗体陽性血清) を評価した。

B. 研究方法

細胞プレートの作成手順

6 well プレートに Vero 細胞を調製し、37°C、5% CO₂ 下で 1 晩培養し均一な細胞シート作製する。培養 1 日後に使用した。

ウイルスの接種と細胞固定

細胞プレートの培養上清を完全に除き、対照ウイルス、検査血清を希釈液で 10 倍に

うすめ、56°C30分非働化した後、2倍階段希釈を行う。保存ウイルスを200PFU/100 μ lになるように希釈し、これを攻撃ウイルスとする。各希釈血清400 μ lに攻撃ウイルス400 μ lを等量加える。各試験管は、よく振とう混和してから37°Cの恒温水槽内で90分間中和反応をさせる。血清・ウイルス混和液のそれぞれを100 μ l/wellで接種する。細胞プレートの培養上清を完全に除く。接種直後に接種液が細胞全面にいき渡るようにし、37°C、5% CO₂下で1時間30分間、ウイルスを吸着させる。1%メチルセルロース、2%FBS加MEM培地を重層し、37°C、5% CO₂下で6日間培養する。4～6日間の培養終了後、各wellの重層培地上へ10%中性緩衝ホルマリン液を1.5ml加えよく振とうし、培地とホルマリン液を混和後、室温で1時間以上放置する。ホルマリン固定終了後、水道水にて培地・ホルマリン液を洗い落とす。メチレンブルー染色液を各wellに1.5ml加え1時間室温に放置する。染色終了後、水道水にて染色液を洗い落とし、プラーク数を算定する。

血清希釈のそれぞれのプラーク減少率から、Reed-Muench法により50%プラーク減少率を求め、その血清希釈倍数を中和抗体価とした。

C. 研究結果

標準血清の中和抗体価の算出試験を3回繰り返した結果、38.6倍、50.0倍、47.3倍であった(表1)。現在、タイ NIH がインドネシア、インド、タイ、日本の検査結果をまとめ解析中である。また、力価試験の参照候補品を日本が供給することになった。

D. 考察

日本脳炎ワクチンは、日本独自の技術により、マウス脳由来の不活化ワクチンが初めて実用化されたのが1954年であった。その後5回の大きな改良を経て現在に至っている。現在、WHOが承認している日本脳炎ワクチンは、マウス脳由来不活化日本脳炎ワクチンである。このような経緯から、力価試験の基準となる参照ワクチンは、外務省を通じた要請に基づきタイ、韓国などの製造国に無償供与している。しかし、WHOなどの国際機関により指定された国際標準

品ではない。その一環として今回WHO(SEARO)に属する日本脳炎ワクチン製造国の研究機関とまず、中和抗体価測定のためのプラーク減少法の検査精度を確認するための抗日本脳炎中和抗体陽性標準血清候補品の評価を実施した。今後、すみやかに参照品の選定に向けて各国と協調していきたい。

E. 結論

現在、Vero細胞を用いてプラーク形成法により実施されている日本脳炎不活化ワクチン力価検査法を、国際的に統一するため国際参照ワクチンの評価のための標準血清(陽性コントロール)候補品を評価した。今後、国際参照ワクチン選定に向けて各国とさらに協調していく。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文

なし

2. 学会発表

なし

表 1

Sample	Dilution of serum	Average no of plaques	Reduction (%)	Reed-Muench
virus control 1	-	99	-	NT titer
JE110107A	x10	19	80.8	1:38.5
	x40	50.33	49.2	
	x160	82.67	16.5	
	x640	78	21.2	
JE110107B	x10	20.33	79.5	1:50.0
	x40	44.67	54.9	
	x160	74.67	24.6	
	x640	80.67	18.5	
JE110107C	x10	23	76.8	1:47.3
	x40	45.67	53.9	
	x160	77	22.2	
	x640	86.67	12.5	

4 倍階段希釈により、各希釈での Plaque reduction%を測定し、Reed-Muench 法により中和抗体価を算出した。

厚生労働科学研究費補助金
医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究総事業
(総括・分担)研究報告書

