

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(H28.2.19)

## 細胞培養季節性インフルエンザワクチン実用化への 取り組み

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  
信澤枝里

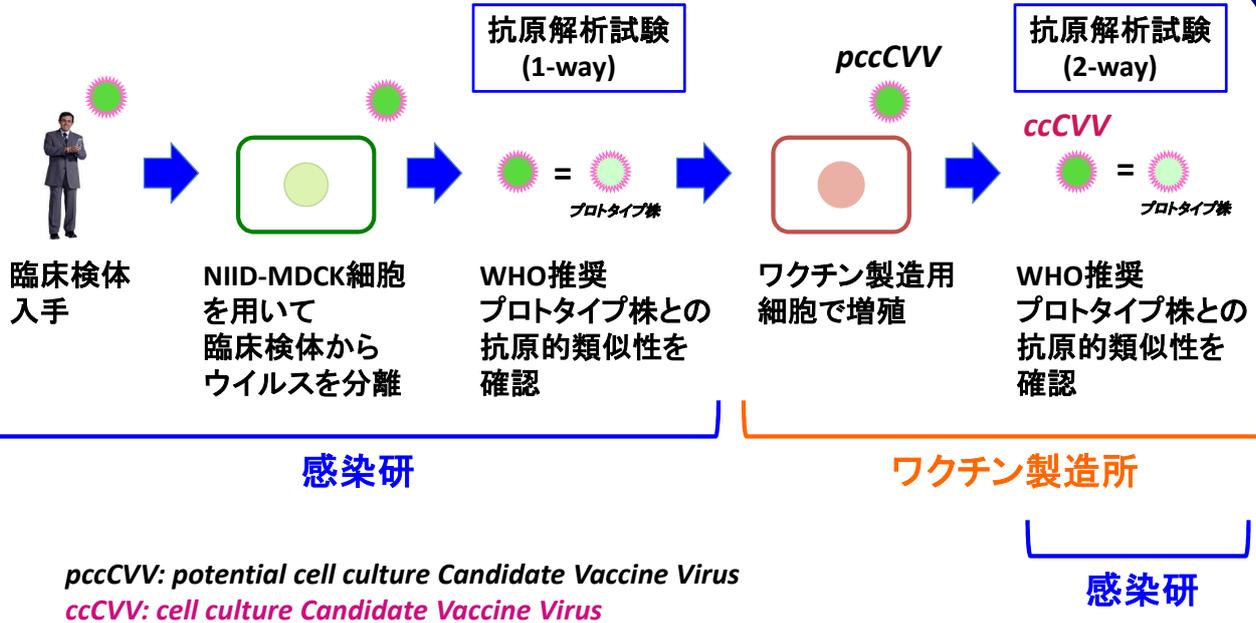
### 細胞培養インフルエンザワクチン実用化のための課題

- (1)細胞培養ワクチン株作製法の確立\*
- (2)細胞培養ワクチン株の指定法の確立
- (3)細胞培養ワクチンのHA抗原量測定試薬作製法の確立\*

