

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： インフルエンザワクチン製造種株及び品質管理手法の開発に関する研究
2. 研究開発代表者： 板村繁之（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）
3. 研究開発の成果

ワクチン製造のために発育鶏卵での増殖性を確保することを目的にウイルスの継代馴化を行うと、しばしば宿主馴化変異が起こり、これがワクチンの有効性の低下の一因となる場合がある。そこで、鶏卵馴化したウイルス株を発育鶏卵で増殖させて作製したワクチンと培養細胞で分離した馴化のないウイルス株を培養細胞で増殖させて作製したワクチンで誘導される抗体レパトアを開発した次世代シークエンサーを使用した網羅的解析手法を用いて行って、どのような抗体レパトアを誘導すれば宿主馴化の問題を克服することができるのか検討を実施した。その結果、両ワクチンに共通して非馴化ウイルス株に反応する特定の抗体レパトアをより効率良く誘導することができれば、鶏卵ワクチンであっても宿主馴化によるワクチン効果の低下を軽減できる可能性があることがわかった。

これまで、ワクチン接種対象者の免疫感作の有無やワクチンの剤型によって誘導される免疫応答の違いの観点からワクチンの免疫原性の品質管理は実施されてこなかった。そこで剤型の異なる全粒子ワクチンとスプリットワクチンについて、その誘導される抗体応答の質的、量的差異について免疫の接種回数および感染防御能と関連付けて、剤型による免疫誘導能の特性を解析して各剤型の免疫原性の指標を明らかにし、これらの指標に基づくワクチンの新しい免疫原性試験法の開発を行うことを目指した。異なる剤型として全粒子ワクチンとスプリットワクチンについて解析を行ったところ、全粒子ワクチンでは、ウイルスへの結合親和性が高く防御機能も高い抗体が誘導できるのに対して、スプリットワクチンでは親和性が低く防御能も低い抗体が誘導されていることを明らかにした。また、剤型の異なるワクチンの免疫原性を *in vitro* の試験法で指標となる生物学的活性を検索するためにヒト THP-1 細胞を使用して検討し、NF- $\kappa$ B の活性化の程度の違いが全粒子ワクチンとスプリットワクチンで異なることを見出した。さらにこの *in vitro* の活性がワクチンの免疫原性と相関するのか検証を行った。変性状態の異なる全粒子ワクチンについて従来のワクチン力価測定法である一元放射免疫拡散試験法、HA 含量試験法、マウスでの抗体産生能、致死感染防御能と、本 *in vitro* 試験での活性について相関性を解析した結果、本 *in vitro* の活性が有用な全粒子ワクチンの免疫原性の指標となることを明らかにした。さらに、次世代シークエンサーを用いてワクチンの免疫原性を誘導される抗体レパトアの観点から網羅的に解析する手法の開発を行った。本手法の信頼性を、既知のハプテン・キャリアによって誘導される抗体遺伝子のレパトアを検出することによって確認し、その有用性については、先に述べた鶏卵馴化、非馴化ワクチンでのレパトア解析によって明らかにした。

平成 27 年度より 3 価から 4 価ワクチンの移行によって新たな課題として、B 型 2 系統のウイルス株で製造されたワクチンの交差反応によって従来のインフルエンザワクチンの有効成分である HA 含量を測定する一元放射免疫拡散試験法では正確な測定が困難となっていた。このような従来の試験法では困難であった品質管理試験の改良を目的として、一元放射免疫拡散試験法の代替法の開発を行った。B 型のそれぞれの系統に特異的な交差反応を示さない系統特異的なモノクローナル抗体を作製し、得られたモノクローナル抗体を使用して Capture ELISA 法によって力価を測定する試験法を開発した。その結果、混合ワクチンにおいても交差反応もなく正確に測定できることがわかり、4 価ワクチンの力価試験法として有望であることを明らかにした。