

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

ワクチン等の品質確保を目的とした新たな国家検定システムの構築のための研究

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の精度維持に関する研究 (インフルエザワクチン国家検定の見直し)

研究分担者	長谷川秀樹	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	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
	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
	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
	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：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、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検討されている。本研究では、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定試験の中で最も重要である力価試験（一元放射免疫拡散試験[SRD 試験]）について、平成 29 年度～令和元年度までの 3 年間のワクチン製造所の自家試験成績と感染研の国家検定試験成績の一致度について解析を行った。その結果、SRD 試験は、毎年度、国家検定開始時期以前に製造所と感染研との間で標準化作業を行い、測定値の一致度を確保していることもあって、製造所の自家試験成績と感染研の国家検定試験成績は、基本的によく一致していた。従って、国家検定において、従来の全ロット試験から一部ロット試験に移行することの検討は可能と考えられた。なお、平成 30 年度のワクチンに含まれる一部のウイルス株において、試験成績の乖離が認められたため、原因を調査したところ、試験に用いる標準抗原の 4℃ 保存における安定性の不良が原因と考えられた。ウイルス株によっては標準抗原の力価を維持するために、保存方法を変更する必要がある、ワクチン株が変更された場合の保存条件、標準抗原の安定性に関する検討が必要と考えられる。

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と考えられる。

本研究では、国家検定試験の精度維持を図ること及び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、継続して令和元年度のインフルエンザ 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。また、昨年度、ワクチンに含まれる一部の株において、製造所と感染研との試験成績の乖離が認められたため、原因を調査した。

B. 研究方法

平成 29 年度から令和元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[SRD 試験])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、第一三共ワクチン株式会社、KM バイオロジクス株式会社の 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 年度までは A/H1N1、A/H3N2 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。各ワクチンの力価 (HA 含量) について各製造所での測定値と感染研での検定における測定値の比を求め、その対数について分布を解析した。

また、平成 30 年度のワクチンに含まれる一部の株の試験成績の乖離について原因を探索するため、標準抗原の力価について 4℃、-30℃、-80℃保存で 6 ヶ月、9 ヶ月、12 ヶ月での安定性を調べた。

(倫理面への配慮)

特になし

C. 研究結果

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徴を有するワクチンであり、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測定値と感染研での測定値の比を計算し、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分かっている。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 30 年度の A/H3N2 の 93.1%(54/58 ロット)、Byam の 94.8%(55/58 ロット)および令和元年度の Byam の 98.4%(63/64 ロット)について、乖離が認められるものがあつた。

Byam については、平成 30 年度と令和元年度とで株変更はなく、再現精度が 94.8% から 98.4%に向上した。これは、平成 30 年度時点での原因調査で、ワクチンに対する測定誤差が偶発的に大きく出現したと考えられたため、再現性良く試験実施するため

に試験者の習熟度を向上させる標準化作業を行った改善効果と考えられる。

A/H3N2については、平成30年度時点で、標準抗原自体の力価低下が懸念されたため、引き続き安定性を保存温度毎に調べたところ、A/H3N2は-80℃と比較して現行管理温度の4℃保存(8月から6ヶ月間)で92%、9ヶ月後には89%、12ヶ月後には82%と、有意な力価低下が経時的に進むことがわかった(図2)。また、検定に用いなかったが候補品として作製したロットについても、経時安定性を調べたところ、同様な力価低下が見られ(データ示さず)、標準抗原のロットに限らず、当該A/H3N2ワクチン株に生じる現象であることが示唆された。比較として調べたByamの標準抗原は、4℃保存で1年後では有意差が認められたが、6ヶ月、9ヶ月とともに大きな低下は認められなかった。また、Bvicの標準抗原は、4℃保存1年後でも有意な低下が認められなかった。従って、検定における自家試験成績と感染研成績の測定乖離は、A/H3N2では、現行の4℃保管における標準抗原の経時的な不安定性さに起因すると推定され、標準抗原の保存条件を見直す必要性が示唆された。なお、当該A/H3N2標準抗原は、-30℃保管であれば12ヶ月後も有意な力価低下は認められなかった。

