

BCGワクチンの国際参照品制定とWHO基準改定について

日本BCG研究所
山本 三郎

BCGワクチンの国際参照品制定とWHO基準改定の経緯について述べてみたい。いささか旧聞に属する話題ではあるが今後の再改定に際し参考になれば幸いである。

1924年に志賀潔がCalmetteから直接分与された菌株は、北里研究所、伝染病研究所（伝研）と大阪竹尾研究所で保管されてきた。1937年以来、日本学術振興会に結核予防委員会が設立され、BCGワクチンの研究がなされたときはこれらのうち伝研株と竹尾株が用いられた。両菌株の性質はほとんど一致していたが、ヒトに使用した経験の多い、竹尾株がワクチン製造用株として、グリセリン加ウシ胆汁馬鈴薯培地で継代培養され、財団法人結核予防会結核研究所（結研）を経て、戦後、国立予防衛生研究所（予研；現国立感染症研究所）に受け継がれた（柳澤謙メモより；柳澤は結研～予研でBCG主任を歴任）。予研が維持したBCG菌株は初期は液体ワクチンとして継代されたが、1961年にTokyo 172株として凍結乾燥シードロットが作成された。一方、1965年、WHOは凍結乾燥BCGワクチンの「初代国際参照品（The First International Reference Preparation）」にTokyo 172株を選定し、当時WHOの指定試験機関であったデンマーク国立血清研究所（Statens Serum Institute; SSI）が保管と配布を担ったが、その後、イギリスの国立生物製剤標準品及び品質管理研究所（National Institute for Biological Standard and Control; NIBSC）に移管された。

WHOは世界中の新生児にBCGをできるだけ早期に接種するよう勧告しており、また予防接種拡大計画（Expanded Program on Immunization; EPI）のワクチンの一つとして主に開発途上国の子供たちを中心に接種されている。ユニセフはEPIに基づき、WHOがあらかじめライセンスを与えたワクチン製造所からBCGワクチンを買上げ開発途上国に配布している。日本BCG研究所はユニセフ向けBCGワクチン製造のライセンスをWHOから取得しておりユニセフ向けに皮

内接種用ワクチンを輸出している。なお、ユニセフがBCGワクチンを買上げるためのWHOライセンスを取得しているのは、日本BCG研究所とAJ Vaccines（デンマーク）、Serum Institute of India（インド）、Green Signal Bio Pharma（インド）、Bul Bio-National Center of Infectious and Parasitic Diseases (BB-NCIPD)（ブルガリア）の5施設である。なおデンマークのStatens Serum Institute国立血清研究所のワクチン製造部門はサウジアラビア資本に売却されAJ Vaccinesとなった。これらの製造所では、日本がTokyo 172-1株BCG、AJ Vaccinesがデンマーク株 Danish 1331株BCG、インドはロシア株 BCG-I株BCG、ブルガリアはBCG-I由来のソフィア株をシードロットとして用いている。なお、パスツール研究所から1920～30年代に各国に分与されたBCGは、それぞれの国で、それぞれの継代方法で培養する間に、原株とは異なる遺伝的形質を持った多数の亜株を生じた。Broschらは、これらBCG亜株の遺伝学的系統樹を作成し、RD2遺伝子の有無により前期分与株と後期分与株に分類できることを示した⁽¹⁾。これによると、Tokyo 172-1株とロシア株BCG-I株は前期分与株、デンマーク株 Danish 1331株は後期分与株となる。なお現在のパスツール株BCGは、1961年に凍結乾燥されたもので、BCG原株ではなく後期分与株に分類される。

BCGワクチンの国際参照品については、制定から40年以上経過したことによる生菌数の低下と在庫量の減少ならびに亜株に関する研究の進展等から、2003年～2005年にロンドン、ジュネーブ、パリで開催されたWHOの会合⁽²⁻⁴⁾で、これまでのような単一菌株の国際参照品ではなく、世界で汎用されているBCGワクチン亜株それぞれについて複数の国際参照品候補を定めるという新方針のもとに、13か国16機関からなる国際共同研究が組織され、わが国からは感染研と日本BCG研究所が参加した。各製造所が製造したBCGワクチンをNIBSCに集約後、各参加機関に配布してアンプルごとの生菌数（colony forming units, CFU）、ATP量、multiplex PCR (mPCR) を測定・