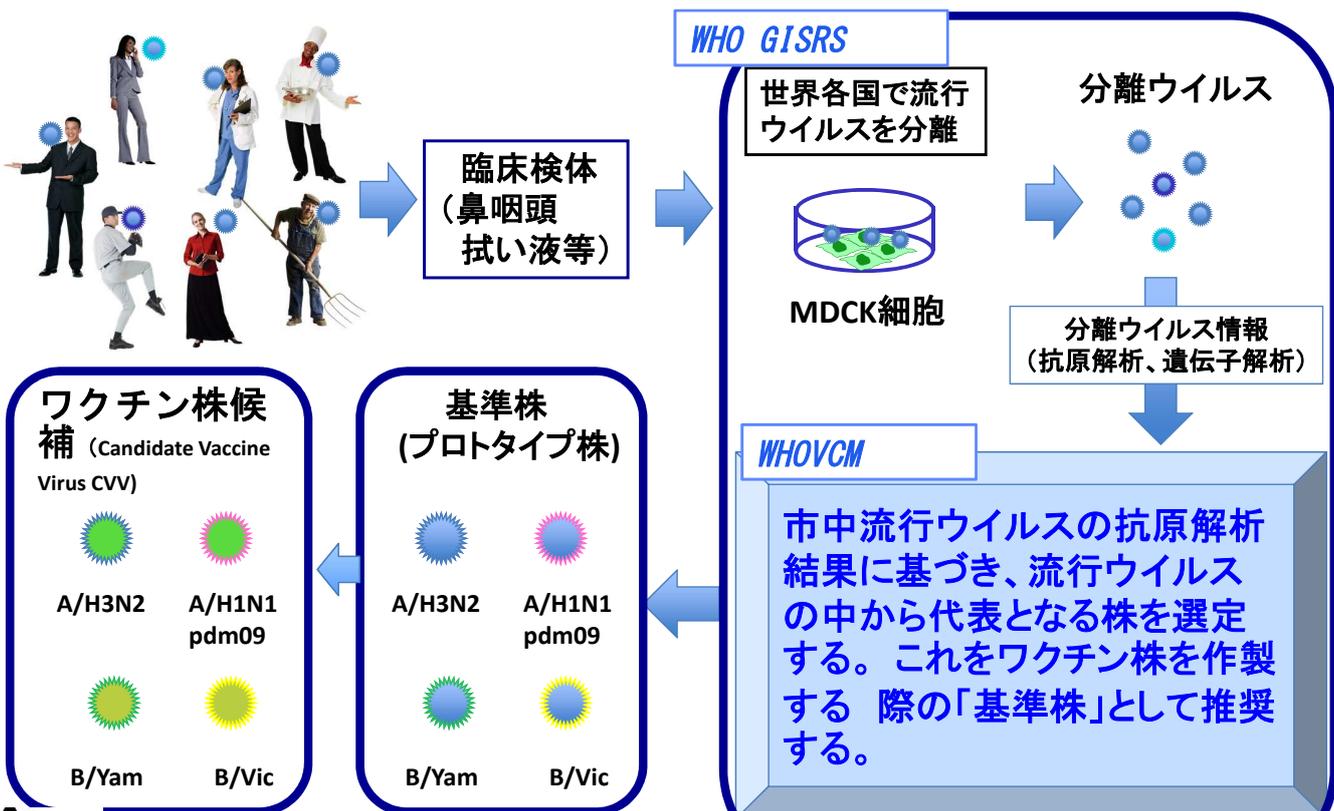
\*平成27年度 日本医療研究開発機構研究費  
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)  
[新型及び季節性インフルエンザに対する細胞培養ワクチンのシードウイルス製造法及び  
安全性・有効性・品質の評価法の開発に関する研究]

# (1)細胞培養ワクチン株作製法の確立

## ワクチン株作製までのプロセス



## プロトタイプ株の決定法

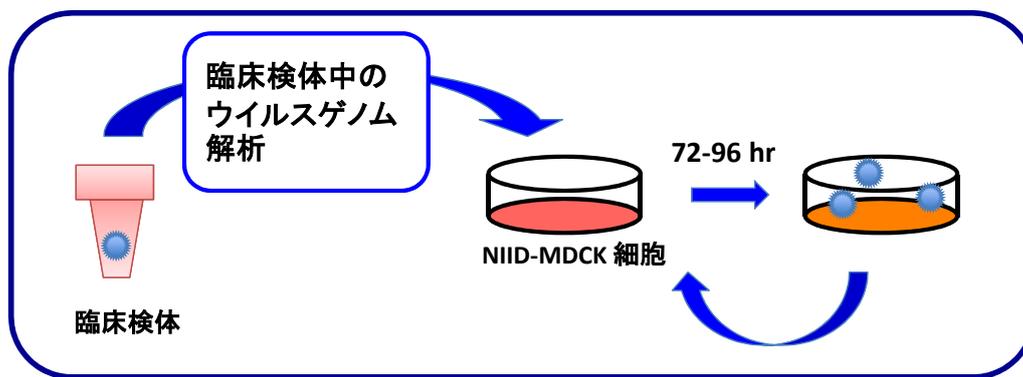


# 臨床検体からのウイルス分離

細胞: NIID-MDCK 細胞

臨床検体:

