インフルエンザワクチンの製造と課題

Production and problems of influenza vaccine

財団法人 阪大微生物病研究所　所長　医学博士　奥　野　良　信

Yoshinobu OKUNO
1946年10月生
大阪大学医学部卒業（1973年）
現在、財団法人 阪大微生物病研究会 観音寺研究所　所長　医学博士　ウイルス学、ワクチン学
TEL：0875-25-4182
FAX：0875-23-2517
E-mail：yokuno@mail.biken.or.jp

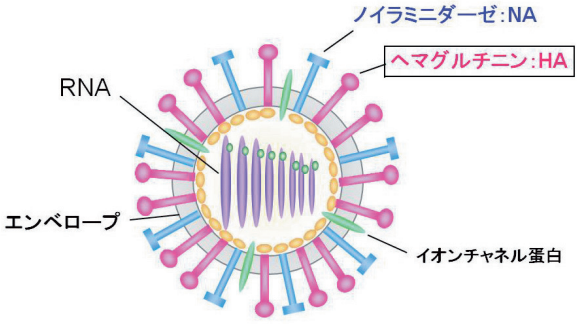

図１．インフルエンザウイルスの構造

１．はじめに

現行のインフルエンザワクチンは孵化鶏卵にワクチン株を接種し、増殖してきたウイルスを精製、不活化したきわめて純度の高いワクチンである。ワクチンの主要な成分は赤血球凝集素（HA）であるが、HA は頻繁に抗原変異を起こすため、毎年ワクチン株の選定を行なう必要がある。ワクチンの安定供給のためには、品質の優れた大量の孵化鶏卵を毎年用意しなければならない。その他、ワクチン製造に関わるいくつかの課題があるが、インフルエンザ対策の基本はインフルエンザワクチンの接種であり、ワクチンメーカーは、それら課題を解決して有効で安全なワクチンを供給することが求められている。

２．インフルエンザウイルスの特徴（図１参照）

ヒトでインフルエンザの流行を起こすのは、インフルエンザウイルスのＡ型とＢ型の２種類である。Ａ型は、ウイルス表面上にある２種類の糖蛋白質、ヘマグルチニン（HA）とノイラミニダーゼ（NA）の抗原性により、多くの亜型に分類される。HA はH1 からH16 の16 種類、NA はN1 からN9 までの９種類の亜型に分かれる。Ｂ型は、はっきりと区別できる２つの系統に分かれるが、亜型に分類できるほどの大きな違いではない。1977 年にＡ型のH1N1（Ａソ連型）が出現して以降、この亜型とＡ型のH3N2（Ａ香港型）、それにＢ型の３種類が流行している。

ウイルス表面抗原、特に HA に対する免疫は感染を抑える。しかし、一つの型、あるいは亜型に対する抗体は、別の型、あるいは亜型の感染をほとんど阻止できない。さらに、同じ亜型のウイルスであっても、大きな抗原変異を起こせば免疫は有効ではない。インフルエンザが毎年流行し、ワクチン株を毎年選択する必要があるのは、HA の抗原性が変化するためである。抗原変異は、大きく連続変異（小変異）と不連続変異（大変異）に分けられる。同じ亜型の中で少しずつ変異を繰り返すのが連続変異で、流行を繰り返す度に起こっている。HA あるいは NA がまったく別の亜型に変わる変異が不連続変異である。すなわちこれは新型インフルエンザの出現ということで、パンデミックを心配しなければならない。

３．インフルエンザワクチンの製造工程

現行の不活化インフルエンザワクチンの製造工程を図２に示す。まずワクチン株を孵化鶏卵に接種し、33～35℃で２日間培養する。培養後、４℃の冷蔵室で一晩放置し、感染尿膜腔液を採取する。次いで、限外濾過法、化学的方法などで濃縮し、蔗糖密度勾配遠心法（以下ゾーナルという）で精製する。ゾーナル精製の場合、０～60%の蔗糖の

