

201427002A-B

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

総合研究事業

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の

抜本的改正に関する研究

平成24年度～26年度 総合研究報告書

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

平成27(2015)年 3月

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
総合研究事業

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の
抜本的改正に関する研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

平成27(2015)年 3月

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

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の 抜本的改正に関する研究

平成26年度 研究組織

研究代表者

渡邊治雄 国立感染症研究所 所長

研究分担者

倉根一郎	国立感染症研究所	副所長
脇田隆宇	国立感染症研究所	ウイルス第二部 部長
浜口 功	国立感染症研究所	血液・安全性研究部 部長
西條政幸	国立感染症研究所	ウイルス第一部 部長
竹田 誠	国立感染症研究所	ウイルス第三部 部長
柴山恵吾	国立感染症研究所	細菌第二部 部長
加藤 篤	国立感染症研究所	品質保証・管理部 部長
板村繁之	国立感染症研究所	インフルエンザウイルス研究センター 室長
多屋馨子	国立感染症研究所	感染症疫学センター 室長
柊元 巖	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター 室長
内藤誠之郎	国立感染症研究所	品質保証・管理部

研究協力者

林 昌宏	国立感染症研究所	ウイルス第一部 室長
伊藤（高山）睦代	国立感染症研究所	ウイルス第一部
高崎智彦	国立感染症研究所	ウイルス第一部 室長
田島 茂	国立感染症研究所	ウイルス第一部
山口幸恵	国立感染症研究所	ウイルス第一部
垣内五月	国立感染症研究所	ウイルス第一部
堀谷まどか	国立感染症研究所	ウイルス第一部
石井孝司	国立感染症研究所	ウイルス第二部 室長

清原知子	国立感染症研究所	ウイルス第二部
駒瀬勝啓	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長
森 嘉生	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長
木所 稔	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長
蒲地一成	国立感染症研究所	細菌第二部 室長
持田恵子	国立感染症研究所	細菌第二部
岩城正昭	国立感染症研究所	細菌第二部
水上拓郎	国立感染症研究所	血液・安全性研究部 室長
落合雅樹	国立感染症研究所	品質保証・管理部 室長
藤田賢太郎	国立感染症研究所	品質保証・管理部
近田俊文	国立感染症研究所	品質保証・管理部
嶋崎典子	国立感染症研究所	インフルエンザウイルス研究センター

目 次

	頁
I. 総括研究報告	
ワクチンの品質確保のための国家検定制度の抜本的改正に関する研究 研究代表者 渡邊 治雄	1
II. 分担研究報告	
1. 日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定に関与する炎症性サイトカインの 解析 倉根 一郎	13
2. 国家検定の意義－B型肝炎ワクチンの <i>in vivo</i> 試験から <i>in vitro</i> 試験へ の移行について－ 脇田 隆字	17
3. 欧州におけるワクチンの品質管理と国家検定について 浜口 功	21
4. 国家検定と製造販売後調査の連携 西條 政幸	27
5. 国家検定の見直し－ウイルス製剤の観点から 竹田 誠	33
6. 血液製剤のエンドトキシン試験の国家検定の廃止について 柴山 恵吾	37
7. 国家検定のあり方に関する研究 加藤 篤	41
8. 予防接種後副反応（有害事象）サーベイランスシステムの構築に関する 研究 多屋 馨子	121
9. 組換えヒトパピローマウイルスワクチンの WHO ガイドライン改訂 柊元 巖	125
10. 海外のロットリリース制度の状況－海外アンケート調査報告－ 内藤 誠之郎	131
III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	197
IV. 研究成果の刊行物・別刷	

