

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

Second WHO Workshop on Implementation of Recommendations to Assure the Quality,
Safety and Efficacy of Recombinant Human Papilloma Virus-like Particle Vaccines
参加報告

研究分担者 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

研究要旨：ヒトパピローマウイルスに対する遺伝子組換えワクチン（HPV ワクチン）の、品質・安全性・効果についての改訂版 WHO ガイドラインを世界で普及させるための国際ワークショップにおいて、アジア各国のワクチン規制当局、製造販売業者および WHO から派遣された HPV 専門家と、HPV ワクチンの品質管理およびロットリリースの現状と課題について討議した。議論の結果、*in vitro* 力価試験の妥当性・重要性が認識されたが、WHO が制定する国際標準品が存在しないことから、標準化された試験方法の確立が難しいことが指摘された。製剤特異的な *in vitro* 力価試験を製造販売業者ごとに National Control Laboratory に導入する必要があり、技術移転する際のトレーニングの必要性が提唱された。今後、アジア各国間で綿密に情報交換を行いながら、HPV ワクチンのロットリリースの国際協調を進める必要がある。

A. 研究目的

2006 年に世界保健機関（WHO）は、ヒトパピローマウイルスに対する遺伝子組換えワクチン（HPV ワクチン）の品質・安全性・効果についてのガイドライン（Guidelines to Assure the Quality, safety and Efficacy of Recombinant Human Papillomavirus Virus-like Particle Vaccines, TRS No.962）を制定した。その後、HPV ワクチンが全世界に普及し、新規 HPV ワクチンの開発および臨床試験が計画されていることから、2015 年の ECBS（Expert Committee on Biological Standardization）にて、その改訂版（Recommendations to Assure the

Quality, Safety and Efficacy of Recombinant Human Papilloma Virus-like Particle Vaccines）が承認された。

2016 年に WHO は、この改訂版 WHO ガイドラインを実際の HPV ワクチンの製造および規制の現場に普及させるために、アジア各国の規制当局および製造所を集めた Implementation Workshop を開催した。本研究では、研究分担者が Workshop に出席して討議を行った結果についてまとめて、世界的な HPV ワクチンの品質管理の現状と問題点を把握することを目的とした。

B. 材料と方法

2016年11月15日から17日に中国のXiamenにて開催された、The Second WHO Workshop on Implementation of Recommendations to Assure the Quality, Safety and Efficacy of Recombinant Human Papilloma Virus-like Particle Vaccines に出席して、アジア各国からのワクチン規制当局の代表者、製造販売業者およびWHOから派遣されたHPV専門家と、HPVワクチンの品質管理とロットリリースについて討議を行った。また研究分担者は、日本でのHPVワクチンの現状について報告した。

C. 研究結果

各国の規制当局の参加者から、中国、インド、インドネシア、マレーシア、タイ、ベトナム、ネパール、バングラデシュ、日本、韓国でのHPVワクチンの導入状況とロットリリースの現状が報告された。ほとんどの国で、4価HPVワクチンおよび2価HPVワクチンが承認されている一方で、ロットリリースの要求事項には違いが認められた。ロットリリースの条件として、protocol reviewのみ、およびprotocol reviewと幾つかのtestingを組み合わせる方法が報告された。ロットリリースtestingとして、National Control Laboratory(NCL)がin vitro力価試験を行うことの重要性が提唱されたが、WHOが制定する国際標準品(Virus-like particleやHPV抗体)が存在しないことから、標準化された試験方法の確立が難しいことが、各国から指摘された。必然的にそのワクチンのために開発された特異的なin vitro力価試験を、メーカーご

とにNCLに導入する必要がある、NCLに技術移転する際のメーカーとのやり取りの難しさと、トレーニングの必要性が指摘された。

また中国では、9社の国内メーカーが様々な発現系(バキュロウイルス、酵母、大腸菌)を用いて独自にHPVワクチンを開発しており、その臨床試験が進んでいる現状が報告された。今後、in vitro力価試験の標準化がロットリリースの際の大きな課題であることが、中国規制当局側から示された。

インドでは国内メーカーが、酵母をVLPの発現系に用いたHPVワクチンを開発し、phase 1臨床試験を進めていることが報告された。また組換え麻疹ウイルスを用いたHPVワクチンの開発が行われていることが示された。

