

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
「ポリオ根絶に向けたポリオウイルス・バイオリスク管理の推進を図るための研究」
分担研究報告書

セービン株由来不活化ポリオワクチンの力価試験の検討

研究分担者 染谷雄一 国立感染症研究所（NIID）ウイルス第二部

研究協力者 関 恭幸 一般財団法人阪大微生物病研究会（BIKEN）営業推進部
山折 晋 KMバイオリジクス株式会社 CMC技術開発本部品質技術開発部

研究要旨 日本国内で導入されているセービン株由来不活化ポリオワクチン（sIPV）の力価試験をラット免疫原性試験からD抗原含量試験へと移行すべく、3者で同一試料（不活化ポリオワクチン3価混合原液）のD抗原含量試験を実施したところ、3者間で同等の測定データが得られ、3者間における試験法の同等性が確認できた。次にNIIDは各製造所から提供されたアルミニウムゲルを含むsIPV製剤のD抗原含量試験を実施し、sIPV製剤の提供元の製造所とNIIDで得られたデータの同等性の検証を行う。また、製造所において、加温処理したsIPV製剤のD抗原含量試験とラット免疫原性試験の測定データの比較検討が行われた。両試験結果の承認規格への適否判定結果を比較したところ、いずれの血清型においてもD抗原含量試験の方がラット免疫原性試験より鋭敏に品質異常を検知可能であることが確認できた。このことから、sIPV製剤においてD抗原含量の規定量が確保されていれば、ラット免疫原性試験に適合する品質を担保可能であり、ラット免疫原性試験をD抗原含量試験で代替可能であると考えられる。

sIPVの第一次国際標準品（17/160）に付された単位SDUと国内sIPV製剤に付された単位DUの換算が可能か評価するため、3者で検討に着手した。

A. 研究目的

日本国内では、強毒株由来の不活化ポリオワクチン（ソークワクチン）と弱毒型セービン株に由来する不活化ポリオワクチン（sIPV）の2種類が導入されている。前者は単味ワクチン（イモバックスポリオ皮下注（サノフィ））であるのに対し、後者は4種混合ワクチン（テトラビック皮下注シリンジ（BIKEN）、クアトロバックス皮下注シリンジ（KMバイオリジクス）、および、5種混合ワクチン（ゴビック水性懸濁注シリンジ（BIKEN）、クイントバックス水性懸濁注射用（KMバイオリジクス））として使用される。

不活化ポリオワクチンの力価は、*in vivo*試験であるラット免疫原性試験と*in vitro*試験であるD抗原含量試験で評価される。長い歴史を有するソークワクチンは、世界的に通例D抗原含量試験のみが製造所、および、国家検定機関での力価試験項目となっているが、2012年に日本国内で導入されたsIPVについては、製造所（BIKEN、KMバイオリジクス）ではラット免疫原性試験とD抗原含量試験が実施され、国家検定機関である国立感染症研究所（NIID）ではラット免疫原性試験が国家検定の力価試験として採用され、現在に至っている。

2018年にはD抗原含量試験に適用されるsIPVの第一次国際標準品が制定され、また、2021年にはD抗原含量試験に用いるヒト由来モノクローナル抗体

の評価が国際共同研究として実施された他、近年の動物実験の3Rの考え方を鑑み、*in vivo*試験から*in vitro*試験への移行は世界的な潮流となっている。加えて、国内のsIPV製剤の、ラット免疫原性試験で評価される力価が、2012年の実用化以降常に一定範囲に存することを考慮すると、sIPVの力価試験についてもソークワクチンと同様に、ラット免疫原性試験からD抗原含量試験へと移行する時機にあると判断する。

そこで、NIIDは令和5年度にBIKEN、KMバイオリジクスとsIPVの力価試験の検討にかかる共同研究契約を締結し、同一試料〔不活化ポリオワクチン3価混合原液（TIPV）〕のD抗原含量試験を3者で実施した。令和6年度にBIKENにて行われたデータ解析により、3者間での同等性が確認された。また、NIIDはBIKEN、KMバイオリジクスの各社と2者間の共同研究契約を締結し、各社のsIPV製剤のD抗原含量試験を実施して測定データの同等性検証を行った上で、必要に応じて2者間の試験手技の擦り合わせを行うことにした。

sIPV製剤の各製造所（BIKEN、KMバイオリジクス）は、自家試験での力価試験をラット免疫原性試験からD抗原含量試験へ移行するため、加温処理したsIPV製剤の両試験成績の相関、関連性の評価に着手した。製造所AではsIPV製剤3ロットを用いた評価が完了し、D抗原含量試験の方がラット免疫原性試