I. 総括研究報告

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事業

総括研究報告書

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の抜本的改正に関する研究

研究代表者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長

研究要旨：医薬品医療機器等法（旧薬事法）第43条に基づき実施されている国家検定は、我が国のワクチンの品質を確保する上で根幹を成す制度の一つである。国家検定制度については、平成24年10月施行の薬事法施行規則（現、医薬品医療機器等法施行規則）の改正により、製造・試験記録等要約書（SLP）を審査する制度が導入された。これを機に、さらなるワクチンの「安心、安全」の向上に資することを目的に、将来の国家検定制度のあるべき姿について調査研究を行った。国家検定の試験項目は随時見直されており、将来的にはSLP審査のみでロットリリースされる製剤種が出現することもありうる。しかしそれが許容されるかどうかについては科学的な議論だけでは不十分であり、制度的並びに政策的な観点も加えた総合的な議論が必要と考えられた。現行の検定基準においては、製剤種（生物学的製剤基準の各条ごと）に検定試験項目が定められ、同じ製剤種に属する複数の製品に対して一律に検定試験が課されている。一方、同じ製剤種に属する製品であっても、試験結果の再現性・安定性は製品ごとに異なっている。また、一度確認された試験の再現性・安定性が、その後も恒久的に維持されるとは限らない。このような製品によるリスクの違いや変化に対応するためには、検定基準を製剤種ごとではなく、製品ごとに設定することが必要になる。国家検定制度を、製品ごとリスクごとによりきめ細かく柔軟に対応できる制度に改正することは検討に値する。しかしその一方で、すべてのロットに一律に試験が課されていることがもたらす「安心感」についても無視すべきではないと考えられる。ワクチンの品質を確保して国民に「安心、安全」を提供するために、限られたリソースをどのように活用するのが最善か、という視点も重要である。最新の科学技術を取り入れて試験法の開発・改良を行うことは国立感染症研究所（感染研）の重要な責務である。新規製剤について、承認申請前の段階から感染研が試験法の開発と評価に関与することは品質管理の向上に有効かもしれない。数万人に一人といった頻度で発生する副反応が問題となるワクチンについては製造販売後監視がとりわけ重要である。接種される人の健康状況などの情報／背景を蓄積し、予防接種後副反応との関係を解析できるようなシステムを確立することや、副反応発症患者の臨床検体を保管するようなバンク機能を整備することも考慮に値する。以上のように、本研究では国家検定制度の将来像に係わる多くの論点を明らかにした。これらはいずれも、科学的、技術的側面だけではなく、法制度としての側面や政策的な観点からの検討も必要な複雑な問題である。拙速を避け、明らかになった論点・課題を整理し、取りうる選択肢を十分に吟味したうえで決定する必要がある。

研究分担者

倉根一郎 国立感染症研究所
副所長

脇田隆字 国立感染症研究所
ウイルス第二部 部長
浜口 功 国立感染症研究所

	血液・安全性研究部 部長
西條政幸	国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長
竹田 誠	国立感染症研究所 ウイルス第三部 部長
柴山恵吾	国立感染症研究所 細菌第二部 部長
加藤 篤	国立感染症研究所 品質保証・管理部 部長
板村繁之	国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター 室長
多屋馨子	国立感染症研究所 感染症疫学センター 室長
終元 巖	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 室長
内藤誠之郎	国立感染症研究所 品質保証・管理部 主任研究官

A. 研究目的

医薬品医療機器等法（旧薬事法）第 43 条に基づき実施されている国家検定は、我が国のワクチンの品質を確保する上で根幹を成す制度の一つである。国家検定制度については、平成 24 年 10 月 1 日施行の薬事法施行規則（現、医薬品医療機器等法施行規則）の改正により、製造・試験記録等要約書（Summary Lot Protocol; SLP）を審査する制度が導入された。戦後の薬事法制は、医薬品承認制度の導入、GMP制度の構築、市販後監視の拡充など、しばしば改正が行われてきたが、SLP審査制度の導入は国家検定にとって大きな改正であったと言える。

SLP審査制度が導入されたことにより、ワクチンの国家検定を担当している国立感染症研究所（感染研）には、これまでで

上に、ワクチンのロットごとの製造情報並びに試験情報が集積されることになった。これらの情報を適切に評価して、ワクチンの品質向上に生かすためには、承認審査、GMP調査並びに製造販売後監視からの関連情報が感染研に提供されることが重要である。また、逆に、感染研に集積された情報は、承認審査、GMP調査並びに製造販売後監視に対しても、有用な情報になり得ると思われる。世界保健機関（WHO）のガイドラインにおいても、国家検定を担当する部門と、承認審査、GMP調査並びに製造販売後監視を担当する部門との間の協調と情報共有の重要性が指摘されている。これらの部門間の情報共有と連携を強化することは、我が国のワクチンのさらなる「安心、安全」の向上にとって有用と考える。

さらに実際的な問題として、SLP審査制度が導入されたことにより、感染研においては、従来実施してきたワクチンの全ロットに対する試験業務に加えてSLP審査業務が加わることになった。また近年、新規ワクチンの承認が相次いでおり、定期接種対象のワクチンも拡充されて、検定として提出されるロット件数の増加が見られる。このような状況を鑑み、感染研のリソースの最適配分という観点からの検定業務の抜本的な見直しも急務となっている。

以上のような背景のもと、さらなるワクチンの「安心、安全」の向上に資することを目的に、「GMP調査との連携のあり方」「製造販売後監視との連携のあり方」「製造販売承認制度との整合的運用」などの観点を含めて、将来の国家検定制度のあるべき姿について調査研究を行った。

B. 研究方法

我が国の国家検定制度に関して、研究代表者を中心に研究分担者全員で取り組むことを基本に、必要に応じて厚生労働省本省の政策担当者及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）の専門家等からの意見を伺いながら、調査研究を進めた。

1. 海外の国家検定制度（ロットリリース制度）の調査

平成 25 年度に実施した欧州のロットリリース関連機関に対する海外訪問調査（浜口、水上）、及び欧米及びアジアの各国／地域に対するメールベースでのアンケート調査（内藤）から得られた情報について、さらに分析を進めた。

