

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に関する研究

分担研究報告書

インフルエンザワクチンの国家検定試験に関する調査・研究

研究分担者	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
研究協力者	原田 勇一	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
	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
	佐藤佳代子	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

研究要旨：ワクチンの品質は製造販売承認、GMP 調査、国家検定などの制度によって維持されている。近年、製造・試験記録等要約書（SLP）の審査が国家検定の一部として運用され始めた。また、ワクチン製造技術の向上や GMP に基づく品質管理能力の向上などから国家検定試験の試験項目や国家検定として二重に品質管理試験を実施していく必要性についての見直しが必要となっている。本研究では、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定試験である力価試験の再現性について解析を行った。その結果、ワクチンの力価試験として実施されている SRD 試験では、事前に十分な試験条件の検討や測定基準を確立すると、かなり再現性の良い試験法であることが分かった。従って、全ロット検定から一部ロット検定の実施も充分検討に値すると考えられる。

A. 研究目的

ワクチンの国家レベルでの品質管理は、製造販売承認、GMP 調査、国家検定などの制度によって維持されている。2012 年には製造・試験記録等要約書（SLP）に対する審査が国家検定の一部として本格的に運用されるようになった。国家検定ではこれまで全ロットに対して検定試験を実施してきた。しかしながら、ワクチン製造技術の発展による品質の向上、また GMP に基づく品質管理能力の向上があり、一方で人的、経済的資源の合理化が求められている状況を考慮すると、国家検定の試験項目や国家検定として二重に品質管理試験を実施していく必

要性についても見直す時期ではないかと考えられる。昨年度の研究において、インフルエンザ HA ワクチンについて製剤の特性、製造方法、試験成績の再現性の観点から品質管理試験として二重に独立して試験を実施する有益性について分析を行った。

本研究では、品質管理試験として二重に独立して試験を実施する有益性の考察に資するために、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定試験である力価試験の再現性について解析を行った。

B. 研究方法

平成 26 年度から 28 年度までに本邦で

販売されたインフルエンザ HA ワクチンの力価試験（一元放射免疫拡散試験法[SRD 試験法]）の製造所での試験成績と感染研での検定成績について解析を行った。ワクチンは、デンカ生研株式会社、一般財団法人 阪大微生物病研究会、北里第一三共ワクチン株式会社、一般財団法人 化学及血清療法研究所の4製造所で製造された。各年度のワクチンに含有されるワクチン製造株を表1に示した。平成26年度はA/H1、A/H3とBの3価ワクチンであったが、平成27年度以降は4価ワクチンとして系統の異なるB型が1株増えて、山形系統（Byam）とビクトリア系統（Bvic）の両系統のウイルス株が含有されている。

C. 研究結果と考察

SRD 試験はワクチンの主要な有効成分であるヘマグルチニン（HA）たん白質の含有量を、アガロースゲル内に一定量のHA特異的な抗血清を添加して、抗原抗体反応によって形成される沈降輪の面積をHA含量既知の標準抗原と同時に測定することによって定量する試験法である。インフルエンザワクチンは毎年ワクチン製造株の見直しがなされワクチン株が変更になる特異的なワクチンでありSRD 試験に使用する標準抗原や参照抗血清を毎年製造する必要がある（表1）。

試験の再現性を検証するために、同一ロットのワクチンの力価について製造所での試験成績と感染研での検定成績の比を計算し、その対数値の分布を解析した（図1）。通常、SRD 試験では、異なる実験室での同一検体の測定値の比の対数分布は正規分布で近似され、対数で-0.1から0.1の範囲に

ほぼ99%が含まれるような再現性であることが知られている。これらのデータについて、自家試験成績/感染研成績の対数値が、-0.1から0.1の範囲に出現する頻度の積算値（積算%）を求めたところ、平成27年度の全てのウイルス株で、また平成26年度はA/H1、平成28年度はA/H1、A/H3、Bvicにおいて100%であった。一方、平成26年度のA/H3及びBにおいて98.9%、Bで97.8%、さらに平成28年度のByamでは98.3%(57/58ロット)であった。大部分の試験成績はこの通常の再現性を示し、力価試験の成績の一致度は良好と判断された。一方、平成28年度のByamには1ロット一致度の低いものが認められた(自家試験成績/感染研成績の対数値=-0.12)。これまでに、-0.12という負の乖離は、過去に一度も見られなかったため、再現性確認のため再試験を行ったところ、問題となるような乖離は再現しなかった。このことから、-0.1より小さい乖離を示したByamの1ロットは、稀な確率であるが偶然に生じた成績であると考えられ、全体としてはByamについても通常の再現性を示したと判断された。

