

2. ポリオワクチンとポリオウイルスのバイオリスク管理

染谷 雄一¹⁾, 清水 博之²⁾

1) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 第一室長

2) 国立感染症研究所 ウイルス第二部 第二室長

経口弱毒生ポリオワクチンに用いられるセービン株ポリオウイルスから製造された不活化ポリオワクチンは、世界に先駆け、わが国で初めて定期接種ワクチンとして実用化された。セービン株は弱毒化されたウイルスであることから、野生株から不活化ワクチンを製造するよりも比較的安全であるという考えのもとにセービン株由来不活化ワクチンの開発が進められてきた。また、品質管理試験のひとつ（ラット免疫原性試験）においてもセービン株を用いてワクチンの有効性を評価する方が安全性が高い。しかしながら、世界ポリオ根絶が目前に迫ってきた現在においては、野生株、ワクチン株に関わらず、ポリオワクチン製造や品質管理試験を行う施設では、ポリオ根絶最終段階戦略計画 2013-2018 に基づいて、WHO により求められているバイオリスク管理規準に準拠したポリオウイルスの取扱いが必要とされる。現時点では、ワクチン株を含むすべての2型ポリオウイルスが封じ込め対象である。2型ポリオウイルス感染性材料を取扱い、保有する施設では、作業従事者ばかりでなく、環境・地域社会へのウイルス伝播のリスク評価に基づいたリスク管理対策の整備が必要とされる。その後、2型ポリオウイルス取扱い施設は、WHO により示された施設認証計画に従い、施設認証を受ける必要がある。

はじめに

世界ポリオ根絶計画最終段階では、野生株ポリオウイルスおよびワクチン由来ポリオウイルスの伝播終息とその確認のみならず、ポリオウイルス感染性材料を保有する施設に由来するポリオウイルスの地域社会への伝播を最小限とするための取り組みが求められている。不活化ポリオワクチン製造施設では、世界的ポリオ根絶達成以降も多量のポリオウイルスを取扱うことから、わが国でも国際的規準に準拠したポリオウイルスのバイオリスク管理体制整備が必要とされる。本稿では、わが国における不活化ポリオワクチンとそれらの品質管理の現状と、ワクチン製造と品質管

理におけるポリオウイルスのバイオリスク管理の概要について整理する。

わが国のポリオワクチン

2012年はわが国のポリオワクチン定期接種の大きな転換点となった。定期接種ワクチンが、長い年月に渡り使われてきた経口弱毒生ポリオワクチン（OPV; oral polio vaccine）（日本ポリオ研究所製造）から不活化ポリオワクチン（IPV; inactivated polio vaccine）（表1）へと切り替えられたのである。まず9月にポリオウイルス野生株（強毒株）に由来する不活化ポリオワクチン（cIPV; conventional IPV）製剤、次いで11月にセービン株（弱毒株）由来の不活化ポリオワクチン（sIPV; Sabin-derived IPV）を含む4種混合ワクチン製剤（DTaP-sIPV）の販売が開始された。前者はcIPV単独製剤で、サノフィの「イモバックスポリオ皮下注」であり、後者は阪大微生物病研究会（阪大微研会）の「テトラビック皮下注シリンジ」と化学及血清療法研究所（化血研）の「クアトロバック皮下注シリンジ」である。その後、2015年12月にはcIPVを含む4種混合ワクチン製剤（DTaP-cIPV）である北里第一三共の「スクエアキッズ皮下注シリンジ」の販売が開始された。因みに、

連絡先

〒208-0011

東京都武蔵村山市学園4-7-1

国立感染症研究所

TEL: 042-561-0771

FAX: 042-561-4729

E-mail: someya@niid.go.jp, hshimizu@niid.go.jp

表1 わが国で使用されている不活化ポリオワクチン

不活化ポリオワクチン	製剤	製造元	製品名	D抗原含量 (1型、2型、3型)
セービン株由来不活化 ポリオワクチン (sIPV)	sIPV 単独製剤 ^a	—	—	3, 100, 100 sDU/dose
	DTaP-sIPV 4種混合製剤	(財)阪大微生物病研究会	テトラビック皮下注	1.5, 50, 50 sDU/dose
		(財)化学及血清療法研究所	クアトロバック皮下注	1.5, 50, 50 sDU/dose
ソークワクチン (cIPV)	cIPV 単独製剤	サノフィ株式会社	イモボックスポリオ皮下注	40, 8, 32 cDU/dose
	DTaP-cIPV 4種混合製剤	北里第一三共ワクチン株式会社	スクエアキッズ皮下注	40, 8, 32 cDU/dose

^a わが国では sIPV 単独製剤は製品化されていない。cIPV との免疫原性の比較から、1 ドーズ当たりの D 抗原含量が上記の通り設定された³⁾。また、国内参照品 (参照不活化ポリオワクチン (セービン株)) ロット 05J の D 抗原含量の設定値となった。国内の 4 種混合ワクチンの D 抗原含量もこの数値に基づき、臨床試験を通して最終的な D 抗原含量が決定された⁴⁾。

イモボックスポリオおよびスクエアキッズに使用される cIPV 成分の原料はフランスのサノフィ本社で製造されたものである。一方、二社が製造する DTaP-sIPV 製剤の sIPV 成分は、日本ポリオ研究所が開発したものに由来している。2014 年 4 月、日本ポリオ研究所は阪大微研会と合併したため (現 BIKEN 財団ポリオ研究所)、化血研の製剤は阪大微研会が製造した不活化ポリオ原液を原料として用いている。また、武田薬品工業はビル&メリンダ・ゲイツ財団からの資金提供を受け、途上国向け sIPV の開発を進めている。

2012 年 9 月の切り替えに伴い、接種方法も大きく変わった。経口ワクチンから注射剤への変更により、接種回数が 2 回から 4 回 (初回免疫 3 回と追加免疫 1 回) へと増加した。また、生ワクチン接種で問題となっていた定期接種によるワクチン関連麻痺発生のリスクは消失した。一方で、生ワクチンで効果的に誘導されていた腸管免疫が不活化ワクチンのみの接種では期待できないため、野生株やワクチン由来強毒株 (VDPV; vaccine-derived poliovirus) の伝播など、万が一の事態の水際対策としては不十分であるという懸念がある。しかしながら、先行する cIPV 製剤は長期に渡り世界の多くの国で使用されてきており、高い接種率が維持されていれば、その有効性に疑念の余地はない。また、後述するように、間近に迫る世界ポリオ根絶達成に向け、sIPV も含めた IPV が担う役割はますます大きくなってきている^{1,2)}。

