

平成13年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第6分野

医用材料及び製剤設計技術の開発に関する研究

医薬品製造におけるプロセスバリデーションと科学的品質保証に関する研究

所 属 国立公衆衛生院・衛生薬学部
主任研究者 森 川 馨

分担研究者

岩本 清	エーザイ(株) 製剤研究所
船井 一也	グラクソ・スミスクライン(株) 生産技術部
草井 章	三共(株) 製品開発研究所
河嶋 洋一	参天製薬(株) 製剤開発本部
鴻池 敏郎	塩野義製薬(株) 生産技術研究所
猪狩 康孝	武田薬品工業(株) 製剤研究所
林 公明	田辺製薬(株) 製品技術研究所
奈田 光正	第一製薬(株) 製剤技術研究所
酒井 康行	中外製薬(株) 製薬技術研究所
橋本 昶人	千代田化工建設(株) 化学医薬品プロジェクト本部
坂田 純一	帝国臓器製薬(株) 研究本部製剤研究部
渡辺 恵市郎	日揮(株) 第2事業本部 第1プロジェクト事業部 GMP技術部
李 仁義	日本ポール(株) 応用技術研究所
笹井 清司	日本ロシュ(株) 技術本部
西尾 富和	ノバルティスファーマ(株) 品質保証部
小島 弘光	(株)パウレック プラントエンジニアリング本部
播磨 武	ファイザー製薬(株) 名古屋工場
田原 務	ファルマシア(株) グローバル開発部門 研究統括部
徳永 雄二	藤沢薬品工業(株) 製剤研究所

要 旨

無菌製剤製造におけるプロセスバリデーションと科学的品質保証に関する研究として、無菌製剤製造において最も重要となる無菌製剤の開発過程を含めて、製造プロセスをどのように構築し、プロセスバリデーションに繋げて科学的バリデーションを達成するか、また、無菌性をどのように考え評価するかなど無菌製剤の開発過程に重点を置いて研究を行った。検討テーマとして、1) 無菌製剤の構造設備に関して無菌室の環境評価としての三次元気流解析、2) アイソレータ使用における適格性評価、3) 無菌製剤の製剤開発として、凍結乾燥製剤、懸濁注射剤、タンパク製剤の製剤開発、4) 無菌製剤の直接容器の適合性、完全性、5) 無菌製剤開発過程における規格設定とプロセスバリデーションなど、無菌製剤のバリデーションを考える上でこれまで取り上げられて来なかった重要問題を研究テーマとして取り上げ、無菌製剤の製造プロセスを開発過程でどのようなデータを取り、どのようなデータに基づいてプロセスを構築し、プロセスバリデーションに繋げ科学的品質保証を達成するかについて研究を行った。

1. 研究目的

優れた品質の医薬品を製造し、供給し続けることは、医薬品の有効性、安全性に直結する最も重要な課題である。医薬品は生命に直接関係する医療に用いられる重要な使命を持つことから、優れた品質の医薬品を恒常的に生産出来る製造プロセスを構築し、そのプロセスを科学的に検証することは医薬品の有効性、安全性と並ぶ、最も重要な研究課題である。さらに現在の急速な科学技術の進歩は、生産プロセスを高度化し複雑化している。こうした現状の中で、医薬品の製造品質の恒常的な保証を達成するために、科学的根拠に基づいた工程および試験法の設定根拠の科学的妥当性の検証(バリデ

ーション)の実施が必要であり、その科学的方法および評価方法の確立が世界的に必要とされている。

しかし、これまで我が国では、医薬品の製造方法の設定根拠の科学的妥当性およびその評価法に関する研究は、ほとんど行われてこなかった。本研究は、医薬品の製造方法の科学的基礎を確立するプロセスバリデーションの方法およびその評価方法の研究を通じて、医薬品の製造における品質保証の本来あるべき姿を研究し、医薬品の品質および有効性、安全性の確保を図ることを目的としている。平成13年度は、第二期の第1年度目として、無菌製剤製造におけるプロセスバリデーションと科学的品質保証に関する研究として、特に無菌製剤の開発過程に重点を置いて研究テーマを取り上げた。無菌製剤製造に要求される無菌性、非発熱性など製造における品質を確保するため、1) 無菌製剤製造における構造設備に関して、無菌室の環境評価としての三次元気流解析、異物の対策、2) アイソレータ適用における適格性評価、3) 無菌製剤の製剤開発として、凍結乾燥製剤、懸濁注射剤、タンパク製剤の製剤開発、4) 無菌製剤の直接容器の適合性、完全性、5) 無菌製剤開発過程における規格設定とプロセスバリデーションを研究テーマとして取り上げ、無菌製剤製造において最も重要となる製造プロセスをどのように構築して、プロセスバリデーションに繋げて科学的品質保証を達成するか、また、無菌性をどのように考え評価するかなど、開発過程を含めた無菌製剤製造における科学的品質保証を達成する上での重要事項について研究を行った。

本研究の特色として、科学的な医薬品の製造品質の追求に加えて、製造現場で役に立つ実践的な科学研究を目指している。したがって、開発過程での製造プロセスを構築に関する研究・調査に加えて、製造現場での研究、データの収集も重視し研究を推進した。

2. 研究方法

2.1. 無菌製剤製造における構造設備

2.1.1. 三次元気流測定と微生物・微粒子データによる無菌室の環境評価

実際に使用されている床面積56m²、換気回数68回の無菌室を用いて、無菌室の床面に50cm毎、高さ方向に50, 100, 200cmのグリッドを刻んで、1点当り15秒の三次元気流風速を異なる時期に2回測定した。得られた三次元気流解析のマップと、別途空間をグリッド化して測定した環境測定データを基に、三次元気流マップを作成した。このマップから、グレードBの環境状態を考察した。環境測定は、床面上の38箇所において、高さ50, 100cmの位置で空中微粒子を繰り返し測定した。また、空中浮遊菌、落下菌は床面上の18箇所において高さ100cmの位置で測定した。一方、乱流型の部屋における空中微粒子の定常性を観察するため、代表的な3ヶ所で60分間の連続測定を実施した。

2.1.2. 空調エアフローと微粒子の偏在に関する解析

クリーンルーム2室をモデルとして選び、1.5m間隔で床上1mの微粒子数をパーティクルカウンターで測定し、微粒子の偏在について評価した。測定したクリーンルームについて、クリーンルームの給気量、排気量から気流の方向、風速の3次元シミュレーションを行い、微粒子の偏在と気流の関連性について評価すると共に各地点における給気の到達時間「空気齢」を求めた。

2.1.3. コンピュータシミュレーションによるクリーンブース内気流と微粒子滞留現象の解析

クリーンブースとしてブース内から排気された空気の90%が濾過後再び天井より給気され、排気量の10%をブース出入口より外気を流入させる構造クリーンブースを研究対象とした。シミュレーションによる風速計算結果と実際にブースを稼働させブース内5点での風速の実測値との比較を行った。さらに解析された流速場内に粒子径1-100μm、密度1300kg/m³の単一粒子を約1300個均等に初期配置し、単一粒子に加わる流体抵抗力などを外力として運動方程式を解き、粒子径と換気効率の関係を一定時間後の粒子残留数によって評価し、さらに各粒径粒子の換気回数と残留粒子数の変化を評価した。次に換気回数を820回/hに設定し障害物モデルとしてブース内に0.24m×0.48m×1.4mの直方体の障害物を設置し、この設置位置および設置角度を操作因子として流動解析を行い、一定時間後の残留粒子数に関して障害物を設置しない条件下での残留粒子数との比を粒子残留率Rとして求めた。

2.1.4. 適切な無菌ろ過システム選定のための試験設計

ろ過法による無菌製剤の製造用フィルター選定時の根拠となる試験を、実薬液を用いた適切なる過運転条件の検討、および製造ラインでの適切なる過運転条件を事例研究を通じて検討した。さらに、適切なる過システム選定のための試験設計時に重要となる考慮点をまとめた。

2.1.5. 無菌粉末充填工程における工程外部由来異物の対策

無菌粉末充填工程は、4つのバイアル洗浄乾熱滅菌工程・粉末充填工程・ゴム栓施栓工程・真空施栓工

程で構成され、ゴム栓は洗浄・湿熱滅菌・乾燥を経てゴム栓施栓機に供給される工程を対象とした。充填粉末を投入せずに製造ラインを稼働させ、各工程を経た直後のバイアルを所定本数サンプリングし、各工程における異物混入数を調査した(製造シミュレーション)。バイアルに混入した異物は、一定量の注射用水を高圧で吹き付けて洗い流し、その洗浄水をメンブレンフィルターに通して捕集し、顕微鏡観察によりフィルター上の異物を計数した。他の異物計数も同様に行った。

2.1.6. 無菌充填区域の不具合の検討と新たなライン構築

実稼働の2つの無菌充填ラインA、Bでの不具合を検討改善し、新規無菌充填ラインCを構築した。充填ラインAはGrade Bが水平方向流、ラインBはSTEP2まで水平方向流STEP3以降は垂直方向流であり、充填ラインCは垂直方向流を採用した。

2.2. 無菌製剤製造におけるアイソレータ適用

2.2.1. 無菌操作アイソレータのマウスホールにおける気流挙動

実験用アイソレータ((株)エアレックス製作協力)の仕様は、庫内容積:1.5m x 1.5m x 1.0m、吹出し:全面HEPAフィルター、ファン:インバーター機能付4台、差圧調整:ファン吸込み側に調整ダンパー付2ヶ所、構造:ダブルウォール2面、材質:塩ビ、SUS304(ハードウォール)、グローブ:2ヶ。実験用アイソレータのマウスホールにおける気流挙動を気流可視化装置により観測し、また、各所の微粒子数、マウスホール境界面の風速を測定した。なお、アイソレータの差圧は5~40Paとし、マウスホールの大きさを横50mm×縦80mmとした。マウスホール出口にトンネル(50mm, 200mm長さ)を取り付けた場合についても同様の観測・測定を行った。

2.2.2. マウスホールを有した無菌操作アイソレーターの差圧設定

アイソレーターは、上記2.2.1.と同様のものを用いた。実験用アイソレーターの稼働パラメーターを変化させ、外乱因子を与えた場合のマウスホールでの気流の乱れを気流可視化装置により観測した。その際に各所の微粒子を同時に測定した。変化させる稼働パラメーターは、アイソレーター内部-外部の差圧とし、HEPAフィルター吹出し面における風速は0.3m/s~0.45m/sとした。外部因子として、グローブ動作、マウスホール付近でのバイアル瓶有無、マウスホール出口上部の吹出しファンの影響、また、マウスホールの大きさを変化させた場合の挙動の違いについて調べた。

2.2.3. アイソレーター使用グローブのピンホール試験検出限界とピンホールのアイソレーター内部に及ぼす影響

グローブの指部先端にピンホールとして亀裂(200, 400, 800 μ m)及び細孔(ϕ 100 μ m)を開け、グローブのピンホール試験として一般的に使用されている圧力変化(加圧)試験、ガス変色試験、気泡試験及び電気伝導性試験を実施した。更に、ピンホールを開けたグローブをアイソレーターに設置し、差圧40Pa下で、外部からの気体(アンモニアガス)と液体(アルカリ水溶液)が静置状態及び動的状態(ピンホール部付近を指ではさみ開口部を變形させる)でアイソレーター内部で検出可能か否か検討を行った。