D. 考察

標準抗原の安定性に問題のあったワクチン株(AH3N2)を除けば、国家検定開始時期以前にメーカーと感染研との間で標準化作業をすることによって、前年にワクチンに対する測定誤差が偶発的に大きく出現した株についても再現性が改善し、その他の株

については大きな乖離は認められず、全体としての試験精度は確保できていたと評価された。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、すなわち一致度は高いものであることがわかった。

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際に、ワクチン製造所とも共同で試験検討を実施し、標準化を行っている。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、質の良い標準抗原等を用いて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、昨年度に引き続き本年度も確認できた。

現在、年間60から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。

なお、標準抗原の安定性が試験成績に大きな影響を与えることに留意すべきであることも分かった。ワクチン株によっては標準抗原の力価を維持するために、保存方法を変更する必要があるとあり、ワクチン株が変更された場合の保存条件や、標準抗原の安定性に関する検討が必要と考えられる。

E. 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、標準抗原の品質を高め、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確認された。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。試験精度の維持には、標準抗原の品質を高め、事前に十分な試験条件の検討や測定基準を確立することが不可欠と考える。

F. 研究発表

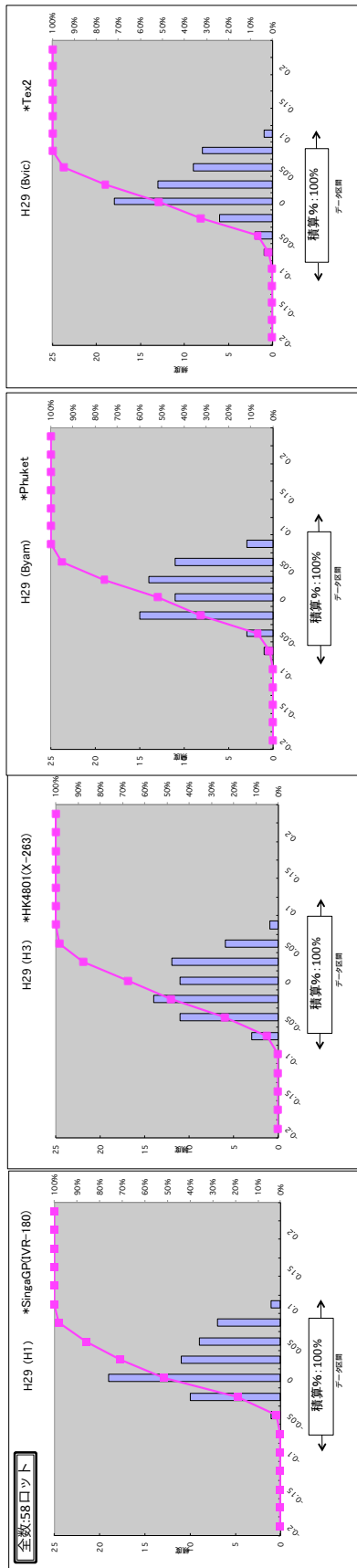
1. 論文発表 なし
2. 学会発表
- 1) Noriko Shimasaki, Shigeyuki Itamura. Development of an alternative potency assay to measure the HA content of two influenza B vaccine viruses included in quadrivalent influenza vaccine in Japan. Option X for the Control of Influenza, Singapore, 2019年9月.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