ポリオワクチンの品質管理

(1) cIPV の品質管理

cIPV の品質管理試験として D 抗原含量試験が実施されている。D 抗原とはポリオの発症予防に寄与する血中中和抗体を誘導するウイルス表面の抗原を指し、ポリオウイルスの血清型 (1 型、2 型、3 型の 3 つの血清型が存在する) 毎に異なる。N 抗原 (native antigen) とも呼ばれる。これに対し C 抗原 (H 抗原; heated antigen) と呼ばれる抗原があり、熱変性等により D 抗原から生じる。C 抗原に

中和抗体を誘導する能力はない⁵⁾。従って、cIPV 製剤に含まれる D 抗原含量を定量する、つまり、中和抗体誘導に関与する抗原量を測定することで、中和抗体誘導能を間接的に測定してワクチンの有効性を評価していることになる。D 抗原含量の測定は、由来動物の異なる 2 種の血清型特異的抗ポリオウイルス抗体を用いたサンドイッチ ELISA により行い、D 抗原 ELISA と通称される。

cIPV の品質管理試験としては、次の項で解説するラット免疫原性試験を適用することもできるが、WHO TRS No. 910, Annex 2^{6,7)} に記述されるように、長期に渡り多くの施設で使用され、安全性と有効性が確立された cIPV 製剤については、より簡便な in vitro 試験である D 抗原含量試験が国際的に標準化されている。

cIPV については、国際標準品 (IS, international standard) が WHO により確立、承認されており⁸⁾、第 3 次国際標準品 (12/104) が現行ロットとして英国 NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) より入手可能である。

(2) sIPV の品質管理

①国内参照品の制定

OPV 製造に用いるセービン株を使用し、国産の不活化ポリオワクチン開発を行っていた日本ポリオ研究所 (当時)^{9, 10, 11)} は、2001 年に sIPV 単独製剤の製造承認申請を提出したが、臨床試験に関わる問題から、2005 年に申請取消となり、sIPV 単独製剤開発の中止を余儀なくされた¹²⁾。しかしながら、従来世界中で使用されてきた野生株 (強毒株) を用いずに、セービン株 (弱毒株) を使用して IPV を生産する試みは、安全性の観点から遥かに大きな利点があると考えられた。この混乱の一方で、2002 年より、日本ポリオ研究所の sIPV を用いて、阪大微研会、化血研、武田薬品工業が 3 種混合ワクチン (DTaP) に sIPV を加えた 4 種混合ワクチンの開発をそれぞれ開始した。これとほぼ時を同じくして、上記 4 所社に国立感染症研究所ウイルス第二部を加えた、sIPV 品質管理のための国内参照品

確立を目指すワーキンググループが設立された。

日本ポリオ研究所はまず、1ドーズのcIPVがラットに与える免疫原性と同等の力価を示すように、sIPVの1ドーズ(0.5 mL)に含むべきD抗原量(D-antigen unit; DU)をそれぞれの血清型について検討し、最終的に1型3 DU, 2型100DU, 3型100DU/doseとした³⁾。cIPV含有ワクチン製剤に含まれる最小D抗原含量は、国際的に1型40 DU, 2型8 DU, 3型32 DU/doseと定められており、sIPVのD抗原含量と異なる。これは、由来するポリオウイルスの抗原性の違い(野生株かセービン株か)により免疫原性に差があることや、抗原量測定法も含め、どのようにしてそれぞれのIPVのD抗原単位が定義されているかによる。そのため我々は、混乱を避けるために、cIPVのD抗原単位はcDU, sIPVのD抗原単位はsDUと表記することを提案している¹⁾。因みに、わが国のsIPVのD抗原単位はWHO sIPV標品(ロット91/672)に付与された単位に基づいている^{13,14)}。

日本ポリオ研究所はこのD抗原量を含むセービン株由来不活化ポリオ原液を国内参照品候補品として調製し、ワーキンググループに参加する5所社による共同試験として候補品の評価が行われることになった。この際、事前のワーキンググループ会議でラット免疫原性試験のプロトコルを共通化することが決められている。また、5所社は一定期間において国内参照品の免疫原性試験を実施し、都度開催される会議で結果を報告すること、加えて日本ポリオ研究所は候補品のD抗原含量をモニターすることなどもワーキンググループ会議で決定された。

ワーキンググループによる共同試験として、数度にわたって繰り返されたラット免疫原性試験等の結果に基づいて、2005年に製造されたロット05Jが最初の国内参照品として承認されるに至った。これと同時に、免疫原性を示す単位として、全ての血清型に対して1 U/mLが与えられた¹⁵⁾。算出される免疫原性力価の信頼性の観点から、次期候補品は2倍のD抗原含量となるよう日本ポリオ研究所が調製する取り決めがワーキンググループ会議で採択され、2009年に製造されたロット09Aから適用された。このロットは製造後早い段階で5所社がほぼ同時に3度の試験を独立に実施し、その結果に基づいてロット05Jの力価単位に対してロット09Aの力価単位が定義された。ロット09AではD抗原含量の倍加に伴って力価単位も倍加することが確認された¹⁵⁾。ロット09Aは第2次国内参照品として承認され、国内ワクチンメーカーのsIPV含有製剤開発に大きく貢献した。

国内参照品の現行ロットは日本ポリオ研究所が2012年に製造したロット12Aで、ロット09Aと同等のD抗原含量を含む¹⁵⁾。ロット12Aの力価単位はロット09Aをもとに5所社の共同試験により決定された。国内参照品は正式には「参照不活化ポリオワクチン(セービン株)」と呼ばれ、

国家検定試験だけでなく、国内ワクチンメーカーの自家試験やsIPVを含む新規ワクチン開発のための指標として用いられ、国立感染症研究所より交付される。現時点では国内参照品の用途はラット免疫原性試験に限られる。

また、国立感染症研究所ウイルス第二部では、これまでの国内参照品のすべてのロットについて免疫原性力価をモニターしており、2018年6月現在ロット05Jは製造後13年、ロット09Aは製造後9年を経過しているが、いずれも製造時と同等の免疫原性を有しており、優れた安定性を持つことが明らかとなっている。

