



Title	細胞培養日本脳炎ワクチン（ジェービックV®）の開発
Author(s)	上田, 重晴
Citation	makoto. 2009, 148, p. 2-7
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/85729
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

細胞培養日本脳炎ワクチン(ジェービックV®)の開発

大阪大学名誉教授
財阪大微生物病研究会理事

上 田 重 晴

1. はじめに

わが国で日本脳炎の予防にワクチンが使用され始めたのは1954年からである。当時は毎年1,000人を越える患者が出ていた。以来、ワクチンは改良に改良が重ねられ、きわめて精製が進んだ製剤として、今日に至っていた。1,000人を越えた患者数も予防接種の普及につれて次第に減り、1990年以降は年間10人以下にまで減少した。そのような背景の中、ワクチンがマウス脳で増殖させたウイルスを使用して製造されていることから、神経系の副反応に対する危惧の念が払拭できず、2005年5月30日に急性散在性脳脊髄炎(acute disseminated encephalomyelitis, ADEM)との絡みで、日本脳炎の定期予防接種について積極的勧奨を差し控えるという厚生労働省健康局結核感染症課長勧告が出された。以後、日本脳炎の定期予防接種は接種率が低迷し、ほぼ中止状態に至った。

一方、時を同じくして、たまたま開発中であった細胞培養日本脳炎ワクチンに期待が集まると同時に、安全性については非常にシリアスに評価を受ける状況が生じた。そのために、細胞培養日本脳炎ワクチンの市販はほぼ3年遅れて、今年(2009年)6月2日ようやく市販されることになった。

本稿では、日本脳炎のわが国における現状とようやく市販された細胞培養日本脳炎ワクチン(販売名:ジェービックV®)について、その治験成績の概略を示す。

2. 日本脳炎の現状

2-1. 日本脳炎ウイルスと疫学状況

日本脳炎ウイルスは、表1に示したように、

1935年に東京で脳炎患者の脳から分離されたが、日本脳炎ウイルスのオリジンは東南アジアである⁽¹⁾。

表1. 日本脳炎 Japanese encephalitis

病原体: 日本脳炎ウイルス Japanese encephalitis virus
1935年 東京の脳炎患者脳から分離された
オリジンは東南アジア

脳炎患者数: アジア全体で年間3~5万人

臨床像: 脳炎 髄膜炎

- ・発熱(38~40℃ あるいはそれ以上)
- ・頭痛 悪心 嘔吐 眩暈 腹痛 下痢(小児)
- ・項部硬直 光線過敏 意識障害
- ・筋硬直 不随意運動 振戦 麻痺 病的反射

潜伏期: 6~16日

致死率: 20~40%

後遺症: 生存者の45~70%

- ・パーキンソン様症状、精神発達遅延、精神障害

(国立感染症研究所 感染症情報センターHPからのまとめ)2008.8.

アジア諸国では、毎年3万人から5万人くらいの患者が発生しているとWHOでは推定している。臨床像は、典型例では脳炎であるが、症状にバラエティが多く、髄膜炎から単なる発熱に終わる例も少なくない。流行期はウイルスを媒介する蚊が発生する夏から初秋であるので、夏カゼに終わってしまっている例も多々ある。不顕性感染が非常に多く、感染者1000人あたり発症するのはせいぜい10人くらいとされている。しかし、脳炎を発症すると致命率は20~40%に達し、死を免れても神経系の後遺症を残すことが多い。

日本脳炎ウイルスはフラビウイルス科フラビウイルス属に分類されるウイルスで、仲間にはデング熱ウイルス、西ナイルウイルス、黄熱ウイルスが分類されている。ウイルス粒

子は有膜でRNAを遺伝子とする。ウイルス粒子の直径は50nmである。夏期に東南アジアから渡ってくるサギなどの野鳥が自然宿主で、コガタアカイエカ、アカイエカなどの蚊がウイルスを媒介する¹⁾。イエカの他にはヤブカの仲間も媒介する。蚊の唾液腺でウイルスが増殖するため、ウイルスは蚊の吸血行為によって媒介されてる。ブタは感染を受けても無症状で、ウイルス血症を起こすので、ウイルスの増幅動物となる。妊娠ブタは流産を起こすので、畜産上では問題となる。