2. 国際シンポジウムの開催

国家検定にSLP審査が導入されてから 2 年余を経過して得られたSLP審査制度の状況をまとめ、SLP審査制度を含む国家検定制度の今後の課題について検討するため、「ワクチンの品質確保とこれからの国家検定制度」と題する国際シンポジウムを開催した（加藤）。

3. WHO専門家会議への参加

組換えヒトパピローマウイルスワクチンのWHOガイドラインの改訂を目的としたWHO専門家会議に参加し、WHO及び各国の専門家と意見交換して有用な情報を入手した（終元）。

4. 国家検定試験項目の見直し

限られたヒューマンリソース下においてSLP審査の導入を、確実に品質管理の向上につなげるためには、国家検定の各試験の意義、重要性、必要性を再検証し、一部試験項目の廃止やより信頼性の高い試験方法

の開発など合理的且つ抜本的な試験項目の見直しが必要であると考えられる。そこで、麻しん・風しん・ムンプス含有ワクチンの同定試験及び動物接種試験（竹田）、並びに血液製剤のエンドトキシン試験（柴山）について、国家検定として実施することの必要性を検討した。

5. 試験法に関する検討

国家検定をワクチンの「安心」「安全」の確保に真に役立つものとするためには、科学技術の進歩、国際調和、動物福祉など科学的並びに社会的な情勢に応じて不断の見直しを図ってゆくことが重要である。このような観点から、平成 26 年度は、B 型肝炎ワクチンの *in vivo* 試験から *in vitro* 試験への移行について検討した（脇田）。また、日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定機構について検討した（倉根）。

6. 予防接種後副反応（有害事象）サーベイランスの構築に関する研究

厚生労働省（平成 26 年 11 月 25 日から PMDA）に報告された予防接種後副反応（有害事象）報告を感染症疫学センターならびに品質保証・管理部で集計解析し、感染症の業務委員会で報告するとともに、厚生労働省やPMDAと連携して、より良いサーベイランスシステムの構築について検討した（多屋）。また、米国のワクチン安全性サーベイランス事業について調査した（西條）。（倫理面への配慮）

動物実験は、国立感染症研究所動物実験実施規程にしたがって、国立感染症研究所動物実験委員会の承認のもと、動物福祉に配慮して行った。

C. 結果及び考察

GMPを含む規制・制度の拡充、SLP審査の導入、ワクチンの流通の国際化の進展、新規ワクチンの導入、ワクチンの定期接種化など、ワクチンを取り巻く状況は大きく変化してきている。それに合わせて国家検定制度を見直してゆくことは重要である。

感染研ではこれまでも国家検定の試験項目について、所内でコンセンサスが得られている考え方に基づいて必要性を見直しており、メーカーが行っている試験のうち科学的に評価して再度感染研で行う必要がないと判断した試験項目については検定項目からの削除を提言してきた。これらの活動により、平成27年1月の検定告示（昭和38年厚生省告示第279号）改正によっても、いくつかの試験項目が削除されたところである。今後もこのような見直しを続けてゆくことは必要なことと考えるが、その延長上には、試験を実施せずにSLP審査のみでロットリリースされる製剤種の出現がある。十分な検討を経て試験を削除する以上、SLP審査のみでロットリリースされる製剤種が存在することは科学的に許容されるものとする。しかし、制度的なこととして、現行法令がSLP審査のみで検定の可否を決定することを許容しているのかどうかについては、必ずしも明確ではない。例えば、医薬品医療機器等法施行令第60条「検定機関は、前条の規定により送付された試験品について、厚生労働大臣の定める基準によって検定を行い・・・」は、「検定＝試験」と規定しているようにも読み取れる。また、ワクチンの「安心、安全」の特に「安心」という側面において、SLP審査のみでロットリリースすることが許容されるかについては、科学的な議論だ

けでは不十分であり、制度的並びに政策的な観点も加えた総合的な議論が必要と考える。

感染研において試験が実施されなくなることについては、そのような試験技術を、製造業者から独立した公的機関においてどのように維持してゆくかという問題も生じさせる。もとより技術を維持するために検定を実施するというのは本末転倒であるが、現実的な問題として、考慮されなければならないことである。

現行の検定基準においては、製剤種（生物学的製剤基準の各条ごと）に検定試験項目が定められ、同じ製剤種に属する複数の製品に対して一律に検定試験が課されている（ただし、近年はワクチンの多様化により、一製剤種につき一製品のケースも増加している。）。一方、同じ製剤種に属する製品であっても、試験結果の再現性・安定性は製品ごとに異なっている。新規に承認された製品については、試験結果の再現性・安定性は不明であるが、同じ製剤種の既存の製品により試験結果の再現性・安定性が確認されて試験項目が検定基準から削除されていけば、初めからその試験は実施されないことになる。このような製品によるリスクの違いに対応するためには、検定基準を製剤種ごとではなく、製品ごとに設定することが必要になる。また、一度確認された試験の再現性・安定性が、その後も恒久的に維持されるとは限らない。製造工程や試験方法の変更等による状況の変化が起き得るからである。しかしながら現行制度では、一度削除された試験項目を復活させることは容易ではない。試験の実施に関して、製品ごとリスクごとによりきめ細かく柔軟