韓国では2016年4月以降、リスクアセスメントに応じたロットリリースが行われており、HPVワクチンについてはprotocol reviewとin vitro力価試験を実施しているとの報告があった。

研究分担者は、日本でのHPVワクチンの承認状況と検定試験項目(in vitro力価試験、MPL含量試験、異常毒性否定試験)について報告した。また現在日本で問題になっている副反応の発生状況とその対応(接種の積極的勧奨の差し控え)についても説明した。

またcase studyとして、in vitro力価試験をロットリリースに採用する際の条件、in vitro力価試験をNCLにtechnical transferするやり方、SLPに記載が必要な項目について、10人程度の小グループに分かれて議論を行い、グループで得ら

れた結論を全体で発表して討議した。

D. 考察

HPV ワクチンは高純度に精製された遺伝子組換えL1キャプシド蛋白質をウイルス粒子 (Virus-like particle: VLP) に再構築して抗原としている。その製造工程での品質管理試験や、ロットリリース試験においては、臨床試験で有効性が示されたロットと同等の、一貫した品質 (consistency) を示していることを確認することが重要である。通常のワクチンの力価試験では、小動物にワクチンを免疫して、抗体価の上昇を確認する *in vivo* 力価試験が用いられるが、HPV ワクチンではその代替法として *in vitro* 力価試験を採用することが妥当であるとの認識で一致した。

In vitro 力価試験をロットリリース試験に採用する際の条件として、VLP 抗原の詳細な性状解析が実施されていること、試験が十分にバリデートされていること、*in vivo* と *in vitro* の力価の相関が確認されていること、などが考えられた。

また *in vitro* 力価試験を実施する際の最も重要な材料として、VLP のコンフォメーションな中和エピトープを認識する、HPV 型特異的な抗体があげられた。

HPV ワクチンは海外で製造され、アジア各国に輸入されていることから、多くの国でロットリリースの要求事項として、

輸送時の cold chain inspection が実施されている。一方、日本では温度管理データの提出は要求されておらず、HPV ワクチンの輸送時の品質維持を担保するためにも、今後考慮の必要があるかもしれない。特に日本では、製造販売業者は海外での出荷時と輸入後の日本国内で、二回の重複した品質試験を実施しているが、検定において cold chain inspection を取り入れることで、日本国内での試験の重複を省略出来る可能性も考えられる。

なおワークショップ全体の総括を、英語資料として示した。

E. 結語

ワークショップに参加したアジア各国間で、HPV ワクチンの品質管理の現状と課題が共有された。今後、各国間で綿密に情報交換を行いながら、HPV ワクチンのロットリリースの国際協調を進める必要がある。

F. 研究発表

- | | |
|---------|----|
| 1. 論文発表 | なし |
| 2. 学会発表 | なし |

G. 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 |

2nd WHO workshop on implementation of recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant human papillomavirus virus-like particle vaccines, Xiamen, China, 15-17 November 2016

CONCLUSION OF THE WORKSHOP

The working Group

17 Nov 2016

1

Purpose of the workshop

- To introduce NRAs, public health implementers, and manufacturers to newly updated WHO technical Recommendations for HPV vaccines (TRS No.999, Annex 4) with focus on quality evaluation aspects
- To provide lectures, case study exercises for participants to better understand and apply the principles into practice
- To provide interactive forum for participants to exchange experience, information and share concerns (challenges) with regard to HPV vaccine evaluation
- To increase regulatory convergence in quality evaluation of HPV vaccines

2

Conclusion and observations

1.1 (Challenge) HPV vaccine R&D and licensure status vary among countries, for instance, imported, domestically produced, at different developmental stage (from pre-clinical to Phase III). Different production platforms are being used.

3

Conclusion and observations

1.2 NRAs/NCLs activities for lot release are in different situations based on the national regulations and the available resources.

- SP review +/- cold chain inspection
- SP review + selected testing (+/- potency test)
- SP review + full testing

4

Conclusions and observations

1.3 There is stated high compliance with WHO TRS No. 999 by manufacturers and NRAs/NCLs regarding QC and lot release in particular.