②ラット免疫原性試験による品質管理

上に述べた国内参照品を試験品(不活化ポリオ原液や4種混合ワクチン製剤)の力価測定のための指標として用いる。基本的な手法は、WHO TRS No. 910, Annex 2の記述に準じている^{6,7)}。国内(ワクチンメーカーと国立感染症研究所)で実施されているsIPVのための力価試験では通常、メスのSlc:Wistarラット(日本エスエルシー社、SPFグレード)を使用する¹⁵⁾。ラットは7週齢で納入し、1週間の馴化後、国内参照品と試験品をそれぞれ接種する。国内参照品と試験品は通常4段階の系列希釈液を調製し、それぞれ1濃度当たり10匹のラットを割り当てる。検体接種から3週間後に麻酔下全採血を施し、血清を分離する。血清中に含まれる中和抗体価は、攻撃ウイルスとしてそれぞれの血清型のセービン株ポリオウイルスを、指示細胞としてHEp-2C細胞(ポリオウイルス感受性が確立されていれば他の細胞でも良い。例えば、Vero細胞など。)を用いて測定する(中和試験)。次いで、国内参照品に定義される免疫原性力価(U/mL)を用いて、平行線定量法により試験品の力価を算出し、規定の力価を有しているか確認する。

WHO TRS No. 910, Annex 2では免疫原性試験に用いるラットの種類(系統)、雌雄、週齢を規定していない^{6,7)}。全ての国あるいは機関で同一のラット(系統などのほか、飼育水準も含めて)を入手することは困難であるから、使用動物の選択はそれぞれに任されることになる。我々は最近、いくつかのラットの系統を対象にIPVに対する免疫応答の差異について検討した。これはわが国でsIPV評価に用いられているSlc:Wistarラットが遺伝的にF344(Fischer 344)ラットに極めて近いという指摘¹⁶⁾を考慮したものである。Slc:Wistarラットのほか、日本エスエルシー社のF344/NSlcラット、日本チャールス・リバー社のCrlj:WIラット(国際的にも流通する真のWistarラット)などに対し、国内参照品(ロット05J, 09A, 12A)を抗原として接種したところ、Slc:Wistarラットで得られる中和抗体価はCrlj:WIラットとは明らかに異なっていた。すなわち、1型ポリオウイルスに対する免疫応答は両ラットでほぼ同等であったのに対し、2型および3型はCrlj:WIラットでSlc:Wistarラットの2倍以上の高い抗体価を示

表2 主要なセービン株由来不活化ポリオワクチン単独製剤1ドーズ当たりのD抗原含量

ポリオウイルス血清型	D抗原含量 (sDU/dose)		
	日本 (旧日本ポリオ研究所)	中国 (Kunming Institute)	オランダ (Intravacc)
1型	3	30	10
2型	100	32	16
3型	100	45	32

セービン株由来不活化ポリオワクチンは世界に3つの主要な開発拠点があり、それらを示した。わが国ではsIPV単独製剤は製品化されていないが、参考のため、開発時のD抗原含量を示した。中国国内にはKunming Instituteとは別に、WHOとIntravaccの技術移転活動によりセービン株由来不活化ポリオワクチンの開発を行うワクチン製造所がある。IntravaccによるsIPVは開発が進められている。

した。一方、F344/NSlcラットのsIPVに対する反応性は、検討に用いた種々の系統のラットの中でSlc:Wistarラットに最も近いものであった。しかしながら、国内参照品に定義される免疫原性力価は、Slc:Wistarラットを用いて決められたものであるが、Crj:WIラットを用いてもロット05Jの力価(全ての血清型について1U/mL)を基準としてロット09Aおよびロット12Aの力価がほぼ同等に算出された。従って、これらの結果は、力価測定に用いる基準(日本国内では国内参照品が該当する)が保証されていれば、試験に用いるラットの系統とは無関係に試験品の力価を算出することができることを示している¹⁷⁾。

③ D抗原含量試験による品質管理

sIPVのD抗原含量試験はcIPV向けの試験と基本的に同じで、由来動物の異なる2種の血清型特異的抗ポリオウイルス抗体を用いたサンドイッチELISAである。わが国の試験法、並びに、試験に用いる抗体や標準物質、参照物質は旧日本ポリオ研究所が開発・作成したものである¹⁸⁾。D抗原ELISAに用いる標準物質のD抗原単位は上述のように、WHO sIPV標品(ロット91/672)に付与された単位に基づいている^{13,14)}。

国内のsIPV含有ワクチンメーカー(阪大微研会、化血研)は、それぞれの4種混合ワクチン製剤のsIPV成分について、ラット免疫原性試験に加えてD抗原含量試験を実施して力価を測定し、品質管理を実施している。国立感染症研究所ウイルス第二部が担当する国家検定試験は現在、ラット免疫原性試験である。このin vivo試験は免役ラットの血清中の中和抗体価を測定するので、試験品の中和抗体誘導能を直接的に評価できる利点があるが、試験開始から完了までおよそ5週間と長い時間を要する。また、実験動物を多数使用するので、動物愛護の点からも代替法検討の余地がある。国内でsIPV製剤が使用されて5年が経過し、sIPV接種者の抗体保有状況調査の結果から、sIPVの有効性が検証されつつある。ラット免疫原性試験では、中和試験に感染性ポリオウイルスを使用する必要があり、後述するGAPIIIに対応した封じ込め施設の中で試験を行わなければならないが、D抗原含量試験ではその必要がない。

試験の利便性の観点からも、試験法の切替えは大きなメリットがある。国立感染症研究所が実施する国家検定試験は、生物学的製剤基準(生物基)¹⁹⁾に基づいている。「不活化ポリオワクチン(ソークワクチン)」「イモバックスポリオが対象」と「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(ソークワクチン)混合ワクチン」(スクエアキッズが対象)では、D抗原含量試験がcIPV成分の力価試験に対し規定されるが、「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ(セービン株)混合ワクチン」(テトラビックとクアトロバックが対象)では、ラット免疫原性試験のみ規定されている。従って、現状では国家検定試験としてD抗原含量試験を行えないので、生物基へのD抗原含量試験の項目を追記し、将来はいずれかの試験でsIPVの品質管理(国家検定)を行えるよう、検討を進めている。