に対応できる国家検定制度を検討する余地があると考ええる。

カナダにおいては、製品ごとにリスクを定期的に評価して試験の実施頻度を変える制度が導入されている。低リスクと評価されればSLP審査のみでロットリリースされることがあるが、定期的なリスク評価の結果によっては、試験を実施するグループに戻されることもある。製品ごとのリスクは、試験結果やSLPから得られる情報に加えて、GMP査察結果、市販後監視の状況、製造業者から毎年提出される製品ごとの年次報告などによって総合的に評価されている。このような制度を導入するにあたっては、リスク評価の基準をあらかじめ定め、しっかりとした評価組織を構築することが重要だろう。

欧州においては、製剤種ごとに決められた基準にしたがって、すべてのロットに対して一律に試験が実施されている。この点では、本邦の制度と類似している。さらに、品質に懸念がある製品に対しては、**phase 2 test**として基準にはない試験を付加する制度がある。このしくみは、製品ごとのリスクに対応する部分と言えるかもしれない。全ロットに試験を実施することについて、研究班の中では、市販されるすべてのロットが一律に試験されていることがもたらす「安心感」についても無視することはできないとの意見もあった。

ワクチンの品質を確保して国民に「安心、安全」を提供するために、限られたリソースをどのように活用するのが感染研として最善か、という視点も重要である。最新の科学技術を取り入れて試験法の開発・改良を行うことも感染研の重要な業務である。

新規製剤について、承認申請前の段階から試験法の開発と評価に関与することは品質管理の向上に有効かもしれない。ただし、その場合には利益相反の管理をしっかりと行う必要がある。ワクチンは、数万人に一人といった頻度で発生する副反応が問題となる製剤である。このような稀な副反応を承認前の臨床試験によって検出することには限界がある。したがって、ワクチンにおいては製造販売後監視がとりわけ重要である。接種される人の健康状況などの情報／背景を蓄積し、予防接種後副反応との関係を解析できるようなシステムを確立することも必要かもしれない。現在、副反応発症患者の臨床検体を保管するシステムは存在しない。このようなバンク機能を整備することも考慮に値する。

国家検定制度の将来像は、科学的、技術的側面だけではなく、法制度としての側面や政策的な観点からの検討も考慮すべき複雑な問題である。拙速を避け、明らかになった論点・課題を整理し、取りうる選択肢を十分に吟味したうえで決定する必要がある。

以下に各研究分担者が実施した研究の結果及び考察の概要を示す。

倉根研究分担者：高い神経侵襲性を有する日本脳炎ウイルス **JaTH160** 株感染群のマウスは、感染 5 日後より脳内でウイルス増殖が確認され、ウイルス増殖が確認された脳では、**MMP-3** およびその上流の **IL-6** の mRNA 発現レベルが上昇していた。この発現上昇は脳内に限られており、血液中では見られなかった。日本脳炎発症には脳内で

の MMP-3 発現が重要であり、神経侵襲性決定には脳内での IL-6 発現が関与する可能性が示唆された。

脇田研究分担者：本邦では、B型肝炎ワクチンの力価測定法として *in vivo* 試験（マウス免疫原性試験）が実施されているが、海外では *in vitro* 試験（ELISA法等）も承認されている。*in vivo* 試験は多数のマウスを必要とし、動物の馴化期間・免疫期間を含めて 6 週間以上かかるが、全メーカー共通の参照ワクチンを用いて一律に力価を測定・評価できる。一方の *in vitro* 試験はワクチンに含まれる抗原量を測定する方法で、短期間で実施できる反面、抗原の特性（遺伝子型、製造法等）の影響が大きく、メーカー別の参照ワクチンを制定する必要がある。そこで、異なる製造業者の *in vitro* 試験用参照ワクチン候補のそれぞれ保存年数（1 年～8 年）が異なるロットについて、その力価を *in vitro* 試験法（Binding ELISA 法）により測定し、保存による力価の安定性を検討した。その結果、製造業者によって参照ワクチン候補の力価の安定性が異なっている可能性が示唆された。ロット更新等の参照ワクチンの管理については、製造業者ごとに個別に対応する必要があると考えられた。

浜口研究分担者：平成 25 年 11 月にドイツの Paul-Ehrlich-Institut を訪問し、欧州とドイツにおける生物学的製剤のロットリリースについて聞き取り調査を行うと共に、SLP や検査施設の見学を行った。ドイツでは原料血漿に関し、すべてのロットについて核酸増幅試験（NAT）や抗体検査を実施していた。ロットリリースに関わる品質試験に関しては、OCABR（Official Control