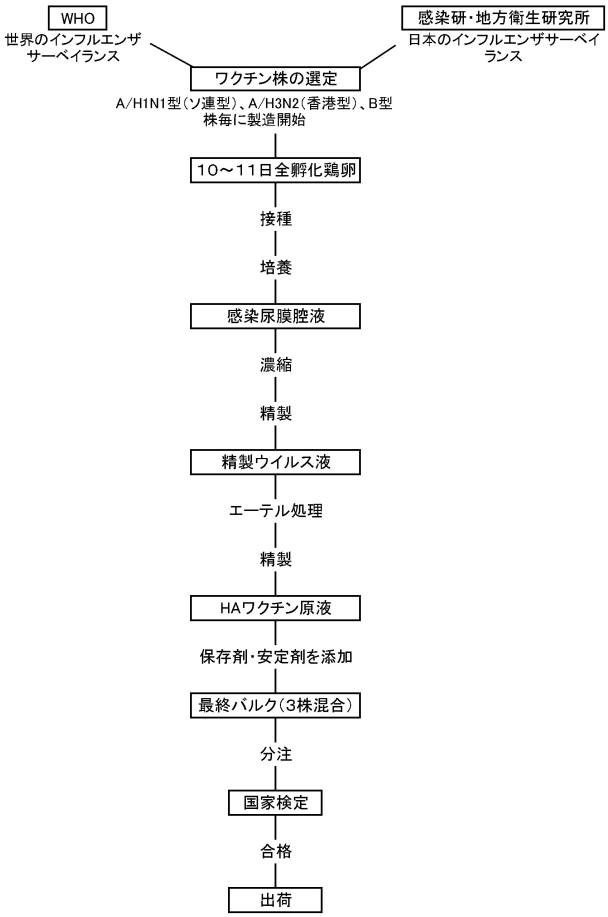

図２.　不活化インフルエンザワクチンの製造過程

密度勾配中で濃縮ウイルスを超遠心（35,000rpm）し、蔗糖密度が 40%前後の画分を採取する。ここには高度に精製されたウイルスが含まれており、電子顕微鏡で観察すると多数のウイルス粒子が見える（図３、左）。

上に述べた精製ウイルスをホルマリンで不活化したのが全粒子型ワクチンで、一部アメリカなどで使用されている。副反応の主な原因と考えられているエンベロープ中の脂質をエーテルで取り除き、主に HA 画分を集めたのが現行のスプリットワクチンである。エーテル処理後にホルマリンを添加し、ゾーナル精製して HA 画分を採取したものが HA ワクチン原液となる。ここにはロゼット状（バラの花の形）になった HA と NA の集合体が観察されるが、それ以外のウイルス蛋白成分も少量ではあるが含まれている（図３、右）。

HA ワクチン原液に保存剤（チメロサール）と安定剤を添加し、最後にそれぞれの株（H1N1、

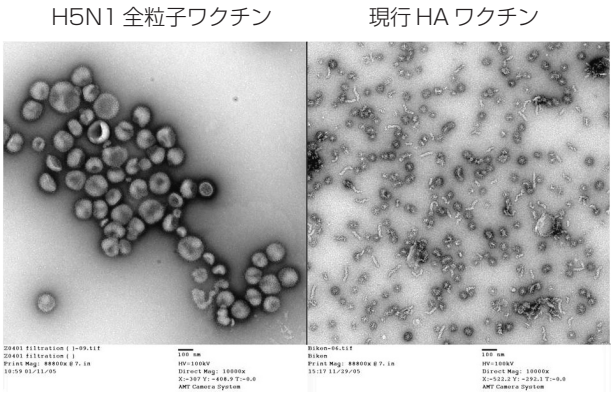

図３.　インフルエンザワクチン

H3N2、B 型）を混合して最終バルクとなる。これを分注したものが最終製品となるが、メーカー独自の自家検定と国立感染研において国家検定を行なって、様々な基準に合格しなければならない。国家検定に合格した小分け製品は包装され、合格証紙が貼られて出荷される。

4．　製造上の問題点

インフルエンザウイルスの感染を防御する主役は HA に対する中和抗体であり、皮下に接種する現行の不活化インフルエンザワクチンでは、常に一定レベル以上の血中の中和抗体価を維持しなければならない。この抗体は流行ウイルスに対する中和抗体でなければ有効でない。すなわち、流行ウイルスとワクチン株の間で HA の抗原性に大きな差があると、いくら強い免疫原性を示す優秀なワクチンを接種しても効果が認められないということになる。これはインフルエンザワクチンの宿命で、頻繁に変異を起こす HA に対抗するために、ワクチン株を選定するシステムが構築されてきた。次のシーズンに流行を起こすと予測される HA の抗原性を持ったウイルスを選び、この中から孵化鶏卵で増殖性の良いものをワクチン株とする。表１に 1990/91 シーズン以降に使用されているワクチン株を示す。H3N2 の株は頻繁に代わっているが、H1N1 は長い間同じ株が使われており、最近の流行の主要な型が H3N2 であることを反映している。

