

- ターの作製・増殖法、*実験医学*, 20, 1799-1804 (2002)
64. 内田恵理子、早川堯夫：ヒトGHの化学（構造、アイソフォーム、化学的性質）、*内分泌・糖尿病科*, 15(Suppl.1), 10-18 (2002)
 65. 早川堯夫、山口照英、石井（渡部）明子、押沢 正：核酸増幅法によるウイルスゲノム等検出に関するフィージビリティスタディ、*医薬品研究*, 33, 275-284 (2002)
 66. 早川堯夫、山口照英、押沢 正：日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究 ―ウイルス安全性確保の基本要件―、*医薬品研究*, 33, 210-230 (2002)
 67. 早川堯夫、石井（渡部）明子：生物薬品の開発の現状とトランスレーショナルリサーチへの条件、*医学のあゆみ*, 200, 539-543 (2002)
 68. 早川堯夫、石井（渡部）明子：先端的バイオロジクス開発の現状と新たなバイオ創薬に向けての課題、*医薬品研究*, 33, 693-729 (2002)
 69. 太田美矢子、川崎ナナ、伊藤さつき、早川堯夫：糖鎖含有タンパク質製剤の評価試験法に関する研究（IV）― エリスロポエチン製剤 その4、*Bull. Natl. Inst. Health Sci. (in Japanese)*, 120, 89-97(2002)
 70. 早川堯夫：バイオテクノロジー応用医薬品、*臨床試験*、内藤周幸編、(印刷中)、薬事日報社、東京
 71. 水口裕之、早川堯夫：遺伝子機能解析のための遺伝子導入ベクター-ウイルスベクターを中心として、*蛋白質核酸酵素* (印刷中)
2. 学会発表
 1. Aizaki H., Suzuki T., Matsuda M., Murakami K., Ishii K., Nagamori S., Kawakami H., Ishiko H., Kawada M., Matsuura T., Hasumura S., Matsuura Y., and Miyamura T. Production and release of infectious HCV particles from persistently infected human liver cell cultures transfected with full length-HCV RNA. 9th International Meeting on HCV and Related Viruses, San Diego, USA, July 7-11, 2002.
 2. Sasano T., Shimoike T., Matsuura Y., Miyamura T., and Suzuki T. Characteristic bases in HCV 5'UTR among genotypes identified by principal component and multidimensional scaling analyses. *ibid.*
 3. Suzuki R., Sakamoto S., Tsutsumi T., Rikimaru A., Shimoike T., Machida S., Matsuura Y., Miyamura T., and Suzuki T. Molecular determinants for the subcellular localization of HCV core protein. *ibid.*
 4. Moriishi K., Okabayashi T., Nakai K., Moriya K., Koike K., Murata S., Chiba T., Tanaka K., Suzuki R., Suzuki T., Miyamura T., and Matsuura Y. Nuclear localization of HCV core protein through PA28gamma-dependent pathway. *ibid.*
 5. Tsutsumi T., Matsuda M., Moriya K.,

- Miyoshi H., Fujie H., Shintani Y., Koike K., Suzuki T., and Miyamura T. Proteomics analysis of mitochondrial proteins in the liver of the hepatitis C virus core-transgenic mouse and hepG2 cells expressing the core protein. *ibid.*
6. Tsutsumi T., Suzuki T., Moriya K., Shintani Y., Fujie H., Miyoshi H., Koike K., Miyamura T. Activation of mitogen-activated protein kinases in the liver of transgenic mice expressing hepatitis C virus core protein. AASLD 53rd Annual Meeting, Boston, USA, November 1-5, 2002.
 7. 堤武也、鈴木哲朗、森屋恭爾、新谷良澄、藤江馨、三好秀征、松浦善治、小池和彦、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア遺伝子トランスジェニックマウスの肝臓内における mitogen-activated protein kinase の活性化の検討. 第38回日本肝臓学会総会, 2002年6月, 大阪.
 8. 堤武也、鈴木哲朗、森屋恭爾、新谷良澄、藤江馨、三好秀征、松浦善治、小池和彦、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア遺伝子トランスジェニックマウスの肝臓内における MAPK の活性化の検討. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月, 東京.
 9. 町田早苗、石井孝司、鈴木亮介、赤塚俊隆、鈴木哲朗、宮村達男. 弱毒ワクシニアウイルス DI₈ を用いた C型肝炎ウイルス構造蛋白の発現. 同上.
 10. 村上恭子、染谷友美、根岸英雄、石井孝司、岩堀徹、相崎英樹、鈴木哲朗、宮村達男. HCV レプリコン活性に関与する宿主因子の検索. 同上.
 11. 鈴木亮介、坂本真一郎、堤武也、下池貴志、松浦善治、宮村達男、鈴木哲朗. C型肝炎ウイルスコア蛋白質の細胞内局在を規定するシグナルの解析. 同上.
 12. 堤武也、松田麻未、森屋恭爾、三好秀征、藤江馨、新谷良澄、小池和彦、鈴木哲朗、宮村達男. C型肝炎ウイルスコア蛋白発現細胞におけるミトコンドリア蛋白のプロテオミクス解析. 同上.
 13. 森石恒司、中井康介、鈴木亮介、鈴木哲朗、宮村達男、松浦善治. PA28 γ によるC型肝炎ウイルスコアタンパク質の核局在と核移行. 第25回日本分子生物学会, 2002年12月, 横浜.
 14. 亀岡洋祐, Persad Amanda, 小池和彦, 堤武也, 松浦知和, 須藤勉, 井出達也, 田中一雄, 佐田通夫, 日野邦彦, 神代正道, 橋本雄之, 宮村達男, 鈴木哲朗. G型肝炎ウイルス感染を制御する宿主遺伝要因の探索. 同上.
 15. 逆転写酵素活性に基づくトリレトロウイルス検出系の検討 大槻紀之、加藤篤¹、菱山美智子¹、田口邦史、伊藤治 (動薬検、¹感染研) DV19 第133回日本獣医学会 平成14年3月28日-30日, 川
 16. 豊田淑江, 山口照英, 押澤正, 早川堯夫: AC133 陽性細胞由来血管内皮前駆細胞の解析. 第1回日本再生医療学会, 平成14年4月, 京都
 17. 豊田淑江, 山口照英, 押澤正, 早川堯夫: ヒト末梢血における AC133 陽性細胞由来血管内皮前駆細胞の解析. 第23

