

審議結果報告書

暫定版

平成 21 年 2 月 13 日
医薬食品局審査管理課

[販売名] ジェービック V
[一般名] 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
[申請者] 財団法人 阪大微生物病研究会
[申請年月日] 平成 17 年 6 月 28 日

[審議結果]

平成 21 年 1 月 29 日に開催された医薬品第二部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に報告することとされた。

なお、本品目は生物由来製品に該当し、再審査期間は 8 年とし、原体及び製剤ともに劇薬に該当するとされた。

また、添付文書の【接種上の注意】3. (1) 5) の「特発性血小板減少性紫斑病」を「急性血小板減少性紫斑病」に改めることとされた。

本剤については、下記の点を承認条件とした。

本剤は、製造販売後、可及的速やかに重篤な副反応に関するデータを収集し、段階的に評価を行うとともに、その結果を踏まえ、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告書

平成 21 年 1 月 19 日

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下の通りである。

記

- [販 売 名] ジュービック V
- [一 般 名] 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
- [申 請 者 名] 財団法人阪大微生物病研究会
- [申 請 年 月 日] 平成 17 年 6 月 28 日
- [剤 型 ・ 含 量] 本剤 1 バイアルを添付の溶剤（日本薬局方「注射用水」）0.7mL で溶解したとき、0.5mL あたり、有効成分である不活化日本脳炎ウイルス北京株を 2.5 μ g（たん白質含量）含有する皮下注射用凍結乾燥製剤
- [申 請 区 分] 医療用医薬品（1）新有効成分含有医薬品
- [特 記 事 項] 迅速審査
生物学的製剤基準（案）「乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン」が提出されている。
- [審 査 担 当 部] 生物系審査第二部

審査結果

平成 21 年 1 月 19 日

- [販 売 名] ジェービック V
[一 般 名] 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
[申 請 者 名] 財団法人阪大微生物病研究会
[申 請 年 月 日] 平成 17 年 6 月 28 日 (製造販売承認申請)
[審 査 結 果]

提出された資料から、本剤は「日本脳炎の予防」に必要な抗体価が得られることが示され、日本脳炎の予防に対する有効性が得られると判断した。安全性については、接種後の注射部位局所反応、発熱等の副反応が認められるものの忍容性に大きな問題はないと判断した。ただし、本剤は非常に多くの健康小児に接種されると予測されるワクチンであることから、製造販売後調査において早急に情報収集を行い、安全性を確認することが必要と考える。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、以下の効能・効果、用法・用量で承認して差し支えないと判断した。

- [効 能 ・ 効 果] 本剤は、日本脳炎の予防に使用する。
- [用 法 ・ 用 量] 本剤を添付の溶剤（日本薬局方注射用水）0.7mLで溶解する。
初回免疫：通常、0.5mL ずつを 2 回、1～4 週間の間隔で皮下に注射する。ただし、3 歳未満の者には、0.25mL ずつを同様の用法で注射する。
追加免疫：通常、初回免疫後おおむね 1 年を経過した時期に、0.5mL を 1 回皮下に注射する。ただし、3 歳未満の者には、0.25mL を同様の用法で注射する。
- [承 認 条 件] 本剤は、製造販売後、可及的速やかに重篤な副反応に関するデータを収集し、段階的に評価を行うとともに、その結果を踏まえ、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。

審査報告 (I)

平成 20 年 11 月 21 日

I. 申請品目

[販売名]	ジェービック V
[一般名]	乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン
[申請者]	財団法人阪大微生物病研究会
[申請年月日]	平成 17 年 6 月 28 日 (製造販売承認申請)
[剤型・含量]	本剤 1 バイアルを添付の溶剤 (日本薬局方「注射用水」) 0.7mL で溶解したとき、0.5mL あたり、有効成分である不活化日本脳炎ウイルス北京株を参照品 (力価) と同等以上、含有する皮下注射用凍結乾燥製剤
[申請時効能・効果]	本剤は、日本脳炎の予防に使用する。
[申請時用法・用量]	本剤を添付の溶剤 (日本薬局方注射用水) 0.7mL で溶解する。 ◎ 初回免疫：通常、0.5mL ずつを 2 回、1～4 週間の間隔で皮下に注射する。ただし、3 歳未満の者には、0.25mL ずつを同様の用法で注射する。 ◎ 追加免疫：第 1 回の追加免疫には、通常、初回免疫後おおむね 1 年を経過した時期に、0.5mL を 1 回皮下に注射する。以後の追加免疫の接種量もこれに準ずる。ただし、3 歳未満の者には、0.25mL を同様の用法で注射する。
[特記事項]	迅速審査 生物学的製剤基準 (案)「乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン」が提出されている。

