

我が国で開発され、備蓄されている細胞培養痘そうワクチンの有効性、安全性、生産性向上  
および国内外のバイオテロ対策のあり方に関する研究

分担報告書

細胞培養弱毒生痘そうワクチンの有効性及び安全性評価、特性解析、品質試験法改善、生産性に関する研究

所属 KMバイオロジクス株式会社  
研究開発本部・製品開発部・部長  
研究分担者 園田 憲悟

研究要旨:

日本では天然痘ウイルスによるバイオテロに備えて、痘そうワクチン LC16m8 が備蓄されている。LC16m8 は世界で2つしかない第3世代のワクチン(安全性が高い弱毒株由来)の一つで、且つ、現在世界で唯一、安定的な生産・供給体制が整備された痘そうワクチンであることから、国際的にも注目されている。本邦の国際貢献海外派遣先であるアフリカ地域では、サル痘ウイルスの散発的な流行が報告されており、近年の調査ではヒトからヒトへの伝播が発生し、痘そうワクチン未接種の若い世代に発症者が多いことが報告されている。そこで、平成29、30年度より継続して評価対象検体数を増やして、痘そうワクチン LC16m8 を1回接種された成人初回接種者について調査した。その結果、痘そうワクチン LC16m8 は、米国で承認、備蓄されている第1世代の痘そうワクチンである Dryvax と同程度のサル痘ウイルスに対する中和抗体誘導能を有することが示唆された。一方で、その持続については、Dryvax と同様に、経時的な減衰傾向が認められた。

研究協力者

氏名・所属研究機関名・職名

新村 靖彦・KMバイオロジクス株式会社 研究開発  
本部 製品開発部 開発第四課・課長

A. 研究目的

細胞培養痘そうワクチン LC16m8 は、有効性を保持しながら弱毒化に成功した第3世代の弱毒生ウイルスワクチンで、本邦では1975年に製造承認が認可された(凍結乾燥製剤は1980年に認可された)。

当時の痘そうワクチンの定期接種は、小児に対して予防目的で池田株、大連1株やLC16m8の親株であるLister株が3期、3回の接種が実施されていた。しかし、WHO(世界保健機関)の天然痘根絶計画が進み、日本では1976年に痘そうワクチンの定期接種が中止となった。

近年天然痘ウイルスによる生物テロの危険性が指摘されたことを受けて、本邦では痘そうワクチンLC16m8がテロ対抗医薬品として2001年より製造が再開され、国家備蓄が進められている。また、天然痘テロに対する危機管理対策として初動対応者(ファーストレスポnder)となりうる成人対象者(初種痘者及び再種痘者)に対してLC16m8

が原則1回接種されている。

また、本邦の国際貢献では、国連の平和維持活動(PKO)等を通じた国際平和協力活動や大規模災害時の国際派遣等を通じた国際緊急援助活動が行われ、自衛隊及び医療従事者等の関係者のアフリカ、中東への派遣も行われている。アフリカ地域では、WHOの報告によると、1981年から1986年及び1996年から1997年に数百例規模のヒトでのサル痘ウイルスの大流行(アウトブレイク)が発生し、その後も散発的なアウトブレイクが発生している。近年では特に患者からその家族へのウイルス伝播、つまり、ヒトからヒトへの感染が患者発生地域における流行拡大に起因していること、また、痘そうワクチン未接種の若い世代において発症者が多いことが報告されている(Rimoin et al. 2010, Nolen, et al. 2016)。

以上の背景より、痘そうワクチンLC16m8を1回接種された成人対象者においてサル痘ウイルスに対する中和抗体の獲得状況の調査が必要と考え、平成28年度より調査研究を開始している。今年度は評価対象者数を増やして、中和抗体の獲得及び持続状況の調査を実施した。

B. 研究方法

本調査研究では、過去に種痘歴の無い健康成人（初回接種者）において米国承認備蓄ワクチン Dryvax を比較対照として 2004～2005 年に一般財団法人化学及血清療法研究所（以下、化血研）が米国で実施した。細胞培養弱毒痘そうワクチン LC16m8 の第 I/II 相無作為二重盲検臨床試験で取得され、平成 29、30 年度の調査対象者以外から追加選択した被験者（LC16m8 接種者 14 名及び Dryvax 接種者 4 名）の保存血清検体（各被験者について、ワクチン接種後 30 日目の採取血清と、60 日目、180 日目又は 360 日目の採取血清のうち利用可能で接種後からの期間が長い方から優先に 2 ポイント選択した計 3 検体）を用いて実施した。なお、調査対象者は各ワクチン接種群の被験者のうち、接種後 30 日目に採取した血清中のワクチニアウイルス NYCBH 株に対する中和抗体価（Anti-NYCBH PRNT<sub>50</sub>）が 640 から 10240 の範囲の者から両群で高低の偏りが可能な限り無いように選定した。