- 回日本炎症・再生医学会, 平成 14 年 7 月, 東京
18. 豊田淑江, 押澤正, 内田恵理子, 早川堯夫, 山口照英: G-CSF による HL-60 細胞中球分化亢進と増殖促進における PKC δ の役割. 第 75 回日本生化学大会, 平成 14 年 10 月, 京都
 19. 押澤正, 山口照英, 豊田淑江, 内田恵理子, 早川堯夫: HL-60 細胞の好中球様細胞への分化に關与するタンパク質の解析. 第 75 回日本生化学大会, 平成 14 年 10 月, 京都
 20. 豊田淑江, 押澤正, 鈴木孝昌, 早川堯夫, 山口照英: 臍帯血における AC133 陽性細胞由来血管内皮前駆細胞の解析. 第 2 回再生医療学会, 平成 15 年 3 月, 神戸
 21. 川崎ナナ, 伊藤さつき, 袁進, 太田美矢子, 石井明子, 川西徹, 早川堯夫: Nanospray LC/ESI-MS による糖タンパク質糖鎖の微量分析法の開発. 第 75 回日本生化学大会, 平成 14 年 10 月, 京都
 22. 伊藤さつき, 川崎ナナ, 太田美矢子, 川西徹, 早川堯夫: Nanospray LC/ESI-MS/MS を用いた微量糖タンパク質の構造解析. 第 75 回日本生化学大会, 平成 14 年 10 月, 京都
 23. 蜂須賀暁子, 中島治, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 手島玲子, 早川堯夫, 澤田純一: OBCAM (オピオイド結合性タンパク) の精製と糖鎖構造解析. 第 75 回日本生化学大会, 平成 14 年 10 月, 京都
 24. 川崎ナナ, 伊藤さつき, 太田美矢子, 袁進, 川西徹, 早川堯夫: LC/MS/MS を用いた N 結合糖鎖のプロフィール解析及び糖配列解析. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月, 長崎
 25. 伊藤さつき, 川崎ナナ, 蜂須賀暁子, 太田美矢子, 袁進, 手島玲子, 澤田純一, 川西徹, 早川堯夫: Capillary LC/MS による電気泳動法で分離された糖タンパク質の N 結合型糖鎖解析. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月, 長崎
 26. 蜂須賀暁子, 川崎ナナ, 伊藤さつき, 中島治, 手島玲子, 早川堯夫, 澤田純一: OBCAM の各糖鎖結合部位における糖鎖構造解析. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月, 長崎
 27. Yuan, J., Kawasaki, N., Itoh, S., Ohta, M., Kawanishi, T., Hayakawa, T.: Monosaccharide composition analysis of glycoproteins by pyridylamination and capillary LC/MS. 日本薬学会第 123 年会, 平成 15 年 3 月, 長崎

図1.最終製品の理論的リスクの算定方法の考え方

$$\begin{array}{ccccccc} \text{最終製品} & = & \text{原材料のリスク} & - & \text{リスク} & - & \text{投与量} \\ \text{のリスク} & & \text{製造時の混入リスク} & & \text{低減措置} & & \text{投与期間} \\ & & & & & & \text{投与方法} \end{array}$$

表1. 原材料自体の感染リスクの相対的な比較

カテゴリー	原材料※の類型	原料リスクの主たる特徴	感染リスクの要因					相対的リスク
			人由来	病原体自体	動物由来の未知因子の影響	病原体増殖	不特定多数	
1	人又は動物由来細胞・組織及び人由来成分を使用した製品 (血液製剤等)	・ 人対人の感染リスク(人由来原料)かつ不特定多数からの原料に由来するリスク(人由来原料) ・ 未知の感染症のリスク(動物細胞組織製品)	○		○		○	高
2	ウイルスを使用した製品 (ワクチン、遺伝子治療用医薬品等)	・ 病原体そのものである。		○				高
3	病原菌を利用した製品 (ワクチン)	・ 病原体そのものである。		○				高
4	株化した人又は動物の細胞(動物工場を含む。)を培養し、抽出した成分を含む製品 (遺伝子組換え医薬品等)	・ 不特定多数からの原料ではなくとも、生きた細胞の使用による病原体の増幅のリスク	△		△	○		中
5	動物由来成分を含む製品 (ヘパリン等)	・ 不特定多数の動物からの原料に由来するリスク			△		○	中
6	非病原菌を利用した製品(インスリン等)	・ 菌自体よりも製造工程中で使用される材料からのリスク			△		△	低

※: 「原材料」とは、製品の有効成分のみならず、製品の製造工程中使用される生物由来の成分、添加剤として用いられる成分をいうものとする。

表2. 生物由来製品のウイルス安全性に関する基準等

細胞組織利用医薬品・医療機器	細胞組織医薬品・医療機器基準	
血液製剤	生物学的製剤基準	血漿分画製剤ウイルス安全性GL
ヒト生体由来製品		局方参考情報
自己由来細胞組織利用医薬品・医療機器	細胞組織医薬品・医療機器基準	
動物細胞医療機器(生細胞以外)		
ワクチン・抗血清等	生物学的製剤基準	
ヒト尿由来製品		局方参考情報
遺伝子組換え医薬品		ICH-Q5A
細胞培養医薬品		ICH-Q5A
動物由来成分抽出医薬品		局方参考情報
その他の医薬品(経口・外用剤等)	健康な動物	局方参考情報

表3. 生物由来原料基準

1. 血液製剤総則
 - －輸血用血液製剤総則
 - －血漿分画製剤総則
2. 人由来製品原料総則
 - －人細胞組織製品原料基準
 - －人尿由来製品原料基準
 - －人由来原料基準
3. 動物由来製品原料基準
 - －反芻動物由来原料基準
 - －動物細胞組織製品原料基準
 - －動物由来原料基準