2.3. 無菌製剤の製剤開発

2.3.1. 凍結乾燥条件の設定とスケールアップ

10%ラクトース、10%ラクトースに0.3%、0.6%、0.9%のNaClをそれぞれ添加した系、10%ラクトースと10%スクロースを等量混合した系、10%スクロースの6処方について、DSCとクライオ顕微鏡を用いてTg'とTcを測定した。この6処方について2条件(棚温設定:-20℃および0℃)の凍結乾燥実験を実施し、実際の凍結乾燥で得られるケーキの品質(外観、水分、復水性、X線回折結果、電子顕微鏡観察)をTg'やTcなどの物理化学的データと品温センサーで得られる最高到達品温(Tp)との関係から評価した。この際、品温センサーはバイアル底面隅に設置し、品質評価するサンプル間の熱伝導バラツキを極力抑えるように、棚内の枠の配置や枠内のバイアルの配置を十分考慮した。

2.3.2. 懸濁注射剤開発における物性評価と品質に及ぼす原料の影響

分散状態に及ぼす原末粒子径の影響を調査するため、平均粒子径の異なる原末(モデル薬物)を用いて懸濁注射剤を調製し、分散安定性の指標として比沈降容積により評価した。また、分散状態に及ぼす懸濁化剤の影響を調査するため、エーテル化度が異なるカルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC-Na)を用いて懸濁注射剤を調製し、比沈降容積を用いて評価した。さらに調製した検体について、粒子径測定(レーザー回折法)、実体顕微鏡観察、分離特性評価及びゼータ電位測定を行い、原料の特性と懸濁注射剤の種々の特性との関係を把握すると共に、最終製品の再分散性との相関について検討した。

2.3.3. 懸濁注射剤製造における結晶析出条件の検討

エストリオールのアルコール溶液と注射用水を混合しエストリオールの結晶を析出する方法について、①注射用水(またはエストリオール溶液)の注入速度(200mL/5秒, 1, 25, 45分)②エストリオール溶液(または注射用水)の攪拌速度(50, 250, 500rpm)③エストリオールを溶解するアルコールの種類(メタノール, エタノール)について検討した。評価は、粒子径(粒度分布測定, SEM観察)と結晶形(粉末X線回折)により評価した。

2.3.4. タンパク製剤の凍結乾燥工程における影響因子の検討

モデル化合物として免疫グロブリン(IgG)製剤を用い、攪拌実験ではIgGを0.1%で使用した。凍結乾燥実験では上記溶液に5% Sucroseを添加し使用した。溶液濁度は600nmの透過率により評価した。

1)攪拌実験:0.22 μ mのフィルターで濾過した0.1%IgG溶液1Lを360 rpmの速度で60分間攪拌した。攪拌翼種は形状の異なる3種の攪拌翼を用いて比較した。攪拌位置は溶液表面に対し8/10、5/10、2/10の異なる高さで比較した。又室温と氷冷下で比較を行った。窒素バブリングは2kgf/cm²の圧力でガラスチューブ及びガラスフィルターを用い、攪拌翼との比較を行った。

2)凍結乾燥実験:品温センサーを設置した7本のバイアルについて、凍結乾燥後の品質と実測パラメータ(過冷却温度、凍結速度、最高到達温度[Tp]、一次乾燥終了時間)との関係性を評価した。

2.4. 無菌製剤の直接容器の適合性、完全性

2.4.1. 無菌製剤の直接容器設計:ゴム栓の品質と評価

3種のブチルゴム栓(①A社-1市販品, ②A社-2市販品, ③B社試作品)及び3種の塩素化ブチルゴム栓(④C社試作品, ⑤D社-1試作品, ⑥D社-2市販品)を用いた。これら各種ゴム栓を用いて凍結乾燥製剤(1g品)を製造し、40℃75RH%および50℃に倒立保存して、経時的に品質を評価(不溶性微粒子数, pH, 含量, 水分値)した。さらに、空バイアル内に錠剤型シリカゲル約0.8gを充填して、各種ゴム栓で打栓した後にフリップオフキャップで巻締めしたものを検体として40℃90%RH環境下に保存し、検体の総重量変化、シリカゲルの重量変化、ゴム栓の重量変化を経時的に測定することにより、ゴム栓の水分特性を評価した。また、各種市販製品のゴム栓で打栓した後にフリップオフキャップで巻締めした清浄な空バイアルをオートグラフ(AG-500B, 島津)に固定し、18G針が200mm/minの速度でゴム栓を貫通する時にかかる荷重(穿刺抵抗)および同操作で5回穿刺させた時に発生するフラグメント数(コアリング値)を測定した。

2.4.2. 無菌製剤の直接容器設計:ガラスバイアルと薬液との相互作用

ガラスバイアルはいずれも透明の25mL容量で、鋳型加工された(以下自動瓶)ソーダライムガラスでサルファー処理済みと未処理のもの、生地管加工された(以下管瓶)ホウケイ酸ガラスでサルファー処理済みと未処理のもの、並びに自動瓶のホウケイ酸ガラスでサルファー未処理のものを用いた。ゴム栓はシリコンコーティングされたブチルゴム(足部はテフロンコーティング)を共通に用いた。薬液には注射液X(生理食塩液20mL中に薬物Xを0.1%含有)、生理食塩液及び注射用水を用いた。

試料の調製は、洗浄・乾燥したバイアルをバッチ式乾熱滅菌機に4条件(250℃・30分, 250℃・120分, 265℃・120分と280℃・120分)で通し、薬液を充填し、その後123℃・20分間で滅菌されたゴム栓を打栓し、フリップオフキャップで巻締めした。巻締めされたバイアルは、最終滅菌を121℃・0分(なし)、20分と60分の3条件で行ない、その後50℃の苛酷条件下で保存され、経時的にその品質を評価した。

評価項目は、いずれの薬液もpH (n=3)、フレックス(n=30)及びガラスの内面観察(SEM)を実施した。さらに、注射液Xでは薬物Xの含量を、注射用水ではナトリウムの溶出量をそれぞれ測定した。

2.4.3. プラスチック容器の完全性評価

プラスチック容器の完全性評価を行うため、スクリュウキャップであるA製品容器を用い検討した。

①プラスチック容器の締め/開けトルク特性評価:A製品容器の完全性を評価していく上で重要となるキャップの締めと開けトルク値とを比較し、その相関性を評価した(締めトルク:1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 4.5kgf・cm)。また、開けトルク値の経時的な変化を測定した(4週間後まで)。

②微生物浸漬試験:10⁶cfu/mL相当濃度の*B. diminuta*菌液に、締めトルク値を0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0kgf・cm(各100本)に調整して装栓しSCD培地充填容器を、減圧・加圧なしに浸漬した(15分間, 30 \pm 2℃)。30 \pm 2℃にて72時間培養後、容器内の菌の発育有無を観察した(陽性・陰性コントロールを設定した)。

③液漏れ試験:締めトルク値を微生物浸漬試験と同トルク圧(各20本)に調整し装栓したフルオロセインナトリウム溶液充填容器を、-0.08Mpaの減圧条件で5分間放置後、容器からの液漏れを容器の下に敷いたろ紙、及び重量変化で確認した。なお、重量変化は1mg以上の場合を液漏れありと設定した。参考として、エキシマーレーザーにより細孔を開けたB製品容器(孔径:4, 6, 8, 12mm)に同様の検討を行

った。

2.5. 無菌製剤開発過程における規格設定とプロセスバリデーション

2.5.1. 電子線滅菌と容器の完全性

電子線滅菌の無菌保証：電子線照射による滅菌条件をバリデートするために、輸液用プラスチック容器製剤のSaddle部を用いて、無菌性保証水準が 10^6 となるように線量設定試験を実施した。線量設定は、ISO11137方法1により行った。

容器の完全性(1)輸液用プラスチック容器製剤：SCD培地を充填した輸液用プラスチック容器を、製造で予定されている1.5倍の時間、 121°C で湿熱滅菌を行い検体とした。検体を 10^6cfu/mL の濃度の*Serratia marcescens* ATCC 14756に30分間浸漬した後、 $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ で7日間培養し、容器内の菌の発育の有無を観察した。さらに、保存期間中の完全性を保証するため、検体を $25^{\circ}\text{C}60\%\text{RH}$ で3, 6, 9, 12箇月間保存した後、同様に試験した。また、薬液を含む製剤について、想定される期間保存した検体につき無菌試験を行った。

(2)バイアル製剤 SCD培地を充填したゴム栓付きガラスバイアルを検体とした。検体を 10^6cfu/mL の濃度の*E. coli*に、 $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ で10分間浸漬した後、バイアルを正置及び倒置した状態で、それぞれ $30\text{--}35^{\circ}\text{C}$ で7日間培養し、容器内の菌の発育の有無を観察した。その後、流通の際の輸送による影響を調べるため、残りのバイアルについて、想定される輸送条件で倉庫に搬送後、再び試験室に戻した検体につき、菌液に浸漬し同様に試験を行った。また、薬液を含む製剤について、想定される期間保存した検体につき無菌試験を行った。

2.5.2. ヒト化モノクローナル抗体医薬品の製剤化工程の検討

マウスモノクローナル抗体の抗原結合部位以外をヒトIgG1抗体に遺伝子工学的に置き換えて作製したヒト化モノクローナル抗体分子量約150kDaのhuMAbを含む原液を用いて抗体医薬品の製剤化工程を検討した。huMAbは、全アミノ酸配列の95%がヒトIgG1分子に由来する。

①凍結乾燥工程におけるhuMAb原液の安定化：賦形剤であるマンニトール、グリシン、ソルビトール、スクロースおよびトレハロースをhuMAb原液に添加し、凍結乾燥前、凍結乾燥後 5°C で2週間保存、および凍結乾燥後 40°C で2週間保存した試料につき、サイズ排除クロマトグラフ(SEC)法によりhuMAbのモノマー含量を測定した。

②huMAb原液のHold Time：huMAb原液を3回凍結・融解を繰り返し、その間累積して36日以上 $2\text{--}8^{\circ}\text{C}$ で保存した後、無菌的に取り出した試料につき、SEC法によるhuMAbモノマー含量測定およびその生物活性試験を行なった。また、微生物汚染を否定するために生菌数試験を実施した。

(3)huMAb原液とフィルターとの適合性：huMAb原液を $0.22\mu\text{m}$ フィルターにより無菌ろ過した後、ろ過液の性状、pH、SDS-PAGE法によるhuMAb純度、およびタンパク質含量を測定した。

2.5.3. 安定性試験プログラムと市販後の品質保証

市販後の製品の安定性を保証するために開発段階における安定性試験プログラムの要件を明らかにするために、開発過程の試製ロットと実生産ロットの安定性における同等性の評価、および製品出荷後の品質をモニターする安定性試験のプログラムの要件について検討した。具体例として、注射薬Aの安定性試験結果を用いて有効期間の検証を行った。

3. 研究成果及び考察

3.1. 無菌製剤製造における構造設備

3.1.1. 三次元気流測定と微生物・微粒子データによる無菌室の環境評価

乱流型無菌室のグレードB全体の空間を実測の三次元気流解析によって可視化し、実測の空中微粒子、落下菌、空中浮遊菌のデータと比較検討することにより、従来目に見える形で説明し難かったグレードBでの無菌操作の微生物学的な安全性保証や、測定箇所、頻度の設定を行う手法を検討した。