以前のワクチンは、年によっては流行ウイルスとワクチン株の間の抗原性に、大きな差が認められることもあった。しかし最近は、この抗原性は

表 1.　日本におけるインフルエンザワクチン製造株の変遷

ｼｰｽﾞﾝ	A/ソ連型(H1N1)	A/香港型(H3N2)	B型
90/91	A/山形/32/89	A/貴州/54/89	B/愛知/5/88　B/香港/22/89
91/92	A/山形/32/89	A/北京/352/89	B/バンコク/163/90
92/93	A/山形/32/89	A/北京/352/89	B/バンコク/163/90
93/94	A/山形/32/89	A/北九州/159/93	B/バンコク/163/90
94/95	A/山形/32/89	A/北九州/159/93	B/三重/1/93
95/96	A/山形/32/89	A/北九州/159/93	B/三重/1/93
96/97	A/山形/32/89	A/武漢/359/95	B/三重/1/93
97/98	A/北京/262/95	A/武漢/359/95	B/三重/1/93　B/広東/05/94
98/99	A/北京/262/95	A/シドニー/5/97	B/三重/1/93
99/00	A/北京/262/95	A/シドニー/5/97	B/山東/7/97
00/01	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/パナマ/2007/99	B/山梨/166/98
01/02`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/パナマ/2007/99	B/ヨハネスバーグ/5/99
02/03`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/パナマ/2007/99	B/山東/7/97
03/04`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/パナマ/2007/99	B/山東/7/97
04/05`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/ワイオミング/3/2003	B/上海/361/2002
05/06`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/ニューヨーク/55/2004	B/上海/361/2002
06/07`	A/ﾆｭｰｶﾚﾄﾞﾆｱ/20/99	A/広島/52/2005	B/マレーシア/2506/2004
07/08`	A/ソロモン諸島/3/2006	A/広島/52/2005	B/マレーシア/2506/2004
08/09`	A/ブリスベン/59/2007	A/ウルグアイ/716/2007	B/フロリダ/4/2006
09/10`	A/ブリスベン/59/2007	A/ウルグアイ/716/2007	B/ブリスベン/60/2008

良く一致し、信頼性のあるワクチンが提供されている。これにはWHOなどが世界中に監視網を設け、抗原変異を起こしたウイルスを集めて解析する体制をとってきたことが大きな助けとなっている。日本でも、全国各地にある地方衛生研究所などで分離されたウイルスを感染研に集め、ここで抗原解析や遺伝子解析を行い、WHOから提供された情報を参考にしながら日本独自のワクチン株を選定している。

インフルエンザワクチンの製造のためには膨大な数の受精卵が必要となる。一般の食料品としての卵と違い、特別な施設の中でワクチン製造のためだけに飼育された鶏が生んだ卵を使うので、卵1個あたりの単価は高くつく。特別な施設が必要で、しかも本来廃棄している雄鶏も飼育せねばならず、養鶏業者には大きな負担となる。ワクチン製造用の受精卵は、生後半年以上、1年以内の若鶏が生んだ品質の良い卵でなければならず、鶏の準備から数えるとワクチンが出荷されるまでには1年以上の期間がかかることになる。ワクチンの需要が減少したため、一旦ワクチン製造用の鶏の生産を中止すると、需要が増加したからといって急に生産を再開することは困難である。毎年一定のワクチンの需要がないと養鶏業者には大きなリスクとなり、安定したワクチン供給体制はとれない。国がインフルエンザに対する予防政策を確立し、年間のワクチン必要量を予測できる体制がとれなければ、メーカーや養鶏業者にとって大きな負担となり、良質なワクチンの生産はおぼつかない。

インフルエンザワクチン接種後に起こる副反応の大部分は、接種部位の疼痛、腫脹、発赤などであり、重篤なものは稀である。しかし、接種直後のアナフィラキシー反応や、急性散在性脳脊髄炎(ADEM)、ギラン・バレー症候群などの報告もあり、できるだけ副反応を起こす成分の除去に努めなければならない。もちろん、ワクチンの抗原性に影響を与える物質を除くことはできないが。このワクチンは鶏卵で作られるので、卵アレルギーのある者には禁忌と考えられてきた。しかし最近の研究から、アレルギーの原因物質の主要な成分は安定剤として添加されているゼラチンであることが明らかにされ、今ではインフルエンザワクチンからゼラチンは除かれている。ゼラチン以外の成分では、防腐剤として添加されているチメロサールが問題視されている。ワクチンを長期に保存するためチメロサールを完全に除去することはできな