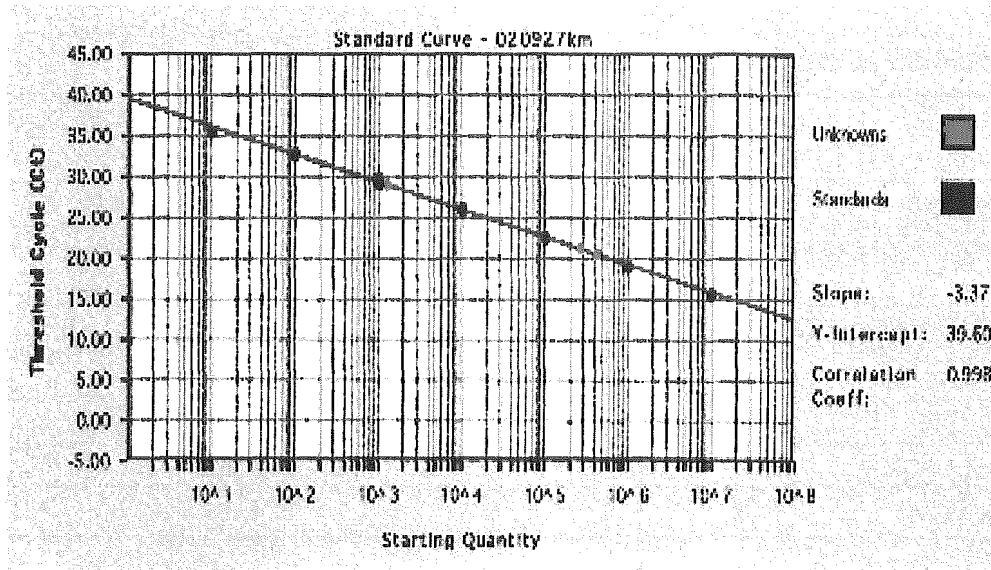


図 2. TaqMan リアルタイム RT-PCR 法による HCV RNA の定量

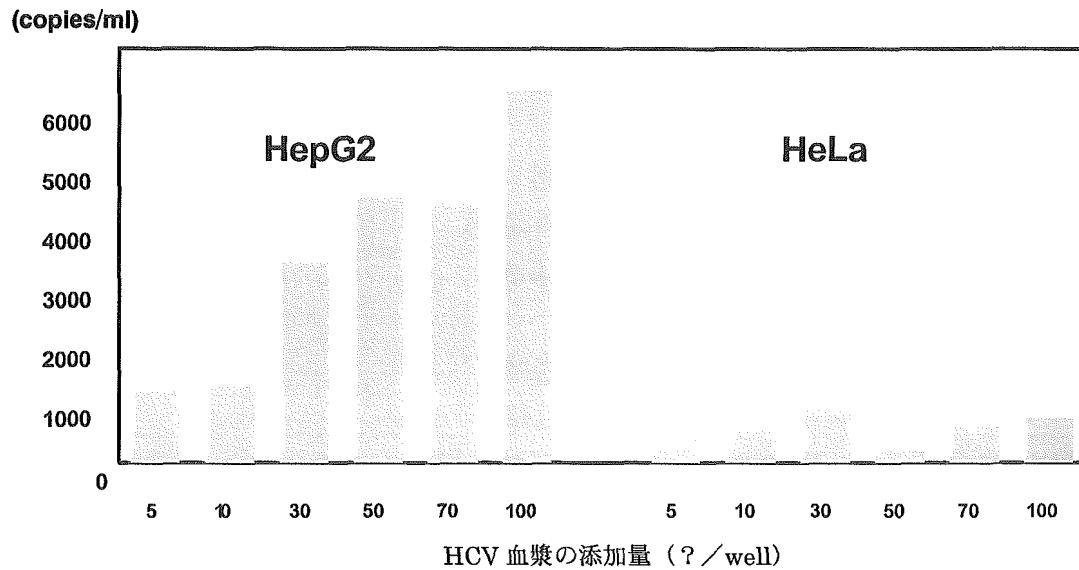


図 3. HCV 感染細胞における細胞内 HCV RNA 量

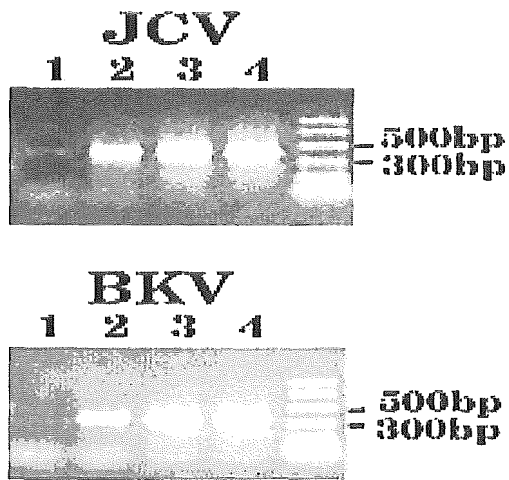


図4. ヒトポリオーマウイルス PCR による検出感度

ウイルス DNA を希釈し JCV の複製開始点を検出するプライマー(J-1、J-2)、BKV の intergenic (IG) 領域を検出するプライマー(BIG-1、BIG-2)を用いて PCR を行った。

レーン 1;1fg、レーン 2:10fg、レーン 3:100fg レーン 4:1pg

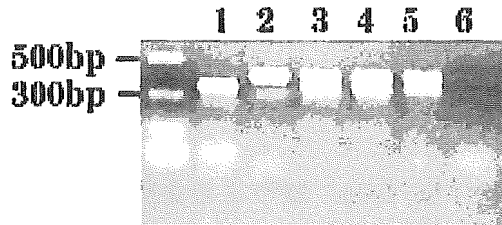


図5. Multiplex PCR によるヒトポリオーマウイルス DNA の検出

BKVDNA および JCVDNA を混合したのち希釈し JCV の複製開始点を検出するプライマー(J-1、J-2)、BKV の intergenic (IG) 領域を検出するプライマー(BIG-1、BIG-2)を用いて Multiplex PCR を行った。

レーン 1;BKV DNA 10pg、レーン 2:JCV DNA10pg、レーン 3: BKV DNA、および JCV DNA, 1pg レーン 4: BKV DNA および JCV DNA, 100fg、レーン 5: BKV DNA および JCV DNA, 10fg、レーン 6: BKV DNA および JCV DNA1fg

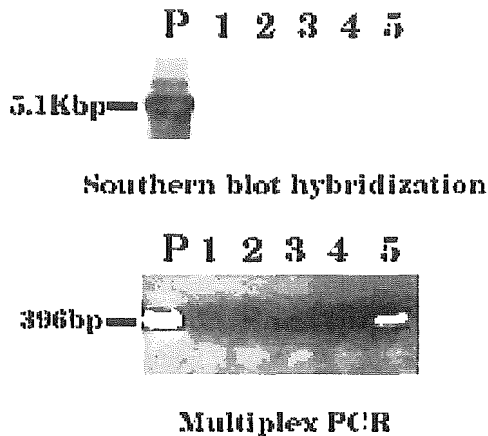


図6. 尿中の JC ウイルスの検出感度の比較

20~25歳の5名の尿30mlを100,000g,3時間遠心した沈査からDNAを抽出した。サザンブロットハイブリダイゼーションは、制限酵素EcoRIで消化し、1%アガロース電気泳動後ナイロン膜に転写し、デゴキシゲニン-UTP標識JCVDNAをプローブとしてハイブリダイゼーションを行った。