A/H1N1pdm	(2010/2011 season, 15 samples)
	(2014/2015 season, 3 samples)
A/H3N2	(2011/2012 season, 5 samples)
	(2014/2015 season, 12 samples)
B/Victoria	(2011/2012 season, 5 samples)
	(2014/2015 season, 2 samples)
B/Yamagata	(2011/2012 season, 5 samples)
	(2014/2015 season, 2 samples)

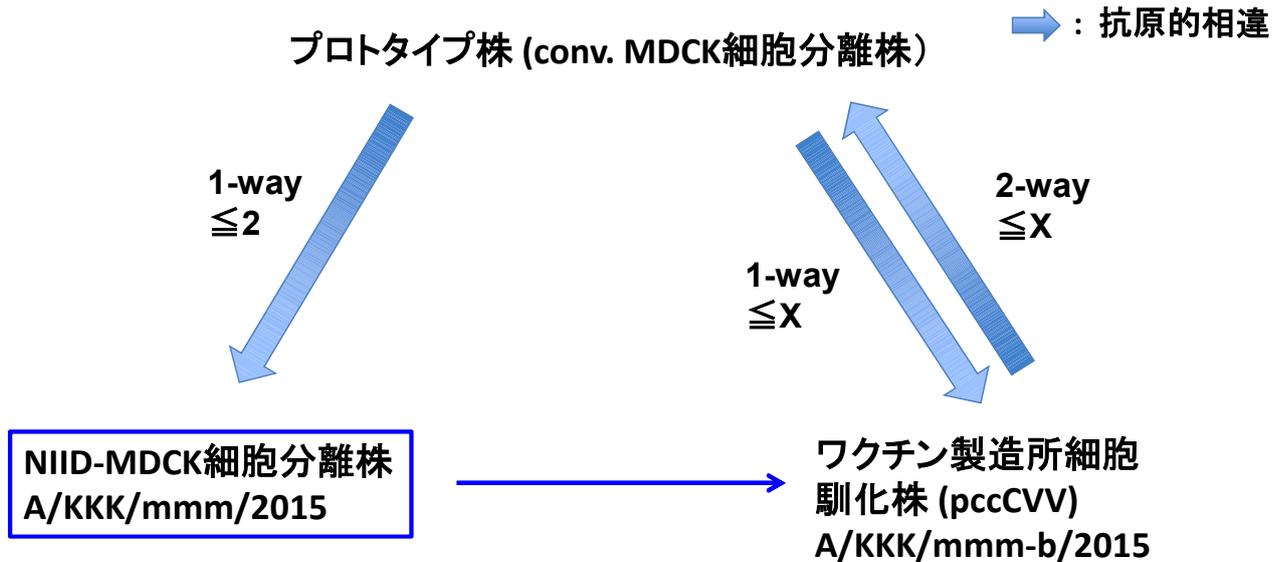


## NIID-MDCK細胞を用いたウイルス分離効率

型/亜型、系統	インフルエンザシーズン	ウイルス分離数/ 臨床検体数	分離効率(%)
A/H1N1pdm	2010/2011	7/15	47
	2014/2015	3/3	100
A/H3N2	2011/2012	5/5	100
	2014/2015	6/12	50
B/Victoria	2011/2012	5/5	100
	2014/2015	2/2	100
B/Yamagata	2011/2012	5/5	100
	2014/2015	2/2	100

# 抗原解析

[プロトタイプ株 (WHO 推奨株) との抗原的類似性を確認]



## 抗原解析

抗プロトタイプ株血清 (1-way, 2-way)、抗馴化株血清 (2-way) を用いて行う。  
馴化株がプロトタイプ株と類似 (X倍以内) の抗原性を示す → ccCVV

## 試験方法

血球凝集阻止試験 (HI試験)、中和試験 (MN試験)

## pccCVV作製のために分与したウイルスの性状 (2010/11, 2011/12シーズン)

Type/Subtype, Lineage	Virus ID	Passage history	HA titer	HI test (1-way)	Prototype viruses
A/H1N1pdm	TA-78	NC3	64	2-fold diff.	A/Wakayama/153/2013 (C1/C1)
	TA-73	NC5	32	equiv.	
A/H3N2	TA-232	NC4	256	equiv.	A/Victoria/361/2011 (C2/C2)
	TA-233	NC4	256	equiv.	
B/Victoria	TA-318	NC3	256	equiv.	B/Brisbane/60/2008 (CX/C1/C2)
	TA-322	NC3	256	equiv.	
B/Yamagata	TA-336	NC3	512	equiv.	B/Wisconsin/1/2010 (C1/C1/C2)
	TA-338	NC3	512	2-fold diff.	