④ 国際標準品制定に向けたWHO国際共同研究

わが国に次いで中国でも2015年にsIPVが承認され、実用化されるに至った。中国医学科学院医薬生物技術研究所(Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences)に属する医学生物学研究所(Institute of Medical Biology (Kunming Institute))が独自に開発を進めてきた単独sIPV製剤である²⁰⁾。また、オランダに本拠を置くNPOであるIntravacc(Institute for Translational Vaccinology)(かつてのNational Institute for Public Health and the Environment (RIVM))も独自にsIPVの開発を行い²¹⁾、WHOと共にsIPV製品の世界展開を進めるべく、開発途上国を中心にsIPV製造および臨床開発のための技術移転活動を進めている²²⁾。このように日本のほかに、中国、オランダ(WHO)がそれぞれ独自にsIPV開発を進めてきたことから、開発済、ならびに、開発中の製剤の1ドーズ当たりのD抗原含量の値(sDU)には大きな差異が認められる(表2)。どの施設もcIPVの免疫原性との比較で、sIPVのD抗原含量を設定し、最終的にはヒトにおける臨床試験で至適抗原量を決定している。各施設で製造しているsIPV抗原の抗原性、抗原量に違いがあるのか、sIPV含有ワクチン製剤(アジュバントの有無を含む)のヒトでの有効性に差があるのか、また、

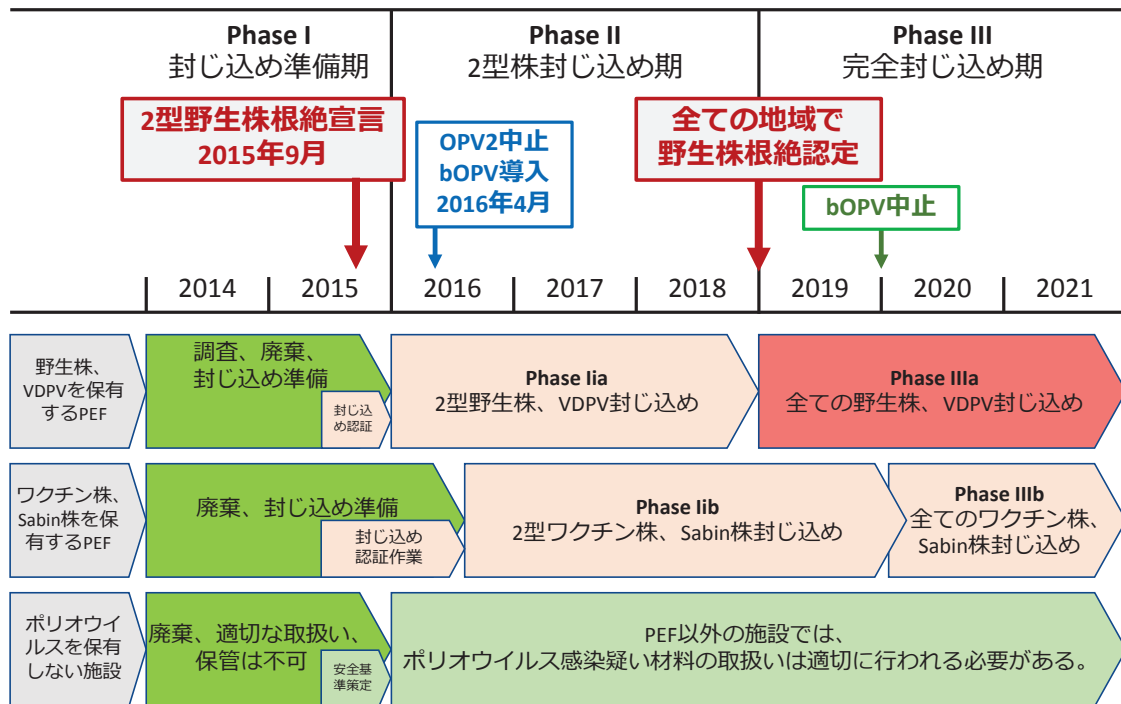


図1 GAPIIIに記載されたポリオウイルス封じ込め要件と達成までのタイムライン

2014年にWHOより公開されたGAPIII²⁵⁾に掲載された図をもとに作成した。2015年9月のポリオウイルス2型野生株の根絶宣言を受け、2016年4月に3価OPV (tOPV)の使用が中止され、代わって2価OPV (bOPV)が導入された。これに伴い、少なくとも1回のIPV接種が実施されることになった。当時の計画では、2018年までに全ての野生株根絶を確認後、2020年からはbOPVの使用を停止し、完全にIPVに置き換ええるとしていた。野生株ポリオ根絶の遅れにより、現在は、図3に示すタイムラインでポリオ根絶達成を目指すとしている。

各施設におけるsIPV抗原定量法の違いによるものなのか明らかではない。D抗原量を定量する際に用いる抗体の性状も影響を及ぼしている可能性がある。どの施設も「セービン株」を用いているが、由来や経歴の微妙な差異、それぞれの施設での管理方法の微妙な差異などが抗原性や免疫原性に影響を与えている可能性も排除できない。

2014年9月、PATH (米国シアトルに本拠を置くNPO)の呼びかけで、世界のいくつかのワクチンメーカーや国家検定機関がセービンIPV力価試験の共通化に関する会議に参集し、その場でsIPV国際標準品制定の必要性が確認された。これを受けて、世界のいくつかのワクチンメーカーがsIPV国際標準品候補品をNIBSCに提供し、それらの評価を数十カ所のワクチンメーカーやワクチン試験機関が実施するWHO国際共同研究がこれまでに(2018年6月時点で)2回行われている。国立感染症研究所ウイルス第二部もこの共同研究に参加し、第1回目は2015年末から、第2回目は2017年末からそれぞれ数ヶ月をかけて国際標準品候補のD抗原含量試験を行い、得られた成績をNIBSCに提出した。NIBSCは世界の各施設からの成績を総括し、2016年5月に開催された第2回会議では第1回

共同研究成果が総括され、それに基づいて第2回共同研究に供される国際標準品候補の絞り込みがなされた。

sIPV国際標準品に関しては、どの候補品が採用されるのかにより、各国・各施設で実施しているsIPV品質管理試験との整合性についての評価および調整が必要となる可能性がある。例えば、日本で既に販売されている4種混合ワクチン製剤と国際単位表記に齟齬が生じる懸念がある。あるいは、国内でのD抗原単位表記は変わらず、国際的に共通化されたD抗原単位を併記することも考えられる。いずれにしても、日本発のsIPVが国際標準品として採用されれば、このような懸念は少なくなる。また、現時点では、sIPV国際標準品がD抗原含量試験のみに適用されるのか、ラット免疫原性試験のための国際標準品としても使用可能なのか、不透明な部分もある。国際共同研究としてラット免疫原性試験はまだ行われていないので、2018年7月の第3回会議での討論の成果と今後の動向が注目される。