Multiplex PCRは、JCV DNAの複製開始点を検出するプライマー(J-1、J-2)、BKV DNAの intergenic (IG) 領域を検出するプライマー(BIG-1、BIG-2)を用いてPCRを行った。

サザンブロットハイブリダイゼーション：レーンP: JCVDNA (10pg) レーン:1~5 尿ウイルス沈査 DNA

Multiplex PCR：レーンP:JCV DNA (10ng) レーン:1~5 尿ウイルス沈査 DNA

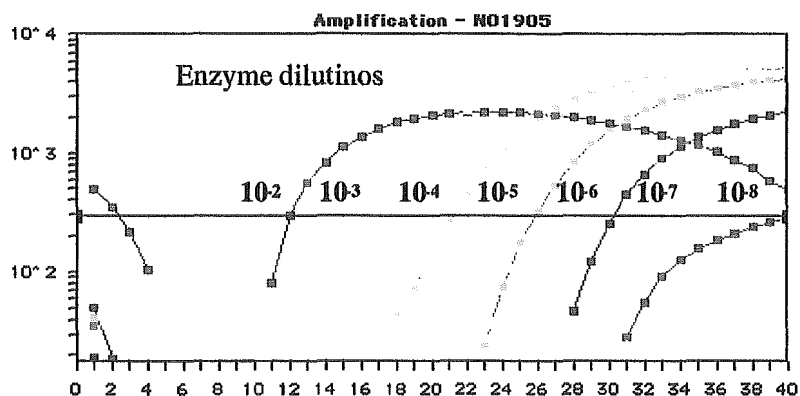


図7. 逆転写酵素活性とPERT法

10倍階段希釈した逆転写酵素をPERT法とTaq-Mac PCRを併用して測定した。縦軸は増幅DNA量、横軸はPCRのサイクル数を現す。

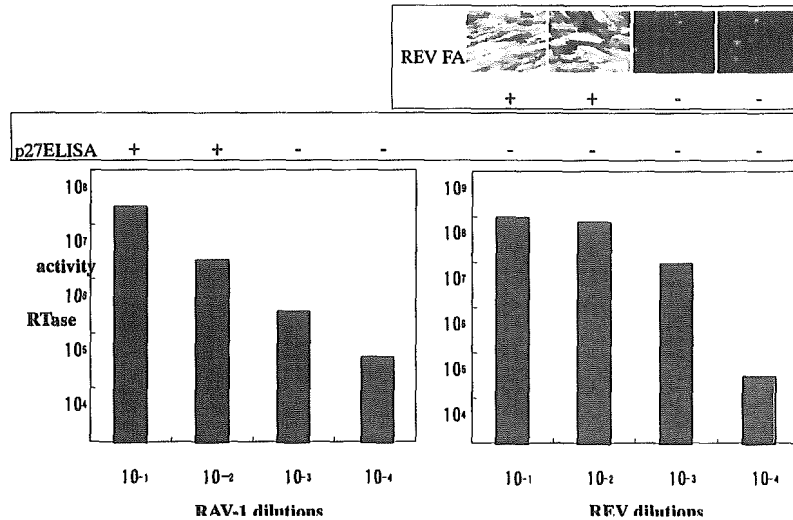


図8. PERT 法の検出感度

10倍階段希釈した型ラウス随伴ウイルス(RAV1)及び細網内皮症ウイルス(REV)をSPFの鶏胚細胞に感染させ、感染3日後の培養上清中の各ウイルスの7gag抗原検出EISA及びFAで検出し、PERT法を法と比較した。PERT法はさらに少ないウイルス量でも検出可能であった。

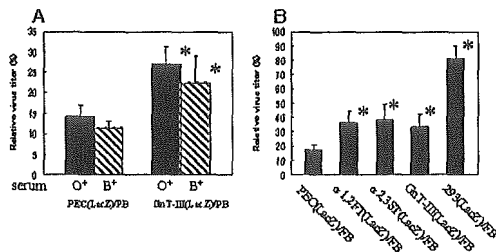


図9. (A) Neutralization of PERV-B by HS. Culture supernatants collected from PEC(LacZ)/PB and GnT-III(LacZ)/PB were incubated with blood group O⁺ or B⁺ HS (10%(v/v)), or medium (control). The target HEK293 cells were histochemically stained and lacZ-positive BFU were counted to determine the viral titers. The numbers of BFU relative to the control are shown as percentages. Each value is expressed as the mean±SDM for five independent experiments. The ranges of titers for the medium-treated controls were 316-1391 and 69-430 BFU/ml for PEC(LacZ)/PB and GnT-III(LacZ)/PB, respectively. (B) Neutralization of FeLV-B by HS. Culture supernatants collected from PEC(LacZ)/FB, a1,2FT(LacZ)/FB, a2,3ST(LacZ)/FB, GnT-III(LacZ)/FB, and 293(LacZ)/FB, were incubated with pooled HS (10%(v/v)), or medium (control). The numbers of BFU relative to the controls were shown as percentages. Each value is expressed as the mean±SDM for four independent experiments. The ranges of titers for the medium-treated controls were 20-50, 40-157, 30-78, 30-80, and 22-221×10⁴ BFU/ml for PEC(LacZ)/FB, a1,2FT(LacZ)/FB, a2,3ST(LacZ)/FB, GnT-III(LacZ)/FB, and 293(LacZ)/FB, respectively. Significant difference (*P* < 0.05) is indicated by an asterisk (*).

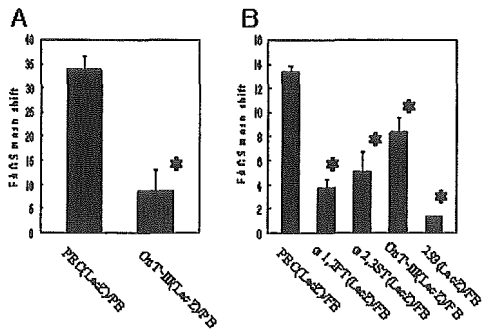


図 10 . The amount of a-Gal epitope on the cell surface of the PEC(LacZ)/PB and GnT-III(LacZ)/PB (A), and that of the PEC(LacZ)/PB, a1,2FT(LacZ)/PB, a2,3ST(LacZ)/PB, GnT-III(LacZ)/PB, and 293(LacZ)/PB (B). The reduction of the cell surface a-Gal epitope was analyzed by flow cytometry, using the anti-a-Gal epitope, GS1B4 lectin. Each value is expressed as the mean±SDM for three (A) or four (B) independent experiments. Significant difference ($P < 0.05$) is indicated by an asterisk (*).