①三次元気流解析の結果、当該無菌室には、大きな気流の主流が存在すると同時に、やや気流の滞留する部分も2ヶ所存在することが判った。また、無菌室内の設置したクリーンブースの吸い込み口が天井付近に有り、一部に強い上昇気流あることが判った。また、排気口付近に気流が収束する様子と範囲が視覚的に捉えられた。機器の異なる配置で、2回の繰り返し測定の結果からは、全体的な変化はなく局所変化が見られた。②環境測定(空中微粒子)の結果、ある程度負荷のある状態で空中微粒子を測定からは、気流の滞留部と見られる位置とその周辺に微粒子が多く観察されることが判った。また、高さ50, 100cmでの空中微粒子のデータの比較では、100cmにおいて比較的微粒子濃度が高くな

っていることが観察された。粒子濃度の定常性を観察した60分の連続モニタリングの結果からは、短い周期では変化が有るものの、全体として乱流状態でも、定点には定常的な幅で微粒子濃度が存在することが確認された。③環境測定(空中浮遊菌、落下菌)の結果、今回の18ヶ所の測定では、清掃を行わなかったにもかかわらず菌の検出は見られなかった。ただ、過去1年間のデータによれば、滞留部での生菌が検出された。

以上の結果から、①無菌室を三次元気流解析と環境管理データを合わせて分析する新しい手法で、目に見えない微粒子や微生物の挙動を視覚的に推定でき、科学的なモニタリングや無菌操作最適化に役立つことが判った。②気流のパターンから、滞留部分が観測されているが、空中微粒子の測定結果との比較では、滞留部分の微粒子濃度は定常的に高くなることが確認できた。また、滞留部分に弱い上昇気流が重なると、ただ滞留する部分よりもより定常的に微粒子濃度が高くなる。天井付近の吸気口に向けての上昇気流は、やはり付近の微粒子の動きに影響し、瞬間的に微粒子濃度を高くすることがある。また、床付近の排気口は、気流を集めてくる為、長期的には汚れの収束する場所と予測される。③三次元気流解析によって微粒子に汚染されやすいと考えられる位置では、人を含めたグレードAにアクセスする可能性の有るものの取り扱いや、保管は避け、一方、消毒清掃には注意を払うことが重要と考える。また、環境の測定点として、最も汚れを検出しやすいと考えられる排気口や滞留部分は、部屋の汚れ具合のトレンドを見る位置として、モニタリングポイントに加えることを提案する。④次回に無菌室を設計するならば、シミュレーションの手法を用いて、あらかじめ想定される人と物の動線にあった気流設計を行うことが有用と考える。⑤当該無菌室では換気回数が高い為、気流の大きな滞留部分であっても、負荷された微粒子が減衰するリカバリー定数が大きい為、実際の測定では微粒子を検出しないと考えられる。このことは、乱流モデルルームでの滞留部分と気流の早い部分の2コンパートメントモデルの解析で行った研究結果から推定できる。68回以上に換気回数を高めることで、微粒子や微生物を、滞留部を含めた乱流の部屋全体から見かけ上検できなくなるのに十分なリカバリー効果を得ることが出来ると考えられた。

3.1.2. 空調エアフローと微粒子の偏在に関する解析

注射剤製造室では、微生物汚染防止、異物混入防止の点から、空調給気部にHEPAフィルターを入れ、部屋内の換気を行いクリーンルームとして管理する方法が一般的に行われている。クリーンルームの設計にあたっては、通常、クリーンルームの部屋容量に対する換気回数を20回/時以上とすることで清浄度を達成しようとするアプローチが採用されている。しかし、換気回数に加えて、給気-排気位置による気流の分布もまた、考慮すべき重要な設計ファクターであると考えられることから、給気-排気位置の違いが微粒子の偏在に与える影響について検討を行った。また、クリーンルームの微粒子除去効率について客観的な判断を可能とする手法について考察した。

クリーンルーム2室において微粒子数を測定したデータから、室内の次のポイントに、平均から1.5σ以上の乖離が見られる偏在箇所が存在した。

クリーンルームA(清浄度レベル10,000)…給気口と排気口の中央のポイント

クリーンルームB(清浄度レベル100,000)…給気口から2m以上離れたポイント

シミュレーションによる気流の流速低下ポイント、渦状の気流発生部において微粒子の偏在がみられ、実測された微粒子数の傾向とよい一致を示した。上記のポイントにおいては空気齢が他のポイントに比べ、高い値を示した。空気齢と微粒数の相関については、クリーンルームBにおいては高い相関を示したが、クリーンルームAでは、相関は低かった。クリーンルーム内の微粒子分布は、気流の分布に基づく影響が大きいと考えられ、クリーンルーム内のある点に到達する気流の平均時間を示す空気齢と密接に関連があると考えられた。清浄度レベルが低い(微粒子の多い)クリーンルームでは空気齢との相関が高く、清浄度レベルの高い(微粒子の少ない)クリーンルームでは相関が低い結果が見られたが、これは、清浄度レベルの高いクリーンルームにおいては、空調気流により清掃状況や塵埃滞留機器の有無等による微粒子偏在の影響が大きいとためと考えられる。また、今回行ったシミュレーションにより空調システムの検討にあたり留意すべき点として以下の点が挙げられた。①給気口から相対的に遠い位置においては排気の風量を増やす等の工夫が必要である。②換気回数の大小は、微粒子数と関連はあるが、換気回数の大小のみでクリーンルームの微粒子環境を評価することには限界がある。

以上、クリーンルーム内の微粒子分布は一様でなく、偏在が見られる。この偏在の原因は、空調システムの給気および排気の位置による気流の分布に影響され、気流の空気齢の分布と相関が高かった。クリーンルームの特性を部屋容量に対する換気回数で評価することは、気流の分布が一様である場合

は有効であるが、気流が一様ではない乱流型のクリーンルームにおいては、換気回数の大小のみで評価することは困難であると考えられた。

3.1.3. コンピュータシミュレーションによるクリーンブース内気流と微粒子滞留現象の解析

無菌製剤施設において、室内の気流特性は、浮遊菌のキャリアの一つである微粒子の浮遊滞留現象に大きく影響を及ぼし、その空調設備は異物対策の観点からも重要な評価項目である。そこでクリーンブース(1.51m×2.7m×2.1m)を研究対象に選び、空気および粒子流動の評価にCFD(Computational Fluid Dynamics)解析手法を用い、ブース内気流の数値解析結果と実測値との相関性の保証を行った上で、ブース内に設置された装置または作業による気流変化と微粒子の滞留現象に関して検討を行い、これらの因果関係について考察した。

はじめに、実測による気流流速値とシミュレーションによる計算値の誤差は最大約10%程度であること、また、粒子径10 μ mの粒子はブース天井部の給気部からブース下部壁面の排気部に向かうブース内の気流流線にほぼ沿った流れを示すことを確認した。同一換気回数条件下では粒子径約20 μ m以下ではほぼ一定の粒子残留数であるが、これより大きな粒子径では残留粒子数が大幅に増加し粒子径100 μ mでは粒子径10 μ m条件に比較して約3倍の残留数となることがわかった。また、換気回数を増やしても大きな粒子径域の排出効果は小粒子径域に比較して排出効率が向上しないことがわかった。

次に障害物の設置状態によってRは変化し、障害物が存在しない状態のRに比べて障害物がブース側面近傍に近づいた場合には約1.5倍に、また、天井給気部より後方に設置された場合約1.4倍に増加した。逆に排気部に近づけた場合には約20%のRの低減につながることもわかった。また、同一設置位置において気流に対する障害物の仰角を変化させると障害物の長手方向が気流の流れに平行に設置した際は障害物がない状態と同等のRを示し、この状態から仰角を90°変化させるとRが20%上昇することがわかった。これらの結果をまとめると障害物前方の風速が0.5m/s以上でRが顕著に低下すること、また、設置条件によっては障害物がない状態よりも約20%程度低いRを示す状態があることを確認した。

以上の結果から、粒子径10 μ mの粒子の空気抵抗と重力が釣り合うStokesの終末沈降速度は0.0637m/sであり、クリーンブース内各所でこれに対して十分高い流速を保証できれば粒子はほぼ空気流線に従う運動によって良好に排出されると考えられる。しかしブース内の障害物の設置状況によって特にその周りにおける流速が極端に低い部分が生じると、粒子の滞留が生じることになる。

ブース内の空気流動面積に対して比較的大きな投影面積の障害物を設置した場合、流動面積が障害物周りで減少することによってこの部分で空気流速が上昇し、微粒子の排出効果が障害物のない状態より高まる状態があると考えられた。しかし設置位置がブース側面に近い場合、障害物前後における空気流速の低い部分の面積つまり空気の滞留部分が広くなり、特にこの部分に存在する粒子の排出が困難になる。また、障害物を排気部に近づけた場合、排気面積が見かけ上狭くなり障害物周りの流速の上昇によって粒子の排出効果が高まる傾向にあることが分かった。さらに良好な粒子排出効果を得るには障害物の形状を考慮し、気流の流れに沿った方向に配置することが有効であることがわかった。

以上、粒子径20 μ m以下の粒子の気流中での運動はほぼ空気流速に従う運動を示すが、これ以上の粒径になると重力による沈降の影響が大きくなり、特に約80 μ m以上になると床面にまで落下し気流のみではブース外に排出されにくいという問題があることがわかった。しかし無菌製剤室内での問題とする浮遊粒子を粒径10 μ mとした場合、所定の空気清浄機能を発揮するためには室内の気流を乱さないように機器または作業をたとえば気流方向に沿った配置を考慮すること、また、気流流速が低下する壁面近くや給排気部から遠く離れた場所に配置すべきではないことがわかった。また、今回はクリーンブースのような換気回数の高い条件に関して考察を加えたが、無菌製剤室のような低い換気回数条件に関しても同様な考察が適用できると考える。

3.1.4. 適切な無菌ろ過システム選定のための試験設計

無菌製剤の製造において無菌ろ過工程は重要工程であり、無菌製剤の製造用フィルターの品質管理項目や基本データは、各メーカーが開示しているが、無菌製剤の製造工程で使用するろ過システムは、選定根拠が不十分な場合が多く見られる。そこで無菌製剤の製造用フィルターのバリデーション実施以前に、適切な無菌ろ過システム選定のための試験設計時の考慮点を検討した。

2つの事例研究を通じて適切な無菌ろ過システム選定のための試験設計について検討を行った。事例研究Iより、薬液成分の吸着は、ろ過初期のタンパク回収率はナイロン(N)66製膜が89%、PVDF製膜は95%で、さらにろ過10分以降ではN66製は86-98%、PVDF製は100%を示し、フィルター材質およ

