

組換えDNAによるB型肝炎ワクチンの製造技術

研究者	松原 謙 一	大阪大学細胞工学センター・センター長
開発企業	野中 實 男	財団法人化学及血清療法研究所 理事長
(推薦者)	大橋 高 明	財団法人化学及血清療法研究所 常務理事)



松原 謙 一 氏



野中 實 男 氏

1. 技術の背景

B型肝炎は血液等を介してB型肝炎ウイルスが感染することにより引き起こされる肝臓障害を主病変とする疾病で、急性肝炎のほか劇症肝炎などの急性症状を引き起こすことがある。また、持続感染者（キャリアー）が存在し、新たな感染源となることや慢性化すると、肝硬変、肝がんなどへ症状が悪化する場合がある。B型肝炎のキャリアーは全世界に約2億人程度存在すると推定され、特にアジア地域にはその80%が集中している。また、我が国に限っても300万人程度存在すると推定され、その制圧が大きな課題となっている。

昭和60年よりキャリアーの血液を原料としてB型肝炎ワクチンが製造され供給されているが、キャリアーの血液の確保や活性なウイルスが混入していないかどうかをチェックする必要があるなどワクチン製造上の制約が多かった。

2. 技術の概要

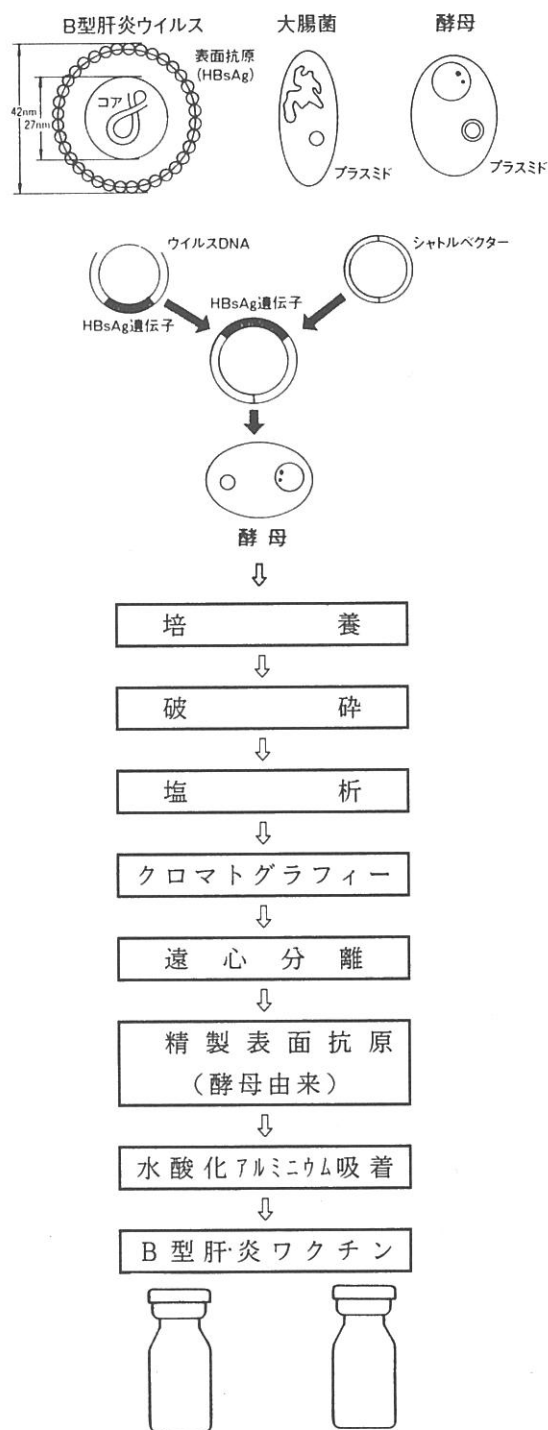
本技術は、B型肝炎ウイルス（HBV）の表面抗原の遺伝子を組込んだベクターを酵母に挿入し、この組換え酵母を大量に培養して表面抗原を生産させ、イオン交換クロマトグラフィー、超遠心処理等により表面抗原を分離・精製してワクチンとするもので、活性なウイルスの混入のない安全なワクチンを大量に安定的に供給することを狙いとしている。