ポリオウイルスのバイオリスク管理

ポリオ根絶最終段階戦略計画 2013-2018 (Polio Eradication

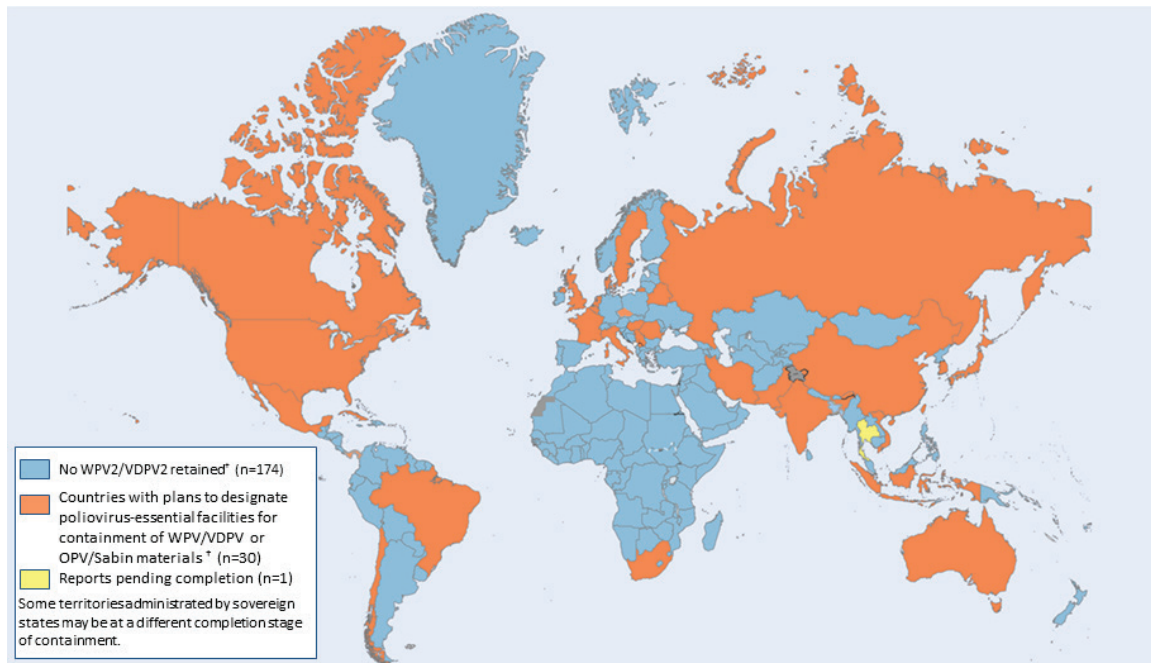


図2 Poliovirus-essential facility (PEF) を保有する国

2018年5月22日の時点で、30カ国の計99の施設がPEF認証を受ける意思のあることを表明している²⁶⁾。GAPIII-CCS³⁴⁾に基づき、それぞれの施設がGAPIII要件を満たしているか、NAC（国家封じ込め認証機関）が判断し、認定する。水色は2型野生株、VDPVを保有しない国と地域、オレンジはPEF認証の意思表示をしている施設を保有する国、黄色は判断を保留している国を示す。

& Endgame Strategic Plan 2013-2018)²³⁾では、世界的ポリオ根絶達成の要件として、野生株ポリオウイルス伝播の終息、3価OPV (tOPV) 接種停止等とともに、ポリオウイルス取扱い施設から地域社会へのポリオウイルス再侵入のリスクを最小限とするための、ポリオウイルスの安全な取扱いと封じ込め活動（バイオリスク管理）の徹底が挙げられている²⁴⁾。そのためWHOは、2014年に、ポリオウイルス病原体管理に関する世界的行動計画第三版であるWHO Global Action Plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of OPV use (GAPIII)を公開した²⁵⁾。GAPIIIは、根絶最終段階におけるポリオウイルスのバイオリスク管理について詳細に示した行動計画であり、世界中のポリオウイルス取扱い施設を、診断・研究・ワクチン製造等に関わる必須な機能を遂行するために要求とされる最小限の認証施設（Poliovirus-Essential Facility; PEF）に限定し、これらの施設では、GAPIIIに示されたバイオリスク管理標準に基づいてポリオウイルスを取扱うことを求めている（図1および図2参照）。

GAPIIIでは、PEFからのポリオウイルス漏出リスクを軽減させるための三段階の予防措置を示している。三段階の予防措置とは、施設への封じ込めによる第一段階予防措置、集団免疫による第二段階予防措置、ならびに、施設設

置場所および管理標準の遵守を国レベルで、かつ、国際的にも確実にすることによる第三段階予防措置をいう。PEFにおける第一段階予防措置は、野生株およびVDPVを対象とするGAPIII-Annex 2、ワクチン株を対象とするGAPIII-Annex 3に分かれており、現時点ではいずれも、2型ポリオウイルスのみを対象としている。

わが国では、2015年12月に厚生労働省結核感染症課がポリオ根絶最終段階戦略計画2013-2018に基づいて、自治体や医療機関・研究機関に対し、不必要なポリオウイルス（2型野生株/VDPV株、2型ワクチン株が含まれる）の廃棄を行うよう通知を発出した²⁷⁾。また、全てのポリオウイルスを保有する施設をリストアップし、保管状況について調査を行っている²⁸⁾。更に、2016年6月には、わが国におけるPEF認証に関して施設要件等の検討を進めることを表明している²⁹⁾。

ワクチン製造および品質管理におけるバイオリスク管理

cIPV製造施設ではポリオウイルス強毒株、sIPV製造施設では弱毒化セービン株を原料とするが、いずれもそれぞれの血清型の感染性ポリオウイルスを多量に培養し、ホルマリンで長時間不活化することによりIPV抗原を製造する。ウイルス大量培養、濃縮、精製、不活化、品質管理（中和抗体価測定）等多くの工程で、大量かつ高濃度の感染性