II. 提出された資料の概略及び医薬品医療機器総合機構における審査の概要

本申請において、申請者が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (以下、機構) からの照会事項に対する申請者の回答の概略は、下記のようなものであった。

1. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

日本脳炎は、蚊 (主にコガタアカイエカ) が媒介する日本脳炎ウイルスによって起こる感染症であり、感染した場合の日本脳炎の発症は 250 人に 1 人程度 (Vaccines, 4th ed., 2004; WB Saunders, Philadelphia, USA) とされている。感染後 1～2 週間の潜伏期を経て、急激な発熱、頭痛を主訴として発症し、その後、項部硬直、光線過敏、意識障害、筋硬直、不随意運動等の脳炎症状が発現する。特異的な治療法はなく、高熱、痙攣及び脳浮腫等に対する対症療法が施されるものの、致死率は高く、生存しても痙攣、麻痺、精神発達遅延、精神障害等の精神神経学的後遺症を残すことが多い。日本脳炎患者個人票により確認された 1982～1998 年の日本脳炎患者 330 例の転帰は死亡 56 例 (17.0%)、後遺症 160 例 (48.5%)、全治 101 例 (30.6%)、その他 13 例 (3.9%) である。

日本脳炎は日本のみならず韓国、中国、タイ、ベトナム、インド等の東南アジア・南アジア一帯に広く分布しており、世界的には年間約5万人(Weekly Epidemiological Record, 2006; 81: 325-340, WHO)が日本脳炎を発病しているとされる。日本では、下図のように1966年までは毎年1000人以上、ときに5000人を超える患者が発生していたが、その後患者数は激減し1972年以降は100人以下、1992年以降は10人以下の患者発生となっている。この理由として、コガタアカイエカの主要な発生源である水田の減少、日本脳炎ウイルスの主要な増幅動物であるブタの飼育環境の変化等の環境的要因が挙げられるとともに、後述する日本脳炎ワクチンの改良・普及が大きな役割を果たしたと考えられている。

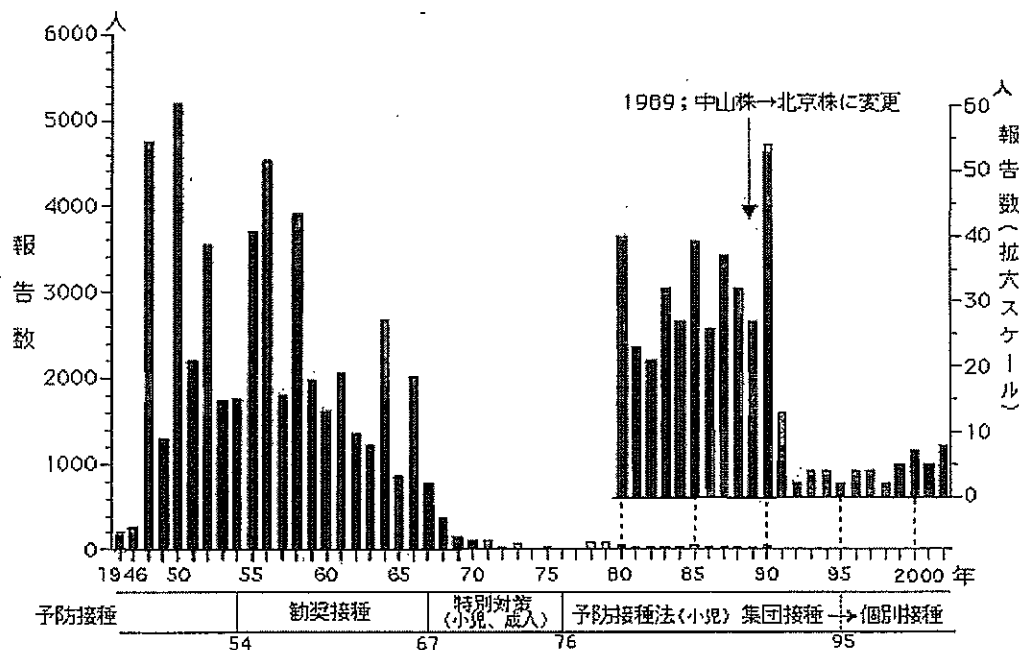


図1 日本脳炎患者数(1946~1964年伝染病統計,1965~1988年伝染病流行予測調査、1999~2002年感染症発生動向調査)
(IASR2003; 24: 149-150, <http://idsc.nih.gov/iasr/24/281/tpc281-i.html> <2008年11月>より引用)