本技術は、以下の重要な技術的課題を解決したことにより完成したものである。

- 1) アジアに多いタイプのHBVの遺伝子の全塩基配列を明らかとし、ワクチンに必要な表面抗原の遺伝子を同定したこと。
- 2) 当初は、表面抗原を生産させるため大腸菌と動物細胞を用いる研究を行っていたが、大腸菌での生産が困難であり、動物細胞では生産できることを確認し、いち早く同じ真核生物である酵母に研究対象を変更して、表面抗原を生産する組換え酵母の確立に成功したこと。
- 3) 大腸菌で増殖し、酵母で遺伝子を発現するシャトルベクターを開発したこと。
- 4) 抑制性酸性フォスファターゼ遺伝子のプロモーターを利用することにより、酵母が増殖する間は表面抗原が生産されないよう遺伝子の働きを押さえて成長に悪影響を与えないようにし、大量培養後は酵母が専ら表面抗原を生産するよう遺伝子を働かせる系を確立したこと。（以上図1参照）。
- 5) 表面抗原を安定的に生産する組換え酵母のスクリーニング法と選択した酵母の保存技術を開立し、工業生産に適した培地を開発することにより大量培養技術を開立したこと（図2参照）。
- 6) 組換え酵母が外部に漏れないよう配慮された閉鎖系において、大量培養された酵母を破碎し、イオン交換クロマトグラフィーや超遠心処理等によって表面抗原を連続的に精製する技術を開発したこと。
- 7) 臨床試験において、安全性を確認するとともに一回のワクチン投与量を決定し、本ワクチン3回接種により96.3%の人に抗体が獲得されることを確認したこと。

本技術により生産される表面抗原は直径22nmの粒子構造を取っているが、これはB型肝炎ウイルス感染者の血液中に含まれる過剰に生産されたB型肝炎ウイルスの表面抗原粒子（血液由来のワクチンはこれを分離・精製してワクチンとしている）と同様な構造であり、このことがこの表面抗原を原料として使用した場合にワクチン接種者の抗体獲得に極めて重要な要因となっている

図1. 組換えDNAによるB型肝炎ワクチンの製造工程



(図3参照)。また、血液由来のワクチンと同等以上の効果を得るのに必要な1回の抗原接種量は血液由来のそれに対して半量の $10\mu\text{g}$ となっている。

なお、本ワクチンは昭和63年3月、厚生省より製造認可を得ている。

3. 効果

本技術によるB型肝炎ワクチンは、従来の血液由来のものに比べて、ワクチン接種者への抗体陽転率が96.3%と高く(血液由来:85.3%)、B型肝炎ウイルスの混入の恐れが無いために、絶滅が危惧されるチンパンジーを用いた安全性試験等の必要がない。また、血液を原料としないので、高品質な製剤の安定供給が可能となるほか、血液に由来する感染性粒子の混入の危険性がないなどの特徴がある。

本ワクチンは免疫グロブリン製剤との併用により、キャリアの母親から新生児へのウイルス感染を防ぐ母子間感染予防や、医療従事者や患者と接触する人などの感染予防などに用いられている。また、本ワクチンは血液由来のそれとは異なり、薬事行政上の制約がないので、海外への供給が可能であり、平成2年度よりスイス、東南アジア地域への供給を開始している。

以上のように、本技術は、安全なB型肝炎ワクチンを大量に安定的に製造することができるため、本技術によるワクチンは、国内はもとよりアジア地域等広く海外にも供給され、B型肝炎撲滅に向けて医療福祉の向上に大きく寄与することが期待される。



図2. 表面抗原を生産する組換え酵母の大量培養プラント

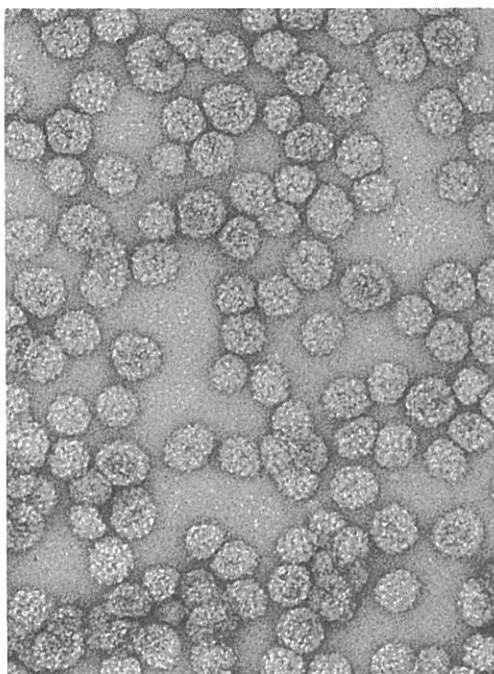


図3. 本技術により生産されたB型肝炎ウイルス表面抗原の電子顕微鏡写真