(challenge) NCLs may need more detailed guidance/better understanding on product characterization.

5

Conclusion and observations

1.4 **Setting up the potency test(s) is one of the challenges that NCLs are facing. Lack of common standards and critical reagents adds to the challenges.** Training on the potency test was also requested by some NCLs. (Manual or e-learning was also discussed)

6

Conclusion and observations

1.5 Different versions of PBNAs (*with SEAP, GFP, Luc, tri-color, etc*) were developed for evaluation of product potency (ED50), for serum titers (animal and human) and for mAb functional assessment. Efforts should be made to unify on the same platform to enable better cross comparison among different laboratories. As regards to the in vitro potency assay, it is essential that at least the detecting mAb to be used in the sandwich ELISA has neutralizing activity and is type specific.

7

Conclusion and observations

2.1. Better understanding on TRS 999 was achieved by going over the specifics of manufacturing and product characterization/lot release procedures. In-depth product characterization (e.g. range of tests), as part of manufacturers' responsibility, was explained, which is helpful in manufacturer-NCL dialogue as to which assay(s) need to be set up at NCLs. As an example, product characterization such as L1%, is expected to be performed by the manufacturers.

8

Conclusion and observations

2.2. Comprehensive review of the published papers showed a variety of L1 constructs (full length L1 to C-terminal truncated L1) and expression host cells. Different manufacturing processes also showed significant impacts on VLP quality and stability. Neutralizing epitopes are tracked using various monoclonal antibodies. This is the basis for in vitro potency testing assay.

9

Conclusion and observations

2.3. Case Study 1 was practiced in four different groups on the replacement of the in vivo potency assay by the in vitro testing method. All groups picked up the key points that are need to support the replacement. Minor differences were reported among different participants.

10

Conclusion and observations

2.4. General acceptance of the in vitro potency testing was observed, subject to meeting the following prerequisites:

- Well characterized antigen
- Consistent and validated process
- Stability-indicating assay
- In vitro versus in vivo correlation
- Linked to ref std with demonstrated efficacy during clinical trials

11

Conclusion and observations

2.5. Although there were many discussions on a universal standard for antigen testing, due to the variations in L1 length and sequence, a cross-product universal reference (National or international) for antigen or VLP testing is unlikely to be available in the foreseeable future.

12

Conclusion and observations

2.6. The last mile of vaccine product delivery was introduced. ECTC was introduced as a framework for increasing the vaccine access in resource-limited areas. Previous products with CTC-label were from India. Now, Gardasil and Cervarix were approved with ECTC to benefit more people. With a regulatory framework in place, more vaccines can be demonstrated with required stability for taking advantage of the increase flexibility and access to the low income countries.

13

Conclusion and observations

3.1. The role of WHO ISs was explained. An established IS is intended to be used for calibrating the secondary reference materials, which in turn can be used for calibrating the tertiary reference or working standards. The participants were informed about the currently available HPV Ab and DNA ISs (for 16 and 18). The plan for making ISs of additional HPV types (DNA and Ab) was presented.

14

Conclusion and observations

3.2. Different assays for vaccine antigen (VLP), for serum Ab and for viral DNA were overviewed. HPV lab manual (2009) is a good start point for a lab to set up HPV related assays. A calibrator (e.g. a secondary reference material) will improve the consistency of assay results. Use of WHO ISs is highly encouraged. ICP (minimal Ab level) was discussed and it is not likely to be available any time soon.

15

Conclusion and observations

3.3. Case Study 2 is about the implementation of release testing on a new HPV vaccine at a NCL. The things need to be done at NCL and at manufacturer are reviewed and discussed. Assay transfer and assay validation are critical steps in setting up the assays at NCLs. Training, resources, and statistical supports are important to ensure the assay transfer and implementation at NCLs.

16

Discussion points

What are the needs for standards and standardization in the context of quality evaluation of HPV vaccines?

1. Lab testing for the purpose of lot release – assays, reagents and testing protocols: what kind of assistance is needed? In particular, potency testing is an issue.
2. What kind of assistance is needed for lot release by protocol review (without lab testing)? Could information and maybe work sharing among NRAs/ NCLs help?
3. What manufacturers may need for better characterization and quality assessment of HPV vaccines?

17