

日本脳炎ワクチン

倉根一郎

国立感染症研究所ウイルス第一部

マウス脳由来不活化日本脳炎ワクチン改良の歴史

年次	改良内容
1954	最初の日本脳炎ワクチンの製造基準が確定され、中山株5%感染マウス脳乳剤の遠心上清を材料とし、総固形分を20mg/ml以下とする。
1957	マウス脳乳剤濃度を2%とし、総窒素量を0.4mg/ml以下とする。
1962	脳乳剤を硫酸プロタミンおよび酸性白土または炭末で処理する。総窒素量を0.2mg/ml以下とする。
1965	脳乳剤をアルコール、プロタミンまたは超遠心により精製する。蛋白窒素量を0.02mg/ml以下とする。
1971	蛋白総窒素量を0.01mg/ml以下とする。
1980	製造株を北京-1株に、接種量を0.5mlに変更。蛋白量を80 μ g/ml以下とする。

国内外における日本脳炎ワクチン

ワクチンのタイプ	培養基体(由来)	ウイルス株
不活化ワクチン (国際的に認められている唯一の日本脳炎ワクチン)	マウス脳 (Mouse brain)	北京-1株 又は 中山株
不活化ワクチン	初代ハムスター腎臓細胞	P3株
弱毒生ワクチン	初代ハムスター腎臓細胞	SA14-14-2株

ウイルス株

日本では1989年接種のワクチンから、それまでの中山株から、免疫原性と野外分離株に対する交叉性がより高いとされる北京-1株に変更になった。しかし従来の中山株ワクチンも、海外輸出用に製造されている。

ワクチンの性状－1

①国内で使用されているワクチンは、無色透明あるいはわずかに白濁した液状で、各0.5mlあるいは1ml用量のバイアル、または近年では2つの製造所で0.5ml用量のプラスチック注射筒（針付）に封入されている。保存は10℃以下で、凍結してはならない。有効期限は国家検定を通過してから1年である。

ワクチンの性状－2

②主として輸出用ワクチンとして製造されている凍結乾燥剤は、やや黄白色味を帯びた粉状固体で、1mlあるいは10ml用量のバイアルに封入されている。添付の溶剤（滅菌蒸留水）を規定量加えて使用する。保存温度は液状ワクチンと同様であるが、有効期限は5年である。

日本の国内向けマウス脳由来不

活化ワクチン製造量は、年間約

500万ドース

製法及び自家試験（「厚生省薬務局監修生物学的製剤基準」）

①生後3-5週の健康なマウス脳内にウイルスを接種し、脳炎症状を呈し死亡直前のマウス脳を採る。

これに緩衝性生理食塩液を加えて磨碎し、遠心して上清を採り、アルコール沈殿法、硫酸プロタミン処理法、高速遠心法その他の操作を行い、これをウイルス浮遊液とする。

②ウイルス不活化にはホルマリン等を用いる。原液について染色試験、無菌試験、不活化試験を行い、それぞれ適合しなければならない。

原液を緩衝性生理食塩液で希釈しこれを最終バルクとする。

小分製品について次の試験を行なう。

pH試験

蛋白質含量試験

チメロサル含量

ホルムアルデヒド含量試験

無菌試験、

不活化試験

異常毒性否定試験

力価試験：マウスに免疫し、産生された中和抗体をVero細胞上のプラーク減少法により測定し、標準品と同等以上でなければならない。

国立感染症研究所が実施する国家検定において、物理学的性状試験、蛋白質含量試験、ホルムアルデヒド含量試験、不活化試験、異常毒性否定試験並びに力価試験の全てに合格した製剤に「国家検定合格証紙」が添付され、実用に供される。

マウス脳由来日本脳炎ワクチンの有効性

1) 中和抗体の誘導

2) 歴史的経過

3) 1984-1985年

タイにおいて約6万人における研究

中山株2回: 91%

中山株1回 + 北京株1回: 91%

(Hoke et al. N Engl J Med. 319:608, 1988)

現行マウス脳由来日本脳炎ワクチン の問題点 - 1

1) マウス脳由来の物質の混入を限りなく少なくするとしても、ゼロにすることは困難である。

2) 急性散在性脳脊髄炎等がおこった場合、マウス脳由来物質との因果関係を完全に否定することが難しい。

また近年、特に海外において全身性蕁麻疹、血管性浮腫、ショック等の副反応を示した症例が報告された。

現行マウス脳由来日本脳炎ワクチン の問題点－2

- 3) ワクチンの作製に手間とコストがかかる。このため価格が高価となり、特に日本脳炎ワクチンを必要とする発展途上国に行き渡りにくい。
- 4) マウスの確保が将来的に不安定になる可能性がある。
- 5) 大量のマウスを用いることに対して抵抗感等がある。

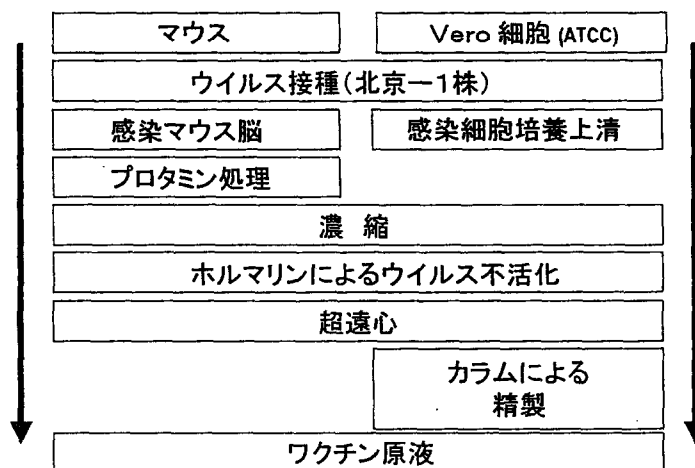
組織培養由来日本脳炎ワクチン－1

マウス脳の代わりにアフリカミドリザル由来のVero細胞を用いて日本脳炎ウイルス(北京-1株)を増殖させる。

1987年、WHOより「ワクチン製造用培養細胞の基準」が示され、組織培養によるワクチン開発の環境が整っている。

Vero細胞を用いてポリオワクチンが実用化されている。

組織培養由来日本脳炎ワクチン (マウス脳との対比)



組織培養由来日本脳炎ワクチンの現状

Vero細胞由来日本脳炎ウイルスは高度に精製されており、DNA混入量はWHO勧告値(10ng/dose)を十分に満たしている。形状、性状及びE蛋白質抗原性についてもマウス脳由来ウイルスと同等であり、抗原性、免疫原性、力価そして安定性についても同等であったと報告されている。Vero細胞由来日本脳炎ワクチンは既に、前臨床試験、第I相臨床試験を終了し、現在第III試験を実施中である。

組織培養由来日本脳炎ワクチンの長所

- 1) Vero細胞、無血清培地を用いることにより未知の危険因子の混入を極力抑えることができる。
- 2) ワクチンの品質管理が容易である。
- 3) 免疫原(不活化ウイルス)は現行ワクチンと同じであり、社会に受け入れられやすい。

問題点

- 1) Vero細胞を用いることによる、新たな基準の作成が必要。