日本脳炎に対するワクチンは、1954年に、日本脳炎ウイルス中山株をマウス脳で増殖させ、その5%脳乳剤の遠心上清にホルマリンを添加し、ウイルスを不活化したものが本邦で最初に実用化されたが、不純物が多く、アレルギー性の中枢神経障害を起こす可能性が指摘されていたことから、純度を向上させる改良が続けられた。1965年にはアルコール、硫酸プロタミン、超遠心法を組み合わせた高度精製ワクチンが開発され、その製造方法が基本として継承され現在に至っている。1988年にはワクチン製造用株が、抗体産生力が高く野生株との交叉反応性が優れているとの理由で中山株から北京株へ変更されている。申請者においても、1965年に超遠心精製日本脳炎ワクチン、1976年に乾燥日本脳炎ワクチン、1988年に北京株日本脳炎ワクチンが開発されている。また、1954年以降、このようなワクチンの改良とともに国の感染症予防対策として接種勧奨が行われ、1976年からは予防接種法に基づく一般的な臨時接種、1994年からは定期接種とされている。なお、現在(2008年

11月時点)も日本脳炎ワクチンは定期接種として接種されているが、2005年5月30日健感発第0530001号厚生労働省健康局結核感染症課課長通知「定期の予防接種における日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控えについて(勧告)」により、積極的な接種勧奨は差し控えられている状況である。

本剤は、ウイルスを増殖させる宿主としてVero細胞(アフリカミドリザル腎臓由来株化細胞)を使用して製造する日本脳炎ワクチンである。従来のマウス脳由来ワクチンにおける、マウスからの迷入ウイルスやマウス脳成分の残存の可能性を完全に否定できない等の品質管理上の問題、大量にマウスを使用することから生産計画を立て難く、また、大量のマウスの安定的な確保という生産管理上の問題、動物愛護等の問題を解決することを目的に開発された。2000年10月より臨床開発が開始され、第I相試験及び第III相試験の成績をもって2000年12月に承認申請がなされた。また、本承認申請後に、用量反応性を検討する臨床試験が実施されている。

2. 品質に関する資料

<提出された資料の概略>

本剤は、日本脳炎ウイルス北京株をアフリカミドリザル腎臓由来のVero細胞で増殖させ、ウイルス粒子をホルマリンにより不活化した後、精製したワクチン(凍結乾燥製剤)である。

(1) 原薬

1) 製造方法

① シードの起源及び管理

1968年に国立予防衛生研究所(現・国立感染症研究所)から分与された日本脳炎ウイルス北京株を、乳のみマウス脳で1代継代して得られたウイルスが[]のマスターシード(MS)とされ、さらに乳のみマウス脳で2代、成熟マウス脳で3代継代してワーキングシード(WS)が作製された。1969年10月に作製された[]のWSである[]を本剤のオリジナルウイルスとして、Vero細胞で4代継代したものが本剤のMS、さらにVero細胞で5代継代したものが本剤のWSである。

MSについて、アフリカミドリザル腎培養細胞接種試験、ヒト培養細胞接種試験、ウイルス含量試験、同定試験、無菌試験(直接法)、マイコプラズマ否定試験、Cultivable mycoplasma test CFR、Noncultivable mycoplasma test及び含湿度試験が実施され、WSについても、上記試験のうち含湿度試験を除く全ての試験が実施されている。

[]、WSは1年間の製造に必要な量を下回った時点でMSから調製され、上記試験のうち含湿度試験を除く8試験に適合することを確認した後、新しいWSとして使用される。また、[]の顕著な[]、[]の[]、又は[]の[]がシードに起因することが明らかになった場合に当該シードは廃棄され、同様の手順で更新される。

保存期間中の安定性について、保存開始約1年後のMS及び保存開始約2年後のWSの[]は、製造時と比べ顕著な差が認められなかったことから、保存中のシードウ

ウイルスは安定に保持されていると判断されている。また、WSを新たに調製するためにMSを融解する際、及び原液を製造するためにWSを融解する際に[]を測定し、保存中の安定性を確認することとされている。