験より製剤の品質異常を鋭敏に検知可能であり、ラット免疫原性試験をD抗原含量試験で代替化しても製品の品質を担保可能であることを確認した。

NIID、BIKEN、KMバイオロジクスの3者で、sIPVのD抗原含量試験用の第一次国際標準品（17/160）に付された単位SDUと国内sIPV製剤に付された単位DUとの比較を行い、両単位間の換算に関する検討に着手した。

B. 研究方法

1. D 抗原含量試験（TIPV）

BIKENは2ロットの試料をKMバイオロジクス、NIIDに提供し、3者はそれぞれの手法で試料のD抗原含量を測定した。D抗原含量は血清型別D抗原特異的抗体を用いたサンドイッチELISAにより測定した。捕捉抗体はマウスモノクローナル抗体、検出抗体はウサギポリクローナル抗体であり、いずれもBIKENにより製造された。標準物質、および、参照物質はBIKENが製造したTIPVを用いた。試料のD抗原含量は平行線定量法により決定した。

得られた測定データはBIKENにて解析、評価した。

2. D 抗原含量試験（sIPV 製剤）

BIKEN、KMバイオロジクスは自社の5種混合ワクチン製剤（BIKENはゴビーック水性懸濁注シリンジ、KMバイオロジクスはクイントバック水性懸濁注射用のシリンジ製剤）をNIIDに提供し、NIIDと各社はそれぞれの手法で試料のD抗原含量を測定した。試料提供元の製造所にて測定データを解析し、NIIDと製造所間のデータの同等性検証を行う。

3. ラット免疫原性試験とD抗原含量試験の比較

sIPV製剤3ロットを37℃、50℃で加温処理した試料を作製し、非加温の試料とともに自家試験と同じ方法でラット免疫原性試験とD抗原含量試験を行った。得られた測定データについて自社の承認規格への適否を確認し、両試験の相関、関連性を評価した。

4. D 抗原量単位の比較

NIID、BIKEN、KMバイオロジクスはそれぞれ第一次国際標準品（17/160）と標準物質のD抗原含量試験を実施し、17/160あるいは標準物質に対して相互にD抗原含量を算出した。本研究では、17/160の表示値（1型、2型、3型とも100SDU/mL）と標準物質又は標準物質候補ロットの表示値を用いて比較する。なお、標準物質の候補ロットはBIKENのみ使用する。

（倫理面への配慮）

動物を用いる実験は製造所が定める動物実験計画書を実験動物委員会に提出し、承認を受けた後実施した。

C. 研究結果

1. D 抗原含量試験（TIPV）

BIKEN、KMバイオロジクス、NIIDの3者の測定データを表1及び表2に示す。

表 1. TIPV（Lot STIPV-A）の定量（DU/mL）

試験施設	1 型	2 型	3 型
NIID	32.5	1099	1035
BIKEN	33.9	1104	1046
K Mバイオロジクス	32.5	1082	1012

n=3 の測定値平均を示した。

表 2. TIPV（Lot STIPV-B）の定量（DU/mL）

試験施設	1 型	2 型	3 型
NIID	27.6	1076	931
BIKEN	31.5	1083	988
K Mバイオロジクス	29.5	1057	1011

n=3 の測定値平均を示した。

3者の測定データはELISA法の一般的な測定誤差10%～20%程度に対して、試験施設が異なるにも関わらず、互いの測定値が平均値±10%の範囲内にあり、十分近似していたことから、3所社でのD抗原含量試験法の同等性が確認できたと判断した。

2. D 抗原含量試験（sIPV 製剤）

NIIDはBIKEN、KMバイオロジクスの各社から提供された5種混合ワクチン製剤のD抗原含量を3回以上測定し、得られた測定データを試料提供元の製造所へ提供した。各製造所でも3回以上測定し、2者間での同等性を検証する。

3. ラット免疫原性試験とD抗原含量試験の比較

製造所Aにおいて3ロットのsIPV製剤を用いて評価が行われた。37℃、50℃で加温処理した試料と非加温の試料のラット免疫原性試験及びD抗原含量試験の測定データについて承認規格への適否を判定した結果を表3、表4に示す。