び成分濃度によって成分吸着は異なり、濃度が低いほど、また、ろ過初期ほど回収率は低いことが解った。また、ろ過システムの選定試験より、薬液Aをろ過圧力0.1MPaで送液した際のPVDF製膜のろ過量は45L/15分間、0.25MPaとした場合は55L/2分間であり、ろ過圧力が高いほど短時間で多くのろ過量が出来た。一方、同圧力で二段ろ過を実施した結果は55L/35分間であり、一段ろ過よりもろ過時間が長かった。この結果より、薬液のろ過性は、圧力や所要時間、フィルターの設置によって異なることや、加圧方法にも関連することが明らかとなった。さらに汚染物質の除去システム選定試験より、エンドトキシン(ET)管理性能を有する“ポジダイン”フィルターのET除去率は、0.9%および1.5%NaCl水溶液では90%以上であったが、2%水溶液では50-90%であり、溶液濃度差によってもET除去率が異なったことから、フィルターによるET除去性能は、薬液のpHや成分の微妙な濃度差の他、薬液のET濃度や実ライン条件にも影響を受けることが解った。

一方、事例研究Ⅱより超純水と溶媒を試験液に用いたPVDF製膜の異物管理性能を評価した結果、ろ液中の異物数は超純水が0個、溶媒は17-19個/Lであり、フィルターの異物管理性能は膜材質やろ過精度の他、薬液の性状にも大きく影響を受けることが示唆された。さらに、実ラインの異物調査は事前の予備検討が困難であることから、プロセスでの確認が有効であることが解った。

適切なろ過システム選定のための考慮点は、まず第一にろ過の目的を明確にし、製品の状態や汚染物質に対する管理基準を決定すること、および実液の性状を正確に把握し、ろ過の運転条件や実ラインの設計条件を確認し、フィルター設置後からろ過開始までの管理方法を明らかにして、それらの諸条件を最大限に試験へ反映させる必要がある。試験設計時にはこれらを踏まえた上で、実ラインにおける管理方法と関連性した試験方法を選定することが重要であった。一方、実ラインの管理目的、異物の状況、製剤や実ラインにおける異物の管理レベルの設定、実ライン環境などの状況を反映し、必要に応じて適正な時期に実プロセスでの確認手順を事前に検討する必要があることが解った。

薬液の適切なろ過システムを選定するには、試験の目的に応じた適切な考慮点に基づく試験を設計することが重要であるが、検討内容によっては、適正な時期に実プロセスでの確認手順を事前に検討する必要がある。試験設計時には、製剤の性状、製剤中の異物量や異物の大きさ、実ラインでの管理目的、異物の状況、製剤や実ラインでの異物の管理レベル、製造環境などの関連要因を明らかにした上で、実製造条件を最大限に反映することにより、薬液の安全性の向上を目的としたろ過システム選定や、管理の根拠を明確にすることが出来ると考えられた。

以上、適切なろ過システム選定のための事例研究を通して明らかとなった予備検討実施の試験設計の考慮点は、ろ過の目的を明確にし、製品の状態や汚染物質の管理基準、実液の性状、ろ過運転条件、実ラインの設計条件、フィルター設置後からろ過開始までの管理方法など、それら諸条件を最大限に試験へ反映させること。また、試験実施時のサンプリング方法や管理、容器の清浄度や吸着の影響を考慮した試験方法を選定すること。さらに、実ラインの状況を反映し、必要に応じて適正な時期に実プロセスでの確認手順を事前に検討することが重要であった。これら考慮点を反映した試験設計を行うことにより、ろ過システムの選定や、管理の根拠を明らかにすることが出来ると考えられる。

3.1.5. 無菌粉末充填工程における工程外部由来異物の対策

医薬品の品質を保証する上で、異物対策は重要な課題のひとつである。用事溶解型粉末注射剤は、製剤化過程での無菌・無塵化工程がなく、また、溶液注射剤と比べて目視検査での異物検出感度が低いため、製剤化過程での異物混入防止対策は特に重要である。ここでは、目視検査で検出可能な大きさの異物を根絶することを目標に、異物発生源の特定及びその改善を検討した。

製造シミュレーションの結果、粉末充填機、真空施栓機の稼働初期にポリアミド系異物検出数が多い傾向およびゴム栓施栓後の工程で金属様異物検出数が増加する傾向を示した。前者に関して、高分子系異物は乾熱滅菌工程を通過するとすす状になるため、乾熱滅菌工程以降に混入していること、ポリアミド系素材は製造ラインには使用されておらず、工程周りでは作業者の手袋に使用されていることより、当該異物は手袋から組付け時に装置へ、装置からバイアルへ移動したと推定し、調査を行った。その結果、手袋表面よりポリアミド系異物を多く含む大量の異物を検出(約700個/双)した。手袋付着異物の低減化のため、無菌室作業者の手洗い法の改善及び手袋洗浄業者への洗浄委託を検討した。両改善を実施した結果、手袋付着異物数は約80個/双まで減少した。一方、後者に関してはゴム栓に付着した金属様異物が、施栓後バイアルに混入したものと推定し、ゴム栓収納缶を調査した。洗浄直後の収納缶付着異物数(金属様異物 193個/缶)に対し、ゴム栓を施栓機に仕込んだ後の収納缶付着異物数が減少していた(金属様異物 56個/缶)。この減少分がゴム栓に移行し、金属様異物汚染の一因と

なっていたことがわかった。ゴム栓収納缶付着異物の低減化のため、ゴム栓乾燥効率の向上目的で付けているパンチング板の除去、洗浄方法の改善(超音波照射時間及び濯ぎ時間の適正化)、表面処理(バフ研磨+電解研磨)を実施したところ、収納缶洗浄直後の付着物数を金属様異物 2個/缶まで低下することができた。以上の対策を製造ラインに講じた結果、異物検査不良品は対策以後検出されなくなるという効果が得られた。

今回対象としたプロセスでは、これまでに金属、ポリアミド系高分子、天然セルロース、ポリ塩化ビニル、ポリプロピレン等の異物を検出した実績がある。本検討では製造シミュレーションで得られた結果から、検出実績のあるポリアミド系異物および金属様異物に着目し、その低減化を行った。その結果、着目したポリアミド系異物および金属様異物だけではなく、その他の検出実績のある異物の軽減化をも導いている。これは、一連の検討が、単にハード面の異物対策効果だけではなく、作業者の意識の向上というソフト面での効果も寄与していると考えられる。ただし、不溶性微粒子は依然存在し、また、製造ラインでは老朽化、装置トラブル等に起因する新たな異物発生源が現れる可能性もあるため、製品の清浄度を維持・向上させるためには、継続した検討だけではなく作業者の意識の維持・向上が重要である。

以上、無菌粉末充填工程における異物混入の根絶及び不溶性微粒子の軽減化を目標に異物対策の検討を行った。異物発生源の特定手段として製造シミュレーションを利用した。シミュレーション結果から、主要な異物発生源が手袋およびゴム栓収納缶という工程外部にあることを明らかにし、その改善策として、手袋に対しては作業者の手洗ひ法の改善及び手袋洗浄業者への洗浄委託を、ゴム栓収納缶にはパンチング板の除去、洗浄方法の改善、表面処理を実施した。得られた改善策を講じたところ、異物検査不良品の発生を軽減化することができた。

3.1.6. 無菌充填区域の不具合の検討と新たなライン構築

無菌工程の中では充填工程が最も微生物交差汚染の可能性の高い工程と考えられ、これまで無菌性の保証が求められる無菌製剤の製造環境、特に重要操作区域として挙げられる充填区域に改善を加えてきた。ここでは、これまでの不具合に対応してきた経緯を整理、再検討し無菌充填区域(Grade A)における製造環境について考察した。

立ち上げ時における無菌充填ラインAの層流を確認した結果、気流の逆流が確認された。Grade Bからの微粒子をGrade Aに持ち込む可能性があるため無菌充填ラインAのクリーンブースを準循環型、非完全密閉型からカステンを設置し、循環型のクリーンブースに改良した。②微粒子交差汚染の低減を目的に無菌充填ラインBでは自動供給を採用した。稼働時のターンテーブル部で $0.5\mu\text{m}$:1690/cfu、 $5\mu\text{m}$:13/cfu、接続部カバー内で $0.5\mu\text{m}$:412/cfu、 $5\mu\text{m}$:2/cfuから $0.5\mu\text{m}$:3~4/0.1cfu、 $5\mu\text{m}$:0/0.1cfuまで改善された。③製造設備移設に伴いGrade Bのラミナフローを水平方向流から垂直方向流に変更した。充填ラインB中間部の渦流は垂直方向流に変更したことで解消された。④充填ラインBにおいて作業者と無菌充填区域との間のラミナフローを保つように改良を行った。充填部上部にHEPAフィルターの追加し作業中においてもラミナを確保した。①から④までを考慮し充填ラインCは充填部作業スペースのパッケージング化した結果、充填部分での層流は保たれアンプル開口部に到達していることが確認できた。なお、充填ラインCの問題点として作業室内の温度の上昇などが見られた。

これまで複数の製造サイトを持つグループ内で無菌充填区域は層流の逆流や、菌の検出が認められた経緯からグループ内で改善を行い、新たな充填機に反映させてきた。ただし複数の国にわたって製造する場合においては各製造サイト事情により製造機を全て統一することは困難であり、また、作業者の末端までの浸透には困難があることから交差汚染のリスクを低減する最も簡単な方法は、無菌充填区域の作業スペースのパッケージング化することであると考え、制御を必要とする環境を可能な限り小スペースにすることで微生物汚染の可能性を低減化した。充填ラインAに関しては、無菌充填区域の構築として、滅菌された直接容器が滅菌トンネルを経て充填機へ連続ベルトによって供給される最終容器の口部は、洗浄後、充填トンネルを出た瞬間から密封される暴露された場所は垂直ラミナHEPAエアードアにおくことによって達成されると考えられる。

以上、これまでの不具合に対応してきた経緯から無菌充填区域(Grade A)における製造環境として、Grade Bに流出したエアの逆流防止の為、循環型のクリーンブースの採用、Grade Bの垂直方向流の採用。カステン部開放時のラミナフローの改善、最終滅菌が終了した直接容器が無菌充填ラインに入るところから稼働されるまで暴露される工程のHEPAフィルター設置、作業者と充填区域との間のラミナフロー維持等が重要であり、無菌充填部作業スペースをパッケージング化することが最も効果的であ

ると考えられた。

3.2. 無菌製剤製造におけるアイソレータ適用

3.2.1. 無菌操作アイソレータのマウスホールにおける気流挙動

無菌充填ライン等に利用されるアイソレータは、製品の自動搬送に必要なマウスホールを有するが、マウスホール形状は単なるフラットな開口である場合が多く、局所的な気流挙動や実操作上の管理に焦点を当てた検証がなされていないのが現状である。ここでは、マウスホールでの局所的な気流挙動を検証することによって、無菌環境を維持する為の適切なマウスホールの形状とその管理方法を考察し、無菌操作アイソレータの設計へ適用することを検討した。

通常の平板なマウスホールの場合、アイソレータ稼動中の気流可視観測によって、マウスホール枠縁部における気流の巻き込みが観測された。また、微粒子測定の結果により、各差圧において、マウスホール中央部で0~70個/cft/minであった微粒子数が枠縁部では10000個/cft/min以上に増大していた。しかし、アイソレータ内部では微粒子数が0~60個/cft/minであり、外部から巻き込んだ空気のアイソレータ内部への侵入については確認することが出来なかった。そこで、マウスホール部の気流挙動を明確化する為、マウスホール境界面に50mm、200mmと長さの違うトンネルを設置して同様の実験を行ったところ、トンネル天面、側面部で気流が乱れており、トンネル出口縁部で外部から巻き込まれた空気がトンネル内部を逆流している様子が観測された。また、トンネル上部では、排出される気流が下降する現象が観測された。微粒子測定の結果より、トンネル内の天面及び側面部では10000個/cft/min以上の微粒子数が測定され、中央部も170~6180個/cft/minとばらつきはあるが、多くの微粒子数が測定された。気流可視観測からは、アイソレータ庫内の設定差圧の違いによる大きな変化は見られなかったが、微粒子測定の結果より、差圧が大きく境界面風速が速いほど検出される微粒子は多くなり、外部からトンネル内部へ巻き込まれる空気の量が增大することが分かった。