サル痘ウイルスに対する中和抗体価測定は米国の試験受託機関である Southern Research (2000 9th Avenue South, Birmingham, AL 35205, USA)へ委託し、供試検体は盲検状態で提供した測定は研究分担者が承認した。試験プロトコル及び Southern Research 社の作業手順書（SOP）に従い、Vero E6 細胞を用いて、血清中のサル痘ウイルス（Zaire-79 株）に対する中和抗体価（Anti-Monkeypox PRNT<sub>50</sub>）を 50%プラーク減少法により算出した。

#### 【倫理面への配慮】

本調査研究は、KMバイオロジクス株式会社の研究倫理審査委員会の審査を受け、2018年8月23日付で研究期間延長承認を得て実施した（受付番号 17-05）。また、個人を特定できないように秘匿化措置を講じた上で研究を実施した。

#### C. 研究結果

細胞培養弱毒生痘そうワクチン LC16m8 を 1 回接種された成人被験者が獲得したサル痘ウイルスに対する中和抗体応答の持続状況を調査するために、過去に種痘歴の無い健康成人において米国承認備蓄ワクチン Dryvax を比較対照として 2004～2005 年に化血研が米国で実施した。細胞培養弱毒生痘そうワクチン LC16m8 の第 I/II 相無作為二重盲検臨床試験で取得され長期間凍結保存しているヒト血清を用いて、サル痘ウイルスに対する中和抗体価測定を実施した。各被験者の Anti-Monkeypox PRNT<sub>50</sub> を表 1 に示す。次に、今

回調査した各被験者の各ポイントでの中和抗体陽性率（Anti-Monkeypox PRNT<sub>50</sub> が  $\geq 10$  を陽性基準）及び Anti-Monkeypox PRNT<sub>50</sub> の幾何平均（GMT）を表 2 に示す今回調査した。各被験者のワクチン接種後最長時点（180 日目又は 360 日目時点）の中和抗体陽性率は LC16m8 群では 79%（11/14）、Dryvax 群では 100%（4/4）であった。また中和抗体陽性者における Anti-Monkeypox PRNT<sub>50</sub> の幾何平均（GMT）は、LC16m8 群では 122、Dryvax 群では 99 であった。

#### D. 考察

本研究により、過去に種痘歴の無い健康成人において、痘そうワクチン LC16m8 は米国で承認、備蓄されている第 1 世代痘そうワクチンである Dryvax と同程度のサル痘ウイルスに対する中和抗体誘導能を有すること、また、その持続については、Dryvax と同様に、経時的な減衰傾向が認められることを報告した（平成 29 年度及び平成 30 年度報告）。1980 年の天然痘撲滅宣言を受けて、全世界での痘そうワクチン接種が中止され、本邦においても 1976 年に痘そうワクチン定期接種が中止され、40 歳以下の世代では痘そうワクチン接種歴が無く、また既接種者においても本研究班でのこれまでの研究成果で示されているように、ワクチニアウイルス Lister 株等のポックスウイルスに対する中和抗体が接種後の年数を経て徐々に陰性化しているヒトの割合が高まりつつあることが懸念される。また、アフリカ地域のサル痘アウトブレイクでは痘そうワクチン未接種の若い世代において発症者が多いことが報告されている。そこで、今年度も平成 29、30 年度より継続して評価対象検体数を増やして、痘そうワクチン LC16m8 により誘導されたサル痘ウイルスに対する中和抗体応答の獲得状況及びその持続について調査した。LC16m8 接種群では Dryvax 接種群と同様に、経時的な減衰傾向が認められた。なお、本調査では対象とする検体調達の困難さから、採取以降約 15 年間にわたり凍結保管しているヒト血清を用いたため、長期保管中の検体特性の経年劣化による影響は否定できない。

#### E. 結論

細胞培養弱毒生痘そうワクチン LC16m8 を 1 回接種された過去に種痘歴の無い成人被験者について調査した結果、痘そうワクチン LC16m8 は、米国で承認・備蓄されている第 1 世代の痘そうワクチンである Dryvax と同程度のサル痘ウイルスに対する中和抗体誘導能を有することが示唆された。