研究課題:異常毒性否定試験に用いるモルモットのグレード変更に伴うバリデーション

分担研究者 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 浜口 功
協力研究者 国立感染症研究所 血液・安全性研究部 水上拓郎

研究要旨

異常毒性否定試験においては、これまでクリーングレードのモルモットを用いて検定を行っているが、より均一化された集団で、なおかつ微生物学的に特定の病原体フリーであることが好ましい。そこで、本研究課題では、現在用いられているクリーン動物より SPF 動物への変更が可能であるかどうかについてバリデーションを行った。

肺炎球菌ワクチン、インフルエンザ HA ワクチン、DPT ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、沈降ジフテリア破傷風トキソイドを用いた異常毒性否定試験の結果において、SPF グレードを用いて行った異常毒性否定試験の結果がこれまでに蓄積したクリーングレードの母集団の値と統計学的に有意な差を認めなかった。

これらの結果から、モルモットの母集団を用いて統計学的に処理を行う本試験に用いるモルモットをクリーンから SPF に変更して実施可能と考えられる。

A. 研究目的

現在異常毒性否定試験においては、クリーングレードのモルモットを用いて検定を行っている。クリーン動物の食餌はオートクレーブされておらず、ブドウ球菌の微生物検

査が省略されている。今後はより均一化された集団で、なおかつ微生物学的に特定の病原体フリーである SPF グレードを国家検定に用いることが好ましい。そこで本研究課題では、現在異常毒性否定試験に用いているクリーン動物を SPF グレードへの変更

が可能かどうかについて検討を行った。

B. 研究方法

1) 動物

異常毒性否定試験に用いるモルモットのコロニー及び生産所による影響を、現在使用中伊豆コロニー由来の中伊豆クリーン、中伊豆コロニー由来の中伊豆 SPF、湖西のコロニー由来の湖西クリーンの3種を、いずれも日本 SLC 社より購入し、比較検討した。

2) 試験法

生理食塩水(大塚生食注)を用いた異常毒性否定試験を、一般毒性試験における異常毒性否定試験に準じて行った。まず、入荷して1週間を馴化期間として体重を測定した。1週間後、異常毒性否定試験における成長曲線の回帰係数、相関係数を元に、使用動物を決定し、320-360g の範囲で2つの母集団より選択されるようランダムマイズし、生理食塩水を接種した。一群は8匹とし、接種後7日間観察し、最終日に剖検と血液検査を行った。

また、入荷時における違いを明らかにする目的で、一群10匹として入荷時に体重測定、剖検、および血液検査を行った。体重増加の検定には、Z 検定を用いて統計解析し、国立感染症研究所が保有する生理食塩水接種母集団と比較した。また、白血球数に関しては、肺炎球菌で設定されている基準値をベースに検討した。それ以外の統計解析については t 検定を行った。

同じ方法で、インフルエンザ HA ワクチン、DPT ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、沈降ジフテリアトキソイドについてクリーンと SPF グレードモルモットの試験結果の比較を行った。

C. 研究結果

1) 中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおける体重推移

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおける体重推移を予備試験期間において検討した。その結果、湖西クリーンにおいては予備試験時の差体重において低値を示し、一個体が回帰係数によって棄却された。中伊豆由来の SPF 及びクリーン間では有意差は認められなかった。

2) 生理食塩水を用いた異常毒性否定試験結果

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおける異常毒性否定試験を行った結果、湖西クリーンでは接種後3日目に有意差を認めた ($P=0.00013$) (図1)。

また接種後2日、7日においても P 値は低値を示した ($P=0.075$, $P=0.039$)。

3) 白血球数の変化

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおける白血球数推移を入荷時と、生理食塩水接種後7日目において比較検討した。それぞれの種間によって有意差は認められなかった(図2)。

また接種前および生理食塩水接種後7日目においても有意差は認められなかった。ただし、湖西に関しては感染研母集団とはt検定において有意差が認められる。また、肺炎球菌ワクチンの異常毒性否定試験では(平均値-2SD)/2の値を基準値としてもうけているが、この値を下回る個体は存在しなかった。