マウスホールは無菌操作アイソレータにおける無菌環境と外部との境界であり、通常は適切な庫内差圧を設定することによって、常に内部から外部への一方向気流を確保している。しかし、本研究により境界面の縁部において外部空気を巻き込む現象が明らかとなった。巻き込み気流は風速が速く、微生物がアイソレータ内に侵入することも考えられる為、マウスホール境界面の防御を検討する必要がある。マウスホール枠縁部を拡大したモデルとしてトンネルを設置し、内部の気流挙動を検討したところ、トンネル天面付近には内部からの下降気流によって、空気の誘引による逆向きの気流が発生し、外部の空気を巻き込んだ気流は境界面で再び排出気流に巻き込まれるというサイクルが考えられた。クリーンクラス管理の為に境界面へトンネルを設置する事例があるが、トンネル内部の環境は気流の巻き込みにより外部から汚染されており、トンネル設置には、実生産時の人的操作からアイソレータ境界面を防御する効果を期待できるが、単純な形状では微粒子汚染防止の効果を期待できない点を認識する必要がある。また、トンネルの形状は、実際のアイソレータのマウスホールサイズや位置からトンネルをモックアップし、気流挙動を把握した上で設計することが肝要であると考えられた。

以上、本研究により、マウスホールにおける気流挙動が明らかとなった。アイソレータ開口部の構造は、内部環境保持のために十分な構造検討が必要であり、外部からの気流巻き込み防止の為には、モックアップ等による気流挙動検討試験が有効である。アイソレータ内を無菌環境維持する為には、マウスホールの境界面の管理方法は重要な課題であり、アイソレータ設置環境管理とも併せて、トータルに検討する必要があることが明らかになった。

3.2.2. マウスホールを有した無菌操作アイソレーター内の差圧設定

アイソレーターは、ハードウォールやグローブのような堅固なバリアを設けることにより、従来の無菌環境よりも高次の無菌操作が可能であると考えられている。しかし、アイソレーターにも用途により様々なタイプがあり、多くの場合、リークを前提とした管理が求められる。しかし、アイソレーターのグレードに応じたリーク量や管理方法はまだ明確化されていないため、個々のユーザーが個別に管理方法を設定している状態である。ここでは、無菌充填ライン等のアイソレーターに存在するマウスホールに焦点を当て、実作業上の外乱因子と無菌環境を管理する為の適切なパラメーターの関係について検討した。

マウスホールの大きさを横50mm×縦80mmとした場合、無負荷時では、差圧5Pa~40Paにて常に内部から外部への気流方向が確認でき、その風速は差圧に応じて1.2m/s~6.1m/sであった。また、マウスホール境界面における微粒子数は0~70個/cft/minであった。その際のアイソレーター外部で8500000個/cft/min、アイソレーター内部で0~60個/cft/minであった。負荷としてグローブ操作(人手による

2ヶのグローブ引出し、押し込み操作)を行った場合、差圧によるマウスホール境界面における微粒子数の変化が見られ、20Pa以下では1回の操作あたり2000個以上となり、25Pa以上では、30個以下となった。グローブ操作時のマウスホール付近の気流を可視化装置にて調べたところ、グローブ引出し動作時に明らかな気流の逆転が観測された。マウスホール付近にバイアル瓶を置いた場合には開口面積が変化したことにより、設置前と比べて差圧の変化が見られたが、差圧5Pa~40Paにてマウスホール境界面における微粒子数の無負荷状態に対する変化は見られず、総じて10~70個/cft/minであった。マウスホール出口付近上部にて風速0.5m/sとなるようにLOCALファンを設置した場合も同様に各差圧にて微粒子数の変化は見られなかった。マウスホールの大きさを横30mm×縦48mm及び横100mm×縦160mmにした場合、無負荷時は上記と同様の結果であったが、グローブ操作で微粒子数が急激に増加する差圧値は、それぞれ30Pa~40Paの間、10Pa~15Paの間となった。

アイソレーターのマウスホール付近の気流変化を及ぼす外乱因子として、実生産時の様々な要因が考えられるが、本結果により、グローブ操作時の影響がかなり大きいことが分かった。グローブを操作することによって気流の逆転現象が起こることが観測され、マウスホールの大きさにより、グローブ操作時の気流の逆転を抑えられる差圧の値に違いが見られ、マウスホールが大きいほど低い差圧値でもグローブ操作の影響を抑えられることが分かった。また、グローブの急な出し入れはアイソレーター内外の差圧を変化させるため、通常は行わないはずである。しかし、予期せぬ事態によりグローブの急な出し入れを行うことは十分に考えられる。従ってグローブの急な出し入れを行わないことをSOP等で規定するとともに、グローブの急な出し入れを行っても気流の逆転がない差圧を設定することが望ましい。

以上、本検討からマウスホールを有する無菌操作アイソレーターの設備パラメーターとして、グローブ操作時の気流逆転現象を抑えられる差圧を設定する必要があることが明らかになった。その相関性はアイソレーターの特性により変化する為、ここで明らかにすることはできないが、設計及び管理手法として取り入れることは必須であると考えられた。

3.2.3. アイソレーター使用グローブのピンホール試験検出限界とピンホールのアイソレーター内部に及ぼす影響

アイソレーターシステムにおいてアイソレーター稼動時の人による操作は主としてグローブを介し行なうため、使用するグローブが不完全だとグローブを介し外部環境及び作業員からの微生物汚染により製品に影響を及ぼす可能性がある。また、グローブは一般的にゴム製のため作業及び滅菌等の劣化により亀裂や孔(いわゆるピンホール)を生じる可能性を常に有している。そのため、グローブの管理はアイソレーターのバリアとしての機能を確保する上で非常に重要である。本研究では、グローブのピンホール試験として一般的に使用されている試験方法を実施し、検出能力を比較及び各種ピンホールがアイソレーター内部に与える影響を評価することにより、アイソレーターに使用するグローブに関してのバリデーションおよび適切な管理方法について検討した。

各種ピンホール試験を静置状態、圧力約500Pa下で実施した結果、①圧力変化(加圧)試験:細孔(ϕ 100 μ m)のみ検出、②ガス変色試験:亀裂(800 μ m)及び細孔(ϕ 100 μ m)が検出、③気泡試験:細孔(ϕ 100 μ m)のみ検出、④電気伝導性試験では全てのサンプルで検出された。しかし、ガス変色試験において亀裂部を動的状態にした場合、全てのピンホールにおいてガスを検出した。また、アイソレーターに設置し、差圧40Pa下で、外部からの気体(アンモニアガス)と液体(アルカリ水溶液)の静置状態および動的状態でアイソレーター内部で検出した結果、静置状態では気体、液体とも全てのピンホールで検出されなかったが、動的状態では、気体では200 μ m以外は全て検出、液体では全てのピンホールで検出された。

ピンホールのうち亀裂に関しては、今回実施したグローブのピンホール試験での検出は電気伝導性試験での全てのサンプル、ガス変色試験での亀裂(800 μ m)を除き不可能であった。この原因は貫通しているにも関わらず静置状態ではゴムの弾力で閉じた状態となっているためであった。しかも、このピンホールはアイソレーターに設置し、差圧が40Paあるにも関わらず動的状態では気体及び液体のいずれも(気体の亀裂200 μ m以外)検出された。これらのことからピンホール、特に亀裂は、ピンホール試験では検出困難であるにも関わらず、作業という動的状態では内部を微生物汚染する可能性が十分あることが示唆された。ピンホール試験の原理による検出限界、また、そのピンホール形状による検出限界の事実を理解することにより、ある種類のピンホール試験を見境なく実施し、「適合」となればグローブのピンホールは全く存在しないので製品として問題がない、という間違った思い込みはな

くなると考えられる。それらを十分理解した上で製品に影響を及ぼさないようにするためにはどのように運用方法が適切か、または、製品に影響を及ぼしたか否かを正しく評価可能な評価系を構築することが可能かを考え、実施し、アイソレーターに使用するグローブについてのバリデーション、管理につなげていく必要性があると思われる。

以上、各種ピンホール試験を実施した結果、検出限界が低いことがわかった。特に亀裂タイプのピンホールに関しては、実作業のシミュレートにおいてグローブに明らかなピンホールが存在し内部環境に影響を与える可能性があるサイズであるにも関わらず、電気伝導性試験を除き検出困難という事実が明らかになった。そのため、これらピンホール試験の原理による検出限界、また、そのピンホール形状による検出限界の事実を正しく理解した上でアイソレーターに使用するグローブについての適切なバリデーション、管理につなげていく必要性がある。

3.3. 無菌製剤の製剤開発

3.3.1. 凍結乾燥条件の設定とスケールアップ

従来の凍結乾燥条件の設定やスケールアップは経験的に行われているケースが多い。一方で、コラプス現象についてガラス転移点(T_g')やコラプス温度(T_c)などの物理化学的データから科学的に考察する取り組みがなされている。しかし、これらの物理化学的データが最適化やスケールアップに十分に活用されていないのが現状である。そこで、本研究では実際の凍結乾燥をこれらの物理化学的データと品温センサーで得られる情報から考察し、科学的な乾燥条件の最適化とスケールアップにおける品質の一貫性を保証するためのストラテジーを検討した。

①いずれの処方系でも T_c は T_g' より若干高い値を示した。また、これらの物理化学的データは10%ラクトース-NaCl混合系では、NaClの添加量に従って徐々に減少し、ラクトース-スクロース系ではスクロースの混合比率の増加に従って減少する傾向が確認された。② T_g' や T_c の値が低い処方系では、同じ乾燥条件でケーキ品質が悪化する傾向が見られた。また、それぞれの処方系について、乾燥条件の変更により T_p-T_g' および T_p-T_c の値が小さくなると外観が改善される傾向が認められた。③ T_p-T_g' および T_p-T_c の値が小さくなると水分が減少する傾向が認められた。特にラクトースでは極端な外観変化が無いにも関わらず、その水分には変化が生じていた。④製造した全てのサンプルは非晶質であることが確認された。また、電子顕微鏡観察を行った結果、外観写真で明らかになった以上の構造上の差は認められなかった。

ケーキ外観は T_g' や T_c と T_p の関係において変化することが確認された。このことは物理化学的データと品温センサーによる適切なモニタリングを組み合わせることにより、凍結乾燥工程をコントロールできる可能性を示唆している。また、今回の結果やこれらの物理化学的データの意味から考察して、同等の外観のケーキでも、 T_p の違いが乾燥後の水の存在状態や凍結乾燥工程における薬物の分子運動性に影響を及ぼすことが推察された。つまり、 T_g' や T_c などの物理化学的データに基づいて T_p のターゲットを設定し、センサーの取り付け方法や凍結乾燥機内の熱伝導バラツキを考慮して適切にモニタリングすること、開発段階に応じて T_p のターゲットを T_g' 、 T_c 、さらにはそれ以上に変更し、段階ごとに品質の同等性を確認していくことが重要である。これにより、最適化や品質の一貫性を科学的に保証でき、しかも、これまで繰り返し行われてきた乾燥条件をいくつか変化したチャレンジ試験も軽減できると思われる。