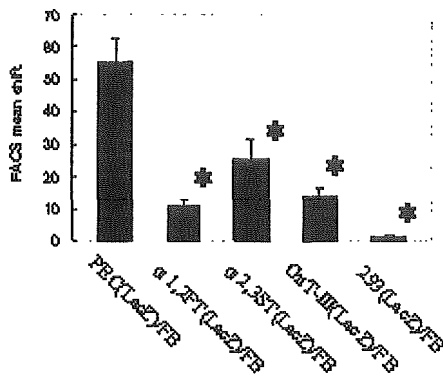


図 11 . Level of xenoantigens on the PEC(LacZ)/PB, a1,2FT(LacZ)/PB, a2,3ST(LacZ)/PB, GnT-III(LacZ)/PB, and 293(LacZ)/PB as determined by flow cytometry. Cells were treated with pooled HS (10% (v/v)) as the first antibody and FITC-conjugated anti-human IgG and IgM as the second antibody. Each value is expressed as the mean±SDM for three independent experiments. Significant difference ($P < 0.05$) is indicated by an asterisk (*).

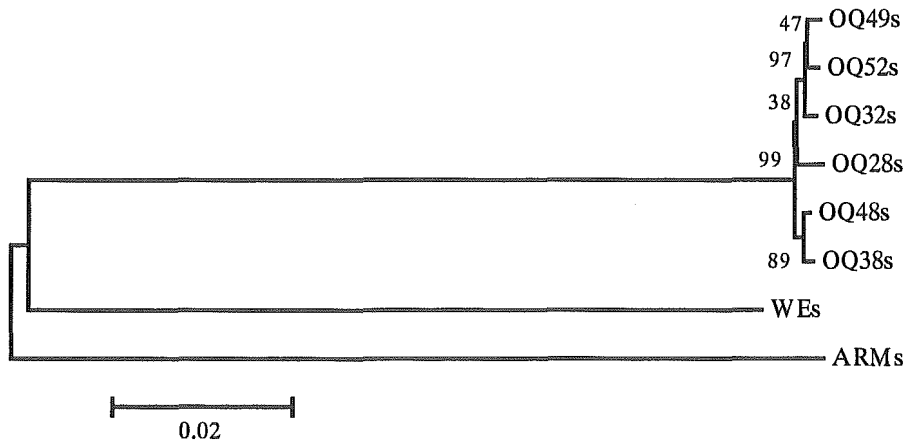


図 12 . 国内野生株 LCMV の分子系統樹

表4. 代表的なウイルスの不活化・除去条件

ウイルス	低 pH	高 pH	有機 溶剤	56℃ 30分	0.2μm フィルター	0.025μm フィルター
Adenovirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Herpesvirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Hepadnavirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Papovavirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Parvovirus	pH ≤ 3	pH ≥ 11	-	-	-	+
Poxvirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	+	+
Bunyavirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Enterovirus	pH ≤ 3	±pH ≥ 11	-	-	-	+
Flavivirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Oblivious	pH < 4	pH > 9.5	-	-	-	+
Orthomyxovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Paramyxovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+
Retrovirus	pH < 4	pH > 9.5	+	+	-	+

厚生労働科学特別研究補助金
14年度分担研究報告

医薬品の安全確保対策としてのウイルスのリスク評価に関する研究

山口照英 国立医薬品食品衛生研究所・遺伝子細胞医薬部長

生物由来製品のウイルス安全性確保を目的としてリスク評価やリスク低減に関する試験法あるいはウイルスの感染性に関する定量的な評価法等の開発に関する研究を行うとともに、公表文献、厚生労働省から出されている基準や通知等を検討対象とし、医薬品製造のための原材料のウイルスリスク評価、製造工程におけるウイルス除去・不活化能の評価、さらには製品の投与経路等を考慮した検討を行い以下のような成果を得た。

生物由来製品のウイルスリスク評価においては、原料自体のリスクや製造時の混入のリスク、ドナースクリーニングを含めた製造工程でのリスク低減措置、さらには投与経路、投与量、投与期間に基づくリスクを量的かつ総合的に考慮して行うべきことを明らかにした。また、この様な評価に基づいて生物由来製品を「特定生物由来製品」、「生物由来製品」及びこれに該当しない製品に区分して行政的対応をとることが望ましいことを示した。

A. 研究目的

生命科学分野において、20世紀の終盤はゲノムの時代であったといえる。80年代から始まったDNA組換え技術を利用した組換えタンパク質医薬品の開発、細胞培養技術やタンパク質精製技術の飛躍的な進展を背景に数多くのバイオテクノロジー応用医薬品が開発されてきた。これらの技術開発により、それまで非常に微量しか得られなかった生体生理活性物質が大量に生産できるようになり、成長ホルモン、インターフェロン、tPA、エリスロポエチン、G-CSFなど、数多くのバイオ医薬品が医療の現場登場してきた。これらのバイオ医薬品の登場は、患者に多大な恩恵をもたらし、

また臨床の質の変化ももたらすことになった。また、ヒト脳下垂体由来成長ホルモンや移植硬膜によるクロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)の伝播や血液製剤によるヒト免疫不全症ウイルスの伝播など、従来の生体由来生物製品による深刻な社会保健衛生上の苦い経験からこれらのバイオテクノロジー応用医薬品の開発にあたっては、社会保健衛生上もつとも問題となる感染症の伝播の防止に多大な努力が払われてきた。このような取り組みによって、これまで膨大な数のバイオテクノロジー応用医薬品が開発され、市場で使われてきたにもかかわらず特に問題となるような感染性因子の伝播に関する問題は発生していない。一方、21世紀には入りヒトゲノムの解読に基づ

いてポストゲノムの時代に突入しており、このポストゲノム時代に入って、細胞組織利用医薬品等を用いる再生医療、遺伝子治療、さらにはトランスジェニック動物を用いた動物工場由来医薬品の開発等、今までにない革新的医薬品の開発が現実味を帯びてくるようになってきた。特に細胞組織利用医薬品等の開発は遺伝子治療薬の開発に遅れて取り組みが始まったにもかかわらず、すでに米国では複数の製品が市場されており、また我が国においても、すでに承認申請も出されている。

21世紀の医療として期待されている細胞組織利用医薬品・医用機器や遺伝子治療薬は今まで治療が困難とされていたがんや再生不良貧血、あるいは先天性免疫不全症などの致死性の疾患や、糖尿病やパーキンソン病と言った重篤な疾患に対して根本治療を行える可能性のある画期的医療として期待され、またトランスジェニック動物医薬品が開発されれば非常に低コストで有用な医薬品の生産が可能になり治療の選択の幅が大きく変化すると期待されている。しかし、これらの革新的な医薬品の開発はこれまでにないあらたな技術を用いており、その安全性に対しても新たな取り組みが必要とされている。