4) 臓器重量の変化

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおける臓器重量を入荷時と、生理食塩水接種後7日目において比較検討した。その結果、入荷時および剖検時において有意差は認められなかった(図3)。

5) 肝臓における壊死像の発生頻度と面積

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンの肝臓における壊死像の発生頻度と面積を入荷時と、生理食塩水接種後7日目において比較検討した。中伊豆 SPF は入荷時に10個体中6匹という高頻度に壊死像が認められたが、壊死総面積の平均は 12mm^2 であった。肺炎球菌ワクチンについての基準値である「 $10\text{mm}\times 10\text{mm}$ (100mm^2)以上の壊死像を認めていない」に準ずると、これを上回る個体は存在しなかった(図4)。中伊豆クリーン、湖西クリーンともに同様の壊死像はほとんど認められなかった。生理食塩水接種後7日目においては、中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーンにおいて壊死像はほとんど認められなかった。

6) 肺炎球菌ワクチンを用いた異常毒性否定試験

生理食塩水を用いた異常毒性否定試験の結果、湖西クリーンと中伊豆 SPF および中伊豆クリーンは反応性が異なることが明らかとなったが、中伊豆クリーンと中伊豆 SPF には反応性に大きな差は認められなかった。そこで、体重減少が著明におこる肺炎球菌ワクチンを用いて検討を行った。

その結果、体重減少率はこれまで中伊豆クリーンで作成してきた母集団ほぼ一致することが明らかとなった(図5)。また、病理変化に大きな差は認められなかった。血液毒性についても異常値は認められなかった(図6)。

7) インフルエンザ HA ワクチン、DPT ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、沈降ジフテリア破傷風トキソイドを用いた異常毒性否定試験

インフルエンザ HA ワクチン、DPT ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、沈降ジフテリア破傷風トキソイドについて SPF グレードを用いて行った異常毒性否定試験の試験結果がこれまでに蓄積したクリーングレードの母集団と統計学的に有意な差を示さなかった(図7)。

D. 考察

中伊豆 SPF、中伊豆クリーン、湖西クリーングレードモルモットにおける異常毒性否

定試験を行った。その結果、異常毒性否定試験に用いる母集団のデータは、中伊豆クリーン、中伊豆 SPF では適用することができることが明らかとなった。国立感染症研究所の保有する生理食塩水接種母集団と中伊豆 SPF では統計学的に有意差はみとめられなかったが、湖西クリーンとは接種後3日目に有意差が認められた。また2日、7日ともにP値は低かった。一方、入荷して接種までの馴化期間中、統計学的な有意差は各群で認められないものの、湖西クリーンでは差体重の平均値が著しく低く、注意が必要であった。回帰係数等により棄却された個体は湖西クリーンで1匹認められた。

次に、白血球数について解析した。その結果、入荷時において白血球数に有意差は認められなかった。生理食塩水接種後の白血球数にも変化は認められなかった。ただし、生理食塩水接種母集団と比較すると、湖西クリーンは有意な減少が認められた。

さらに、剖検時の壊死および臓器重量について検討した。その結果、中伊豆 SPF では入荷時に10個体中6個体に巣状壊死が認められたものの、肺炎球菌ワクチンで異常と認めている $10\text{mm}\times 10\text{mm}(100\text{mm}^2)$ を超える壊死像は全く認められなかった。また、生理食塩水接種7日後ではその頻度が減少していた。臓器重量等での大きな変化は認められなかった。

以上の点より、中伊豆 SPF は入荷時の壊死がある程度存在することをのぞけば、SPF に変更することは可能であると考えられる。しかし、この壊死面積は平均 12mm^2 と小さく、

基準値である 100mm^2 を超えるものは認められてないことから、バックグラウンドとして差し引いても、有効に判定できるものと考えられる。

肺炎球菌ワクチン、インフルエンザ HA ワクチン、DPT ワクチン、日本脳炎ワクチン、組換え B 型肝炎ワクチン、沈降破傷風トキソイド、沈降ジフテリア破傷風トキソイドを用いた異常毒性否定試験の結果、SPF グレードモルモットを用いて行った異常毒性否定試験の試験結果がこれまでに蓄積したクリーングレードモルモットの母集団と統計学的に有意な差は認められなかった。