② セルバンクの起源及び管理

本剤の製造に使用する Vero 細胞は、アフリカミドリザル腎臓由来の株化細胞 (ATCC.CCL81, Vero, []) に由来し、[] 培養で [] 代継代してマスターセルバンク [] 代; 以下、MCB) が、さらに [] 培養で [] 代、[] 培養で [] 代継代してワーキングセルバンク [] 代; 以下、WCB) が調製された。

MCB 及び WCB について、形態観察試験、無菌試験 (直接法)、結核菌培養否定試験、マイコプラズマ否定試験、Cultivable mycoplasma test CFR、Noncultivable mycoplasma test、アフリカミドリザル腎培養細胞接種試験、ヒト培養細胞接種試験、成熟マウス接種試験 (筋肉内)、乳のみマウス接種試験 (筋肉内)、モルモット接種試験 (筋肉内)、ウサギ接種試験 (筋肉内)、ニワトリ卵接種試験 (尿膜腔内、卵黄嚢内)、細胞同定試験、造腫瘍性試験 (ヌードマウス)、軟寒天コロニー形成試験、ウイルス感受性試験、レトロウイルス否定試験 (電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、PCR 法による SIV 遺伝子の否定試験) が実施されている (WCB については形態観察試験、細胞同定試験、軟寒天コロニー形成試験、ウイルス感受性試験、レトロウイルス否定試験 (電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、PCR 法による SIV 遺伝子の否定試験) を除く)。また、実製造に使用する継代数 ([] 代) を超えて培養された細胞 ([] 代) について得られた試験成績から、培養期間中の安定性が確認されている。

MCB は [] 年間、WCB は [] 年間の製造に必要な量を下回った時点で、それぞれ Vero 細胞 (ATCC.CCL81, Vero, 121)、MCB から作製され、上記試験に適合することが確認される。また、細胞生存率の顕著な低下、異種微生物の混入、又は生産物の変化がセルバンクに起因することが明らかになった場合に当該セルバンクは廃棄され、上記手順に従って更新される。

19[] 年に調製した WCB を 20[] 年までに [] 本以上使用しており、[] に顕著な変化が認められないことから、保存中のセルバンクは安定に保持されているとしている。また、MCB を [] 時及び WCB [] 時に [] を測定し、保存中の安定性が確認される。

③ 製造方法

個体別細胞培養工程

WCB を細胞培養用培養液 ([] v% 子牛血清) ([] g/L 炭酸水素ナトリウム、[] ng/L L (+) -グルタミン、[] w/v% []、[] w/v% []、[] w/v% []、[] w/v% []、[] ng (力価) /L エリスロマイシンラクトビオン酸塩、[] ng (力価) /L アムホテリシン B、[] v% 子牛血清を含む MEM) に播種して [] C で [] 日間 [] 培養し ([] 代細胞)、次に [] kg の細胞培養用培養液 ([] v% 子牛血清) (子牛血清濃度以外は上記培養液の組成と同様) 中、最終濃度 [] g/kg のマイクロキャリアを添加して、培養液を交換しながら [] C で [] 日間攪拌培養する ([] 代細胞)。培養液量を約 [] 倍ずつスケールアップしながら継代を繰り返し、[] 代細胞を [] 日間培養してウイルス培養

開始後 〇ヶ月までの安定性が確認されたとして、不活化ウイルス浮遊液の保存期間は 〇ヶ月とされた。

⑤ ウイルス安全性評価

ウイルス不活化工程において、ウイルス浮遊液にインフルエンザウイルス (IFV)、単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1)、又はヒトポリオウイルス Sabin1 型 (HPV) を添加し、これにホルマリンを加えて 〇日目で経時的に検体を採取し、各ウイルス含量を測定した。その結果、本剤の不活化工程は上記ウイルスの不活化に有効であることが確認された (表 1)。

表 1 ウイルスクリアランス指数 (平均値)

		IFV (log ₁₀ TCID ₅₀ /mL)	HSV-1 (PFU/mL)	HPV (log ₁₀ CCID ₅₀ /0.1mL)
ウイルス含量	不活化前	〇	〇	〇
	不活化後	< 〇	< 〇	〇
ウイルススクリアランス指数 (log ₁₀)		> 6.3 (> 6.0 ~ > 6.5)	> 5.1 (> 5.1)	5.80 (5.00 ~ 6.13)