Authority Batch Release) の Guideline に従って全ての試験が実施されており、これについては一切の省略は無い。欧州では生物学的製剤のロットリリースに関し、欧州加盟国内で認定されている試験機関ネットワーク内の一機関が実施すれば欧州圏内での製造・販売が可能となるシステムを適用している。よって欧州内で流通している生物学的製剤は全て同じ基準で製造され、審査・試験されているという事が言える。本邦では、SLP 審査を導入してから 2 年余りがたち、製造工程に関し、様々な知見が明らかになりつつある。また、ワクチンについては副反応の調査がなされるようになり、品質と副反応の関係も解析できる状況になりつつある。それらの情報を総合的に鑑み、国家検定試験の実施を再検討していくことは妥当であると考えられる。欧州でも同様に SLP 審査が実施されているが、OCABR で指定されている試験が現在も一切の省略無しに実施されている。このような生物学的製剤の品質管理に関する姿勢には学ぶものが有ると考えられる。

西條研究分担者：米国では Centers for Disease Control and Prevention (CDC) の Immunization Safety Office が Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS), Vaccine Safety Datalink (VSD), Clinical Immunization Safety Assessment (CISA) という複数のプロジェクトを連携させてワクチンの市販後安全性サーベイランスを行っている。VAERS の欠点である報告漏れやコントロール群の欠如等を補う上で VSD が大きく貢献している。また、CISA は、有害事象が起こった場合の臨床的かつ科学的な原因究明において大き

な役割を担っている。CISAでは、通常臨床試験に参加しないようなハイリスクグループの副反応についての研究も行っており、さらに患者検体を保管し副反応の科学的な原因究明のために利用している。日本では有害事象が起こった場合の患者検体のバンクは存在しないが、この様な検体のバンクが構築されれば、過去の事例について新しい手法や知見を用いた再解析も可能となると期待される。市販後調査によってワクチンの安全性について監視、対応していくためには有害事象報告制度だけでは限界があり、米国CDCのようにいくつかの異なる手法によるデータベースの構築と科学的手法による原因究明が行われることが望ましい。

竹田研究分担者: 麻しん含有ワクチン製剤、風しん含有ワクチン製剤、ムンプス含有ワクチン製剤の国家検定試験に関して、(1) 乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間原液)の同定試験、(2) 動物接種試験(成熟マウス、乳飲みマウス、モルモット接種試験)について、国家検定の試験項目から削除できるかどうか検討した。製剤の性質(有効成分、未知の成分の混入の可能性等)、過去の状況(成績の安定性、長期間の試験成績等)、試験結果の再現性(自家試験と国家検定試験との相関性、合格率等)、結果の安定性(試験間のばらつき、シード更新の影響等)、海外の状況や他製剤との整合性等について検討し、どちらの試験も検定項目から削除することが妥当と考えられた。両試験項目は、平成27年1月の検定告示の改正により、国家検定の試験項目から削除された。今後も、それぞれの製剤の性質や各試験の意義等を十分に検討し、自家試験ならびに

SLPの精査で十分に品質が保証されると考えられ、国家検定によるダブルチェックの意義が高くないと考えられる試験項目については、削減を検討すべきである。そうすることは、十分な時間をかけて慎重且つ徹底的に検討しなければならない重要度の特に高い検討事項の評価の向上につながり、結果として、品質管理の質を一層高めると考えられた。

柴山研究分担者: 血液製剤(人ハプトグロビン、乾燥スルホ化人免疫グロブリン、乾燥ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン、乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子、乾燥人フィブリノゲン)に対するエンドトキシン試験について、今後も国家検定として実施すべきかどうか検討した。過去のロットの自家試験、国家検定の試験成績を確認したところ、すべての製剤のほとんどのロットでエンドトキシン値は自家試験、国家検定とも検出限界以下であり、エンドトキシンが検出できた数ロットについても、基準値を大幅に下回っていた。さらに感染研の国家検定における試験項目の廃止に関する考え方にも合致していたことから、血液製剤に対するエンドトキシン試験は、国家検定の試験項目から削除することが妥当と結論され、平成27年1月の検定告示改正により削除された。近年、メーカーの製造技術の向上やGMPの整備により、生物学的製剤の製品の品質の均一性が向上し、承認された条件の製造が安定的に行われるようになった。この状況から、各製剤について国家検定の試験項目の廃止をさらに積極的に検討してもよいと考えられる。また、国家検