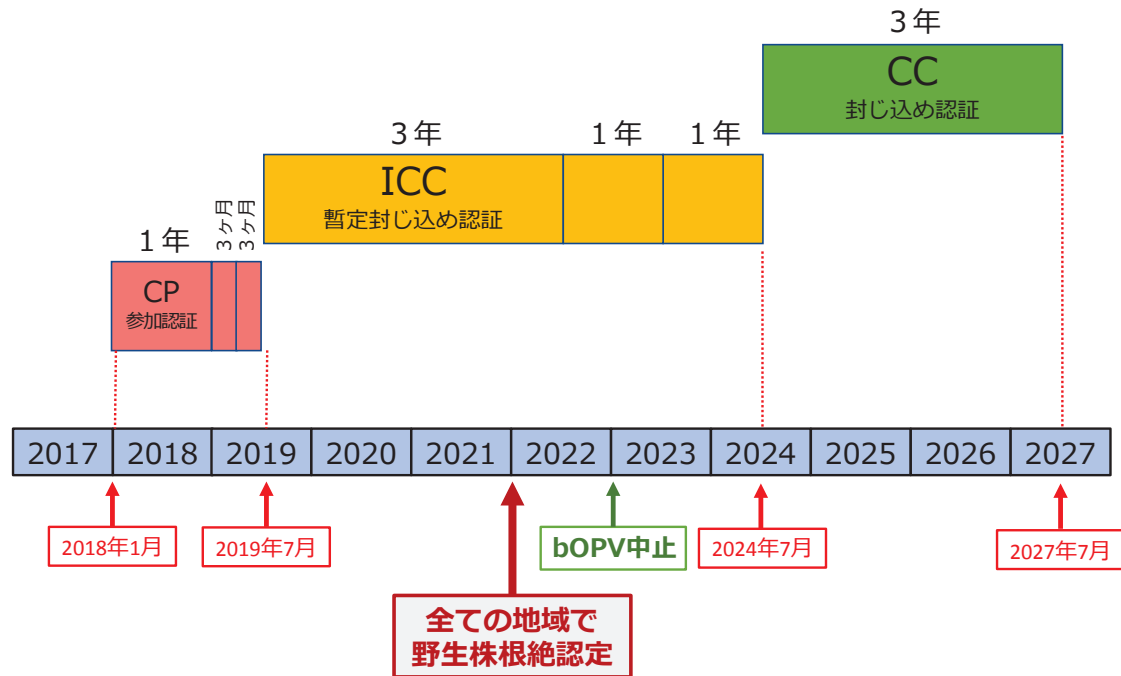


図3 GAPIII-CCSに基づくポリオウイルス封じ込め認証過程

GAPIII-CCS³⁴⁾はPEFがポリオウイルス封じ込め認証を受けるために、3段階の認証過程を規定している。CP (Certificate of participation; 参加認証)、ICC (Interim certificate of containment; 暫定封じ込め認証)とCC (Certificate of containment; 封じ込め認証)であり、それぞれの段階で認証を受けるための要件が規定されている。PEF認定を受けようとする施設はNACに対して認証を得るための申請を行い、NACは世界ポリオ根絶認証委員会と協議してそれぞれの段階の要件を満たしているか評価し、認証を与えることになる。2018年よりCP認証が開始され、スウェーデンの施設が世界初となるCPを得た³⁶⁾。CPを得た施設は要件を満たした上で、ICCを獲得するか、CCを獲得するかを選択をすることができる。CPの有効期間は最長1年で、最長3ヶ月の延長を2回行うことができる。ICCの有効期間は最長3年で、最長1年の延長を2回行うことができる。CCの有効期間は3年で、書類審査や施設査察などGAPIII-CCSに規定される過程を経て、CC再認証を受けることになる。図はCP獲得後、最大限の有効期間を使用した場合の認証過程のタイムラインの例を示している。

ポリオウイルスを使用することから、IPV製造施設におけるポリオウイルスのバイオリスク管理体制の整備と検証は今後大きな課題となる³⁰⁾。実際、インドでは、2000～2003年にかけて、由来は不明だが、cIPVの原料である2型強毒株 (MEF-1株)が地域社会に広範に伝播し、多くのポリオ症例からMEF-1由来株が検出された³¹⁾。最近でも、ベルギーのcIPV製造施設から高濃度の3型強毒株を河川水に誤って放出した事故事例 (2014年)³²⁾、また、オランダのcIPV製造施設で作業員が2型強毒株に曝露し、曝露した作業員の糞便および下水検体から2型強毒株が検出される感染事例 (2017年)³³⁾が報告されている。高いポリオウイルス集団免疫が維持されているベルギーやオランダでは、ポリオ患者や野生株ポリオウイルスの継続的伝播は認められていないが、IPV製造施設から地域社会へのポリオウイルス流出が現在も起こりうる事故であることをあらためて示す事例といえる。sIPV製造に用いるセービン株は、野生株ポリオウイルスと比べると、病原性および

伝播能が低いものの、ヒトでの感染伝播過程で、病原性および伝播能を獲得する可能性があることから、セービン株を対象としたGAPIII-Annex 3に基づいたバイオリスク管理が必要とされている。

すべてのIPV製造施設では、GAPIII Annex 2/Annex 3に含まれる16項目のバイオリスク管理標準に対応し、PEFとして国家認証を受ける必要がある²⁵⁾ (図3)。そのため、IPV製造施設も含め、2型ポリオウイルスを保管・使用するPEF候補施設では、今後、WHOによる封じ込め認証計画 (Containment Certification Scheme; GAPIII-CCS)³⁴⁾に基づいて、国家封じ込め認証機関 (National Authority of Containment; NAC)による施設認証を進めることとなる。我が国では、厚生労働省がNACとしての機能を果たす。第二段階予防措置ならびに第三段階予防措置は、PEFを有する国が評価するが、各施設により整備された第一段階予防措置の妥当性については、NACが検証・評価し、最終的には、世界ポリオ根絶認証委員会と協

議し、NACが施設認証証明を発行することになる。

今後の課題

sIPVは、世界に先駆けて、わが国で初めて開発、導入された新たなIPVであり、製造過程における安全性がcIPVと比較すると高いことから、現実的なIPV製造のオプションとして、途上国を含め世界的な拡がりを見せている。本稿でも概説したように、国内におけるsIPV品質管理については、従来から標準化の取り組みが進められており、ラット免疫原性試験に加え、D抗原ELISAを生物基に追加する方向で検討が行われている。その一方、sIPV品質管理は世界的に標準化されておらず、D抗原ELISA用の標準品選定を含め、sIPV品質管理の国際的共通化に関する動向にも留意する必要がある。