一方で、その持続については、Dryvax と同様に、経時的な減衰傾向が認められた。なお、本研究は米国で実施された臨床試験で取得された米国人の血清検体を用いて実施しており、今後の追加接種の施策等を検討するためには、更に日本人の痘そうワクチン LC16m8 接種者の血清検体を用いた同様の研究実施も必要となると考えられる。

F. 健康危険情報  
特記事項なし

G. 研究発表  
1. 論文発表

該当なし  
2. 学会発表  
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
特記事項なし  
2. 実用新案登録  
特記事項なし  
3. その他  
特記事項なし

表 1. 痘そうワクチン接種後のサル痘ウイルスに対する各被験者の中和抗体価

Sample ID*	Vaccine	Days after vaccination	Anti-NYCBH PRNT50	Anti-Monkeypox PRNT50
HS001	Dryvax	30	1250	<b>394.3</b>
HS002		180	NA	<b>120.7</b>
HS003		360	NA	<b>109.2</b>
HS004	Dryvax	30	2560	<b>156.0</b>
HS005		180	NA	<b>104.3</b>
HS006		360	NA	<b>78.0</b>
HS007	Dryvax	30	1280	<b>390.8</b>
HS008		180	NA	<b>74.8</b>
HS009		360	NA	<b>82.6</b>
HS010	Dryvax	30	1280	<b>400.0</b>
HS011		180	NA	<b>80.9</b>
HS012		360	NA	<b>102.2</b>
HS013	LC16m8	30	2560	<b>392.5</b>
HS014		60	NA	<b>134.3</b>
HS015		180	NA	<b>73.6</b>
HS016	LC16m8	30	1280	<b>425.3</b>
HS017		180	NA	<b>143.4</b>
HS018		360	NA	<b>320.0</b>
HS019	LC16m8	30	2560	<b>43.0</b>
HS020		180	NA	<b>31.8</b>
HS021		360	NA	<b>28.4</b>
HS022	LC16m8	30	640	<b>488.7</b>
HS023		180	NA	<b>32.2</b>
HS024		360	NA	<b>152.5</b>
HS025	LC16m8	30	2560	<b>27.1</b>
HS026		180	NA	<b>20.0</b>
HS027		360	NA	<b>&lt;10</b>
HS028	LC16m8	30	5120	<b>&lt;10</b>
HS029		180	NA	<b>&lt;10</b>
HS030		360	NA	<b>&lt;10</b>
HS031	LC16m8	30	1280	<b>434.3</b>
HS032		60	NA	<b>448.0</b>
HS033		180	NA	<b>327.0</b>
HS034	LC16m8	30	5120	<b>640.0</b>
HS035		180	NA	<b>385.0</b>
HS036		360	NA	<b>473.8</b>

Sample ID*	Vaccine	Days after vaccination	Anti-NYCBH PRNT50	Anti-Monkeypox PRNT50
HS037	LC16m8	30	1280	<b>124.0</b>
HS038		180	NA	<10
HS039		360	NA	<10
HS040	LC16m8	30	1280	<b>115.0</b>
HS041		180	NA	<b>79.1</b>
HS042		360	NA	<10
HS043	LC16m8	30	10240	<b>544.0</b>
HS044		180	NA	<b>148.0</b>
HS045		360	NA	<b>358.6</b>
HS046	LC16m8	30	2560	<b>130.0</b>
HS047		180	NA	<b>123.6</b>
HS048		360	NA	<10
HS049	LC16m8	30	2560	<b>94.0</b>
HS050		180	NA	<b>81.5</b>
HS051		360	NA	<10
HS052	LC16m8	30	2560	<b>233.8</b>
HS053		180	NA	<10
HS054		360	NA	<10

\* Sample ID は検査機関へ盲検下で検体を供試するために本研究で付与した連番を示す

NA: Not applicable

表 2. 痘そうワクチン接種後のサル痘ウイルスに対する中和抗体応答

Vaccination	Anti-NYCBH PRNT		Anti-Monkeypox PRNT			
	LC16m8	Dryvax	LC16m8		Dryvax	
N	14	4	14		4	
Days after vaccination	30	30	30	<b>180 or 360</b>	30	<b>180 or 360</b>
Seroconversion Rate*	100% (14/14)	100% (4/4)	93% (13/14)	<b>79%</b> <b>(11/14)</b>	100% (4/4)	<b>100%</b> <b>(4/4)</b>
GMT**	2318	1522	194	<b>122</b>	313	<b>99</b>

\*10 倍以上の中和抗体価を獲得した者を陽性と判定

\*\*GMT: Geometric mean titer (中和抗体陽性者の抗体価のみを対象とし, 180 日目と 360 日目の抗体価はいずれか高い方を GMT 算出に用いた)