評価した。その結果2010年にTokyo 172-1とDanish 1331が、続いて2011年にロシア株BCG-IがWHO専門委員会によって「国際参照試薬 (International Reference Reagents)」に認定され⁽⁵⁾、さらに2012年にブラジルのMoreau-RJ株が追加された⁽⁶⁾。表に各亜株の平均CFU値と平均ATP量を記す。

WHO 国際参照試薬BCGの力価

BCG sub-strain	Mean CFU/amp	SD of mean (%)	Mean ATP/amp	SD of mean (%)
Danish 1331	7.29 x 10 ⁶	12.3	56.06ng	15.4
Russian BCG-I	3.39 x 10 ⁶	14.7	7.52ng	19.7
Tokyo 172-1	49.37 x 10 ⁶	11.9	217.60ng	12.6
Moreau-RJ	6.51 x 10 ⁶	11.1	24.69ng	30.0

BCGワクチンのWHO基準改定

BCGワクチンのWHO基準 (Requirements for Dried BCG Vaccine) は1985年に制定されて以来20以上が経過したことから、WHOと各国NRA・NCL、各製造所を含めた作業グループによる改定作業が2009年秋まで続けられ、「BCGワクチンの品質・安全性・効力を保証するための勧告 (Recommendations to Assure the Quality, Safety and Efficacy of BCG Vaccines)」として2011年のWHO専門家委員会 (ECBS) で採択され Technical Report Series (TRS) 979 (2013)に掲載された。なお、WHOはウシ海綿状脳症 (bovine spongiform encephalopathy; BSE)に対する懸念から本勧告中に「製造用培地に動物由来成分は使用されるべきではないが、使用が必要なら規制当局の承認を受けるべきである」と述べている。日本BCG研究所ではこの勧告が出される以前から、ウシ胆汁はオーストラリアやニュージーランドなど非汚染国から輸入している。現在、ウシ胆汁を使わない製造方法を検討している。

おわりに

小児結核の発病予防にBCG接種は有効な手段であり、とくに結核性髄膜炎や粟粒結核等の血行性散布型の重症結核が少ない小児期の結核に対してBCGは重要な予防手段である。日本で乳幼児へのBCG接種が普及したのは1960年代後半以降のことで、1963年の0歳～4歳児へのBCG接種率は30%以下であったが、その後生後6か月に達するまでの累積接種率は

しだいに高くなり、2008年には98%に達し、それにともない小児結核患者は減少した。とくに結核性髄膜炎や粟粒結核の激変にはBCGワクチン接種が大きく寄与していると考えられる。現在、わが国の結核罹患率・結核感染危険率を考えると、ワクチン接種の即時廃止は乳幼児の重症結核症例の増加と結びつく可能性が懸念される。日本のBCGワクチンが腋下リンパ節腫大、皮膚結核様病変、骨炎等の副反応の少ない安全なワクチンである理由は、他のBCG亜株より病原性がより低いTokyo 172-1株が製造用株として採用されてることにあわせ、分散性に優れた高品質のワクチンを製造する製造技術とそれをバックアップする品質管理体制にあると考えられる。新しい分子生物学的・遺伝学的手法による品質管理は今後もさらに検討されなければならない。☺



BCGワクチンに関する勧告の非公式協議会 (2009年実施)

参考文献

- 1) Brosch R et al: Genome plasticity of BCG and impact on vaccine efficacy. Proc Natl Acad Sci, USA 104: 5596-5601, 2007
- 2) Corbel MJ et al: Report on a WHO consultation on the characterization of BCG strains, Imperial College, London, 15-16 December 2003. Vaccine 22: 2675-2680, 2004
- 3) Ho MM et al: Report on a WHO consultation on the characterization of BCG strains, WHO, Geneva, Switzerland, 8-9 December 2004. Vaccine 23: 5700-5704, 2005
- 4) Knezevic I and Corbel MJ: WHO discussion on the improvement of the quality control of BCG vaccines, Pasteur Institute, Paris, France, 7 June 2005. Vaccine 24: 3874-3877, 2006
- 5) Ho MM et al: Report of an international collaborative study to establish the first WHO reference reagents for BCG vaccines of three different sub-strains. Vaccine 29: 512-518, 2011
- 6) Dagg B et al: The establishment of sub-strain specific WHO reference reagents for BCG vaccine. Vaccine 32: 6390-6395, 2014