

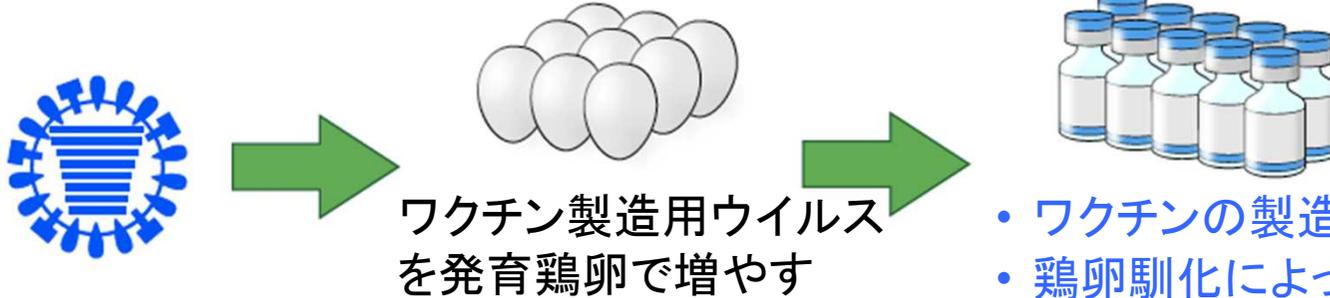
厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会
研究開発及び生産・流通部会(H26.9.5)

細胞培養季節性インフルエンザワクチンに関する 検討課題について

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第5室
室長 山本 典生

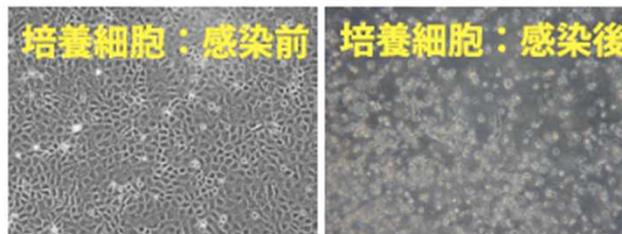
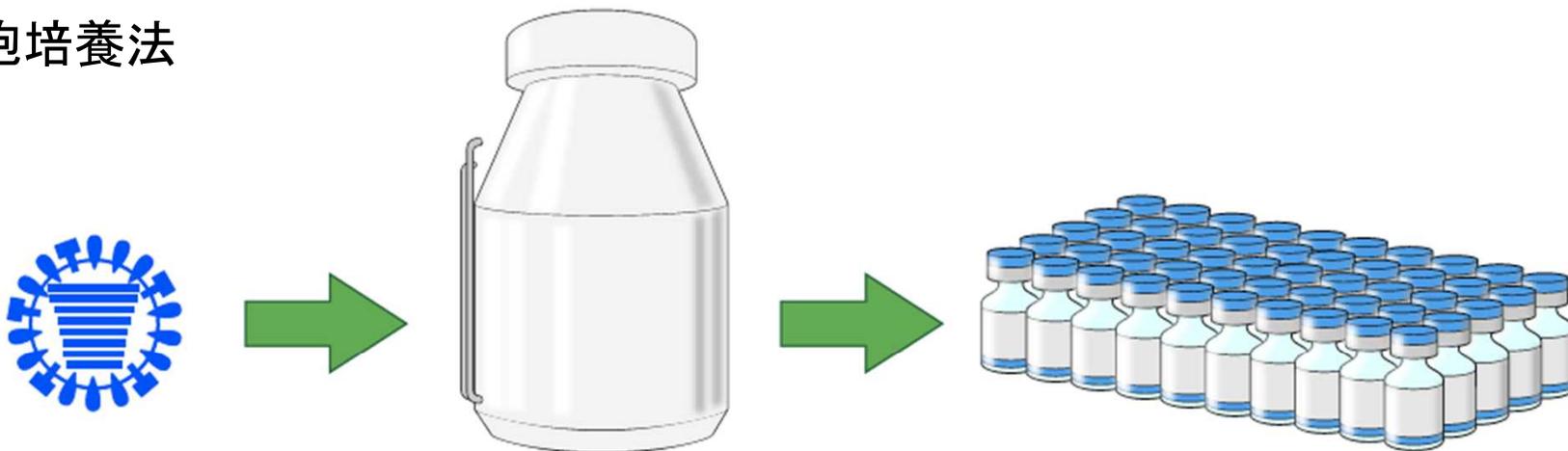
細胞培養法と鶏卵培養法の比較

鶏卵培養法(従来の方法)



- ワクチンの製造に時間がかかる
- 鶏卵馴化によってワクチンの抗原性が変化する可能性がある

細胞培養法



- 短期間に大量の製造が可能
- 鶏卵馴化に伴う抗原変異を回避または軽減することが可能

ワクチン製造用ウイルスを培養細胞で増やす

細胞培養季節性インフルエンザワクチンに関する 検討課題

1) 細胞培養ワクチン製造用ウイルスの開発、供給体制について

- 細胞培養での継代におけるワクチン製造用ウイルスの抗原的、遺伝学的安定性の解析
- ワクチン製造効率向上のためにメーカー保有細胞において行う継代馴化等が、ウイルスの抗原性、免疫原性へ与える影響の解析
- 鶏卵培養によらず細胞培養のみによってワクチン製造用ウイルスを開発、供給するための枠組みの整備
- ワクチン製造用ウイルスの品質(迷入ウイルス否定など)の担保を行う仕組みの構築