## Characterization of pccCVVs (A/H1N1pdm)

Manufacturers	ID of isolated viruses	Characterization of pccCVVs (by Manufacturers)			Characterization of pccCVVs (by NIID)	
		HA titer (passage history)	1-way HI test	Sequences (HA, NA)	2-way HI test	Sequences (HA, NA)
<b>A</b>	TA-73	<b>256 (NC5/P5)</b>	<b>Pass (equivalent)</b>	<b>HA, NA mutations</b>	<b>Pass (equivalent)</b>	<b>HA, NA mutations</b>
	TA-78	<b>192 (NC3/P5)</b>	<b>Fail (16-fold difference)</b>	<b>HA mutations</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>B</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>C</b>	TA-78	<b>16 (NC3/P6)</b>	<b>Fail (64-fold difference)</b>	<b>HA mutation</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>D</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>E</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>

## Characterization of pccCVVs (A/H3N2)

Manufacturers	ID of isolated viruses	Characterization of pccCVVs (by Manufacturers)			Characterization of pccCVVs (by NIID)	
		HA titer (passage history)	1-way HI, MN test	Sequences (HA, NA)	2-way HI test	Sequences (HA, NA)
<b>A</b>	TA-232	<b>192 (NC4/P5)</b>	<b>Pass (equivalent)</b>	<b>HA, NA mutations</b>	<b>Pass (2-fold difference)</b>	<b>HA, NA mutations</b>
	TA-233	<b>192 (NC4/P5)</b>	<b>Fail (4-fold difference)</b>	<b>HA, NA mutations</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>B</b>	TA-232	<b>256 (NC4/P2)</b>	<b>Pass (2-fold difference)</b>	<b>No mutation</b>	<b>Pass (equivalent)</b>	<b>Unexecuted</b>
	TA-233	<b>128 (NC4/P2)</b>	<b>Pass (2-fold difference)</b>	<b>No mutation</b>	<b>Pass (2-fold difference)</b>	<b>Unexecuted</b>

## Characterization of pccCVVs (A/H3N2)

Manufacturers	ID of isolated viruses	Characterization of pccCVVs (by Manufacturers)			Characterization of pccCVVs (by NIID)	
		HA titer (passage history)	1-way HI, MN test	Sequences (HA, NA)	2-way HI test	Sequences (HA, NA)
<b>C</b>	TA-233	128 (NC4/P5)	Pass (equivalent)	NA mutation	Unexecuted	Unexecuted
	TA-233	128 (NC4/P5)	Pass (2-fold difference)	HA, NA mutations	Unexecuted	Unexecuted
<b>D</b>	TA-232	128 (NC4/P5)	Pass (2-fold difference)	No mutation	Pass (equivalent)	No mutation
<b>E</b>	TA-232	128 (NC4/P5)	Fail (8-fold difference)	HA, NA mutations	-	-
	TA-233	96 (NC4/P5)	Fail (8-fold difference)	HA, NA mutations	-	-

-:Not done.