ワクチン株が毎年のように更新され、試験に使用する標準抗原等もロット変更があるにもかかわらず、全般的にSRD試験の実験室間再現性は高いものであることがわかった。また、平成26年度まではインフルエンザHAワクチンはA/H1、A/H3及びB型ウイルスの3種類のウイルス株で製造された3価ワクチンであった。しかしながら、B型ウイルスについては抗原性の大きく異なる2系統のウイルスの混合流行が常態化してきたために、平成27年度からはB型2系統のウイルス株を含有する4価ワクチンに

変更になった。SRD 試験では使用する標準抗原や参照抗血清の反応性によっては B 型 2 系統のウイルス間で交差反応が認められるので、HA 含量を正確に測定するには事前検討が必要である。しかしながら、3 価から 4 価に変更になった平成 26 年度から 27 年度においても高い試験の再現性が確認された。このような高い試験成績の再現性を維持するために、毎年、検定開始までに試験条件や標準抗原の HA 含量値付けの作業のために、ワクチン製造所とも共同で試験検討を実施している。このように SRD 試験では試験精度、再現性の確保には十分な検討が必要であることから、検定によって独立して二重に確認することはワクチンの品質を確保するために有益と考えられる。一方で、一度試験条件や測定基準を確立すると、かなり再現性の良い試験法であることも今回の解析で分かった。

現在、年間 80 ロット程度が国家検定に提出されているが、変動要因の多い SRD 試験においても最初の数ロットについて試験をすれば試験成績の傾向について評価できるため、全ロットについて試験を実施しなくてもワクチンの品質を確保できる可能性は高く、全ロット検定から一部ロット検定の実施も充分検討に値すると考えられる。

D. 結論

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験

として実施されている SRD 試験では、事前に十分な試験条件の検討や測定基準を確立すると、かなり再現性の良い試験法であることが分かった。従って、全ロット検定から一部ロット検定の実施も充分検討に値すると考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
 - 1) 佐藤佳代子、浅沼秀樹、小田切孝人、田代真人、板村繁之. ヒト由来マクロファージ様細胞の活性化能に基づくインフルエンザワクチンの免疫原性定量法の構築. 第 20 回日本ワクチン学会学術集会 2016 年 10 月 東京
 - 2) 嶋崎典子、小田切孝人、板村繁之. 4 価インフルエンザワクチン B 型 2 株の HA 抗原量の定量を目的とした系統特異的な新規モノクローナル抗体. 第 64 回日本ウイルス学会学術集会 2016 年 10 月 札幌