GAPIIIによるバイオリスク管理標準では、sIPV製造施設においても、cIPV製造施設とほぼ同等のレベルのバイオリスク管理が要求される²⁵⁾。GAPIIIによるバイオリスク管理の方向性に当面大きな変更は無いが、GAPIIIに示されている退出時シャワーの必要性等一部項目については、科学的裏付けが乏しいとの指摘もあり、専門家委員会（WHO Containment Advisory Group等）での検討が続けられている。IPV製造施設では、大規模な製造施設における多くの作業従事者を対象としたリスクアセスメントを基盤としたリスク管理が必要なことから、他のPEFとは異なる取り組みが必要とされる。そのため、従来、国際的なIPV品質管理規準とされてきたIPV製造に関するWHOガイドライン（WHO TRS No. 926, Annex 2）³⁵⁾についても、GAPIIIのコンセプトを反映させた改訂作業が進められている。

おわりに

ポリオ根絶は世界共通の目標である。ポリオ根絶最終段階戦略計画2013-2018²³⁾の考え方に基づくGAPIII²⁵⁾ならびにGAPIII-CCS³⁴⁾により、ポリオウイルスを取り扱う施設（ワクチンメーカー、国家検定機関）は今後PEFとしての施設認証を受ける必要がある。GAPIIIでは、ワクチンの製造や品質管理に携わる者だけでなく、査察や緊急時対応のためにPEFに立ち入る者や施設周辺の地域社会に属する人たちも含めて、ポリオウイルス伝播のリスクを低減する方策を述べている。GAPIIIおよびGAPIII-CCSによると、PEF、NAC、WHO等が、異なる役割分担に基づき、ポリオウイルス・バイオリスク管理体制の整備および検証を進めることが求められている。とくに、感染性ポリオウイルスを取扱うPEFは、ポリオウイルスのバイオリスク管理を担う当事者であり、適切かつ厳密な管理のものと感染性ポリオウイルスを取り扱う必要がある。

利益相反事項の開示

本稿に関連し、開示すべき利益相関状態にある企業等はありません。

参考文献

- 1) Shimizu H. Development and introduction of inactivated poliovirus vaccines derived from Sabin strain in Japan. *Vaccine* 34:1975-1985, 2016.
- 2) Okayasu H, Sein C, Hamidi A, Bakker WA, Sutter RW. Development of inactivated poliovirus vaccine from Sabin strains: A progress report. *Biologicals* 44:581-587, 2016.
- 3) Simizu B, Abe S, Yamamoto H, Tano Y, Ota Y, Miyazawa M, Horie H, Satoh K, Wakabayashi K. Development of inactivated poliovirus vaccine derived from Sabin strains. *Biologicals* 34:151-154, 2006.
- 4) Okada K, Miyazaki C, Kino Y, Ozaki T, Hirose M, Ueda K. Phase II and III clinical studies of diphtheria-tetanus-acellular pertussis vaccine containing inactivated polio vaccine derived from Sabin strains (DTaP-sIPV). *J Infect Dis* 208:275-283, 2013.
- 5) van der Marel P, Hazendonk TG, Henneke MA, van Wezel AL. Induction of neutralizing antibodies by poliovirus capsid polypeptides VP1, VP2 and VP3. *Vaccine* 1:17-22, 1983.
- 6) World Health Organization. Requirements for poliomyelitis vaccine (inactivated). Annex 2. WHO Technical Report Series, vol. 910, p. 32-65, 2002. http://www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/polio/WHO_TRS_910_Annex2_polioinactivated.pdf
- 7) World Health Organization. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of poliomyelitis vaccines (inactivated). Annex 3. Replacement of Annex 2 of WHO Technical Report Series, No. 910. WHO Technical Report Series, vol. 933, p. 89-174, 2014. http://who.int/biologicals/vaccines/Annex3_IPV_Recommendations_eng.pdf
- 8) Martin J, Dougall T, Stephens L, Cooper G, Minor PD, Heath A, study participants. Report on the WHO collaborative study to establish the 3rd International Standard (replacement) for inactivated polio vaccine. WHO/BS/2013.2217, 2013. http://www.who.int/biologicals/expert_committee/BS_2217_IPV_3rd_IS.pdf
- 9) 安部忍, 八巻厚司, 土居穰 弱毒ポリオウイルス Sabin 株による不活化ワクチン調整の試み *ウイルス* 36:125-137, 1986.
- 10) 橋爪壮 国産IPVの特徴とポリオ根絶への役割 *臨床とウイルス* 30:336-343, 2002.
- 11) Doi Y, Abe S, Yamamoto H, Horie H, Ohyama H, Satoh K, Tano Y, Ota Y, Miyazawa M, Wakabayashi K, Hashizume S. Progress with inactivated poliovirus vaccines derived from the Sabin strains. *Dev Biol (Basel)* 105:163-169, 2001
- 12) 清水博之 不活化ポリオワクチンの現状 *ファルマシ*