定で試験を実施せず、書類（SLP）のみの審査で行えるように医薬品医療機器等法や関連の法令を改正することも積極的に進めるべきと考えられる。

加藤研究分担者：国家検定にSLP審査が導入されてから2年余を経過して得られたSLP審査制度の状況をまとめ、SLP審査制度を含む国家検定制度の今後の課題について検討するため「ワクチンの品質確保とこれからの国家検定制度」と題する国際シンポジウムを企画・開催し、総括した。シンポジウムには業界と規制当局ならびに、それ以外の興味を持つ多くの方々が参加され、業界、規制側、海外それぞれの立場から講演および議論を行った。このような関係者が集まったシンポジウムの開催に対する評価は概して高かった。ただ、それは他に代わるものが無いという消極的な支持であり、必ずしも積極的に支持する内容ではなかった。低評価の意見として、内容的に表面的で、具体的な展望にまで踏み込んでいないという事が挙げられ、研究班ベースで行うシンポジウムの限界が評価に現れた形となった。シンポジウムの議論を踏まえ、今後SLP審査によって得られた製品品質に関する理解を検定の現場に反映させること、すなわち、試験を削除しSLP審査のみで行う検定、あるいは試験を行うにしても全ロットではなく任意のロットで行う検定をどの様に実現性化させるかが今後の課題として残った。

終元研究分担者：組換えヒトパピローマウイルスワクチンのWHOガイドラインの改訂を目的としたWHO会議に参加し、改訂版ドラフトの討議を行った。その結果、(1)新規ワクチンの臨床試験では現行ワクチンを

コントロール群に用いた試験を採用すること、(2)現行HPV型については新規ワクチンでの子宮頸部前癌病変の予防に対する非劣等性を示し、追加HPV型についてはプール解析により新規ワクチンにおける優越性を示すこと、(3)将来は、ワクチン接種後の血中HPV抗体価を指標にして、新規HPVワクチンの効果を検証すること、が新たな内容として記載されることになった。今後の我が国への新規HPVワクチンの導入にあたって検討すべき内容であり、承認審査や検定項目の設定等に役立つ情報が得られた。ガイドラインには承認審査に係わる内容も多く含まれており、実際のワクチン承認審査に携わるPMDAの担当者が出席して、HPVワクチンについての理解を深め、日本の主張を積極的に盛り込むことも必要と考えられた。現在のHPVワクチンは海外メーカーが同一製品を世界で流通させており、その製造方法・品質管理はほぼ共通と想定されることから、各国の規制当局による検定項目は、世界的に協調させることが望ましいと考えられる。特にHPVワクチンの力価試験は、メーカーから提供されるproduct specificな試薬と参照ワクチンを用いたin vitro酵素免疫測定法にて行われており、メーカーとの試験結果の一致度も高いことから、将来の検定項目からの削除も視野に、海外規制当局とも協議しながら検討していくことが必要である。また我が国で検定項目となっている異常毒性否定試験については、海外では検定項目とされていないことから、一定ロット数の試験後に検定項目から削除が可能かを検討することも、必要かもしれない。

多屋研究分担者：平成25年4月から予防接

種法に基づいて予防接種後副反応（有害事象）報告が医師に義務づけられ、平成 26 年 11 月からは、報告先が厚生労働省から PMDA に変更された。PMDA に集積した予防接種後副反応（有害事象）の情報は、厚生労働省及び感染研と共有されている。感染研では、感染症疫学センターと品質保証・管理部が中心となって、業務委員会で定期的に集計解析結果を発表し、ワクチン製剤担当の職員と情報を共有すると共に、報告に集積があったワクチンの品質について検討を行っている。しかし、手書きの報告書の確認には困難な部分も多く、集計・解析を手作業で行っていることから迅速性という点でも限界がある。予防接種後副反応（有害事象）の異常な集積や普段と異なる報告、重篤な報告を見逃さないためにも、迅速に集計して、アラートを発出するシステムの開発が喫緊の課題である。感染研はワクチンに関する専門家集団として、ワクチンの安全性を評価し、国民への適切な情報提供が期待されている。将来的には予防接種後副反応（有害事象）サーベイランス（Vaccine Adverse Event Reporting System: VAERS-Japan）を今以上に充実させ、継続的に安全性を評価するしくみの構築が重要である。

内藤分担研究者：海外のワクチン等に対するロットリリース制度の状況を調査するために、海外のロットリリース関連機関に対するアンケート調査を実施した。アンケート項目を設定するにあたっては、WHO のロットリリースに関するガイドラインも参考にした。カナダ、欧州、中国、韓国、台湾など 8 カ国／地域の機関から、アンケートに対する回答を得た。ワクチン及び血漿分

画製剤をロットリリースの対象にしていること、SLP 審査をロットリリースの必須要件としていること、国産、輸入を問わず国内で流通するワクチンをロットリリースの対象にしていること等、ロットリリース制度の基本事項については多くの国／地域で一致していた。一方、試験実施項目や試験実施頻度など、国／地域により異なっている点も多くあった。試験実施項目については、力価試験や毒素の不活化といった特異的な安全性試験など、共通性の高い項目もあったが、全体的には多様性が認められた。試験実施頻度に関しては、カナダにおいては、製品のリスクを評価して試験実施頻度を変更しており、低リスクと評価された製品については SLP 審査のみでロットリリースされるものもあった。このように、ロットリリース制度は、基本的な事項については多くの国／地域で一致しているが、異なっている点も多い。今後、海外の制度や WHO のガイドライン等も参考にしながら、本邦の状況に即した、よりよい国家検定制度を検討してゆくことが重要と考えられた。