渡ってきたサギなどの鳥がウイルス感染を受けていると、蚊の吸血行為によって、蚊の感染、ブタの感染、あるいは野鳥の感染というような感染サイクルが成立するので、ヒトがこのサイクルの中に巻き込まれると感染を受けることになる。日本脳炎ウイルスの活動状況は、新生ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体獲得状況を基にして計算され、国立感染症研究所のホームページに掲載される。毎年、7月中旬には九州地方からブタの抗体陽性率が上昇し、以降桜前線よろしく、抗体陽性ブタの検出率の上昇とともに陽性地域が北上する。昨年10月には秋田県のブタで抗体陽性率が50%を超えた。また、以前には北海道は日本脳炎がないといわれていたが、昨今では北海道のブタでも抗体陽性率は50%以下ではあるが、陽性になっている。東日本や北日本での陽性率は西日本ほどではないが、昨今では日本全国どこでもウイルス保有蚊は活動している、すなわち、ヒトが感染を受けるリスクはあるという状況になっている。

2-2. 日本脳炎患者発生数の変遷

わが国での日本脳炎患者数は、1960年代は毎年1000名を超えていた。しかし、1954年からマウスの脳を材料にして製造された日本脳炎ワクチンが市販され、予防接種が始まったこと、住宅の防虫対策（窓に防虫網が付けられるようになった）が進歩したこと、殺虫剤が普及したこと、住宅地近辺から水田がなくなって行ったこと、あるいは養豚場が人里か

ら離れたところに移ったことなどから、住宅地近辺では蚊そのものの数が減少し、また、蚊のウイルス保有率も減少したことを反映して、患者数は1980年代では2桁台、1990年代からは1桁台に減少した。なお、最近の患者発生は西日本に限られていて、成人、高齢者が多い。

3. 日本脳炎の予防接種

3-1. 日本脳炎定期予防接種の積極的勧奨の差し控え勧告

平成17（2005年）年5月30日に厚生労働省健康局結核感染症課長は「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）」を発出した。当年の5月に疾病・障害認定審査会で、マウス脳由来ワクチンの接種を受けて重症のADEM（急性散在性脳脊髄炎）を発症した小児について、厳格な科学的証明に基づくものではないが、ワクチン接種との因果関係が認められたことを受けて、慎重を期すために発出されたものである。

この勧告の後、日本脳炎の定期予防接種は全国的にはほとんど中止に近い状況に陥り、標準的には3歳から始まる予防接種の接種率は3歳児の接種率が10%前後にまで低下した。以降、この状況は2009年6月に後述する細胞培養日本脳炎ワクチンが市販されるまで続いた。

3-2. ADEMと日本脳炎ワクチン

ADEMはまれな中枢神経系の疾患で、その多彩な臨床像は表2にまとめたが、麻しんや風しん、インフルエンザなどの感染症に引き続いて発症する場合のほか、誘因や原因が明らかでなく発症してくる場合も多く、ワクチンとの因果関係を証明するのが難しい。

ちなみに、薬事法に基づいて、日本脳炎予防接種後のADEM発生の調査が行われるようになったのは2002年からで、2005年の5月までに重症のADEM患者が報告されたのは、2003年の5件、2004年の2件のみであった。