表 3. 加温処理したsIPV製剤のラット免疫原性試験とD抗原含量試験の承認規格への適否判定結果（1型）

試験項目	非加温	37℃	50℃
ラット免疫原性試験	適合	適合	不適合
D 抗原含量試験	適合	不適合	不適合

表 4. 加温処理した sIPV 製剤のラット免疫原性試験と D 抗原含量試験の承認規格への適否判定結果（2 型、3 型共通）

試験項目	非加温	37℃		50℃
ラット免疫原性試験	適合	適合	不適合	不適合
D 抗原含量試験	適合	不適合	不適合	不適合

3 ロットを通じていずれの血清型でもラット免疫原性試験が不適合のとき D 抗原含量試験も不適合となった。また、ロットによっては、ラット免疫原性試験は適合するが D 抗原含量試験は不適合となる結果もあり、D 抗原含量試験の方が品質の異常を鋭敏に検知可能であった。

4. D 抗原量単位の比較

NIID、BIKEN、KMバイオロジクスはそれぞれ第一次国際標準品（17/160）と標準物質 1 ロットについて D 抗原含量試験を 3 回以上実施した。なお、BIKEN では標準物質候補の 2 ロットも試験した。

D. 考察

1. D 抗原含量試験（TIPV）

sIPV 製剤のアジュバントであるアルミニウムゲルを含まない TIPV について 3 者間で同等の D 抗原含量が得られたことから、試料の前処理（ゲル溶解）を除く試験法に問題点はないことが分かった。国家検定での D 抗原含量試験の実施に向けて、製造所毎の sIPV 製剤を用いて NIID と各製造所間での試験法の擦り合わせに移ることが可能となった。

2. D 抗原含量試験（sIPV 製剤）

測定データの評価、解析を今後各製造所で実施する。これに基づき、必要があれば試験法の問題点の洗い出し、再評価を行うことにしている。

3. ラット免疫原性試験と D 抗原含量試験の比較時機

D 抗原含量試験の規格適否を確認することによってラット免疫原性試験の不適合リスクのある製品を検知可能であることが確認された。このことから、ラット免疫原性試験を D 抗原含量試験で代替化しても製品の品質担保は可能と考える。

4. D 抗原量単位の比較

3 者の測定データをもとに SDU に対する DU の相対値を算出する。評価結果を踏まえて必要があれば更なる検討を行う。

E. 結論

1. D 抗原含量試験（TIPV）

3 者間で同一試料を測定し、同等の測定データが得られたことで D 抗原含量試験の手法が国内標準化されたと考える。

2. D 抗原含量試験（sIPV 製剤）

sIPV 製剤を用いて NIID と製造所間で D 抗原含量試験の同等性が確認できれば、国家検定における sIPV 製剤の力価試験をラット免疫原性試験から D 抗原含量試験へ速やかに移行できるものと考ええる。

3. ラット免疫原性試験と D 抗原含量試験の比較

過去に NIID では、国内製造所 2 社の sIPV 製剤（4 種混合ワクチン）を加温処理した試料を用いて D 抗原含量とラット免疫原性試験での中和抗体価を比較し、加温処理後に残った僅かな D 抗原が比較的高い中和抗体を誘導することを確認していた。これにより sIPV 製剤の品質管理の一環として D 抗原含量の測定の方が、より感度が高く、変性ワクチンの検出に適していることが示唆されていた（Vaccine, 2020, 38:3295–3299）。

今回、加温処理した sIPV 製剤の D 抗原含量試験とラット免疫原性試験の測定データを承認規格で判定する検討においても同様に、D 抗原含量試験の方が品質の異常を鋭敏に検知可能であった。したがって、規定量の D 抗原含量が確保されていれば、ラット免疫原性試験を省略しても製品の品質担保は可能である。

4. D 抗原量単位の比較

国内の sIPV は単位 DU に基づいて D 抗原含量を管理している。sIPV の D 抗原含量の測定に使用する第一次国際標準品（17/160）が 2018 年に確立されたが、これまで国内の sIPV で使用している単位 DU と 17/160 の単位 SDU の換算に関する測定データは n 数が少なく、更なる検討が必要であった。今回 3 者での評価を行うことで、換算のためのより正確な情報を得ることができる。

F. 研究発表

- 論文発表
なし
- 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

- 特許取得
なし
- 実用新案登録
なし
- その他
なし