

治験薬インフルエンザワクチン
(H7N9株)の
試験成績及び非臨床試験の結果

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の製造について

(1)原液製造

2013年9月19日～2013年12月11日にかけて、治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)原液 3 ロット(ロット番号:FPBMAH1301～FPBMAH1303)の製造を行った。

- ・ 原液の製造方法:沈降インフルエンザワクチン(H5N1株)の製法に準じた。
- ・ 製造に用いたウイルス株:A/Anhui/1/2013(H7N9)(NIIDRG-10.1)

(2)小分製品の製造

2014年2月17日～2014年2月26日にかけて、原液1ロット(ロット番号:FPBMAH1301)を用いて、治験薬インフルエンザワクチン(H7H9株)小分製品 6 ロットの製造を行った。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株) 小分製品の成分、分量について

表1 治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)小分製品の1 mL中の成分及び分量

配合目的	成分	分量					
		7HA01	7HA02	7HA03	7HS01	7HS02	7HS03
有効成分	不活化インフルエンザウイルス	60 μ g	30 μ g	15 μ g	60 μ g	30 μ g	15 μ g
緩衝剤	リン酸二水素カリウム	0.4 mg					
緩衝剤	リン酸水素ナトリウム水和物	2.5 mg					
等張化剤	塩化ナトリウム	8.10 mg以下			8.03 mg以下		
免疫補助剤	水酸化アルミニウムゲル	無し			アルミニウムとして0.3 mg		
保存剤	チメロサール	0.008 mg					
溶剤	注射用水	適量					

これら6ロットの小分製品の製造には、原液(ロット番号:FPBMAH1301)を用いた。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の試験成績

(1) 原液の試験成績

表2 原液の試験成績

試験名	試験成績		
	FPBMAH1301※1	FPBMAH1302	FPBMAH1303
無菌試験	適合	適合	適合
不活化試験	適合	適合	適合
発熱試験	適合	適合	適合
たん白質含量試験	適合	適合	適合
エンドキシン試験	異常なし	異常なし	異常なし
HA含量試験(HA含有率)	適合	適合	適合
卵アルブミン含量試験	異常なし	異常なし	異常なし
ニワトリ腎初代培養細胞接種試験	適合	適合	適合

※1 原液のロット番号を示した。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の試験成績

(2)小分製品の試験成績

表3 小分製品の試験成績

検体名	試験名	試験成績					
		7HA01※1	7HA02	7HA03	7HS01	7HS02	7HS03
小分製品	pH試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	たん白質含量試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	チメロサル含量試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	ホルムアルデヒド含量試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	浸透圧試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	性状確認試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	採取容量試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	不溶性異物検査	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	不溶性微粒子試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	アルミニウム含量試験				適合	適合	適合
	含量均一性試験				適合	適合	適合
	力価試験(一元放射免疫拡散試験)※2	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
	不活化試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合
	異常毒性否定試験	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし	異常なし
	無菌試験	適合	適合	適合	適合	適合	適合

※1 小分製品のロット番号を示した。

※2 一元放射免疫拡散試験の試薬が準備できなかったことから、たん白質含量にHA含有率を乗じて算出した。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の動物を用いた安全性評価

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の原液、及び小分製品の安全性を評価するため、表4に示した動物試験を行った。

表4 安全性評価を目的として実施した動物試験

	試験動物	試験名	検体
①	マウス	マウス免疫原性試験	原液(試作ワクチン)※1
②		マウス白血球数減少試験	小分製品
③	モルモット	異常毒性否定試験	小分製品
④	ウサギ	発熱試験	原液
⑤	カニクイザル	カニクイザルを用いた免疫原性試験	原液(試作ワクチン)※2

※1 試験用に調製した試作ワクチンを用いた。成分・分量については表7を参照。

※2 試験用に調製した試作ワクチンを用いた。成分・分量については表8を参照。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 動物を用いた安全性評価

・マウスでの評価

①マウス免疫原性試験

原液を用いて試作ワクチンを作製し、マウス免疫原性試験を実施した。試験中のマウスの臨床観察を行った結果、異常は観察されなかった。

【臨床観察項目】

- 1: 外観及び立毛、脱毛等の被毛
- 2: 行動、運動等の行動観察に異常
- 3: 眼、鼻、口及びその周囲部の異常
- 4: 下腹部、肛門部の汚れ及び排泄異常
- 5: 死亡個体も認められなかった。

②マウス白血球数減少試験

小分製品を用いて、マウス白血球数減少試験を実施し、接種後に観察される末梢白血球数減少活性を検討した。その結果、全ての小分製品が判定基準に適合した。

【判定基準】

測定値を統計学的に処理して比較するとき、検体の平均白血球数は、生理食塩水の値の1/2以上でなければならない(生物学的製剤基準「インフルエンザワクチン」小分製品の3.2.8 マウス白血球数減少試験に準ずる)。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 動物を用いた安全性評価

・モルモットでの評価

③異常毒性否定試験

小分製品を用いて、異常毒性否定試験を実施し、接種後の体重変動を指標に異常性を検証した。その結果、実施した全ての小分製品が生物学的製剤基準の判定基準に適合した。

【生物学的製剤基準の判定基準】

観察期間中、いずれの動物も異常を示さないとき、この試験に適合とする。異常には、体重減少が含まれる。接種動物の体重減少が、観察期間中、コントロール群と比較して、 $P=0.01$ のレベルにおいて、統計学的に有意の差を認めてはならない。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 動物を用いた安全性評価

・ウサギでの評価

④発熱試験

原液について、生物学的製剤基準に準じて発熱試験を行なった。その結果、製造した原液3ロット中2ロットが発熱陽性となったが、加熱処理(70°C、30分)した試料では全て陰性となり、試験に適合した。