例えば細胞組織利用医薬品等は、細胞そのもの、あるいは細胞が産生した有効成分を殆どプロセス工程を経ずに患者に投与しようとするものであり、原料である細胞に由来するウイルス等の感染因子や製造工程で用いる血清や添加剤から迷入する感染因子のリスクが存在する。遺伝子治療医薬品の場合には、ベクターを作製するための製造細胞由来のウイルス等の感染因子やウイ

ルスベクター製造時に組換えが起こり増殖性ウイルスが出現するリスクがある。一方、トランスジェニック動物を用いた医薬品では、培養細胞を用いた医薬品と異なり細胞バンクレベルでの徹底したウイルス等の感染物質の解析が困難であり、動物由来人獣共通感染症の伝播のリスクが存在する。このように、遺伝子治療用医薬品や細胞組織利用医薬品等の新たに開発されてきている医薬品のリスクは、これまでのバイオテクノロジー応用医薬品とは異なるリスクが存在する。しかし、一方でこのような革新的医療を担う医薬品の出現により、今まで治療が困難であった疾患に対して、根治的療法になる可能性があり、国民の期待は極めて高い。

従って、このような革新的医療に用いられる医薬品のリスクを適切に評価するとともに、そのリスクに応じた適切な行政対応を取ることが必要となってきた。また、同時にこれまでの生物由来製品についてもそれぞれの感染症に対するリスクを総合的に評価し、その評価に基づいた行政対応を取るべきと考えられる。この行政対応としては、生物由来製品の原材料から製造、製品に至る総合的なリスク評価を行い、そのリスク要因を制御し、あるいは制御できない場合の影響を可能な限り小さくするようなアクションプランとしてのリスクマネジメントを行うとともに、それぞれの医薬品のリスクに関する正確な情報を行政、企業、患者等のすべての者が共有することを目指すリスクコミュニケーションを図ることが求められている。

本研究では、生物由来製品のウイルス安全性について、原料に固有の感染症リスク、

製造工程中のリスクの低減、リスク低減工程のバリデーションのおおの段階において、可能なリスク評価、リスク管理法を考案し、科学的な生物由来製品の評価に基づく合理的で効果的な規制を行う上で必要な基盤的調査研究を行った。

B. 研究方法

生物由来製品のウイルス安全性に関する調査研究

公表文献、厚生労働省から出されている基準や通知、さらには国際獣疫事務局(OIE)等からの各種統計資料等を検討対象とし、医薬品製造のための原材料のウイルスリスク評価、製造工程におけるウイルス除去・不活化能の評価、さらには製品の投与経路等を考慮したリスク評価を行った。

C. 結果

生物由来製品の感染症に着目した分類と行政対応の必要性

1. 「生物由来製品」及び「特定生物由来製品」の定義について

生物由来製品は、原材料におけるウイルス等の感染症リスクの危険性、製造工程でのウイルス不活化・除去能、製品の投与経路や投与量、さらには過去における感染症発症の事例等を総合的に評価し、その評価された製品のリスクに基づいて、「特定生物由来製品」、「生物由来製品」の指定を行い、想定されるリスクに応じたリスク低減のための様々な措置を講じるとともに、万が一感染症が発症した場合の感染症トレーサビリティを確保し、患者へのインフォームドコンセントを含むリスクコミュニケーションを計ることが必要とされている。このよ

うなリスク評価に基づいて、生物由来製品を「特定生物由来製品」と「生物由来製品」、これらに該当しないものに分類して、適切な行政対応が必要と考えられる。ちなみに、「特定生物由来製品」と「生物由来製品」は、以下のような考え方で指定されるべきものとされる。

(1)「特定生物由来製品」とは、生物由来製品のうち、市販後において当該製品による保健衛生上の危害の発生又は拡大を防止するための措置を講ずることが必要なものであって、厚生労働大臣が薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて指定するものをいう。

(2)「生物由来製品」とは、人その他の生物(植物を除く)に由来するものを原材料として製造される医薬品・医療機器等のうち、保健衛生上特別の注意を要するものとして、厚生労働大臣が薬事・食品衛生審議会の意見を聴いて指定するものをいう。

2. 「特定生物由来製品」「生物由来製品」の指定分類の基本的な考え方について

上記の特定生物由来製品及び生物由来製品の指定に当たっての製品の感染症のリスクについては、次の考え方に基づいてその評価を行う。またこのリスク評価は現在想定される感染症を基とした対応であり、未知の感染症に対してはその危険性の潜在は考慮しつつリスクの定量的な評価は行うことができないことを認識しておく必要がある。一方で、新しい型の感染症等(新興再興感染症)の発症が起こった場合や、既知の感染症であってもその感染症に関する新たな知見が得られた場合、見直しを行う必要がある。例えば、最近の米国におけるウエストナイルウイルスの発症や日本での輸

血後E型肝炎ウイルス（HEV）の発症に対する、献血における問診の強化や採血血液に対する検査などの対応が挙げられる。

さらに理論的リスクの算定方法は、万が一、感染因子を含む原料を使用していた場合、最終製品中での残存量、除去・不活化工程のリスク低減効果、投与経路から理論的に計算されるリスクである。これを、模式的に表したものが図1である。これは、原材料や製造時のウイルス混入リスクから、除去・不活化工程のリスク低減効果の程度によってそのリスクを差し引き、さらに投与経路によって例えば注射薬よりも経口投与の方がリスクは低く、外用薬にあってはさらに低いと算定される。逆に投与期間が長ければリスクは大きく計算される。図1の、[原料自体のリスク]や「製造時の混入リスク」、[リスク低減措置]、「投与経路安全性」に関しては、以下のような考え方に基づいている。

2.1 [原料自体のリスク]や「製造時の混入リスク」

この場合の、「原料」とは、製品の有効成分のみならず、製品の製造工程中で使用される生物由来の成分、添加剤として用いられる成分をいい、以下の①又は②のリスクのうち、大きいものを取る。

- ①生物由来原材料自体の感染因子のリスク
- ②製造工程中での生物由来原料に由来する汚染リスク

2.2 [リスク低減措置]

①ドナースクリーニング等の検査を行うことによるリスクの低減：ドナースクリーニング等の対策においては、一般医薬品・医療機器の安全対策としての製品を恒常的に一定の品質で製造するための手順・管理