以上、実際の凍結乾燥を T_g' や T_c などの物理化学的データと品温センサーで得られる T_p との関係から考察し、また、凍結乾燥機内の熱伝導のバラツキも考慮した結果、理論的なバックグラウンドに基づいた凍結乾燥条件の最適化とスケールアップにおける品質の一貫性を保証するための1つのストラテジーを提案した。

3.3.2. 懸濁注射剤開発における物性評価と品質に及ぼす原料の影響

医薬品の品質を確保するためには、処方設計の段階において特性に応じた検討を行い、得られるデータを科学的根拠に基づいて解析することが重要である。懸濁注射剤の処方設計においては、主薬の理化学的安定性の確保のみならず、懸濁化剤の選択や分散粒子径の最適化等、物理化学的安定性の確保を目的とした検討が必要である。ここでは、懸濁注射剤の種々の物性評価を行い、品質に及ぼす原料の影響について検討し、最終製品の品質を確保するためのストラテジーを提案した。

①平均粒子径 $2.8\sim 7.2\mu\text{m}$ の原末を用いて調製した懸濁注射剤の比沈降容積(室温24時間後)を測定した結果、比沈降容積は粒子径に応じて $3.3\sim 5.7\text{mL/g}$ の値を示し、粒子径が小さいほど比沈降容積が大きかった。②エーテル化度が $0.7\sim 1.3$ のCMC-Naを用いて調製した懸濁注射剤の比沈降容積(室温24

時間後)を測定した結果、原末の平均粒子径が $3.5\mu\text{m}$ の場合には比沈降容積は $4.5\sim 5.1\text{mL/g}$ の間で変動し、エーテル化度が高いCMC-Naを用いるほど比沈降容積が大きかった。③懸濁注射剤の沈降様式は、エーテル化度が高いCMC-Naを用いた場合には凝集沈降系を示し、逆にエーテル化度が低いCMC-Naを用いた場合には自由沈降系を示す傾向が認められた。また、エーテル化度が高いCMC-Naを用いるほど、ゼータ電位の絶対値が大きくなることが観察された。④懸濁注射剤の再分散性とCMC-Naのエーテル化度との相関関係について評価した結果、原末粒子径が小さくエーテル化度が高い処方系ほど凝集沈降系を示し、再分散性が良好であった。

以上、分散安定性の指標の一つである比沈降容積は、原末の粒子径により大きく変動した。これは沈降速度が粒子半径の2乗に比例する(Stokesの式)ことから考えると妥当な現象であり、比沈降容積を大きくするためには、分散粒子の粒子径を小さくする必要があることが示唆された。また、CMC-Naのエーテル化度のちがいにより比沈降容積が変化したこと、さらに沈降様式(凝集沈降または自由沈降)が変化したことは、エーテル化度の違いにより、原末とCMC-Naのカルボキシメチル基との間の相互作用の強さが変化し、両者の立体架橋に差が生じたためと推定された。また、製品品質の指標として再分散性を評価した結果、原末粒子径及びCMC-Naのエーテル化度を適切に選択することにより、沈降様式が凝集沈降系の懸濁注射剤が得られ、比沈降容積が大きく再分散性の良好な製品を調製できることが示唆された。懸濁注射剤の処方設計上重要と考えられる主薬及び懸濁化剤(CMC-Na)の特性に着目して検討を行い、最適な原末粒子径を選択することおよび懸濁化剤のグレードについても考慮する必要があることを明らかにした。

3.3.3. 懸濁注射剤製造における結晶析出条件の検討

懸濁注射剤は日本薬局方の製剤総則「注射剤」に記載されている注射剤の一形態であり、投与は皮下及び筋肉内である。薬物の粒子径が大きすぎると投与時の痛みが強くなり、また、注射針に詰まる可能性があることから粒子径は $150\mu\text{m}$ 以下と規定されている。ところが、粒子径が微細過ぎると主薬の作用は速やかとなり、持続性が低くなるとの報告も見られる。例えば、安息香酸エストラジオール水性懸濁剤では「結晶の大きさは $10\mu\text{m}$ 程度で結晶形状や大きさはなるべく均一であることが望ましい」と記載されている(日局14)。懸濁結晶を得るには、薬物をエタノール等の溶媒に溶かし水と混合して析出させる方法や機械的に結晶を微細に砕く方法が知られている。前法では溶媒の種類や析出方法等により著しく異なった粒子径や結晶形の得られることが十分予想される。そこで、日局収載品である「エストリオール水性懸濁注射液」をモデルとし、エストリオールの結晶析出における重要条件の特定とその評価を検討した。

エストリオール溶液へ注射用水を注入する方法では、短時間(200mL/5秒)で注入した場合明らかに粒子径は小さくなり $5\mu\text{m}$ 以下となった。注入速度が1~45分では時間が長いほど粒子径が大きくなり結晶が成長している傾向が見られたが、析出結晶の結晶形はいずれの場合でも同一であった。しかし、攪拌速度及びアルコールの種類は粒子径、結晶形に影響を与えなかった。一方、注射用水へエストリオール溶液を注入する方法ではいずれの条件においても粒子径は $5\mu\text{m}$ 以下の微粒子が析出した。

エストリオール溶液へ注射用水を注入する方法では、粒子径を決定する重要な条件は注射用水の注入速度であり、注入速度が速いと微粒子が生成した。注射用水を注入し結晶を析出させる方法は、混合液の水比率を大きくすることによりエストリオールの溶解度を下げ結晶を析出させる方法である。注入速度が速すぎると溶解度低下が急激であり結晶成長することなく析出し、微粒子が生成したと考えられる。以上の結果より、注射用水の注入速度の制御により析出する結晶粒子径、形状のコントロールが可能と示唆された。一方、注射用水へエストリオールのメタノール溶液を注入する方法では、いずれの注入速度でも注入直後から注入終了まで常に混合液の溶解度は低い状態であることから、注入速度に関わらず結晶成長することなく微粒子が生成したと考えられた。

以上、エストリオールをモデルとし①注入速度②攪拌速度③溶解アルコールの種類の影響を検討した。注射用水を注入する析出方法では注射用水の注入速度が粒子径を決定する重要条件であることが明らかとなり、注射用水の注入速度の制御により析出する結晶粒子径、形状のコントロールが可能と示唆された。一方、エストリオール溶液を注入する析出方法では検討したいずれの条件でも微粒子が生成し、今回検討した条件では粒子径のコントロールは不可能であることがわかった。

3.3.4. タンパク製剤の凍結乾燥工程における影響因子の検討

タンパク製剤は一般的に物理的および化学的なストレスを受け易いため、通常の化合物に比べてより高度な製造工程管理が要求される。タンパク製剤中での沈澱形成は投与時の注射針の目詰まり、投

与後の血管塞栓、抗原性の発現につながるため特に問題である。そのためタンパク製剤においては凝集体(沈澱)評価を含めた品質管理が不可欠である。本研究ではタンパク製剤(凍結乾燥製剤)の製造工程の中で攪拌及び凍結乾燥工程に焦点を置き、凝集体形成促進因子を明確化することを目的として検討を行なった。

①攪拌工程：未攪拌(A600nm：99.98)に比べて60分間の攪拌により濁度は上昇した。平羽,円板付,角度付タービンでそれぞれ98.84,98.52,99.57であった。溶液中央および深部での攪拌(99.57,99.56)に比べて、表面付近の攪拌では濁度は顕著に上昇した(97.82)。室温(99.98)と氷冷下(98.32)では有意な差が認められなかった。窒素バブリングにより顕著な濁度上昇が認められた(ガラスチューブで94.24、ガラスフィルターでは白濁し溶液は2相に分離した)。②凍結乾燥工程：凍結乾燥後のケーキ外観は良好であり、不純物総含量についても凍結乾燥前に比べて顕著な差は認められなかった。しかし、再溶解後の溶液はいずれも濁度上昇が認められ(54.5~89.9)、濁度強度は中心部>棚奥>棚手前の順であった。沈澱は実測パラメータの中で凍結速度への依存性が高いことが明らかとなった(相関係数：0.854)。

攪拌工程では空気の巻き込みが沈澱生成を促進するため、温和な条件(適切な攪拌翼種の選択,低攪拌速度,低攪拌位置)で攪拌を行なうことが重要である。窒素バブリング操作は顕著に沈澱形成を促進するため工夫が必要である。凍結乾燥後の濁度は凍結速度への依存性が高いことが明らかとなった。棚位置による濁度の差異を考えると、バラツキを最小限に制御していくためには凍結乾燥の凍結プログラムに凍結速度を均一とする工夫を加える必要がある。また、凍結速度に影響を受けないような製剤設計や処方設計も必要である。タンパク製剤の品質管理項目は多岐にわたるため、これらの管理パラメータを組み合わせ評価を行なった上で最適な凍結乾燥プログラムを構築することが重要である。

以上、IgG溶液をモデル化合物としてタンパク製剤の製造工程(攪拌工程,凍結乾燥工程)における品質低下因子を検証した。その結果、攪拌工程では空気の巻き込みが、凍結乾燥工程では凍結速度がIgGの凝集体(沈澱)形成の影響因子であることが明らかとなった。

3.4. 無菌製剤の直接容器の適合性、完全性

3.4.1. 無菌製剤の直接容器設計：ゴム栓の品質と評価

無菌製剤の直接容器の選定においては製剤との相互作用について注意深い検討が必要である。本研究では、バイアル注射剤のゴム栓に着目して、その品質が製剤の品質に与える影響を明らかにし、適切な品質を有するゴム栓を選定するために必要な品質評価試験法を検討した。

ゴム栓①を使用した凍結乾燥製剤の不溶性微粒子数は製造直後から他のゴム栓よりも多く、経時的にも著しく増大した。ゴム栓②もやや多い傾向にあった。製造直後の水分値はいずれの検体においても約0.2%で同等であったが、ゴム栓①を使用した製剤の40℃75RH%・3ヶ月保存後の水分値は0.4%となり、他の検体に比べて高くなった。製剤のpH変化はいずれの検体でもほぼ同等であったが、ゴム栓①を使用した製剤は40℃75RH%・3ヶ月保存後の含量が92.7%となり、他の検体に比べて不安定であった。これらのゴム栓の水分特性を測定した結果、経時後のシリカゲルの吸湿量と凍結乾燥製剤の水分値との間に良好な相関が得られ、ゴム栓①,⑥は水分を通しやすく内容製剤の水分値が上昇することが明らかとなった。ゴム栓②は水分を通しにくい性質であるが、自らが有する水分を放出しやすいためこの水分が内容製剤へ移行して製剤の水分値を上昇させることがわかった。一方、ゴム栓⑥は水分を通しやすいにもかかわらず自らが水分を保有する性質を持っているため、製剤への水分移行は若干緩和された。また、市販製剤のゴム栓についてコアリング試験を実施した結果、穿刺抵抗が大きいゴム栓ほどコアリングが発生しやすいという結果が得られ、特にラミネート加工ゴム栓では硬度が高く穿刺抵抗も大きいいためコアリング発生の可能性が高くなると考えられた。