表 2. ADEMの臨床像

全身症状
発熱、全身倦怠、筋肉痛、頭痛、悪心／嘔吐 が中枢神経症状に先行する
中枢神経症状(誘因があった4～21日後に発症し、 数日以内に極致に達する)
脳症：無気力～昏睡
局所性～多巣性の神経症状：片側不全麻痺、 顔面神経麻痺、 不全対麻痺
その他：髄膜炎、運動失調、運動障害、けいれん、視神経炎、 横断性ミエロパシー
回復：数日以内に始まるが、数週～数ヶ月を要する例が多い。 完全回復：50% 致死率：10～30%
若年層、小児に多い。

Garg, RK, Postgrad Med J, 79:11, 2003

最も多かった2003年に日本脳炎の予防接種を受けた延べ人数は447万人であったので、この年について計算すると90万回接種当たり1件の発生率になる。また、ワクチンと関係なく調査されている宮崎千明先生らによるわが国の疫学調査の結果では、年間の発生数は60人程度と推定されている(表3)ので、紛れ込みか、真の副作用なのかを判断することは大変難しいことである。

さきの積極的勧奨の差し控え勧告の中に出てくる「・・・よりリスクが低いと期待される組織培養法による日本脳炎ワクチンが現在開発中であり、・・・」という文言は今年市販された細胞培養日本脳炎ワクチンについて過度の期待感を植えつけた感じがある。ADEMは日本脳炎以外のワクチン接種後にも副反応として報告されているし、頻度的にも大差がないので⁽²⁾、細胞培養日本脳炎ワクチンを用いて再開された日本脳炎の予防接種後に副作用としてのADEM発生がどの程度出てくるのか、予測は立っていない。今後も発生する可能性はゼロではない。その時にどう取り扱うのか、難しい課題である。

4. 細胞培養日本脳炎ワクチン

4-1. 開発の経緯

マウスの脳でウイルスを増殖させ、脳から

表 3. わが国におけるADEMの疫学的特徴
(1981～2002年の調査結果)

季節	一定の季節性はない
年齢	4～5歳、6～9歳に多い 平均：5歳11ヶ月、中央値：6歳
頻度	0.38人/小児人口10万人 年間発生数：60人程度
予後	全治：19% 軽快：66% 後遺症：8%

宮崎千明、植田浩司、岡田賢司：AND 7 調査における急性散在性脳脊髄炎(ADEM)の特徴、厚労科学研究「ワクチンの安全性向上のための品質確保の方策に関する研究」平成17年度研究報告書(平成18年3月)215-219頁より引用

ウイルスを取り出して製造するマウス脳由来ワクチンは世界で初めてわが国で実用化され、1954年に市販された。以来、このタイプのワクチンは改良に改良を重ねられ、因果関係ははっきりしないADEMを除いては、ほとんど副反応がない、免疫効果の優れた完成品に近いワクチンであったと私は思っている。

ただ、マウスの感染脳をワクチン材料に使用しているということから、脳物質の混入が払拭できず、それがADEMの発症とリンクされる危惧は消えなかった。しかし、ADEMは多巣性の脱髄が脳内に起こることが病因であり、脱髄はミエリンタンパクに対する自己免疫反応であるが、マウス脳由来のワクチンからミエリンタンパクは現在の技術では検出できないので、サイエンスとしてマウス脳由来ワクチン接種とADEM発生の因果関係を証明するのはきわめて困難なことである。

しかし、私どもがマウス脳から細胞培養にウイルスを増殖させる細胞を変えようと考えたのは、動物を使用していると動物が持っている微生物の除去をはじめ、いかに動物の飼育環境をクリーンにしても、ワクチンの品質管理が大変な作業になること、マウスの使用量が年間何百万匹という大量になるので、1年前に製造量を決めてマウスを発注をしなければならぬため、急な製造量の変更ができないこと、マウスの脳内にウイルスを接種し、

発症寸前のマウスから脳を採取する作業が動物愛護に逆行すること、などの理由からで、私どもが細胞培養日本脳炎ワクチンの開発を始めたのは1995年であった。もちろん、脳を使用しないことから脳物質の混入については心配する必要はなくなった。