体制・製造設備等を含めたGMPに加えて、生物由来製品としての特性を踏まえた、上乘せ部分としてドナー選択基準等の原材料の安全確保が含まれるべきである。

②) 不活化処理、病原体除去工程によるリスクの低減：製造工程にウイルスクリアランスを達成するために工程中にウイルスの除去・不活化に関する効果的な方法を用いるべきである。また、各種の方法を組み合わせることによるより高いウイルスクリアランスの達成につとめるべきである。

2.3 「投与経路安全性」

①投与経路による安全性への影響を考慮する必要がある、注射の方が、経口よりもリスクが高くなる。

②投与量・使用期間による安全性への影響を考慮する必要がある。疾病によっては一生涯使用するものもあり、こういった場合はリスクが高いと考えられる。

「最終製品のリスク」については、上記の考え方にに基づき、製剤の有効成分、非有効成分（添加剤、製造中に使用される材料）等のあらゆる成分について検討し、製品としてのリスクを評価する必要がある。このような評価を通じて、理論的なリスクが比較的高い物（血液製剤を基準）は、「特定生物由来製品」と指定し、理論的なリスクの蓋然性が比較的低い物（化学合成品レベル）は、指定せず、この2つの区分の中間のリスクに相当する製品を「生物由来製品」に指定すべきと考えられる。

このように、「特定生物由来製品」とは、製品における感染症の発生リスクが理論的にも、かつ、経験的にもより高いものである。具体的には、(1)人・動物から得られた原料を使用する製品であって、不活化処

理等の感染症に関する処置に対して限界がある製品であり、例えば輸血用血液製剤が上げられる。また将来的には、人・動物から得られた原料由来の培養皮膚等の細胞組織利用医薬品・医療機器も想定される。さらには、(2) 不特定多数の人から採取された原料を使用する製品であって一定の病原体の不活化・除去等が行われているが、感染因子を内在するリスクがある製品で、例えば、人血漿分画製剤や人臓器抽出医薬品が挙げられる。

「生物由来製品」については、製品における感染症の発生リスクがあるが、その感染症のリスクが「特定生物由来製品」に比較して一段低い製品である。具体的には、

(1) 病原性の細菌、ウイルスを原料とし、一定の不活化、弱毒化等の措置が講じられている製品で、例えばワクチンや抗毒素等が上げられる。また、(2) 人又は動物の管理された細胞株又は管理された動物個体(遺伝子組換えを含む)により生産されるタンパク等を用い、かつ一定のウイルス等病原体の存在の否定についての確認、不活化除去が行われている製品であり、例えば培養細胞を用いた遺伝子組換えタンパク医薬品等が上げられる。さらには、(3) 健康の確認された不特定多数の動物から得られた原料として、一定の病原体の不活化・除去等が行われている製品であり、例えばヘパリン等の動物抽出成分が挙げられる。

生物由来の原材料を用いているものであっても、現在の科学的知見において、感染症のリスクの蓋然性が極めて低いものは「特定生物由来製品」や「生物由来製品」の指定の対象とならない。具体的には、(1) 健康の確認された不特定多数の動物から得ら

れた原料であっても、製造工程による管理の内容(強アルカリ、高温等の過激な処理条件)、又は投与経路(経口・経皮等)からみて、明らかに感染症についてのリスクの蓋然性が低い製品については指定の対象とはならない。例えば、ゼラチン等が該当する。また、(2) 病原菌を使用せず、人・動物の血清等を製造工程で使用していないものであり、明らかに感染症についてのリスクの蓋然性が低い製品であって、例えば乳酸菌を用いて製造される抗生物質や、大腸菌由来の遺伝子組換えインスリン等の製剤があげられる。さらに、(3) 人獣共通感染症の蓋然性の低い動物種を原料とした製品であって、例えばカイコの糸を使用した医療用具や魚類由来の原料から抽出されるコンドロイチン硫酸があげられる。

3. 反芻動物由来の原料

反芻動物由来の原料については、現在 BSE 対策により、原産国、使用部位の規制を行っており、BSE に関する製品のリスクは極めて低いと考えられる。従って、反芻動物由来原材料基準の策定にあたっては、以下のような対応が取られるべきと考えられる。

(1). 反芻動物より採取された原材料については、次に掲げる部位に由来するものが使用されたものであつてはならない。ただし、脂肪酸、グリセリン、脂肪酸エステル、アミノ酸、(オリゴ)ペプチドその他高温及びアルカリ処理により製するものを除いている。

脳、脊髄、眼、腸、扁桃、リンパ節、脾臓、松果体、硬膜、胎盤、脳脊髄液、下垂体、胸腺又は副腎

(2). 反芻動物に由来する原材料(乳由来

成分及びラノリンを除く。)の原料動物の原産国は次に掲げる国以外の国であってはならない。ただし、羊毛、ラノリンは除いている。また、乳由来物は、英国、ポルトガル以外の原産国を除いている。

アルゼンチン、オーストラリア、ボツワナ、ブラジル、チリ、コスタリカ、エルサルバドル、ナミビア、ニカラグア、ニュージーランド、パナマ、パラグアイ、シンガポール、スワジランド、ウルグアイ、カナダ、コロンビア、インド、ケニア、モーリシャス、ナイジェリア、パキスタン、米国

(3). 反芻動物に由来する原材料は、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項に関する記録が整備、保管されていなければならない。

①原産国 ②原材料の採取日又はと畜日 ③原材料について伝達性海綿状脳症を防止するための処理及び作業の経過 ④原材料ロットの製造番号

4. 「特定生物由来製品」「生物由来製品」の指定に当たって、境界の判断を行うべき場合について

「特定生物由来製品」及び「生物由来製品」の指定に当たっては、明確に区分できない場合が数多く想定される。例えば、細胞培養を利用した製品であっても、製造工程中あるいは製剤の安定化剤として血漿分画製剤が用いられている製品も多くある。遺伝子治療医薬品のように、ベクター中に増殖性ウイルスが出現してくる可能性が否定できなかつたりする場合も想定される。このような事例については、個別の製品の内容に照らし、特定生物由来製品及び生物由来製品の指定の区分について検討を行う必要がある。

(1) 遺伝子組換え製剤の安定剤、遺伝子組換え製剤を産生する細胞の培地などに人血液成分を製造工程中で使用する場合は、次のように製品中の人血液成分の量、使用量・使用期間等について勘案してリスクを推定する。

①人血液成分(アルブミン等の血漿蛋白成分)の製品中での含有量(残留量)を標準的な治療において使用した場合の累積量について、人アルブミン製剤が標準的な治療に用いられる量(基準量)と比較する。