ゴム栓は、配合されている加硫剤や滑剤、安定剤などが揮発して不溶性微粒子の発生原因となり、製剤の安定性を損なう場合がある。本研究において、局方輸液用ゴム栓試験法に適合した市販のゴム栓でも製剤によっては不溶性微粒子を多く発生させる場合があることがわかったが、特に凍結乾燥工程では揮発性成分がゴム栓から内容製剤へ移行する可能性が高いことから十分な注意が必要である。また、ゴム栓はバイアル瓶を密封するためのものではあるが水蒸気や酸素を完全に遮断するものではない。したがって、凍結乾燥製剤のように水分が品質劣化に繋がる製剤の場合はゴム栓の持つ水分特性を十分調査しなければならない。今回、経時後のシリカゲルの吸湿量と凍結乾燥製剤の水分値との間に良好な相関関係が得られ、製剤の水分値の上昇がゴム栓を介した製剤への水分移行に起因することが明らかとなったことから、本試験法におけるシリカゲルが吸湿性の高い製剤のモデルとして有効

で、この試験法がゴム栓の水分特性を顕著に観測できる方法として有用であることが示された。また、ゴム栓はその組成により様々な水分特性を有するが、製剤への水分移行にはゴム栓の水分透過性だけでなく保水能力も関連していることが明らかとなった。一般に、ゴム栓からの揮発性物質・溶出物を遮断するためにはラミネート加工が有効であるが、本研究において、ラミネート加工ゴム栓はコアリング発生の危険性が高いことが示された。ゴム栓穿刺時のコアリングは製剤品質を著しく低下させるためコアリング発生のないゴム栓を選択することは重要であり、これらあらゆる品質要件をバランス良く満たすゴム栓の選択が要求される。

以上、ゴム栓の揮発成分及びゴム栓を介した内容製剤への水分の移行が製剤の品質を劣化させることを明らかにした。また、今回実施した試験法は注射剤のゴム栓が製剤の品質に与える影響を適確に把握する方法として有用であることを示した。注射剤の直接容器設計において適切なゴム栓を選定するためには、局方輸液用ゴム栓試験法に適合することだけでは不十分で、特にゴム栓と製剤との相互作用・製剤の品質に与える影響の有無等について、今回提案した試験法により注意深く検討する必要があると考える。

3.4.2. 無菌製剤の直接容器設計：ガラスバイアルと薬液との相互作用

注射剤用ガラス容器は局方で規定されているが、あらゆる処方または製法に適するとは限らず、薬液とガラス容器との相互作用については明らかにされていないところがある。そこで、本研究では製剤設計におけるガラスバイアルの選定方法の確立を目指して、材質、内面処理及び加工方法の異なるバイアルについて、薬液並びに製造工程で暴露される熱負荷の違いによって生じる相互作用、特にフレークス発生を比較し、その影響について検討した。

ホウケイ酸ガラスのうち管瓶のサルファー処理品と自動瓶のサルファー未処理品、また、最終滅菌されていないバイアルではいずれの薬液でもフレークス発生を認めなかった。①注射用水の場合：フレークスは、ソーダライムガラスのうち20分以上で最終滅菌されたサルファー未処理品及び250℃で乾熱滅菌し且つ60分の最終滅菌されたサルファー処理品、並びにホウケイ酸ガラスの管瓶を280℃で乾熱滅菌し且つ最終滅菌したサルファー未処理品で観察された。フレークスを認めたバイアル数は経時的に増加し、pHやナトリウム溶出量も経時的に増加が認められた。これらのバイアルの内面をSEM写真で確認したところ、内面が崩壊・剥離した状態が観察された。一方、フレークス発生を認めなかったバイアルについてはpHやナトリウム溶出量の増加は見られなかった。②生理食塩液および注射液Xの場合：上記①と比べて、フレークスはサルファー処理済みのソーダライムガラスのうち280℃で乾熱滅菌し且つ20分で最終滅菌されたものと250℃・30分で乾熱滅菌し且つ60分の最終滅菌されたもの、ホウケイ酸ガラスの管瓶でサルファー未処理品を250℃・120分で乾熱滅菌し且つ最終滅菌したものでも観察された。バイアル内面及びpHは上記①と同様な傾向(ただし、薬物Xの含量は約4%低下)であった。フレークス発生を認めなかったバイアルのpHについては、上記①と同様な傾向であった。

ガラスは薬液の侵食を受け、アルカリ成分が溶出し、化学的に不安定な構造となってガラス内面の一部が剥離してフレークスを発生すると言われている。今回の結果から、フレークスはホウケイ酸ガラスの方がソーダライムガラスよりも発生しにくく、内面処理に関してはサルファー処理の実施がフレークス発生防止に効果があることが確認できた。工程からの熱負荷に関しては、乾熱滅菌では高温で暴露されたとき、最終滅菌では時間が長いときにフレークスは発生し易く、特に最終滅菌の時間による影響が寄与していることがわかった。これは、充填された薬液とバイアル内面との衝突が最終滅菌で増加したためであり、オートクレーブの際に溶液の膨張といった物理的要因によって生じたと考えられる。また、加工方法の違いでフレークス発生に違いがあることがわかった。実験に用いたホウケイ酸ガラスの自動瓶及び管瓶は、それぞれ米国及び国内で液剤バイアル用として製造されたものである。これらは加工時の組成や熔融温度は同じであるが、管瓶は2次加工を要する点で熱履歴が自動瓶と異なる。この違いがフレークス発生の違いに関与していると考えられる。これらのことから、バイアル選定では、材質や内面処理だけでなく、その加工方法を確認し、製造工程を考慮して相互作用の影響を評価することが求められる。

以上、材質、加工方法あるいは内面処理が異なるバイアルを用いた研究により、フレークス発生の要因としては、材質の違いに依ることもあるが、加工方法や表面処理の違いによるバイアルの内面状態の違いも関与していることが示された。また、注射液剤製造工程中で暴露される熱負荷によって、薬液とバイアル間にフレークスを生じさせうることが分かった。

3.4.3. プラスチック容器の完全性評価

無菌医薬品に使用するプラスチック容器の施栓後の完全性は、微生物的及び物理的試験による評価が提案されているが、標準的な方法は確立されていないのが現状である。プラスチック容器の構成は多岐に渡るため、統一した評価系を見出す過程として、ここでは点眼剤/点耳剤で一般的なボトル・ノズル・キャップから構成されるスクリーキャップのプラスチック容器について完全性評価を行った。この形態の容器では完全性を確保しているのはパーツの接合面であり、材質、形状及び装栓時のキャップの締めトルク圧が完全性を左右する。無菌性を評価する上では微生物的な評価が最良の方法と考えられる。このため評価方法として微生物浸漬試験法を設定した。しかし本法は時間的・コスト的な負荷が大きいため、その代替法として簡便な液漏れ試験法を採用する妥当性を考察した。

①プラスチック容器の締め/開けトルク特性評価：締めトルク値1.0～4.5kgf・cmの範囲で締めトルク値と開けトルク値には直線的な相関が確認された。また、締めトルク値1.5～3.5kgf・cmで施栓した容器の開けトルク値は経時的に低下したが、約2日間で安定化することが確認された。②微生物浸漬試験：締めトルク値0.2～2.0kgf・cmで施栓した全ての容器において菌の浸入は認められず陰性であった。③液漏れ試験：重量変化による評価では締めトルク値0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0kgf・cmに対し、液漏れ本数は20, 13, 9, 5, 1, 0/20（液漏れ本数/試験本数）、ろ紙による漏れ評価では、19, 9, 5, 1, 0, 0 / 20であった。両法の結果を合わせると1.0kgf・cm以下の締めトルク値では液漏れが確認され、重量変化による評価方法の方が感度が良いことが示唆された。また、参考として実施した細孔を開けた容器では、孔径4～12mm全てにおいて液漏れが認められた。

微生物浸漬試験に用いる指標菌は種々報告されているが、環境由来であり滅菌用フィルターの除菌性能試験に用いられている*B. diminuta*を選定した。菌液濃度も 10^8 cfu/mLと通常的环境下を考えると苛酷な量であり妥当な試験法と考える。スクリーキャップ容器の完全性の重要因子となる締めトルク圧を同一条件とした容器に対し微生物浸漬試験及び液漏れ試験を行った結果、液漏れ試験では0.2～1.0kgf・cmの範囲で液漏れを検出したが、微生物浸漬試験では全て陰性であった。このことから液漏れ試験の方が容器の完全性評価として高感度であり、微生物浸漬試験の代替法として液漏れ試験は妥当であることが示唆された。液漏れ試験は簡便で効率的な手法であり、締めトルク値のような重要パラメーターとの相関を検証することで容器の完全性評価法として採用できると考える。ピンホールに対して同様な評価の実施を検討したが、対象の容器に5mm以下の細孔を精度良く開けることが技術的に困難であった。このため参考として孔径4～12mmの穴を開けたB製品容器に対して同様に液漏れ試験を実施したところ、全て液漏れが確認された。このことから今回実施した液漏れ試験では4mm以上のピンホールは検出可能であることが示された。しかし孔径4mmは一般液な環境菌より物理的に大きいことからこれ以上の検討は実施しなかった。今回の研究はさらに発展させ、統計的な検証を行うことで保証レベルの向上に繋げることが出来る。他の容器への展開については、容器の材質、形状、形態は多岐に渡り、今回の結果をそのまま引用するのは難しいが、重要パラメーターを正確に把握し微生物的試験と物理的試験の相関性について評価を行うことで代替法を設定することが可能であると考えられる。

以上、無菌医薬品に使用するスクリーキャップのプラスチック容器の施栓完全性評価について、微生物的な観点から評価方法の設定を行った。また、スクリーキャップの締め/開けトルクの相関や開けトルクの経時変化を確認することで、通常生産において微生物的観点からの管理値の妥当性を示すことができた。さらに、今回実施した液漏れ試験は微生物的試験より高感度であり、代替法となりうることを示した。

3.5. 無菌製剤開発過程における規格設定とプロセスバリデーション

3.5.1. 電子線滅菌と容器の完全性

無菌製剤の無菌性を保証するために無菌試験が用いられているが、規定された試験で検出できない微生物が存在する可能性があることや破壊試験であり全数検査を行うことができないといったことから、限られた範囲での無菌性を保証するための一手段に過ぎず、本来は製造工程で保証されるべきものと考えられる。無菌製剤のプロセスバリデーションとしては、滅菌工程サイクルの適格化、バイオバーデン、容器の完全性の保証、環境管理などについて検討する必要があると考えられるが、ここでは、電子線滅菌における無菌保証及び容器の完全性についてのバリデーションの事例を示した。

①電子線滅菌での無菌保証：3ロット各10試料の試験結果からバイオバーデンは30.76であったことから、IS011137表B.1により、検定線量(SAL 10⁻²)を6.6kGyと設定した。Saddle部の滅菌工程における最小および最大線量は、各々19.5kGyおよび45.0kGyであった。尚、線量計をSaddleの内部と表面に設置し、内部対表面の線量比をあらかじめ求めておき、表面の照射線量からこの線量比を用いて内部