D. 結論

国家検定制度のあるべき将来像を検討し、SLP 審査のみにより合否判定することは許容されるか、製剤種ごとではなく製品ごとに検定試験項目を設定するような制度を導入するか、従来からの全ロットに対する試験を維持するか、それとも製品のリスクに応じて試験の頻度を変更するような制度を導入するか、国家検定以外の活動も含めてリソースをどのようにして活用するのがワクチンの「安心、安全」にとって最善か、など、多くの論点を明らかにした。これら

は、科学的、技術的側面だけではなく、法制度としての側面や政策的な観点からの検討も必要な複雑な問題である。拙速を避け、明らかになった論点・課題を整理し、取りうる選択肢を十分に吟味したうえで決定する必要がある。

E. 健康危害情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takayama-Ito M, Nakamichi K, Kinoshita H, Kakiuchi S, Kurane I, Saijo M, Lim CK. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. *Biologicals* 42:42-7, 2014
- 2) Kuramitsu M, Okuma K, Yamagishi M, Yamochi T, Firouzi S, Momose H, Mizukami T, Takizawa K, Araki K, Sugamura K, Yamaguchi K, Watanabe T, Hamaguchi I. Identification of TL-Om1, an Adult T-Cell Leukemia (ATL) Cell Line, as Reference Material for Quantitative PCR for Human T-Lymphotropic Virus 1. *J Clin Microbiol.* 2015; 53: 587-596.
- 3) Mizukami T, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Araki K, Furuhata K, Ishii KJ, Hamaguchi I, Yamaguchi K. System vaccinology for the evaluation of influenza vaccine safety by multiplex gene detection of novel biomarkers in a preclinical study and batch release test. *PLoS One.* 2014; 9: e101835.
- 4) Kasama Y, Mizukami T, Kusunoki H, Peveling-Oberhag J, Nishito Y, Ozawa M, Kohara M, Mizuochi T, Tsukiyama-Kohara K. B-cell-intrinsic hepatitis C virus expression leads to B-cell-lymphomagenesis and induction of NF- κ B signalling. *PLoS One.* 2014; 9: e91373.
- 5) 多屋馨子：副反応に対する情報収集と迅速な対応. *チャイルドヘルス*. 17 (9) : 611-614, 2014.

2. 学会発表

- 1) 山口幸恵, 林昌宏, 伊藤(高山)睦代, 垣内五月, 堀谷まどか, 田島茂, 高崎智彦, 倉根一郎, 渡邊治雄, 西條政幸. 日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定に関与する炎症性サイトカインの解析. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 横浜, 2014年11月10-12日.
- 2) Moi ML, 白石健二, 網康至, 宮田幸長, 林昌宏, 須崎百合子, 北浦孝一, 西條政幸, 鈴木隆二, 倉根一郎, 高崎智彦. Demonstration of common marmosets (*Callithrix jacchus*) as a non-human primate model for dengue vaccine development. 第62回日本ウイルス学会学術集会. 横浜, 2014年11月10-12日.
- 3) 齋藤悠香, Moi ML, 竹下望, 林昌宏, 司馬肇, 細野邦明, 西條政幸, 倉根一郎, 高崎智彦. Fc γ R 発現細胞を用いた新規中和アッセイにて日本脳炎ワクチン被接種者におけるデングウイルスに対する中和・感染増強能の検討. 第62回

日本ウイルス学会学術集会．横浜，
2014年11月

- 4) 水上拓郎, 百瀬暖佳, 倉光球, 滝澤和也, 斎藤益満, 古畑啓子, 荒木久美子, 石井健, 浜口功. トキシコゲノミクスを応用した新規ワクチンアジュバント添加・インフルエンザワクチンの安全性試験法の開発. 第41回日本毒性学会 2014年7月2日 神戸
- 5) Takuo Mizukami. System Vaccinology Enables to Evaluate the Safety of the Influenza Vaccine and the Adjuvant with a Multiplex Gene Detection System of Novel Biomarkers in the Pre-Clinical Study and Lot Release Test. *Keystone symposia, The Modes of Action of Vaccine Adjuvants (S1), Workshop 4: Adjuvant Profiling.* October 8-13, 2014, Seattle.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

II. 分担研究報告

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政策研究事業
ワクチンの品質確保のための国家検定制度の抜本的改正に関する研究

分担研究報告書

日本脳炎ウイルスの神経侵襲性決定に関与する炎症性サイトカインの解析

研究分担者 倉根 一郎 国立感染症研究所 副所長
研究協力者 林 昌宏 国立感染症研究所 ウイルス第一部第三室長
山口 幸恵 国立感染症研究所 ウイルス第一部第三室
伊藤（高山）睦代 国立感染症研究所ウイルス第一部主任研究官
垣内 五月 国立感染症研究所 ウイルス第一部第三室
堀谷まどか 国立感染症研究所 ウイルス第一部第三室
田島 茂 国立感染症研究所 ウイルス第一部主任研究官
高崎 智彦 国立感染症研究所 ウイルス第一部第二室長
渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長
西條 政幸 国立感染症研究所 ウイルス第一部長