* 最小値～最大値

⑥ 製造工程の開発の経緯

2〇〇〇年製造の原液ロット 〇〇〇〇〇～〇〇〇〇〇: ロット 〇〇〇〇〇 は BK-VJE/001 試験、BK-VJE/002 試験及び BK-VJE/003 試験に使用) から、2〇〇〇年製造の原液ロット 〇〇〇〇〇: ロット 〇〇〇〇〇 は BK-VJE/004 試験に使用) に至る開発段階において、〇〇〇〇〇、〇〇〇〇〇〇、〇〇〇〇〇〇等)、〇〇〇〇〇〇工程で使用する 〇〇〇〇〇〇に変更が加えられた。各製造工程における製造パラメータ及び原液の規格試験成績を、製造方法の異なるロット間で比較した結果、これらの変更は原液の品質に特段の影響を及ぼすものではないと判断された。

2) 特性解析

本剤の原液は、現行ワクチンの生物学的製剤基準 (以下、生物基) に示された原液の試験 (染色試験、無菌試験、不活化試験 (培養細胞及びマウス) ※²) に適合することが確認されている。さらに、以下の特性について、現行ワクチンと比較されている。

遺伝子解析

塩基配列解析の結果、オリジナルウイルスでは 〇ヶ所の塩基混在が認められたが、Vero 細胞での継代を重ねるにつれて塩基の混在は減少し、WS (Vero 細胞で 〇代目) では全て消失することが確認された。一方、MS (Vero 細胞で 〇代目) では 〇番目の塩基に新たな変異が検出され、この変異に伴う塩基混在は、原液製造時の継代数に相当するウイルス (Vero 細胞で 〇代目) においても維持されていることが確認された。

SDS-PAGE・ウェスタンブロッティング

※² 不活化試験 (培養細胞及びマウス) では、検体を BHK 細胞に接種し 14 日間細胞変性を認めない、かつ、BHK 細胞の培養上清を 10 匹以上のマウスの脳内に接種し 14 日間いずれの動物も異常を示さないとき、不活化試験に適合すると判定される。

SDS-PAGE 後のゲルを CBB 染色又は銀染色した結果、本剤原液、現行ワクチン原液ともにウイルス由来のたん白質と考えられる 5 本のバンドが検出された (61.8kDa : Envelope たん白質と M たん白質の複合体、53.5kDa : Envelope たん白質、41.4kDa : Core たん白質 (3 量体)、27.6kDa : Core たん白質 (2 量体)、8.3kDa : M たん白質)。また、抗日本脳炎ウイルスモノクローナル抗体 [] 又は抗日本脳炎ウイルスポリクローナル抗体 (マウス抗血清) を用いたウェスタンブロット解析においても、ウイルス由来たん白質と考えられるバンドが確認された。なお、CBB 染色、銀染色及びポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロット解析において、本剤原液では [] kDa 付近の [] に相当するバンドが、現行ワクチン原液では [] kDa 付近の [] に相当するバンドが最も [] バンドとして検出された。

ゲルろ過クロマトグラフィー

[] ガラムによる解析の結果、本剤原液、現行ワクチン原液ともに溶出時間 [] 分にウイルス由来と考えられるピークが検出された。また、現行ワクチン原液では溶出時間 [] 分にも高いピークが検出されたが、現行ワクチン原液を透析し、本剤原液の安定剤に置換したところ、本剤原液と同様の分離パターンになったことから、[] 分のピークは現行ワクチン原液の TCM-199 に含まれるアミノ酸やソルビトール等に由来すると考えられた。

シヨ糖密度勾配遠心法

抗原含量試験 (ELISA) 及び吸光度測定 (波長 280nm) の結果、本剤原液は糖濃度 [] ~ [] % に、現行ワクチン原液は糖濃度 [] ~ [] % にウイルスピークが認められ、本剤原液中のウイルス密度は現行ワクチンと比べて [] 可能性が考えられた。