## Characterization of pccCVVs (B/Victoria)

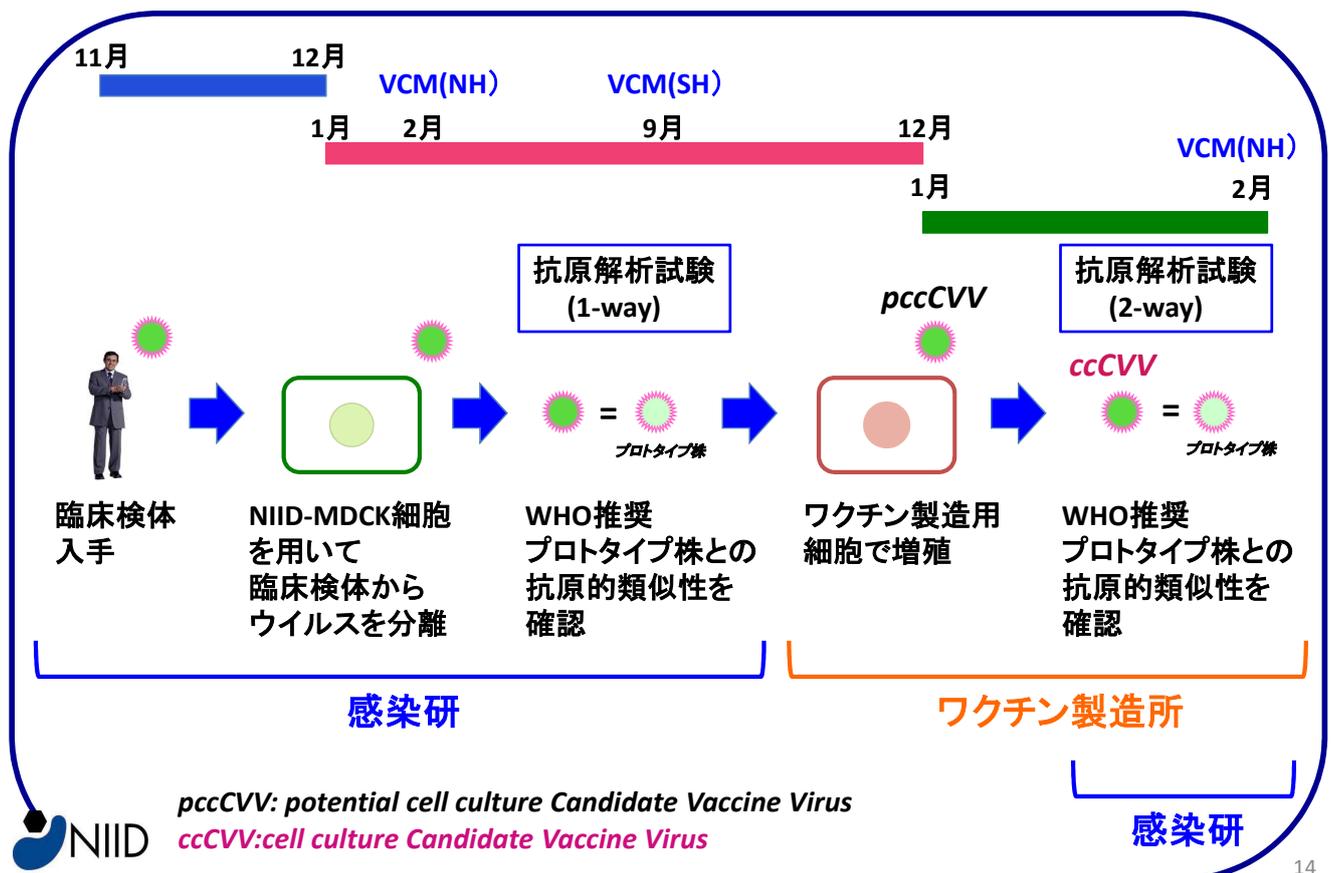
Manufacturers	ID of isolated viruses	Characterization of pccCVVs (by Manufacturers)			Characterization of pccCVVs (by NIID)	
		HA titer (passage history)	1-way HI test	Sequences (HA, NA)	2-way HI test	Sequences (HA, NA)
<b>A</b>	TA-318	384 (NC3/P5)	Pass (equivalent)	HA mutations	Pass (2-fold difference)	HA mutations
	TA-322	512 (NC3/P5)	Pass (equivalent)	HA mutation	-	-
<b>B</b>	-	-	-	-	-	-
<b>C</b>	-	-	-	-	-	-
<b>D</b>	TA-318	2048 (NC3/P5)	Pass (equivalent)	NA mutations	Pass (equivalent)	NA mutations
<b>E</b>	-	-	-	-	-	-

-:Not done.