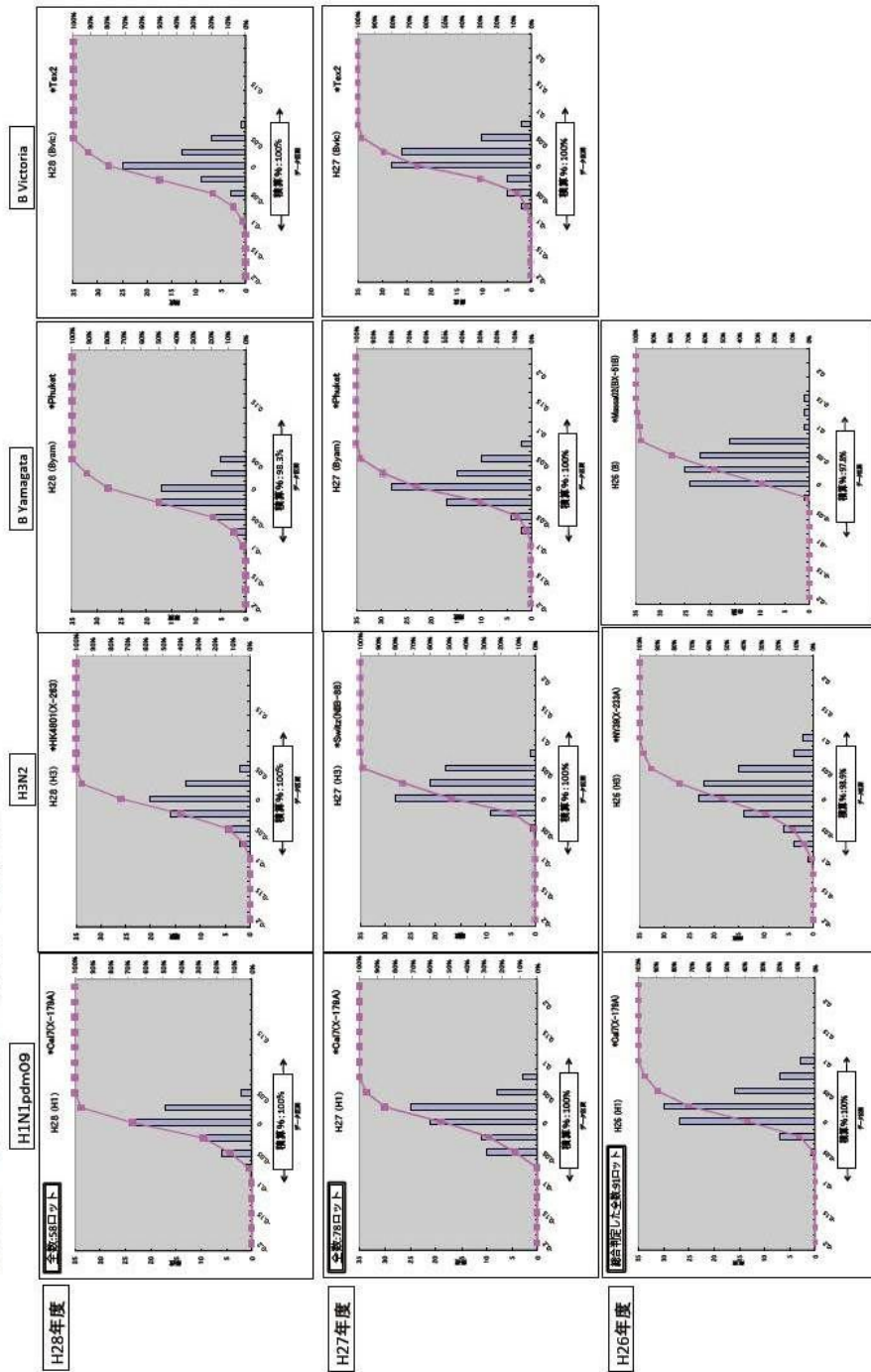
F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

表1 わが国で使用されたインフルエンザワクチン製造株のリスト

インフルエンザシーズン	ウイルスの型及び亜型	ワクチン製造株	標準抗原ロット番号	参照抗血清ロット番号
平成26年度	A/H1N1pdm09	A/California/7/2009 (X-179A)	2014AH1A	2014AH1-1
2014/15season	A/H3N2	A/New York/39/2012(X-233A)	2014AH3A	2014AH3-1
	B	B/Massachusetts/2/2012(BX-51B)	2014BB	2013B-1
平成27年度	A/H1N1pdm09	A/California/7/2009 (X-179A)	2015AH1A	2014AH1-1
2015/16season	A/H3N2	A/Switzerland/9715293/2013 (NIB-88)	2015AH3B	2015AH3-1
	B/Yam	B/Phuket/3073/2013	2015BYB	2015BY-1
平成28年度	B/Vic	B/Texas/2/2013	2015BVA	2015BV-1
			2015BYB	
2016/17season	A/H1N1pdm09	A/California/7/2009 (X-179A)	2016AH1A	2014AH1-1
	A/H3N2	A/HongKong/4801/2014(X-263)(H3N2)	2016AH3A	2016AH3-1
平成29年度	B/Yam	B/Phuket/3073/2013	2015BYB	2015BY-1
	B/Vic	B/Texas/2/2013	2015BVA	2015BV-1
			2015BYB	

【図1】平成28年度と過去2年度の力価試験 (SRD試験) 成績との比較



同一製剤の力価の比(自家試験成績/感染研成績)の対数を度数分布図で示した。