細胞培養季節性インフルエンザワクチンに関する 検討課題

2) 細胞培養ワクチンの力価測定法について

- 細胞培養ワクチンの力価を測定するための試験法や標準品選択の妥当性

3) ワクチン製造用ウイルス指定法の見直しについて

- 製造用の細胞が複数種類あることから、複数のワクチン製造用ウイルスが必要になると予想される
- 現行の単一の株を指定する方法では対応できない可能性が高い

細胞培養ワクチン製造用ウイルスを作製するための の枠組みについて

- 細胞培養ワクチン製造用ウイルスを作製するための国際的枠組みに関する検討が、WHOネットワーク内で現在進められている。
- WHOネットワーク内での検討内容も踏まえながら、国内における細胞培養ワクチン製造用ウイルス作製の枠組みについて、結核感染症課の同席の下、国立感染症研究所とワクチンメーカーで検討を行った。

国内における細胞培養ワクチン製造用ウイルスの 作製・供給体制の検討

- 1) 安全性が確認された細胞を用いたワクチン候補株の確保、性状解析およびワクチン製造所への供給
- 2) ワクチン製造所における高増殖株の開発を含むワクチン製造候補株の適性検討
- 3) 感染研におけるワクチン製造候補株の適性確認試験

細胞培養ワクチン用ウイルスを作製するための細胞について

- 細胞培養ワクチン用ウイルスを作製するための細胞は、**病原体等による汚染がないことや、がん原性がないこと等**が確認されている必要がある
- 感染研は、臨床検体からのウイルス分離（ワクチン製造用ウイルス作製の第一段階）に使用可能な細胞の1つとして、**GMP準拠条件下で無血清培地馴化MDCKの細胞バンク（MDCK-NIID）を構築した**
- 感染研で構築したMDCK-NIID細胞バンクを**GMP/GLP基準の安全性試験・特性試験で評価した**

MDCK-NIID細胞の安全性試験・特性試験等の結果について

- 1) MDCK-NIIDのマスターセルバンクについて、GMP/GLP基準で13項目の安全性試験・特性試験を実施し、全試験で合格(問題ないことを確認)
- 2) MDCK-NIIDのワーキングセルバンクについて、GMP/GLP基準で7項目の安全性試験・特性試験を実施し、全試験で合格(問題ないことを確認)
- 3) MDCK-NIIDのEnd-of-production cellについて、GMP/GLP基準で16項目の安全性試験・特性試験を実施し、全試験で合格(問題ないことを確認)

MDCK-NIID細胞の安全性試験・特性試験等の 結果について

感染研で構築したMDCK-NIID細胞バンクは、
全ての安全性試験・特性試験で問題を認めなかった



安全性等の観点からは、
ワクチン製造用ウイルスを作製するために
使用可能と考えられる

Virus isolation efficiency and HA titers of the isolates (A(H1N1)pdm09 specimens)

Cell	Specimen ID	Passage number				Real-time Cts*	
		1	2	3	4	TypeA	swH1
MDCK-NIID	TA77	<2	<2	<2	<2	29.18	28.23
	TA78	8	32	64		25.59	22.17
	TA79	<2	<2	<2	<2	36.18	35.15
	TA95	<2	<2	<2	<2	26.12	25.16
	TA108	<2	<2	<2	<2	26.53	25.25
conv.-MDCK	TA77	<2	4	16		29.18	28.23
	TA78	32	32	16		25.59	22.17
	TA79	<2	8	4	2	36.18	35.15
	TA95	<2	4	8	16	26.12	25.16
	TA108	2	16	4	4	26.53	25.25

Rate (%)	MDCK-NIID	20	20	20	
	conv.-MDCK	40	100	100	

*not calibrated by positive controls.

Virus isolation efficiency and HA titers of the isolates (MDCK-NIID, A(H1N1)pdm09 specimens)

Specimen ID	Passage number					Real-time Cts*	
	1	2	3	4	5	TypeA	swH1
TA71	4	4	16	32	16	20.55	19.77
TA72	2	2	16	16	32	20.69	19.71
TA86	<2	<2	16	32	32	22.7	21.73
TA73	<2	8	16	16	32	22.97	21.86
TA75	<2	<2	32	32	64	23.98	23.44
TA84	<2	<2	4	64	32	24.89	24.81
TA78	8	32	64			25.59	22.17
TA95	<2	<2	<2	<2		26.12	25.16
TA108	<2	<2	<2	<2		26.53	25.25
TA87	<2	<2	<2	<2	<2	26.56	26.03
TA74	<2	<2	<2	<2	<2	28.54	27.24
TA85	<2	<2	<2	<2	<2	28.72	27.73
TA77	<2	<2	<2	<2		29.18	28.23
TA83	<2	<2	<2	<2	<2	31.83	30.13
TA79	<2	<2	<2	<2		36.18	35.15
% efficiency**	20	27	47				

*not calibrated by positive controls.