## Characterization of pccCVVs (B/Yamagata)

Manufacturers	ID of isolated viruses	Characterization of pccCVVs (by Manufacturers)			Characterization of pccCVVs (by NIID)	
		HA titer (passage history)	1-way HI test	Sequences (HA, NA)	2-way HI test	Sequences (HA, NA)
A	TA-336	256 (NC3/P5)	Pass (equivalent)	No mutation	-	-
	TA-338	384 (NC3/P5)	Pass (equivalent)	No mutation	Pass (2-fold difference)	No mutation
B	-	-	-	-	-	-
C	TA-336	16 (NC3/P6)	Pass (2-fold difference)	No mutation	Pass (2-fold difference)	HA mutation
D	-	-	-	-	-	-
E	TA-336	384 (NC3/P10)	Unexecuted	Unexecuted	Unexecuted	Unexecuted
	TA-338	512 (NC3/P10)	Unexecuted	Unexecuted	Unexecuted	Unexecuted

## ワクチン株作製までのプロセス



## 1<sup>st</sup> trialの結果と今後の取り組み

- 1<sup>st</sup> trialの結果、NIID-MDCK細胞分離株は、各ワクチン製造所細胞で一定の増殖性を示すことを確認した。
- 1<sup>st</sup> trialでは、各社細胞で継代後に出現する抗原変異株は、A型ウイルスで顕著であったが、B型ウイルスは、継代後も抗原的に安定していた。
- 2<sup>nd</sup> trialは、既に開始しており、引き続きpccCVV, ccCVVの作製を試みる。
- 臨床検体の選択法をさらに改善し、変異株出現率を下げる手法を検討する。
- 日本分離株をプロトタイプ株として提供する。
- 各社細胞間で、ccCVVの共有の可能性を検討する。

## (3) 細胞培養ワクチンのHA抗原量測定試薬作製法の確立

### 目標

ワクチンのHA抗原量測定のための、一元放射免疫拡散(SRD)試験用試薬の作製と、その試験による抗原量の評価法の適正化

### 研究計画

SRD試験に使用するSRD試薬(標準抗原と参照抗血清)を、細胞培養ワクチン株を用いて作製し、SRD試験に供しHA抗原量を推定する。この際、鶏卵培養ウイルスで作製されたSRD試薬を用いた結果とも比較検証し、的確にHA抗原量を推定する方法を検討する。



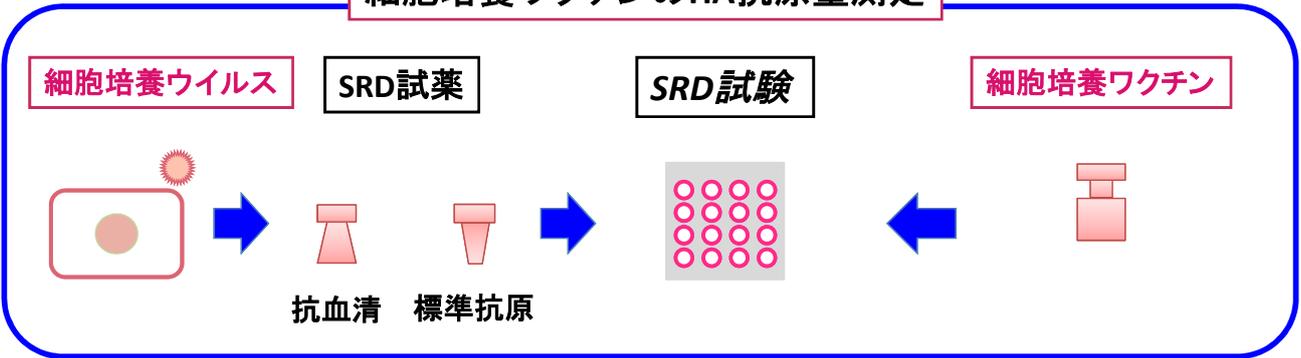
品質評価法の開発を行うことで、より正確なHA抗原量を測定することができ、免疫効果を最大限に発揮できる成分量を含んだ細胞培養ワクチンの製造・供給が可能となる。