②使用量・期間は、一般に、使用期間中に暴露される人アルブミンのドナー数にも比例すると考えられる。

③基準量においては未だ感染症発生の知見がないことから、比較した値が、基準量に満たないものは、生物由来製品に指定する。ただし、疾病により一生涯使用する製剤については、累積量が小さいものであっても、未知のリスクに対するより予防的な対応が必要であること、さらには同一成分かつ同効の他の製剤が特定生物由来製品である場合には製品の管理等の観点からの適正使用を促す対応が必要であること理由から、原則として特定生物由来製品に指定すべきである。このような製品には、培地に人アルブミンを用いている遺伝子組み換え第VIII因子製剤等が該当する。

(2) 増殖可能ウイルスが出現するリスクやベクター作成に用いる細胞由来のウイルスのリスクを制御することが困難であることなどから、遺伝子治療用医薬品については製品個別にリスクの評価を行っていく必要がある。

(3) 遺伝子組換え生ワクチンのように、細菌・ウイルスに対する遺伝子組換え操作

により、本来の細菌・ウイルスと異なる特性をもつ細菌・ウイルスを用いる製品で開放系で使用される場合の感染伝播のリスクについて未知数であるものについては製品個別にリスクの評価を行っていく必要がある。

5. 原料自体の感染リスク

生物由来製品は様々な人や動物の細胞・組織あるいは体液等を原料として、さらには人や動物の細胞を培養して製品を生産する場合もある。さらには、人や動物の細胞そのものを治療の目的で用いる細胞組織利用医薬品も市場に出てくる可能性がある。このような原料自体がもつ感染リスクに関しては、表1に示すように、生物由来製品をいくつかのカテゴリーに分類して考えることができる。このカテゴリー分類の1としては、人又は動物由来細胞組織及び人由来成分を使用した製品である。これは人対人の感染リスクがあり不特定多数のからの原料に由来するリスク、さらには未知の感染症に関するリスクも考えられる。また、カテゴリーの2として培養工程を伴う場合にはウイルスの増幅が起こるリスクも加わることになる。ウイルスワクチンやウイルスベクターによる遺伝子治療薬のようにウイルスあるいはウイルス由来の原料を使用した場合には、原料が病原体そのものであったり、病原体の出現が完全に防止できない可能性もある。カテゴリーの3は病原菌を用いたワクチン製造などで、病原体そのものである原料の相対リスクは高いと考えられる。これらのカテゴリー1から3の原料の相対的なリスクは高いと考えられるが、ワクチンなどは強い不活化工程が入れられ

ていたりして、その製品でのリスクとは必ずしも相関しないと考えられる。カテゴリー4は、株化した人や動物の細胞を培養し、その産生する成分を原料とする場合で、この場合特性解析された細胞を用いる訳ではあるが、生きている細胞を生産に用いることによる病原体増幅のリスクは想定される。また、このカテゴリーには、トランスジェニック動物などの管理された動物工場由来の成分を原料とする場合も分類されると考えられる。カテゴリーの5としては、ヘパリン等の動物由来製品の原料が上げられるが、この場合健康な動物を用いるが不特定多数の動物に由来するリスクが存在する。カテゴリー4と5は、1-3に比較して中程度のリスクがあると考えられる。乳酸菌等の非病原菌を利用した製品の原料は(カテゴリー6)は、リスクが最も低いと考えられるが、製造工程で使用する原料からのリスクは考慮する必要がある。

6. 生物由来製品のウイルス安全性に関連する基準や指針等のついて

いくつかの生物由来製品に関しては表2に挙げた基準が定められている、またいくつかの製品について関連する指針や参考情報が出されている。「特定生物由来製品」、「生物由来製品」の指定に当たっては、原料のリスク評価から、製造工程でのリスクの低減化、製品の使用に際してのリスク評価を総合的に評価するものであることから、すべての製品の原料について基準を設定することが望まれる。

必要な基準としては表3の様な分類が妥当と考えられる。重大な感染症発症の事例が過去にある血液製剤については、輸血用

血液製剤と血漿分画製剤に分類して血液製剤総則を設定することが必要である。それ以外の製品については人由来の原料を用いる場合と動物由来の原料を用いる場合に分類するのが妥当と考えられる。人由来製品にあつては、製品そのものが人細胞を用いる製品と、人由来原料とに分類し、さらに人由来原料に関しては長年のデータの蓄積等を考慮し、人尿由来とそれ以外を原料とする場合に分類することが妥当である。動物由来原料に関しては、BSEの伝播の防止から反芻動物由来原料基準の設定を行う。さらに、それ以外の製品について動物由来原料と動物細胞を製品とする原料基準を設定することが必要である。

C. 考察

生物由来製品のウイルス安全性に関する調査研究

生物由来製品のウイルスリスク評価においては、原料自体のリスクや製造時の混入のリスク、ドナースクリーニングを含めた製造工程でのリスク低減措置、さらには投与経路、投与量、投与期間に基づくリスクを量的かつ総合的に考慮して行うべきである。また、この様な評価に基づいて生物由来製品を「特定生物由来製品」、「生物由来製品」及びこれに該当しない製品に区分して行政的対応をとることが望ましいと考えられる。

生物由来製品の原料に関して、そのウイルスリスクの高いものと低いものにカテゴリー分けを行い、カテゴリーに応じた原料基準を定めることによりウイルス安全性を確保することが望まれる。さらに、この原料のカテゴリー分類に各製品の製法における

リスク低減措置や投与経路を考慮して総合的な行政対応を定めることが望ましいと考えられる。

E. 結論

生物由来製品のウイルスリスク評価においては、原料自体のリスクや製造時の混入のリスク、ドナースクリーニングを含めた製造工程でのリスク低減措置、さらには投与経路、投与量、投与期間に基づくリスクを量的かつ総合的に考慮して行うべきことを明らかにした。また、この様な評価に基づいて生物由来製品を「特定生物由来製品」、「生物由来製品」及びこれに該当しない製品に区分して行政的対応をとることが望ましいことを示した。

F. 業績

1. 論文発表

1. Toshie KANAYASU-TOYODA, Teruhide YAMAGUCHI, Tadashi OSHIZAWA, Mieko KOGI, Eriko UCHIDA and Takao HAYAKAWA: The Role of p70 S6 Kinase Cascade on Neutrophilic Differentiation and Proliferation of HL-60 Cells –A Study on Transferrin Receptor-Positive and Negative Cells from Dimethylsulfoxide and Retinoic Acid-Treated HL-60 Cells, Arch. Biochem. Biophys, 405, 21-31 (2002)
2. Toshie KANEYASU-TOYODA, Teruhide YAMAGUCHI, Tadashi OSHIZAWA and Takao HAYAKAWA: CD31 (PECAM-1)-bright cells derived from AC133-positive cells in human