

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	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
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
	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
	中村 一哉	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：ワクチンの品質を維持する制度の1つとして、現在、重要品質管理試験の確認試験と、製造・試験記録等要約書に対する審査による、全ロットの国家検定試験を実施しているが、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する必要性について、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うち、力価試験について、平成30年度から令和2年度まで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。力価試験の製造所成績と感染研成績は、基本的によく一致しており、平成30年度に問題となった、標準品の安定性も維持されていた。しかしながら、令和2年度の国家検定において、感染研成績と製造所成績の間に、一部乖離がみられた。この原因として、標準抗原の取り扱いと、ウイルス株の性状の双方が関与することが示唆されたが、具体的な要因を特定するまでに至らなかった。従って、国家検定を全ロット試験から一部ロット試験へと移行する検討は継続可能と考えるが、原因の究明と適切な対応法の確立が必要である。

A. 研究目的

ワクチンの品質を担保する制度の一部として実施される国家検定試験については、現在、重要な品質管理試験の確認試験と、製造・試験記録等要約書に対する審査を、製造されたワクチンの全ロットについて実施している。しかしながら、ワクチン製造技術の発達による品質の向上、GMPに基づく品質管理能力の向上などから、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、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独立して試験を実施する必要性を検討するため、継続して令和2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。感染研と製造所との試験成績の間に乖離が認められたものについては、その原因を調査した。

B. 研究方法

平成30年度から令和2年度までに国家検定の試験品として提出された、インフルエンザ HA ワクチンの力価試験（以下、SRD 試験という）について、感染研での検定成績と、製造所での試験成績を比較解析した。試験ワクチンは、デンカ株式会社、一般財団法人阪大微生物病研究会、第一三共バイオテック株式会社、KM バイオロジクス株式会社の4製造所で製造されたものを使用した。各年度のワクチン製造に使用されたワクチン製造株を表1に示した。各ワクチンの力価について、製造所における測定値と、感染研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。

標準品の安定性評価では、標準抗原の力価について4℃、-30℃、-80℃保存で7ヶ月または16ヶ月までの安定性を調べた。

試験成績の乖離の原因調査では、感染研における試験実施者が受講した、SRD 試験の精度及び技能維持訓練時のデータを検証するとともに、試験条件についても検討を行った。

C. 研究結果

SRD 試験は、ワクチンの有効成分であるヘマグルチニンたん白質の含有量を、アガロースゲル内に一定量のヘマグルチニン特異的な抗血清を添加し、ゲルに穿った小孔からワクチン抗原をゲル内に浸透させ、抗原抗体反応によって形成される沈降輪の直径（以下、リング径という）を、力価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 HA ワクチンは、ウイルス流行状況から毎年ワクチン製造株

の見直しがなされるため、ワクチン株が頻繁に変更される。これに応じて SRD 試験に使用する標準抗原や参照抗血清の大部分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、製造所と感染研における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、異なる実験室で測定した同一検体の力価の対数比は正規分布で近似され、その値の99%が-0.1 から 0.1 の範囲に含まれることが分かっている。

令和2年度のデータについて、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率（積算%）を求めたところ、A(H1N1)pdm09（H1）、B型 Victoria 系統（Bvic）では100%と、精度を維持していた。B型 Yamagata 系統（Byam）についても、積算率は100%となり、昨年度よりも精度の向上が見られた。A(H3N2）（H3）については、積算率92.6%（63/68 ロット）と、乖離の認められるロットが観察された。

H3 については、平成30年度にも同様の解析で一部乖離するロットが観察され、標準抗原の保管温度による劣化がその原因と考えられた。そこで、令和2年度からは、標準品保管温度を4℃から-30℃に変更している。令和元年度に使用した標準抗原について、安定性の解析を実施したが、変更後の保管温度で少なくとも16ヶ月は安定であることが確認できた（図2）。また、令和2年度に使用した標準抗原についても、検定試験に供していた期間を含む7ヶ月間、-30℃で安定性が維持されていた。従って、本年度に観察された乖離は、標準抗原の安定性によるもので

はないことが明らかとなった。

本乖離が観察された国家検定試験についてその成績を調査したところ、本乖離は特定の作業者（以下、作業者 A とする）が従事した試験に集中していたため、同一ロットの検体を使用して、他の作業者が試験を実施した。その結果、作業者 A の成績は再現されず、製造所成績との一致度も問題ないことが明らかとなった。さらに、その原因は、標準抗原で形成させる SRD リング径が小さいことに起因することが示唆された。