4-2. 細胞培養日本脳炎ワクチン (販売名：ジェービックV®)

細胞培養日本脳炎ワクチンを製造するウイルス株は、マウス脳由来のワクチンと同じ日本脳炎ウイルス北京株で、従来と変わりはない。ウイルスを培養する細胞はVero細胞にした。Vero細胞は、安村美博博士（現独協医科大学名誉教授）が千葉大学医学部に在籍しておられたときに、アフリカミドリサルの腎臓細胞から樹立された細胞株である。インターフェロンを作らないので、種々のウイルスの培養に適している。WHOは自然資源保護の目的から、この細胞を使用してのワクチン製造を推奨しており、外国ではすでに不活化インフルエンザワクチンや不活化ポリオワクチンの製造に使用されている。私どもはこの細胞を米国のATCC（American Type Culture Collection）から購入し、WHOの基準に決められたテストを済ませた上で、マスターセルバンクを作製し、製造に備えた。

ワクチン原液は、北京株ウイルスを感染させたVero細胞の培養液からウイルスを回収・濃縮し、ホルマリンで不活化後、精製したものである。それ以降の製造工程はマウス脳由来ワクチンと同様であるが、製剤は凍結乾燥品とした。それによって、有効期限が複数年に延長できた（現時点では製造日から2年間であるが、将来的には5年間にする予定である。）ほか、ワクチンからチメロサルや2PEのような保存剤を除去することができた。培養中のVero細胞とワクチン中のウイルス粒子は図1に示した。

4-3. 第3相治験の成績

数年前に細胞培養日本脳炎ワクチンが出来、

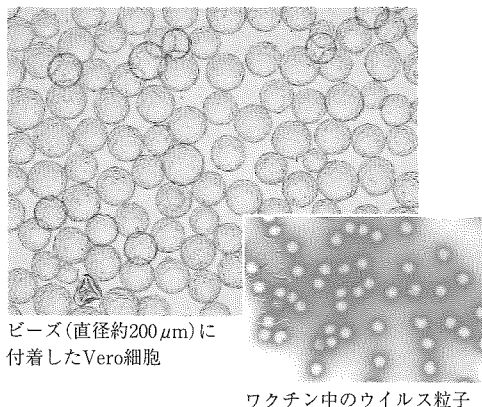


図1. ビーズに附着したVero細胞とワクチン中の日本脳炎ウイルス粒子

非臨床動物試験で種々のテストに合格した後、成人の第1相治験を済ませ、小児を対象に第3相治験に進んだ。抗体反応は対照にしたマウス脳由来ワクチンより優れていたのが、副反応の出現率が対照のマウス脳由来ワクチンより少し頻度が高いという結果になった。そのため、例の課長勧告が出た直後でもあったせいか、将来重篤な副作用が出るサインかも知れないという懸念から、抗原量を3段階に変量した追加の治験をすることになった。

追加試験のデザインは図2に示した通りである。前回の治験で用いた抗原量（10 μ g/mL）を1とし、これの1/2、1/4量の3段階に減量した抗原量を含有する治験薬を作成し、それぞれをH、M、L剤とした。接種

- 対象者：生後6ヵ月以上90ヵ月未満の健康小児
- デザイン：多施設二重盲検群間比較試験
- 目標被験者数：360例（1群120例）
- 試験群：BK-VJE
 - 1/1濃度（002/003試験の10 μ g-P/mL）
 - 1/2濃度
 - 1/4濃度
- 評価項目：[有効性]中和抗体陽転率及び抗体価の検討
[安全性]有害事象の発現頻度と程度の検討



図2. 第3相追加治験（BK-VJE/004試験）

は予防接種ガイドラインに沿って、3歳以上では0.5mL、3歳未満では0.25mLを、1～4週間隔で2回皮下に接種し、6ヶ月～12ヶ月後に1回皮下に追加接種をした。