** 27 of the 39 (69%) clinical specimens showed <26 Ct values in Real-time PCR with TypeA probe.

Virus isolation efficiency and HA titers of the isolates (A(H3N2) specimens)

Cell	Specimen ID	Passage number				Real-time Cts*	
		1	2	3	4	TypeA	H3
MDCK-NIID	TA232	<2	<2	64	256	27.87	27.54
	TA233	<2	<2	8	256	27.33	27.37
	TA234	2	16	128		25.89	26.21
	TA235	<2	128	128		23.64	23.71
	TA236	<2	128	128		25.30	25.00
conv.-MDCK	TA232	<2	64	512		27.87	27.54
	TA233	<2	<2	256		27.33	27.37
	TA234	8	16	256		25.89	26.21
	TA235	4	128	256		23.64	23.71
	TA236	<2	128	512		25.30	25.00

Rate (%)	MDCK-NIID	20	60	100	
	conv.-MDCK	40	80	100	

*not calibrated by positive controls.

Virus isolation efficiency and HA titers of the isolates (B/Victoria-lineage specimens)

Cell	Specimen ID	Passage number				Real-time Cts*	
		1	2	3	4	TypeB	B/Vic
MDCK-NIID	TA318	256	512	256		23.01	22.75
	TA322	128	512	256		27.52	27.38
	TA327	128	512	256		25.51	25.38
	TA330	<2	512	256		31.4	41.12
	TA331	64	1024	512		30.79	30.79
conv.-MDCK	TA318	128	512	512		23.01	22.75
	TA322	128	512	512		27.52	27.38
	TA327	128	512	1024		25.51	25.38
	TA330	16	512	512		31.4	41.12
	TA331	128	512	1024		30.79	30.79

Rate (%)	MDCK-NIID	80	100	100	
	conv.-MDCK	100	100	100	

*not calibrated by positive controls.

Virus isolation efficiency and HA titers of the isolates (B/Yamagata-lineage specimens)

Cell	Specimen ID	Passage number				Real-time Cts*	
		1	2	3	4	TypeB	B/Yam
MDCK-NIID	TA336	4	512	512		35.82	36.93
	TA338	2	512	512		32.67	34.24
	TA351	64	512	512		26.14	27.23
	TA376	512	512	256		25.14	25.5
	TA381	128	512	512		29.60	29.23
conv.-MDCK	TA336	128	512	512		35.82	36.93
	TA338	32	512	512		32.67	34.24
	TA351	512	512	512		26.14	27.23
	TA376	512	512	512		25.14	25.5
	TA381	512	1024	512		29.60	29.23

Rate (%)	MDCK-NIID	100	100	100	
	conv.-MDCK	100	100	100	

*not calibrated by positive controls.

MDCK-NIID細胞のウイルス分離効率と 分離されたウイルスの増殖性について

- A(H3N2)、B/Victoria、B/Yamagataについては、MDCK-NIID細胞のウイルス分離効率・分離ウイルスの増殖性はconv.-MDCK細胞と同様に良好であった。
- A(H1N1)pdm09については、MDCK-NIID細胞のウイルス分離効率はconv.-MDCK細胞より低い傾向であったが、ウイルスを多めに含む臨床検体を選択することにより、高い効率でウイルスを分離することが出来た。
- 現時点までの限られた解析の結果からは、MDCK-NIID細胞はワクチン製造用ウイルス作製のための野生株分離用細胞として使用可能と考えられた。
- 解析数がまだ少数なので、検体数を増やして今後も解析を行う。

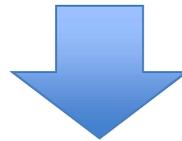
今後の取り組みについて

- 1) 細胞培養ワクチン製造用ウイルスの試験的開発
- 1) 細胞培養ワクチンの力価測定法の検討
- 1) 細胞培養ワクチン製造用ウイルスの指定方法に関する検討

細胞培養ワクチン製造用ウイルスの 試験的開発について

これまでの検討から提案されている、
国内における細胞培養ワクチン製造用ウイルスを作製するための枠組み

- 1) 安全性が確認された細胞を用いたワクチン候補株の確保、
性状解析およびワクチン製造所への供給
- 2) ワクチン製造所における高増殖株の開発を含むワクチン製
造候補株の適性検討
- 3) 感染研におけるワクチン製造候補株の適性確認試験



- 上記を具体的に実施するため、メーカー、結核感染症課、感染研での連
携体制で、必要な各種試験系の構築と実施戦略の策定を進める。
- 試験的開発を行うことにより、ウイルスの増殖性、ワクチンの収量、抗原
的安定性等に関する基礎的なデータが得られ、また現段階では見えてい
ない潜在的問題点を明らかにできると期待される。