研究要旨：高い神経侵襲性を有する日本脳炎ウイルス JaTH160 株感染群のマウスは、感染 5 日後より脳内でウイルス増殖が確認され、ウイルス増殖が確認された脳では、MMP-3 およびその上流の IL-6 の mRNA 発現レベルが上昇していた。この発現上昇は脳内に限られており、血液中では見られなかった。日本脳炎発症には脳内での MMP-3 発現が重要であり、神経侵襲性決定には脳内での IL-6 発現が関与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

日本脳炎ウイルス(JEV)は致死的な日本脳炎の原因ウイルスである。その多くは不顕性感染であるが、ひとたび発症すると未だ治療法はない。蚊によって媒介される JEV は末梢で増殖し、血流に乗って移動、血液脳関門 (BBB) を介して脳へと侵入することで、脳炎を発症すると考えられている。しかしながら、BBB を介した脳への侵入機構は明らかになっていない。そこで本研究の目的は、日本脳炎の発症機構の解明を行

うため、日本脳炎ウイルスの脳への侵入機構を解明することである。

本研究において我々が特に注目しているのがマトリックス・メタロプロテアーゼ (MMP) -3 及び MMP-9 である。MMP-3 は線維芽細胞や血管内皮細胞から分泌されるメタロプロテアーゼである。MMP-3 は血液脳関門の一部である基底膜を構成するコラーゲンを含む多くの基質を分解することで注目されている。MMP-9 は活性化された T 細胞から産生され、gap 結合などを構成

するコラーゲンを分解するメタロプロテアーゼである。BBBはこのgap結合とtight結合からなりMMP-9はこの結合を壊すことで、近縁のウエストナイルウイルス(WNV)のBBB侵入に関与することが報告されている。そこで我々はJEVの脳への侵入機構におけるMMP-3及びMMP-9の役割を解析するため、ウイルスが脳へ侵入するとき、MMP-3及びMMP-9がどのタイミングで発現し、BBBに損傷を与えるのかをJEV JaTH160株およびNakayama株を用いて検討した。

B. 研究方法

ウイルス：JEV JaTH160株およびNakayama株をアフリカミドリザル腎臓細胞由来Vero細胞を用いて増殖し、力価測定を行い、使用するまで-80℃に保存した。

マウス：FVB/NJ系統の4週齢のマウス(♀)を用いてJEV攻撃試験を行った。

感染実験：マウスに 3.3×10^3 PFU (JaTH160株の1LD50相当)のJaTH160とNakayama株をそれぞれ腹腔内接種した。感染0, 1, 3, 5, 7, 10日後に血液と脳を採取し、RNAを抽出した。RT-PCRで各サンプルにおけるウイルス動態および、MMP-3, MMP-9および炎症性サイトカインIL-6, IL-1 β , TNF- α のmRNA発現レベルを測定、比較した。

C. 研究結果

マウスにおけるウイルス動態：JEV JaTH160株およびNakayama株を 3.3×10^3 PFUマウス腹腔内接種し、0, 1, 3, 5,

7, 10日後に血液および脳組織を採取した。JaTH160株摂取群では接種9日後にJEの発症が認められたが、Nakayama株接種群では特異的症状は認められなかった。得られた血液および脳からそれぞれRNAを抽出し、マウスの体内におけるウイルス動態を調べた。その結果、ウイルス血症がJaTH160株接種1日後に観察された。接種5日後には脳内でのウイルス増殖が観察された。しかしながら、Nakayama株感染群ではウイルス血症が観察されず、脳においては、接種7日後にウイルスRNAが観察された。

マウス脳内におけるMMP-3およびMMP-9の発現量：次にマウス脳内におけるMMP3およびMMP9のmRNA量の動態を定量リアルタイムRT-PCR (qRT-PCR)法を用いて観察した。このときインターナルコントロールとしてGAPDHのmRNA量を測定した。その結果、JaTH160株感染マウスにおいてはMMP-3のmRNA量の上昇がJEV感染5日後から観察された。またMMP-9の発現量に変化は認められなかった。Nakayama株接種群においてはMMP-3およびMMP-9の発現量に変化は認められなかった。以上の結果より、JEVの脳への侵入および脳炎発症においてMMP-3が関与する可能性が示唆された。

マウス脳内における炎症性サイトカインの発現量：MMP-3の発現に関与することが報告されている炎症性サイトカインの内、IL-6, TNF- α , IL-1 β のmRNA発現量をqRT-PCR法を用いて検討した。その結果JEV JaTH160株感染3日後にIL-6の上昇