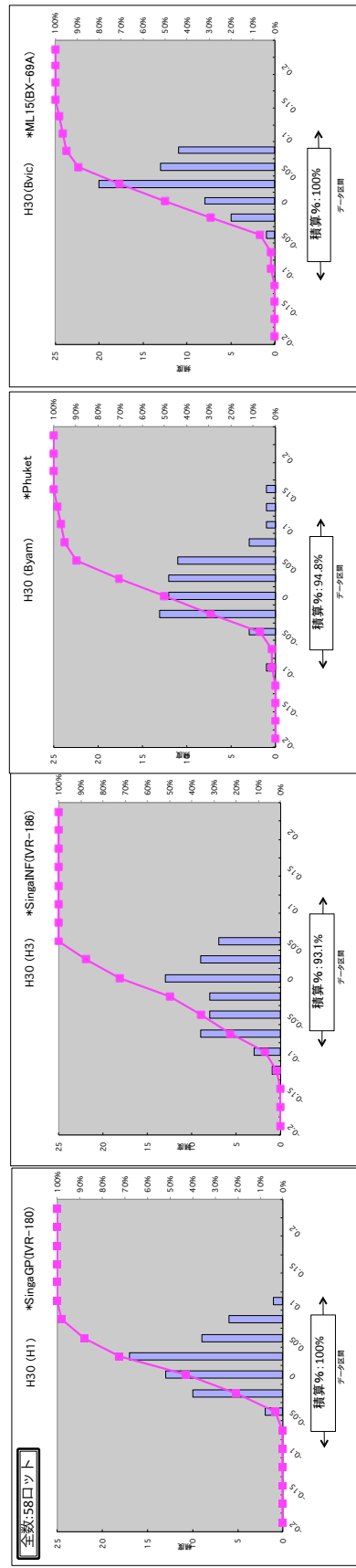
表1 わが国で使用されたインフルエンザワクチン製造株のリスト

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29年度 2017/2018season	A/H1N1pdm09	<i>A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)</i>	2017AH1B	2017AH1-1
	A/H3N2	<i>A/Hong Kong/4801/2014 (X-263)</i>	2016AH3A	2016AH3-1
	B/Yam	<i>B/Phuket/3073/2013</i>	2017BYA	2017BY-1
	B/Vic	<i>B/Texas/2/2013</i>	2017BVA 2017BYA	2017BV-1
平成30年度 2018/2019season	A/H1N1pdm09	<i>A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)</i>	2017AH1B	2017AH1-1
	A/H3N2	<i>A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (IVR-186)</i>	2018AH3B	2016AH3-1
	B/Yam	<i>B/Phuket/3073/2013</i>	2018BYA	2017BY-1
	B/Vic	<i>B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)</i>	2018BVA 2018BYA	2018BV-1
令和元年度 2019/2020season	A/H1N1pdm09	<i>A/Brisbane/02/2018 (IVR-190)</i>	2019AH1B	2017AH1-1
	A/H3N2	<i>A/Kansas/14/2017 (X-327)</i>	2019AH3A	2016AH3-1
	B/Yam	<i>B/Phuket/3073/2013</i>	2019BYB 2019BVB	2017BY-1
	B/Vic	<i>B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)</i>	2019BVB 2019BYB	2018BV-1