の照射線量を計算した。②容器の完全性(1)輸液用プラスチック容器製剤：いずれの検体においても菌の発育は認められず、容器の完全性は担保されていると考えられた。また、薬液を含む製剤について、製造時及び25℃60%RHで3, 6, 9, 12箇月間保存した検体につき無菌試験を行った結果、いずれも無菌であった。(2)バイアル製剤：いずれの検体においても菌の発育は認められず、容器の完全性は担保されていると考えられた。さらに、試験室に戻した検体を25℃60%RHで3, 6, 9, 12箇月間保存した後同様に試験したが、いずれの検体においても菌の発育は認められず、輸送期間及び保存期間中も容器の完全性は担保されていると考えられた。また、薬液を含む製剤について、製造時及び25℃60%RHで3, 6, 9, 12箇月間保存した検体につき無菌試験を行った結果、いずれも無菌であった。

電子線滅菌は滅菌に要する時間が短く、また、電子線の挙動は安定しており、照射時の配置に変更がない限り製品全体の相対的な線量分布は変わらないと考えられることからバリデーションも容易である。しかし、電子線の透過性は γ 線等に比べて劣るため、内部の線量を測定する必要がある。本研究で示した方法は、線量計をSaddleの内部と表面に設置し、内部対表面の線量比をあらかじめ求めておくことにより、容器の表面の線量のみを測定することで、線量計を部品の中に設置するという難しい作業の繰り返しを回避する有用な方法であると考えられる。容器の完全性については、生物学的インジケータを用いたチャレンジ試験により、製造時の容器の完全性をバリデートし、さらに製品の流通期間中における容器の完全性をもバリデートする際の事例を示した。なお、本試験法の、容器に培地を充填するという性質上、薬液を含む実際の製剤について、無菌試験によりその有効期間中の無菌性を確認しておくことも重要である。

以上、無菌製剤のプロセスバリデーションとして考えられる項目のうち、電子線滅菌における無菌保証および容器の完全性についてのバリデーションの事例を示した。電子線滅菌は比較的バリデーションの容易な滅菌方法であり、今後医薬品への適用が期待されるものである。容器の完全性については、製造時のみならず、輸送、保存による影響も考慮してバリデーションを行う必要があると考える。

3.5.2. ヒト化モノクローナル抗体医薬品の製剤化工程の検討

抗体医薬品は高分子量であるため、種々の物理的要因により抗体分子の分解や凝集等の変性を引き起こすことが課題となる。そこで、抗腫瘍薬として開発したヒト化モノクローナル抗体(huMAb)の製剤化工程に着目し検討を行った。まず、製剤安定化の有効な手段である凍結乾燥による品質劣化を防ぐ目的で、賦形剤の選定を行った。また、凍結乾燥の前段階において、huMAb原液融解後からろ過滅菌までの間に凍結融解を繰り返すことから、huMAb原液のHold Timeについて調べた。さらに、ろ過滅菌におけるhuMAb原液とフィルターとの適合性の検討を行った。

①凍結乾燥工程におけるhuMAb原液の安定化：高濃度のhuMAb原液を凍結乾燥した場合、トレハロース単独あるいはスクロース/マンニトールの混合を添加することによりhuMAbは安定であった。一方、低濃度のhuMAb原液を凍結乾燥させた場合、トレハロースはhuMAbの安定化に良好な成績が得られたが、マンニトール及びソルビトールではhuMAbの凝集が認められた。②huMAb原液のHold Time：3回の凍結融解の間、累積して36日以上2～8℃で保存した試料は、試験開始時と比較して、分解・凝集や活性の変化が認められなかった。また、生菌数試験の結果はバイオバーデン設定値である1 CFU/mL以下であり、Hold Time中の菌の増殖は認められなかった。③huMAb原液とフィルターとの適合性：無菌ろ過後のhuMAbに変性及び含量低下は認められず、原液とフィルターとの適合性を確認することができた。

抗体医薬品の凍結乾燥における安定化について本研究で調べた賦形剤のうち、日本では注射剤の使用実績のなかったトレハロースが最適であることが判明した。トレハロースは、その立体構造や水和特性により、抗体のような高分子量タンパク質を凍結乾燥によるストレスから保護し、安定化を向上させていることが考えられる。また、Hold Time中において、凍結融解の繰り返しにより品質が劣化しなかったことも、トレハロースが安定化に起因していると思われる。また、Hold Time中に微生物汚染及び増殖が認められなかったことから、抗体医薬品の原液融解後の工程手順に変更がない限り、製造毎にバイオバーデンを管理すれば、微生物による品質劣化はないと考えられた。

以上、huMAbについて、凍結乾燥における安定化にトレハロースを賦形剤として添加することで良好な結果が得られた。また、製剤化に重要なHold Time中におけるhuMAb原液の品質及び工程の微生物汚染がないこと、更に、原液とフィルターとの適合性を確認した。

3.5.3. 安定性試験プログラムと市販後の品質保証

開発時に設定した医薬品の品質を、有効期間を通し全てのロットについて保証する為には、製品開発過程から安定性について十分な検討を行い、包装、貯法、有効期間、および品質規格等を決定する

ことが重要である。また、出荷後の製品について安定性をモニターして行くことも重要である。開発から実生産までの安定性試験プログラムと、市販後の品質保証の方法を品質保証の立場より明らかにすることを目的とした。

①開発段階の安定性試験：製剤の包装、保管・輸送条件、有効期間、品質規格等を設定する為の各開発段階に応じた安定性試験プログラムを示した。試験は、5℃、25℃/60%、30℃/40%、30℃/60%、30℃/70%、40℃/75%、40℃ dry、50℃ dry、-20℃より選定した条件において、所定の期間行なう。

②実生産開始後の安定性試験：実生産開始後のロットと、開発段階のロットとの同等性を評価する安定性試験プログラムにおいては、25℃/60%において有効期間+1年間、40℃/75%において6ヶ月間の試験を、3ロット以上のロットについて行なう。また、出荷後の製品の安定性をモニターする為に代表ロットの25℃/60%における有効期間+1年間の安定性試験を行う。注射薬Aの場合、25℃及び5℃における36ヶ月までの定量結果を用い、回帰分析により有効期間(試験を行った包装形態、温度、湿度において、信頼限界95%で、全てのロットが規格を満たしている期間)を算出すると、25℃(室温保存)の場合0.9年、5℃(冷所保存)の場合2.2年であった。

安定性試験結果に基づき、有効期間を設定する場合、定量値のみではなく、純度試験及び溶出試験結果等も併せて評価することにより、より適切な設定が可能となる。これらには統計的解析が有効である。ICH Q1A(R)安定性確認の為の試験実施(コミットメント)のなかでも述べられているが、実生産スケール3ロット以上について、有効期間を保証する期間まで長期安定性試験を行ない、開発段階のロットとの同等性を確認する必要がある。製造開始後、原料或いは製造方法等に変更が有る場合のように、何らかの変化が予測される場合には、変更時のバリデーションに加え、長期安定性試験により確認を続け、異常が認められた場合は、速やかに対策をとることが必要である。また、市販後のロットを用いて行った安定性試験結果により、設定できる有効期間を算出し、開発段階で設定した安定性と差異が無いかをモニターしてゆくことも重要であると考え。

以上、開発段階における安定性試験のプログラムを示し、その要件を明らかにした。安定性試験結果に統計的に有効期間を算出し適用する。この結果に基づいて、貯法、包装、再検査期間、輸送条件、有効期間、規格等が設定される。また、開発過程の試製ロットと実生産ロットの安定性における同等性の評価、および製品出荷後の品質をモニターする安定性試験のプログラムの重要性を示した。

4. まとめ

平成13年度は、無菌製剤製造におけるプロセスバリデーションと科学的品質保証に関して、特に無菌製剤の開発過程に重点を置いて以下の重要項目について研究を行った。1) 無菌製剤製造における構造設備に関して、三次元気流測定と微生物・微粒子データによる無菌室の環境評価、空調エアフローと微粒子の偏在の解析、コンピュータシミュレーションによるクリーンブース内気流と微粒子滞留現象の解析、適切な無菌ろ過システム選定のための試験設計、無菌粉末充填工程における工程外部由来異物の対策、無菌充填区域の不具合の検討と新たなライン構築について、2) アイソレータ適用における適格性評価として、無菌操作アイソレータのマウスホールにおける気流挙動、マウスホールを有した無菌操作アイソレータの差圧設定、アイソレータ使用グローブのピンホール試験検出限界とピンホールのアイソレータ内部に及ぼす影響について、3) 無菌製剤の製剤開発として、凍結乾燥条件の設定とスケールアップ、懸濁注射剤開発における物性評価と品質に及ぼす原料の影響、懸濁注射剤製造における結晶析出条件の検討、タンパク製剤の凍結乾燥工程における影響因子の検討について、4) 無菌製剤に使われる直接容器の適合性、完全性の検討として、無菌製剤の直接容器設計として、ゴム栓の品質と評価およびガラスバイアルと薬液との相互作用、プラスチック容器の完全性評価について、5) 無菌製剤開発過程における規格設定とプロセスバリデーションのとして、電子線滅菌と容器の完全性に関するプロセス開発、ヒト化モノクローナル抗体医薬品の製剤化工程の検討、安定性試験プログラムと市販後の品質保証について取り上げ、開発過程を含めて、無菌製剤の製造プロセスをどのように構築して、プロセスバリデーションに繋げて科学的品質保証の達成するかについて研究を行った。

以上、本研究は、多くの企業の参加を頂き、共同研究の推進および毎月の研究結果に対する全体での討論など活発に研究を行い、HS研究の目的の一つである官民共同研究の利点を十分に発揮し、多くの有用な研究成果を上げることが出来た。本研究は、医薬品の品質、安全性に直結している。その重要性を鑑み、今後とも社会に役立つ研究にすべく努力を続けていきたい。

5. 研究発表

本研究で行ったバリデーション実施法などの研究成果の詳細は書籍として刊行予定である。

なお、本研究は分担研究者に加え、以下の方々のご協力を得て実施したものである。

国立公衆衛生院：檜山行雄

エーザイ(株)：小内克巳

グラクソ・スミスクライン(株)：佐護 毅

三共(株)：菊池崇行・田島理江・鈴木正彦

参天製薬(株)：船塚政男・園田雅樹・出口 裕・山田 博・西田孝司

塩野義製薬(株)：池田かおり・柏木英二

武田薬品工業(株)：向井 圭

田辺製薬(株)：成澤真治・園田智之

第一製薬(株)：山内仁史・小島一也

中外製薬(株)：藤本一郎・上野誠二

千代田化工建設(株)：町田 進・前川宗則・平田 淳・中尾 良・栗原 令

帝国臓器製薬(株)：高橋三郎・野田潤一郎・盛 智美

日揮(株)：相良敏夫・小野道由・清水佳織

日本ポール(株)：志村靖二・早福直美

日本ロシュ(株)：小滝広和・新井貴博

ノバルティスファーマ(株)：中村 徹

(株)パウレック：夏山 普・長門 琢也

ファイザー製薬(株)：鈴木倫典・菊田弘和・神谷明良・小林一三

ファルマシア(株)：山本隆二・コリン・デービス

藤沢薬品工業(株)：小山靖人・片山博仁