- ア 49:211-216, 2013.
- 13) Wood DJ, Heath AB, Sawyer LA. A WHO Collaborative Study on Assays of the antigenic content of inactivated poliovirus vaccines. *Biologicals* 23:83-94, 1995.
 - 14) Wood DJ, Heath AB. A WHO Collaborative Study on Assays of immunogenicity assays of inactivated poliovirus vaccines. *Biologicals* 23:301-311, 1995.
 - 15) Shirato H, Someya Y, Ochiai M, Horiuchi Y, Takahashi M, Takeda N, Wakabayashi K, Ouchi Y, Ota Y, Tano Y, Abe S, Yamazaki S, Wakita T, the sIPV Evaluation Group of NIID-Virology II. A national reference for inactivated polio vaccine derived from Sabin strains in Japan. *Vaccine* 32:5163-5169, 2014.
 - 16) Nakanishi S, Serikawa T, Kuramoto T. Slc:Wistar outbred rats show close genetic similarity with F344 inbred rats. *Exp Anim* 64:25-29, 2015.
 - 17) Someya Y, Ami Y, Takai-Todaka R, Fujimoto A, Haga K, Murakami K, Fujii Y, Shirato H, Oka T, Shimoike T, Katayama K, Wakita T. Evaluation of the use of various rat strains for immunogenic potency tests of Sabin-derived inactivated polio vaccines. *Biologicals* 52:12-17, 2018.
 - 18) Tano Y, Shimizu H, Martin J, Nishimura Y, Simizu B, Miyamura T. Antigenic characterization of a formalin-inactivated poliovirus vaccine derived from live-attenuated Sabin strains. *Vaccine* 25:7041-7046, 2007.
 - 19) 生物学的製剤基準 平成 16 年 3 月 30 日 厚生労働省告示 第 155 号, 最終改正:平成 30 年 5 月 25 日 厚生労働省告示 第 233 号
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/mrbp.html>
 - 20) Sun M, Li C, Xu W, Liao G, Li R, Zhou J, Li Y, Cai W, Yan D, Che Y, Ying Z, Wang J, Yang H, Ma Y, Ma L, Ji G, Shi L, Jiang S, Li Q. Immune serum from Sabin inactivated poliovirus vaccine immunization neutralizes multiple individual wild and vaccine-derived polioviruses. *Clin Infect Dis* 2017 64:1317-1325, 2017.
 - 21) Verdijk P, Rots NY, Bakker WA. Clinical development of a novel inactivated poliomyelitis vaccine based on attenuated Sabin poliovirus strains. *Expert Rev Vaccines* 10:635-644, 2011.
 - 22) Bakker WAM, Thomassen YE, van 't Oever AG, Westdijk J, van Oijen MGCT, Sundermann LC, van 't Veld P, Sleeman E, van Nimwegen FW, Hamidi A, Kersten GFA, van den Heuvel N, Hendriks JT, van der Pol LA. Inactivated polio vaccine development for technology transfer using attenuated Sabin poliovirus strains to shift from Salk-IPV to Sabin-IPV. *Vaccine* 29:7188-7196, 2011.
 - 23) World Health Organization. Polio Eradication & Endgame Strategic Plan 2013-2018. 2013.
http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2016/07/PEESP_EN_A4.pdf
 - 24) 清水博之 WHO ポリオ根絶最終段階戦略とその実施計画 2013-2018 の進捗 病原微生物検出情報 37:19-20, 2016.
 - 25) World Health Organization. WHO Global Action Plan to minimize poliovirus facility-associated risk after type-specific eradication of wild polioviruses and sequential cessation of oral polio vaccine use. 2014.
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/208872/WHO_POLIO_15.05_eng.pdf
 - 26) Global Polio Eradication initiative. Containment.
<http://polioeradication.org/polio-today/preparing-for-a-polio-free-world/containment>
 - 27) 厚生労働省健康局結核感染症課「世界的なポリオ根絶に向けた、不必要なポリオウイルスの廃棄について(周知及び協力依頼)」健感発 1211 第 1 号 平成 27 年 12 月 11 日
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/dl/topics_20151211.pdf
 - 28) 厚生労働省健康局結核感染症課「ポリオウイルス保管状況の調査について(協力依頼)」健感発 1217 第 1 号 平成 27 年 12 月 17 日
<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000128661.pdf>
 - 29) 厚生労働省健康局結核感染症課「ポリオウイルス封じ込めに向けた我が国の対応について」第 17 回厚生科学審議会感染症部会 平成 28 年 6 月 10 日
<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000128650.pdf>
 - 30) 清水博之, 厚生労働省健康局結核感染症課 ポリオウイルスのバイオリスク管理 病原微生物検出情報 37:22-24, 2016.
 - 31) Deshpande JM, Nadkarni SS, Siddiqui ZA. Detection of MEF-1 laboratory reference strain of poliovirus type 2 in children with poliomyelitis in India in 2002 & 2003. *Indian J Med Res* 118:217-223, 2003.
 - 32) Duizer E, Rutjes S, de Roda Husman AM, Schijven J. Risk assessment, risk management and risk-based monitoring following a reported accidental release of poliovirus in Belgium, September to November 2014. *Euro Surveill* 21:30169, 2016.
 - 33) Duizer E, Ruijs WLM, van der Weijden CP, Timen A. Response to a wild poliovirus type 2 (WPV2)-shedding event following accidental exposure to WPV2, the Netherlands, April 2017. *Euro Surveill* 22:30542, 2017.
 - 34) World Health Organization. GAPIII Containment Certification Scheme. 2016.
http://polioeradication.org/wp-content/uploads/2017/03/CCS_19022017-EN.pdf
 - 35) World Health Organization. Guidelines for the safe production and quality control of inactivated poliomyelitis vaccine manufactured from wild polioviruses (Addendum, 2003, to the Recommendations for the production and quality control of poliomyelitis vaccine (inactivated)). Annex 2. WHO Technical Report Series, No. 926. p. 65-89, 2004.
[http://who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/polio/Annex%20\(65-89\)TRS926Polio2003.pdf](http://who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/polio/Annex%20(65-89)TRS926Polio2003.pdf)
 - 36) Global Polio Eradication Initiative. Sweden takes important first step to demonstrate containment of type-2 poliovirus.
<http://polioeradication.org/news-post/sweden-takes-important-first-step-to-demonstrate-containment-of-type-2-poliovirus/>

Polio vaccines and biorisk management of polioviruses

Yuichi SOMEYA and Hiroyuki SHIMIZU

Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases

4-7-1 Gakuen, Musashi-Murayama, Tokyo 208-0011

someya@niid.go.jp, hshimizu@niid.go.jp

Japan is the first country where inactivated polio vaccines derived from Sabin attenuated strains, which are used to manufacture oral polio vaccines, were introduced in routine immunization program. The Sabin-derived inactivated vaccine has been developed based on the fact that Sabin strains are less neurovirulent and manufactured at safer production facilities than wild polioviruses. It is also convincing that Sabin strains are more safely used for evaluating the efficacy of inactivated vaccines in rat immunogenicity tests. However, in the current situation where polioviruses are close to being eradicated, the facilities that manufacture vaccines and/or conduct quality control of them are needed to meet the biorisk management requirements established by WHO, which are based on the Polio Eradication & Endgame Strategic Plan 2013-2018. At present, type 2 polioviruses including Sabin 2 strain should be contained in the facilities which meet the WHO biorisk management requirements. The respective facilities are expected to give full consideration based on a careful risk assessment of viral transmission not only to personnel, but also to the environment and the community around the facilities, and the establishment of biorisk management will be needed. Thus, the facilities handling and storing infectious polioviruses must be certified as poliovirus-essential facilities following the WHO biorisk management requirements.