有効性は、日本脳炎ウイルス中和抗体価の陽転率と抗体価で評価した。結果は、**図3**に示したように、抗体価は抗原量に依存してH剤群で最も高く、M剤群、L剤群の順に低くなった。

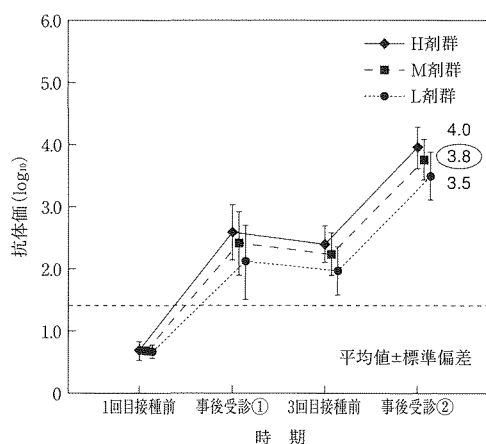


図3. BK-VJE/004試験、中和抗体価の変動

3回目の追加接種後の幾何平均抗体価は、H剤群から順に10の指数で4.0（真数で10,000倍）、3.8（真数で6,300倍）、3.5（真数で3,000倍）であった。抗体陽転率はいずれの群でも追加接種後は100%であった。この度市販されたワクチンは、次に記す安全性との関係で、M剤である。H剤に比べ少し抗体価は低いが、日本脳炎の場合、マウスの実験で、血中抗体価が10倍あれば強毒ウイルスの攻撃に耐え、脳炎発症を予防できるので、6,300倍という抗体価はかなりの長期間の免疫状態を保障できるであろう。

安全性については、主な副反応として、注射局所の発赤と腫脹、および発熱を取り上げた。副反応出現率は、H剤群、M剤群、L剤群の間で、H剤群での出現率がやや高く、M剤群、L剤群の間では、統計学的な有意差は認められなかったため、抗体価を勘案して、M剤に製造販売承認が与えられた。

市販されることになったM剤の接種を受けた群について、注射局所の発赤と腫脹、および発熱の出現率を以下に記す。

1回目接種後の頻度はそれぞれ、5/123 (4.1%)、3/123 (2.4%)、12/123 (9.8%)であった。2回目接種後の頻度はそれぞれ、8/122 (6.6%)、2/122 (1.6%)、13/122 (10.7%)であった。3回目接種（追加接種）後の頻度はそれぞれ、2/122 (1.6%)、1/122 (0.8%)、6/122 (4.9%)であった。局所反応の程度はすべて軽度であった。

表4. 細胞培養日本脳炎ワクチン(ジェービックV®)の添付文書に記載した副反応出現率の内訳

症 状		副反応発現率		
		1回目接種後	2回目接種後	3回目接種後
局所症状	注射部位 紅斑	4.1% (5/123例)	6.6% (8/122例)	1.6% (2/122例)
	発 熱	9.8% (12/123例)	10.7% (13/122例)	4.9% (6/122例)
全身症状	咳 嗽	6.5% (8/123例)	4.1% (5/122例)	2.5% (3/122例)
	鼻 漏	4.1% (5/123例)	3.3% (4/122例)	2.5% (3/122例)

発熱の程度は、軽度 (37.5～38.0℃)、中等度 (38.1～39.0℃)、高度 (39.1℃以上) の順に、1回目接種後では、6.5%、2.4%、0.8%であった。2回目接種後では、6.6%、1.6%、2.5%であった。3回目接種後では、1.6%、2.5%、0.8%であった。

副反応発現日は、ほとんどが接種当日から3日以内であった。比較的頻度が高かった注射局所の反応（紅斑＝発赤）と発熱を表4にまとめた。なお、咳そうや鼻漏が数%出ているが、不活化ワクチンを接種してかぜ様の症状が出ることは考えにくい。現在の治験システムの問題点かもしれない。副反応は、接種回数が増えても増強する傾向はなかった。なお、シリアスな副反応は今回の治験規模では認められなかった。