電子顕微鏡観察

本剤、現行ワクチンともに直径約 50nm のウイルス粒子が観察され、ウイルス粒子以外の夾雑物はほとんど認められないとされた。

Envelope たん白質の糖鎖構造解析

AAL (ヒイロチャワンタケレクチン) 染色では本剤、現行ワクチンともに []、SSA (ニホンニワトコレクチン) 染色及び MAM (イヌエンジュレクチン) 染色では両者と [] が認められた。これにより Envelope たん白質の N 型糖鎖に [] が結合していること、[] 付加の割合は少ないこと、また、そのほとんどが [] 結合ではなく [] 結合していることが示唆された。また、PHA-E₄ (インゲンマメレクチン E₄) 染色の結果、本剤で []、現行ワクチンで [] がみられたことから、本剤の Envelope たん白質の糖鎖は [] 残基の [] 位側が分岐した [] 本鎖構造であるのに対し、現行ワクチンは [] 本鎖構造、[] 本鎖構造、あるいは [] 位側が分岐した [] 本鎖構造を有している可能性が示唆された。

ウイルス脂質の定性、定量分析

TLC 法による脂質分析の結果、現行ワクチンは本剤に比べて []、[] 及び [] の含有量が [] もの、[] に対する相対的な [] 含量が [] こと、脳組織に特徴的なガングリオシドが検出されたことから、両者のウイルスの脂質二重膜に違いがあることが示唆された。

3) 不純物

製造工程由来不純物として、培養工程で使用する血清及び抗生物質、不活化工程で使用するホルマリン、高度精製工程で使用する硫酸プロタミン並びに Vero 細胞由来の DNA 及びたん白質について評価されている。

異種血清たん白質含量試験では原液の●ロット中●ロットが検出限界以下となり、残り●ロットも●ng/mL と、他の細胞培養ワクチンの生物基に適合する範囲内（最終バルク中の含量が 50ng/dose 以下）である。また、原液の抗生物質残存試験（Minimum Inhibitory Concentration 法：MIC 法）では、カナマイシン硫酸塩含量が●ng（力価）/mL、エリスロマイシンラクトビオン酸塩●ng（力価）/mL と推定され、アムホテリシン B は検出限界以下となったとされている。

ホルマリンは不活化工程で添加されるものの、その後のシヨ糖密度勾配遠心及び限外ろ過によって、ほぼ完全に除去される。また、硫酸プロタミンは、本剤よりも●倍以上高濃度で使用された現行ワクチンにおいて、●回のシヨ糖密度勾配遠心により●%以上除去されることが確認されており、製造方法に違いがあるものの、本剤においても●回のシヨ糖密度勾配遠心及びその後の濃縮・透析により、ほとんどの硫酸プロタミンが効果的に除去されるとしている。

Vero 細胞由来 DNA はウイルス採取工程及び高度精製工程で恒常的に除去され、原液●ロットの実測値●ng/mL から、●倍以上希釈される小分製品での含有量は、WHO（WHO Expert Committee on Biological Standardization, Annex1, 1998（Technical Report Series, No.878））で定められた細胞由来 DNA 含量の基準値（10ng/dose 以下）を大きく下回るとしている。また、Vero 細胞由来たん白質含量は、ウイルス浮遊液に至る工程で約●%、シヨ糖密度勾配遠心で●%以上除去され、小分製品●ロットでは●ng/mL であった。

4) 規格及び試験方法

原液について、無菌試験、染色試験、不活化試験（培養細胞及びマウス）、力価試験、異常毒性否定試験（モルモット試験法）、発熱試験、抗原含量試験（ELISA）、異種血清たん白質含量試験、Vero 細胞由来 DNA 含量試験、たん白質含量試験、総たん白質含量試験及びエンドトキシン試験が規格として設定されている。

5) 標準品又は標準物質

国立感染症研究所から供給されるマウス脳由来の不活化ウイルス液凍結乾燥品である参照日本脳炎ワクチン（力価試験用）は、2～8℃の冷暗所で、たん白質定量用標準アルブミンは遮光して 4℃以下で保存され、いずれも国立感染症研究所により有効期間が定められる。

標準物質として日本脳炎標準抗原（抗原含量試験用：本抗原の抗原含量を●単位/mL と設定）及び自家参照日本脳炎ワクチン（抗原含量試験の試験成立条件の指標、及び力価試験の自家参照品）が設定されている。標準抗原はマウス脳由来の不活化ウイルス液であり●品、●℃保存）、規格は生物基「乾燥日本脳炎ワクチン」の 3.3 小分製品の試験に適合することとされている。残り本数が●本になった場合、又は抗原含量試験（ELISA）において自家参照日本脳炎ワクチンの抗原含量が●単位/mL 以上を示し試験が成立しなくなった場合に、標準抗原は更新される。更新時には規格に適合することが確認されるとともに、自家参照日本脳炎ワクチンの抗原含量をもとに補正され、抗原含量が決定される。