そこで、全ての検定試験作業者が、同一の検体を用いて SRD 試験を行った、技能維持訓練時の成績を解析したところ、標準抗原の SRD 試験で形成させる 4 濃度の SRD リングのうち、最も高濃度のリング径にのみ、作業者 A とその他の作業者の間に差異が認められた。この差異の原因調査のため、作業者 A の各試験手順の検証を行ったところ、問題のリング径が小さくなる現象は、試験作業中の抗原調製時に生じていることが明らかとなった。しかしながら、作業者間の差異は、H3 の標準抗原では高い再現性が見られたものの、H3 を含む被験ワクチン検体や、その他の型、亜型の標準抗原では、国家検定試験時同様、差異は全く観察されなかった。

D. 考察

令和 2 年度インフルエンザ HA ワクチン国家検定試験の力価試験において、H3 を除く型、亜型の成績については、昨年度と同様の精度や製造所成績との一致が観察されるか、昨年度から改善が見られた。これは、毎年国家検定試験が開始される前に、感染研と製造所との間で力価試験の測定に関する標準化作業を実施していることが寄与してい

るものと考えられる。H3 については、平成 30 年度と同程度の一致率にとどまったが、その原因は標準抗原の安定性によるものではなく、しかも、特定の作業者と特定の標準抗原が組み合わさった場合にのみ高い再現性をもって観察される現象であった。本年度の解析では、この原因の特定には至っていないが、予備試験段階で、同一 H3 ウイルス株が使用されている国際標準抗原を用いる場合には、作業者間の差異は観察されず、標準抗原の製法も原因としては否定されている。また、技能維持訓練時に、作業者 A は、他の作業者と比較して高い検体測定値を記録していたが、作業者間での検体測定値のばらつきは、許容される範囲内であった。作業者 A は、既に数年に渡って国家検定試験に従事しており、技能習熟にも問題はない。従って、今回の事象には、標準抗原の取り扱いと、ウイルス株の性状の双方が関与している可能性が高い。本問題については、引き続き原因調査と、その対応法の確立が必要である。

E. 結論

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験では、標準抗原の品質を維持し、事前に試験条件を検討することで、かなり高い再現性を得られることが確認された。令和 2 年度に観察された、感染研成績と製造所成績の乖離の原因と考えられる事象については、類似の事象が試験機関に関係なく発生する可能性もあり、場合によっては国家検定試験の合否に影響を与える事態にもなりかねないため、その対応法の確立は試験精度維持のために必須である。一方で、今回観察された乖離の原因への対応として、全ロットの検定試験実施が必要となる可能性は低

いと考えられる。従って、全ロット検定から一部ロット検定への移行については、検討を継続することが可能と考える。

Determination of the potency of a cell-based seasonal quadrivalent influenza vaccine using a purified primary liquid standard. *Biologicals*. 68(2020), 32-39.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Shimasaki N, Hamamoto I, Odagiri T and Nobusawa N.

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

製造年度	型・亜型	株名	標準抗原ロット番号	参照抗血清ロット番号
平成30	A (H1N1) pdm09	A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)	2017AH1B	2017AH1-1
	A (H3N2)	A/Singapore/INF1MH-16-0019/2016 (IVR-186)	2018AH3B	2016AH3-1
	B型Yamagata系統	B/Phuket/3073/2013	2018ABYA	2017BY-1
	B型Victoria系統	B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)	2018BVA 2018BYA	2018BV-1
令和元	A (H1N1) pdm09	A/Brisbane/02/2018 (IVR-190)	2019AH1B	2017AH1-1
	A (H3N2)	A/Kansas/14/2017 (X-327)	2019AH3A	2016AH3-1
	B型Yamagata系統	B/Phuket/3073/2013	2019BYB 2019BVB	2017BY-1
	B型Victoria系統	B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)	2019BYB 2019BVB	2018BV-1
令和2	A (H1N1) pdm09	A/Guangdong-Maonan/SWL1536/2019 (CNIC-1909)	2020AH1B	2020AH1-1
	A (H3N2)	A/Hong Kong/2671/2019 (NIB-121)	2020AH3A	2020AH3-1
	B型Yamagata系統	B/Phuket/3073/2013	2020BYB	2017BY-1
	B型Victoria系統	B/Victoria/705/2018 (BVR-11)	2020BVB	2020BV-1