H29年



H30年



R1年

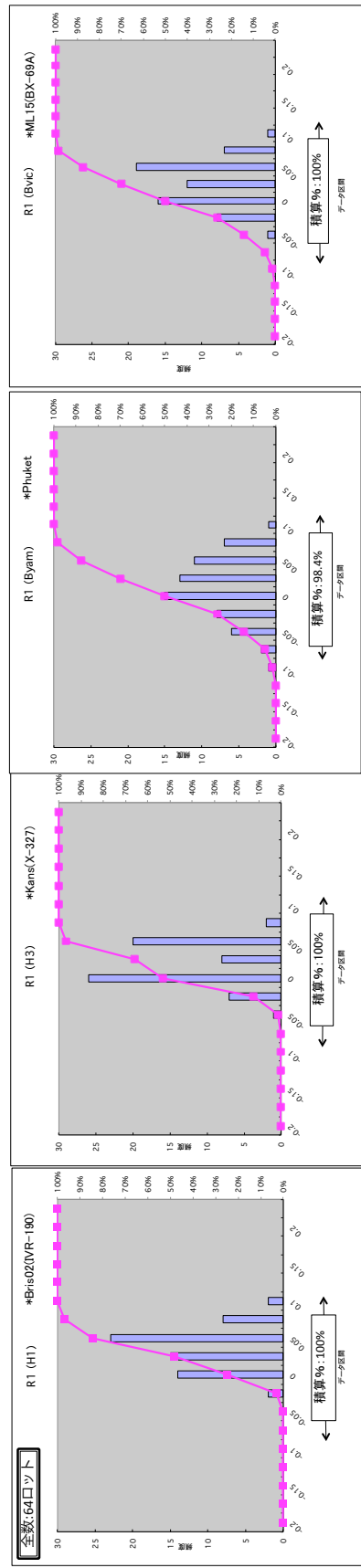


図1 力価試験（一元放射免疫拡散試験法）における再現性

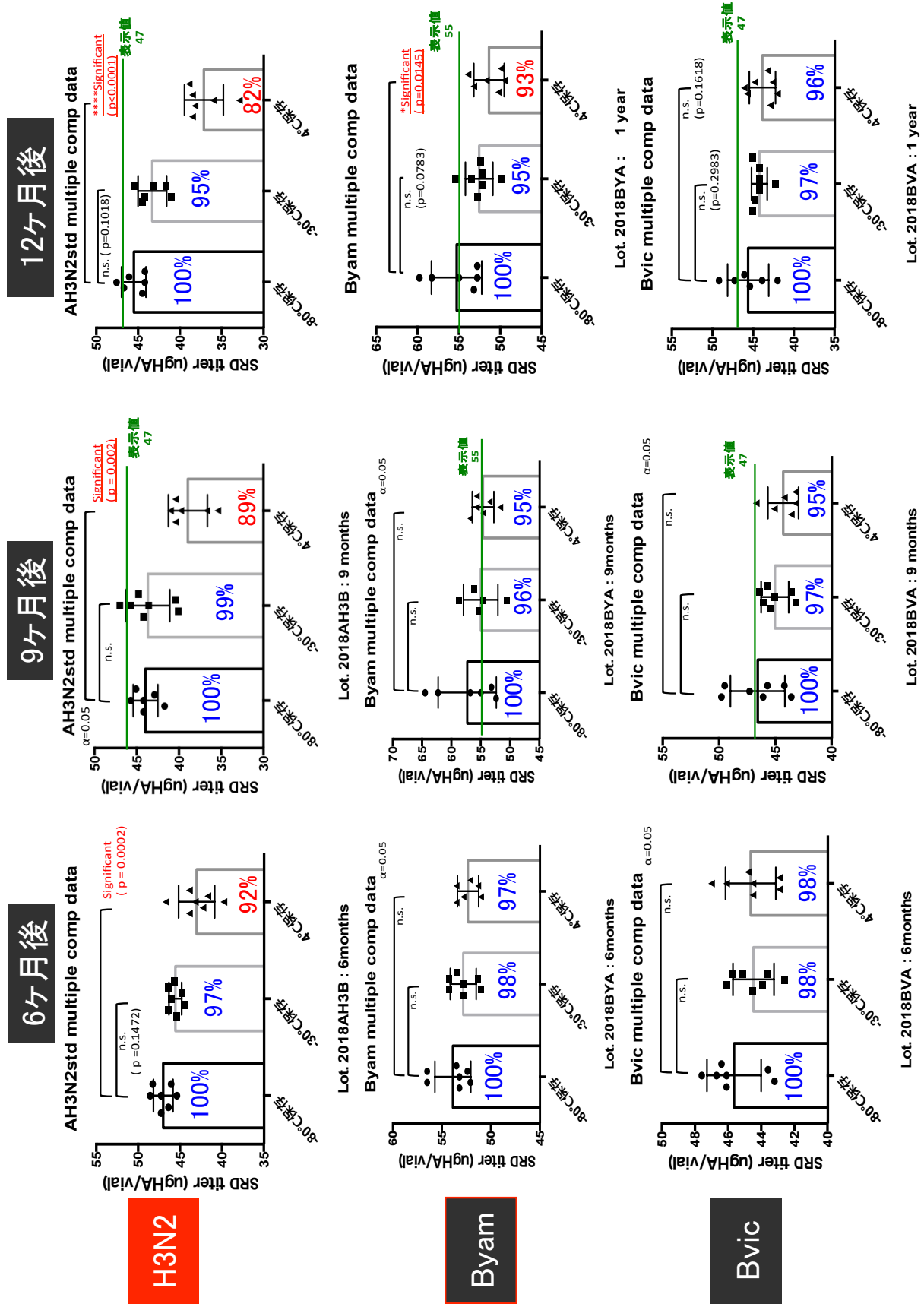


図2 力価試験に使用した標準抗原の経時的安定性評価 (-80°C, -30°C, 4°C保存)