4-4. 今後の予防接種の進め方

細胞培養日本脳炎ワクチンは現時点で供給は(財)阪大微生物病研究会1社のみであって、供給量に限りがある上、ほぼ丸4年间接種が止まった状況にあったことから、第1期分として3~400万人、第2期分として同数の小児が接種待ちの状態であるので、ワクチンとしては1000万ドーズ以上必要という計算になる。また、治験は第1期の予防接種スケジュール

表5. 細胞培養日本脳炎ワクチンの使い方
—今後の予防接種の進め方—

1. 定期的予防接種に使用できる
第1期最初2回の基礎免疫を優先する
第2期の予防接種に関しては
有効性・安全性についての知見が得られていない
2. 供給量が限られていることから、積極的に勧奨する段階ではない
3. 重篤な副反応を迅速に把握・評価できる体制の確認・構築が必要である
接種者数の速やかな把握が重要
4. TSE(伝達性海綿状脳症)に関して
本ワクチンのマスターシード、マスターセルバンク調製時に、米国または日本産のウシ血清、乳製品を使用している。
理論的なリスク評価は一定の安全性が確保できる目安に達しているが、そのリスクに関して、被接種者あるいは保護者に説明すること
5. 経過措置について
未接種者に対する経過措置を検討していく

予防接種に関する検討会の提言(2009.3.19.)から抜粋

ルしか実施していないので、製造販売承認後に厚労省の「予防接種に関する検討会(座長:加藤達夫国立生育医療センター総長)」は、「細胞培養日本脳炎ワクチンの使い方—今後の予防接種の進め方—」について、提言を行った。その骨子は表5にまとめた。

ADEMの問題、供給量の問題から、本ワクチンは定期的予防接種に使用できるが、積極的に予防接種を勧奨できる段階ではないということ、また、第2期の予防接種については治験を行っていないため定期的予防接種としては扱えないということである。後者の問題については、現在研究班が組織され研究が始まっているので、いずれデータが出次第、結論が出されると予想している。

また、市販された6月2日付けで、ほぼ同様理由から、厚生労働省健康局長通知が出された。概略を表6にまとめた。安全性(ADEMの発生頻度がどのくらいになるのか)と数量が課題である。なお、接種待ちの間に90ヶ月の年齢を超えてしまった小児については、定期接種扱いに出来るように経過措置を検討するという事になっている。

表6. 定期的予防接種における日本脳炎ワクチン接種の取り扱いについて

厚生労働省健康局長通知 平成21年6月2日

1. 安全性の確保
(1) 医療機関
ア: 十分な説明と同意に基づいて接種すること
イ: 副反応は直ちに市区村長へ報告
製造販売業者の当該情報収集への協力
ウ: 定期予防接種の接種者数の把握依頼への協力
エ: 第1期初回2回の接種を完了できるよう、必要量を注文、在庫管理に留意
(2) 製造販売業者
ア: 副反応の速やかな報告、適正使用に関する情報の医療機関への提供、安全性に関する情報収集に努める
イ: 第1期初回2回の接種に対する在庫管理
2. 積極的な勧奨
積極的に勧奨接種を行う段階に至っていない
対象期間を超過した者に対する経過措置の検討

おわりに

待ちにまったという感じが強い細胞培養日本脳炎ワクチンであるが、いろいろと課題を抱えた状況での実用化になった。慎重に育てていただければ幸いである。

参考文献

1. Solomon, T. et al, Origine and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia. J. Virol., 77 : 3091-8, 2003
2. Menge, T. et al., Acute disseminated encephalomyelitis: An update. Arch. Neurol., 62 : 1673-80, 2005
3. Garg, R.K. Acute disseminated encephalomyelitis. Postgrad. Med. J., 79 : 11-7, 2003