# 一元放射免疫拡散(SRD)試験用試薬とHA抗原量の測定

## 鶏卵培養ワクチンのHA抗原量測定

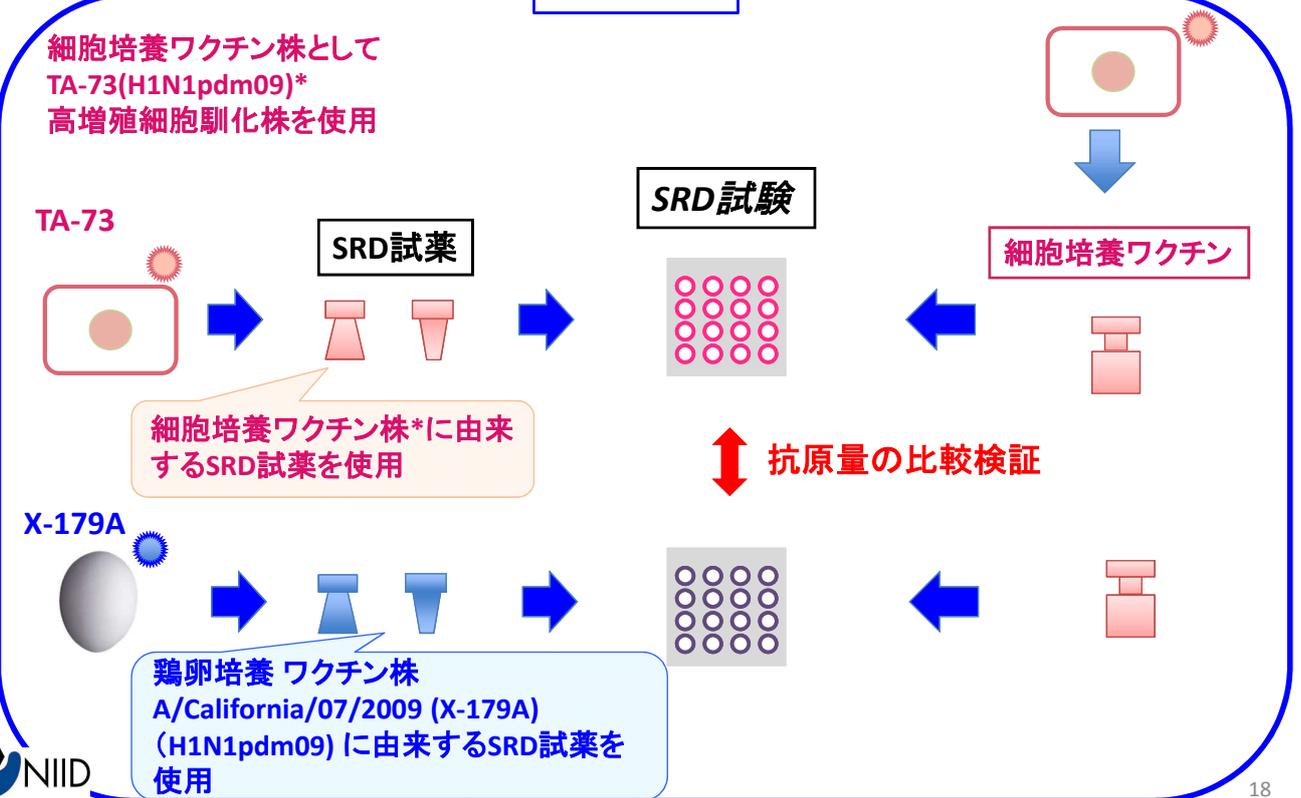


## 細胞培養ワクチンのHA抗原量測定



# 細胞培養ワクチンHA抗原量 測定用試薬の検討

## SRD 1<sup>st</sup> trial



## 今後の取り組み

- 1<sup>st</sup> trialで作製したccCVVに由来するSRD試薬を引き続き作製し、SRD試験に供する。
- 鶏卵培養用および細胞培養用SRD試薬の兼用の可能性を検討する。
- SRD試薬共有の可能性を検討する。