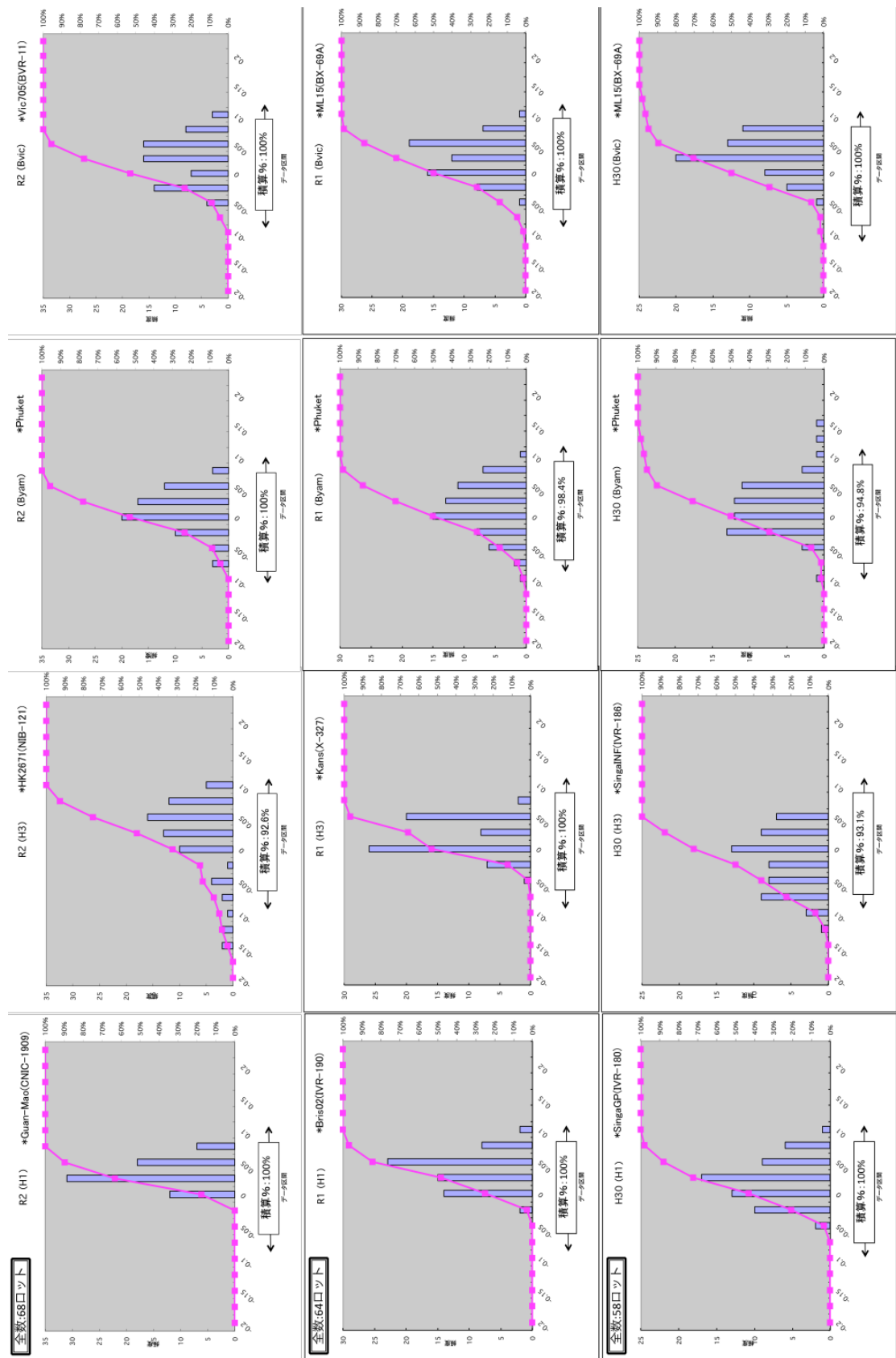


図1. 過去3年度分の国家検定試験成績と製造所試験成績の一致度

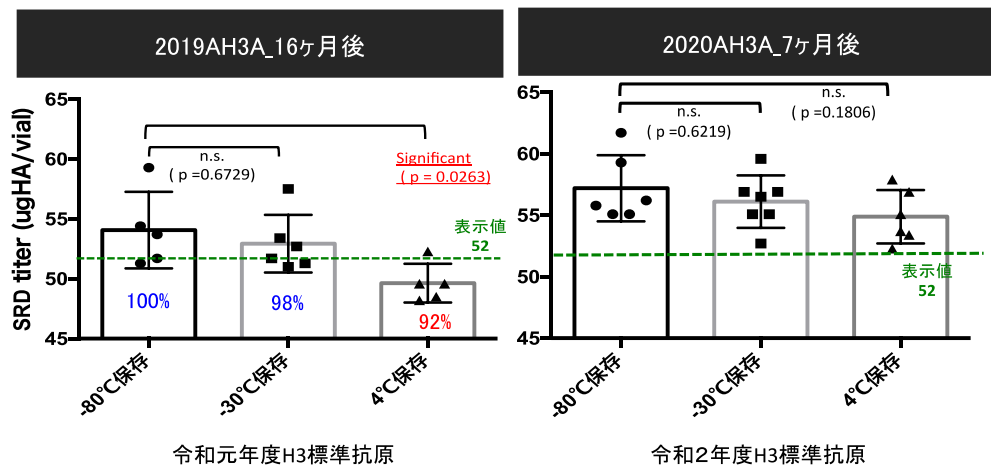


図2. 令和元年度及び令和2年度H3標準抗原の安定性解析