よってモルモットをクリーングレードから SPF グレードに変更しても反応性に大きな違いはないものと考えられる。

E. 結論

今回の研究結果より、今後 SPF グレードのモルモットを用いて異常毒性否定試験を実施する際、これまで集計されているクリーンモルモットの母集団を用いて統計学的に処理を行うことに問題はないものと考えられ、異常毒性否定試験に SPF グレードを全面的に使用することは可能と考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Hamaguchi I, Imai J-I, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Kato H,

Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Mochizuki M, Ochiai M, Yamamoto A, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K: Two vaccine toxicity-related genes Agp and Hpx could prove useful for pertussis vaccine safety control

Vaccine, 25: 3355-3364, 2007

2) 学会発表

1. 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝沢和也、水谷哲也、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成

遺伝子発現解析(QuantiGene Plex 法)を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み

第11回ワクチン学会(横浜)・2007.12.

2. 水上拓郎、今井順一、浜口功、河村未佳、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光球、滝沢和也、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成

網羅的遺伝子発現解析によるパンデミックインフルエンザワクチン(H5N1)の安全性・有効性評価法開発の試み

第11回ワクチン学会(横浜)・2007.12.

3. 内藤誠之郎、前山順一、水上拓郎、長

谷川秀樹、浜口功、山口一成

経皮ワクチンに関する研究—抗原の皮膚送達促進による免疫効果の増強とインフルエンザ HA ワクチンへの応用

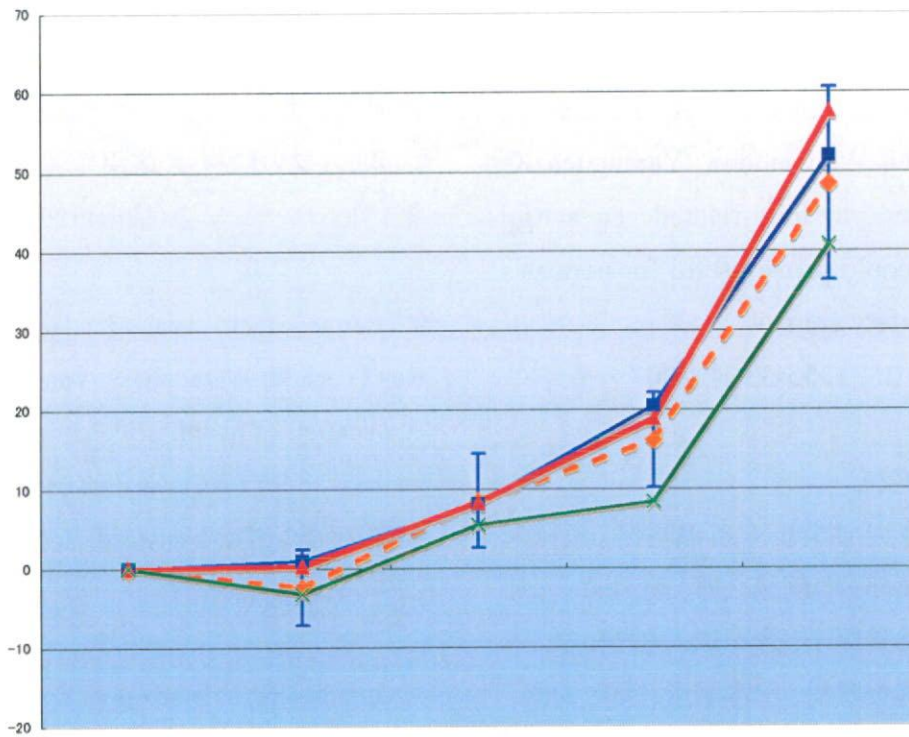
第11回ワクチン学会(横浜)・2007.12.

4. Monose H, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Watanabe S, Yamaguchi K
Application of quantitative gene expression analysis to Pertussis vaccine safety control
国際ワクチン学会(Amsterdam, Netherland), 2007. 12.

A. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許

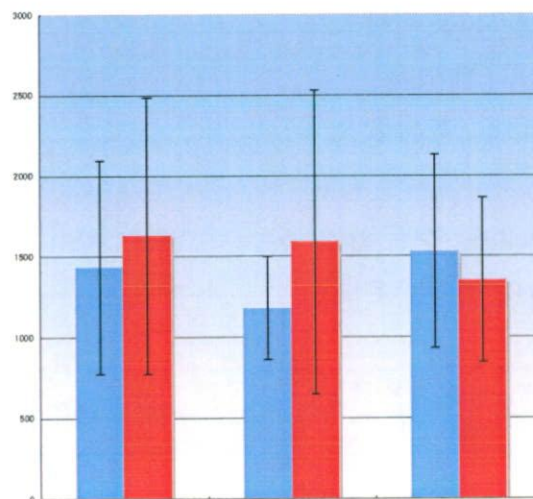
なし



入荷時 1日目 2日目 3日目 7日目

橙点線:感染研母集団 青:中伊豆クリーン 赤:中伊豆 SPF 緑:湖西クリーン

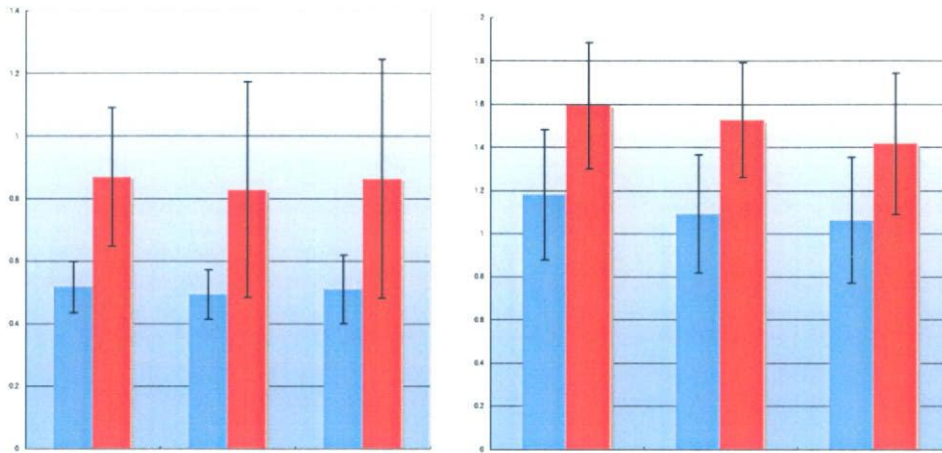
図1:生理食塩水を用いた異常毒性否定試験



中伊豆クリーン 中伊豆 SPF 湖西クリーン

青:接種前 赤:接種後

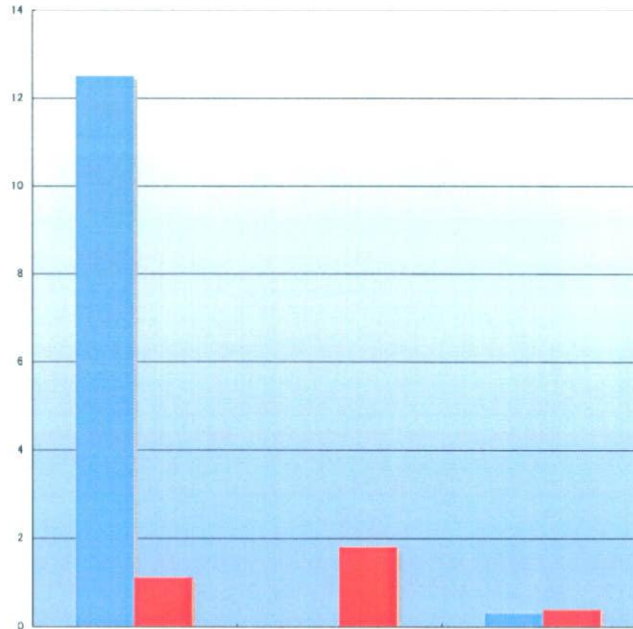
図2:生理食塩水を用いた異常毒性否定試験—白血球減少試験



中伊豆クリーン 中伊豆 SPF 湖西クリーン 中伊豆クリーン 中伊豆 SPF 湖西クリーン