いが、現行のワクチンのチメロサール含量は極めて低くなっている。

5．新型インフルエンザワクチン

日本で新型インフルエンザワクチン開発の議論が始まったのが2004年である。同年、イギリスのNIBSC（WHOの協力機関）がヒトから分離したA/Viet Nam/1194/2004(H5N1)株をリバースジェネティクス（RG法）で弱毒化し、NIBRG-14株を作製した。日本のインフルエンザワクチン製造4所社（阪大微研、北里、デンカ、化血研）はこの株を譲り受け、試作ワクチンを製造した。このワクチンは、発育鶏卵を使用するのはこれまで通りだが、剤形が現行のスプリットワクチンとは異なるホルマリンで不活化した全粒子ワクチンである（図3、左）。さらに、アジュバント（免疫誘導に際し、抗原と混合して投与することにより、免疫グロブリンの産生や細胞性免疫の増強を誘導する物質の総称）として水酸化アルミニウムを加えた（沈降新型インフルエンザワクチン）。この試作ワクチンを用いて非臨床試験を行い、安全性と免疫原性の良好なことが確認された。さらに、臨床試験において安全性、有効性の評価が行われ、2007年10月に（財）阪大微生物病研究会と（社）北里研究所に製造承認が下りた。

2004年以降、世界中でH5N1のヒトへの感染例が継続的に報告され、分離ウイルスの抗原解析で抗原変異が確認されている。先に述べたベトナムの株はClade 1に属しているが、その後、HAは変異を繰り返し、現在の主流はClade 2に移っている。さらに、Clade 2はClade 2-1、2-2、2-3の3種類のSubcladeに分かれ、それらの間の抗原性にはかなりの違いが見られる。プレパンデミックワクチン（パンデミック発生前にパンデミックを引き起こす可能性のあるウイルス株を用いて製造したワクチン）としてベトナム株だけでは不十分で、Clade2-1のA/Indonesia/5/2005(H5N1)、Clade 2-3のA/Anhui/1/2005(H5N1)とClade 2-2のA/Qing-HAi/1A/2005(H5N1)によるワクチンも製造され、平成18年から20年の3年間に、国は3000万人分の備蓄を完了した。

さらに、日本は世界に先駆けてプレパンデミックワクチンを国民、1000万人に接種すると発表した。しかし、これには賛否両論があり、接種対象者を絞って慎重に実施されるものと考えられる。プレパンデミックワクチンを接種する根拠は、このワクチンで前もってプライミングしておけば、新型インフルエンザ出現時のパンデミックワクチンの接種により、強い免疫増強効果が得られるとするものである。現在、この点を検証するため、プレパンデミックワクチンの交差反応性、ブースター効果を調べる治験が進行している。

6．おわりに

現行のインフルエンザワクチンには様々な課題があり、これらを克服して有効で安全なワクチンを安定的に供給するため、多大な努力が払われている。有効性を高める方法として、ワクチンに各種アジュバントを添加する研究が精力的に行われている。また、接種ルートを今までの皮下接種から経鼻接種に変え、局所免疫を誘導する研究も進んでいる。いずれも今のところ試験段階であるが、中には実用化に近いものもあり、今後が期待される。

現在、世界中のワクチンメーカーは、年次ワクチンの製造のため孵化鶏卵を用いている。ところが、高病原性鳥インフルエンザウイルスがパンデミックを起こすと、卵の移動制限等により、孵化鶏卵の入手が困難になることが想定される。また、鶏の雛から卵を準備するとなると、新型インフルエンザワクチンの製造には半年以上かかり、パンデミックの初期には間に合わないと考えられる。これらの問題点を解決するため、現在、細胞培養ワクチンの開発が行われ、一部の海外のメーカーが実用化している。細胞を用意しておけば、いつでも短期間に大量のワクチンを製造することが可能であり、今後は、卵から細胞培養によるワクチン製造に移行すると予想され、当阪大微研会でも準備を進めている。