【考察】

- ・ エンドトキシン試験に適合していること、接種3時間前後から発熱反応が発現していること、加熱(70°C、30分)処理により発熱反応が陰性になったことから、エンドトキシンによるものではなく、ウイルス粒子に由来する発熱活性によるものと考えられた。
これまでに製造したインフルエンザワクチン(H5N1株)原液は同一の試験方法でありながら発熱を認めなかったことから、インフルエンザワクチン(H7N9株)原液に特有の現象と推察された。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 動物を用いた安全性評価

・カニクイザルでの評価

⑤カニクイザルを用いた免疫原性試験

原液をもとに試作ワクチンを作製した後、カニクイザルを用いた免疫原性試験を実施し、試験中のカニクイザルの臨床観察を行った。その結果を以下に示す。

・インフルエンザワクチン2回目接種後2週目(5週後)の採血時に1頭が死亡した。しかし、本例については、採血前の一般状態に異常は認めず、活動性は正常であった。また、剖検においても異常な所見は認めなかった。2.5mL採血のほぼ終了時に突然死亡したことから、採血に対する脱血とストレスによる突然死と判断した。

※死亡した個体に接種したワクチンの成分・分量:

HA含量 60 μ g/mL、アルミアジュバントなし、接種量:0.5 mL/匹

・インフルエンザワクチン2回目接種後2週目(37日目)、1頭に嘔吐痕を認めた。
・これら2頭以外の個体に異常は認めなかった。また、これら2頭を含め、すべての個体の体重の推移に異常を認めなかった。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 免疫原性評価

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の原液の免疫原性を評価するため、表5に示した動物試験を行った。

表5 免疫原性評価を目的として実施した動物試験

	試験動物	試験名	検体
①	マウス	マウス免疫原性試験	原液(試作ワクチン)※1
②	カニクイザル	カニクイザルを用いた免疫原性試験	原液(試作ワクチン)※2

※1 試験用に調製した試作ワクチンを用いた。成分・分量については表6を参照。

※2 試験用に調製した試作ワクチンを用いた。成分・分量については表7を参照。

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の 免疫原性評価

・マウスでの評価

①マウス免疫原性試験

インフルエンザワクチン(H7N9株)の原液、及びインフルエンザワクチン(H5N1株)の原液を用いて試作ワクチンを作製し、マウスにおける免疫原性を比較検討した。

その結果、インフルエンザワクチン(H7N9株)はインフルエンザワクチン(H5N1株)と同様の免疫原性を有しており、またアルミニウムアジュバントの添加により僅かに免疫原性が高くなることを確認した。

表6 免疫原性試験の検体(試作ワクチン)とその成分・分量

検体名 (試作ワクチン)	成分・分量	
	HA含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	アルミニウム含量 (mg/mL)
A/Anhui(H7N9)-AI-15	15	0.3
A/Anhui(H7N9)-AI-30	30	0.3
A/Anhui(H7N9)-AI-60	60	0.3
A/Anhui(H7N9)-P-15	15	0(無添加)
A/Anhui(H7N9)-P-30	30	0(無添加)
A/Anhui(H7N9)-P-60	60	0(無添加)
A/Viet Nam(H5N1)-AI-30	30	0.3
A/Viet Nam(H5N1)-P-30	30	0(無添加)
A/Egypt(H5N1)-AI-30	30	0.3
A/Egypt(H5N1)-P-30	30	0(無添加)

治験薬インフルエンザワクチン(H7N9株)の免疫原性評価

・カニクイザルでの評価

②免疫原性試験

インフルエンザワクチン(H7N9株)の原液、及びインフルエンザワクチン(H5N1株)の原液を用いて試作ワクチンを作製し、カニクイザルにおける免疫原性を比較検討した。免疫後の血清についてHI試験を行った結果、インフルエンザワクチン(H7N9株)原液の免疫原性は、A/Egypt(H5N1)株を製造株とするインフルエンザワクチン(H5N1株)原液の免疫原性より4倍程度低いが、2回の投与後2週目(5週後)に全ての検体がHI抗体価40倍以上となった。また、その免疫原性はアルミニウムアジュバントの添加により僅かに高くなることを確認した。

表7 免疫原性試験の検体(試作ワクチン)とその成分・分量

検体名 (試作ワクチン)	成分・分量		接種量 /匹
	HA含量 (μ g/mL)	アルミニウム含量 (mg/mL)	
A/Anhui(H7N9)-AI-30	30	0.3	0.5mL
A/Anhui(H7N9)-AI-60	60	0.3	0.5mL
A/Anhui(H7N9)-AI-60	60	0.3	1.0mL
A/Anhui(H7N9)-PI-30	30	0 (無添加)	0.5mL
A/Anhui(H7N9)-PI-60	60	0 (無添加)	0.5mL
A/Anhui(H7N9)-PI-60	60	0 (無添加)	1.0mL
A/Egypt(H5N1)-AI-30	30	0.3	0.5mL

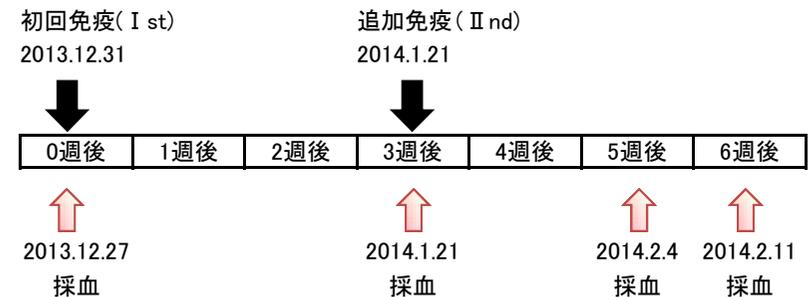


図1 カニクイザルの免疫スケジュール