青:接種前 赤:接種後

図3:生理食塩水を用いた異常毒性否定試験—臓器重量



中伊豆 SPF 中伊豆クリーン 湖西クリーン

青:接種前 赤:接種後

図4:生理食塩水を用いた異常毒性否定試験—病理

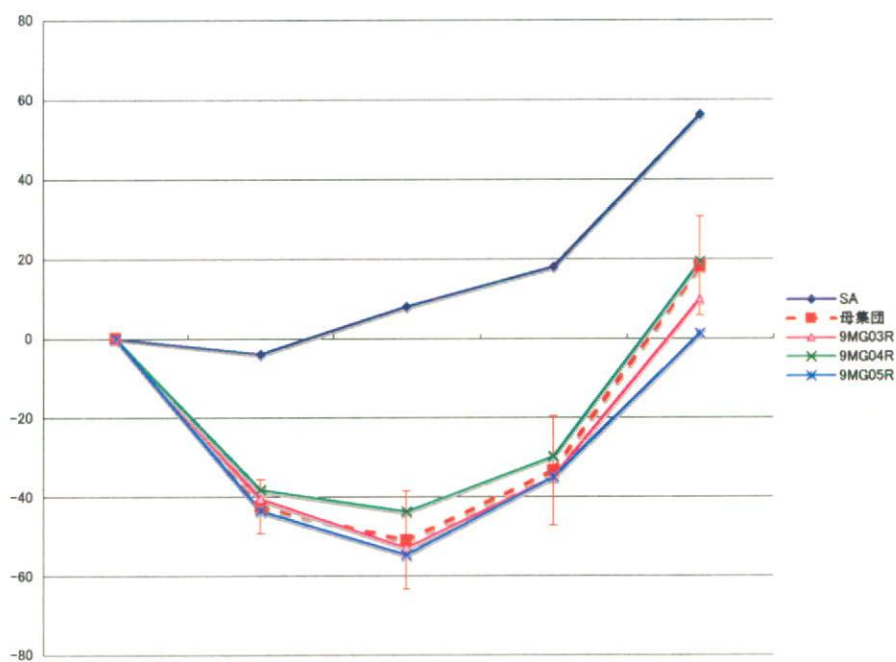


図5;肺炎球菌ワクチンを用いた異常毒性否定試験

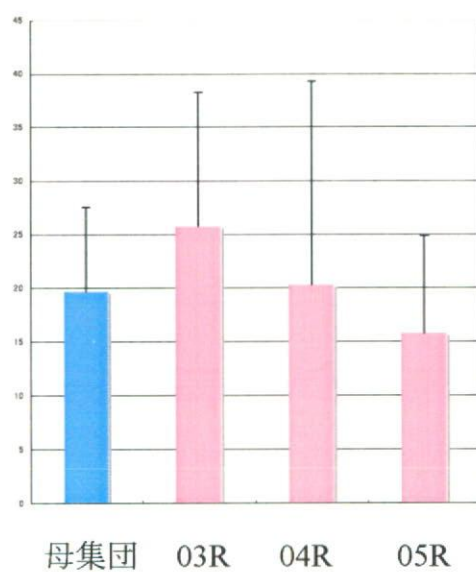


図6;肺炎球菌ワクチンを用いた異常毒性否定試験—白血球試験

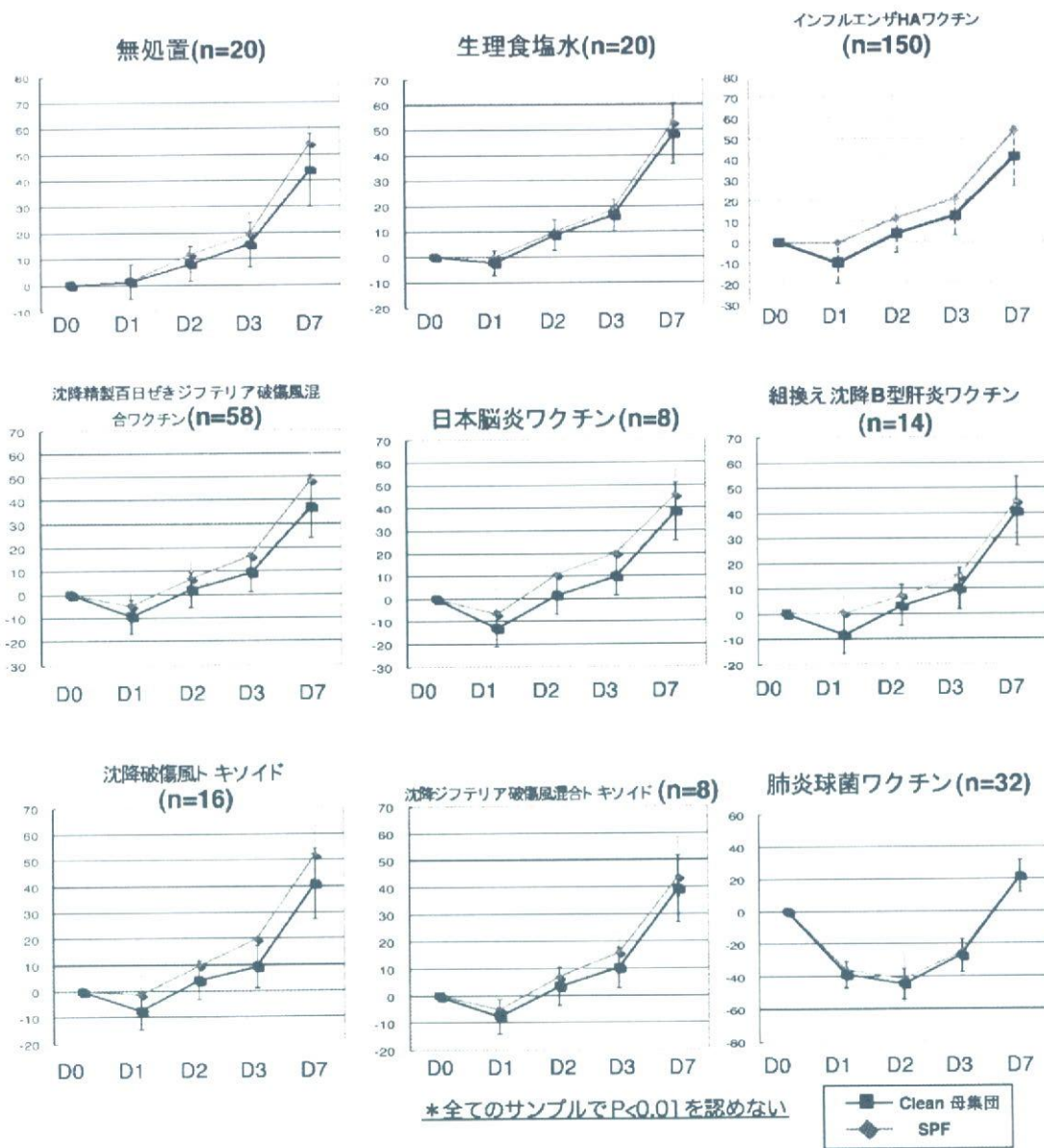


図7 モルモットグレード 変更に伴う 各製剤の試験結果

厚生労働科学研究費補助金
(新興・再興感染症研究事業)
分担研究報告書

諸外国における生物学的製剤の国家管理制度と問題

堀内善信 国立感染症研究所 細菌第二部

研究協力者

落合正樹 国立感染症研究所 細菌第二部
布施晃 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

研究要旨: これまでの生物学的製剤に関する国家検定制度についての調査について、さらに WHO における各国の国家検定に関する調査結果や認識と照らし合わせて今後の問題点を考察した。

A. 研究目的

WHO の国立感染症研究所の査察によって諸外国と日本における生物学的製剤の国家管理制度の違いが指摘された。本研究では、欧米およびアジア各国の生物学的製剤の国家管理制度についてアンケートおよび現地調査をもとに調査し、我が国、品質管理制度の在り方の検討資料とする。

B. 研究方法

WHO の Lot release に関する Recommendation (TRS 822) 等の関係文書や Health Canada の関係者やタイその他の関係者より WHO 関連会議資料を得て調査した。

(倫理面への配慮) 本年度はヒト検体を用いた実験、動物実験のいずれも行なわ

なかった。

C. 研究結果

1. WHO における生物製剤の Lot release に関する認識 (概観)

ワクチンは大多数の健常人に接種される公衆衛生上の重要な医薬品であり、品質の問題が臨床的に明らかになるまでには接種後相当の時間が必要となり、回復不能な危害を生じることになる可能性がある。

ワクチン等の生物学的製剤は、培養時のぼらつきなど原材料自体にぼらつきの要因を含みうる製剤である。また評価のための測定法自体一定のぼらつき要因を含み、その際の参照品や標準品自身が生物製剤であるなど、様々な点で一定の製造が可能な合成薬とは異なっている。合成薬の場合はその有効性の低下は化学的な構造の変化と関連して評価が可能であるが、ワクチン等の場

合、有効性の変動や毒性復帰等による安全性は通常ロットごとに異なる。最新のハイテク技術による製剤は合成医薬品と同様の管理が可能であるように思われたが、現実にはやはり従来の生物学的製剤と同様の問題を含んでいることが明らかになってきた。最も重要な問題は、有効性や迷入ウイルスによる安全性の問題等は長い時間がたって被害が拡大した後でないとは明らかにならないということである。こうした事情から、ワクチン等の生物製剤については承認時の評価や GMP 査察だけでは不十分であり、第三者機関による追加的な試験が必要である事について国際的に異論は見られない。問題はこういった試験がその対象になるか、また試験の信頼性はということになる。特に NCL から WHO に報告あるいは要請されてきている事項としては、試験コストの問題以外に試験の複雑さやそのための教育訓練がある。しかし一般に品質管理に関する経験や専門性の維持は難しく、この点については各国の NRA や NCL 間の連携による解決が求められる。

実際のロットリリースは単にサマリープロトコールの審査から実際に全ロットについての試験に到るまで国により様々な形で実施されている。以下にいくつかの事例を示す。

2. 先進国の例

米国の場合 CBER の、カナダの場合 Health Canada の Release したロット以外の販売は許されない。ヨーロッパでは EDQM 加盟 27 ヶ国間でロットリリース結果を相互承認する形となっている。米国の場合、サマリープロトコールや承認時の資料等あらゆる情報を参照し、さらに隔年ごとに

GMP 査察を実施する。こうした一連の記録に基づき、必要な場合実際にいくつかの試験を実施する場合もある。カナダでは主として承認審査時の経験をもとに生物製剤をリスク分類する。ワクチン等は通常もつともリスクの大きい部類に分類され、いくつかの試験が全ロットについて実施される。しかし製品ごとに承認後の実績に基づきリスクの低い分類に変更され、試験の種類が変更されることはあるが、また元に戻されることもある。欧州のシステムは昨年調査結果のとおり、唯一加盟国間の相互承認に基づくシステムである。

3. 開発途上国におけるロットリリース

タイでは 1990 年より独自のロットリリースを行っているが、1998 年までは対象を自国産の生物製剤に限っていた。しかし 1998 年以降は輸入品を含む全ての生物製剤を対象にしている。先進国の製造所で詳細なロットの記録の要求に応じない場合があり、ロットプロトコール審査については問題を抱えている。特に輸送時の温度管理について多くのワクチンでロットリリース試験で問題を経験している。PAHO の調べによるとラテンアメリカでのロットリリースの現状は、15 ヶ国でサマリーロットプロトコールの審査が行われており、8 ヶ国で少なくとも 2 種類の試験が実施されている。試験を実施するロットの頻度は国により違いがあるが、共通認識としては、提出されるロットプロトコールの内容は製造所ごと、さらにロットごとに大きなばらつきがあり、その審査だけでは不十分で、実際の試験実施が必要である。特にロタウイルスワクチン