

aDTPワクチンの組成

aPバルク (PT, FHA)	18 ug PN/ml
ジフテリアトキソイド	25 Lf/ml
破傷風トキソイド	7 Lf/ml

最終製品の品質管理試験

- 外観試験
- 表示確認試験
- 物理化学試験
 - pH: 5.8~7.2
 - 塩化ナトリウム含量: 7.5~9.5 g/L.
 - 水酸化アルミニウム含量: 1.0~1.5 mg/ml.
 - チメロサル含量: <0.1 g/L.
 - 遊離フォルムアルデヒド含量: <0.2 g/L.
 - グルタルアルデヒド含量: <0.01 g/L.

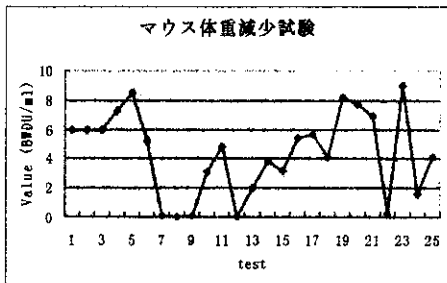
最終製品の品質管理試験

- 無菌試験
- 毒性試験
- aPに対する毒性試験
 - BWDU ≤ 10 BWDU/ml.
 - LPU ≤ 0.5 LPU/ml.
 - HSU ≤ 0.8 HSU/ml
- DTに対する毒性試験
 - 4匹のモルモット(体重: 250~350g)の皮下に2.5 mLを接種し、判定基準に適合するかどうか調べる。

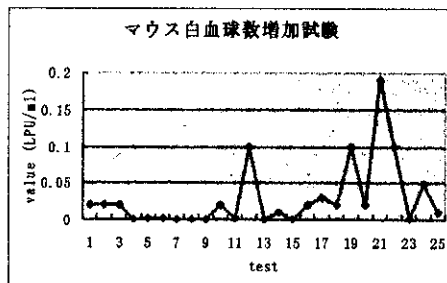
最終製品の品質管理試験

- 力価
- aPワクチン
 - ≥ 4.0 IU/dose, 下限量 ≥ 2.0 IU (95% 信頼限界)
- ジフテリアワクチン(D)
 - 1995年版: モルモットを用いたチャレンジ試験で生存率80%以上
 - 2000年版: マウス、Vero細胞を用いて30IU/dose以上
- 破傷風ワクチン(T)
 - 1995年版: モルモット血清抗体価 ≥ 0.5 IU
 - 2000年版: マウスを用いて ≥ 60 IU/dose
- 毒性復帰試験
 - 検体を37°Cに4週間以上置き、HSU試験を行う。

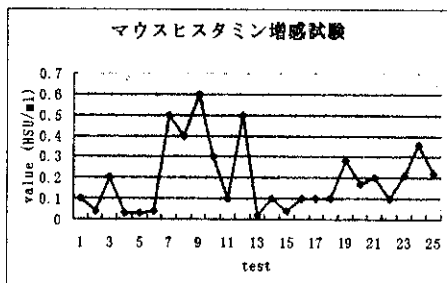
試験成績(1999年～)



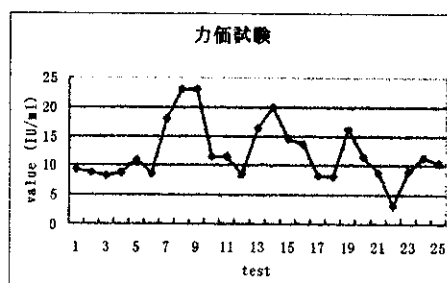
試験成績(1999年～)



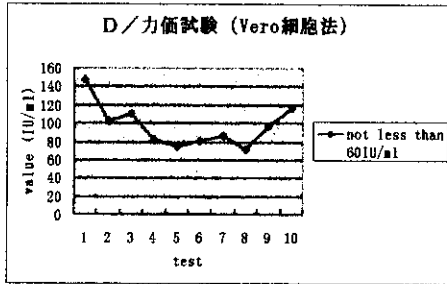
試験成績(1999年～)



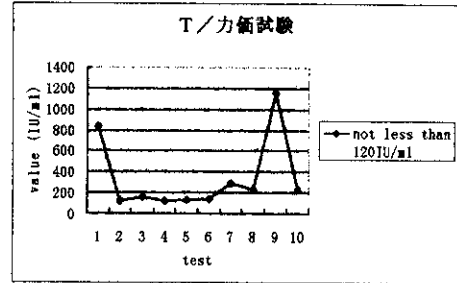
試験成績(1999年～)



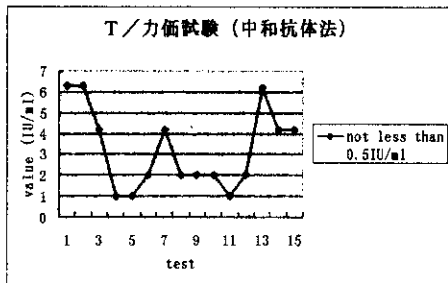
試験成績(1999年～)



試験成績(1999年～)



試験成績(1999年～)



試験成績(1999年～)

(不合格件数/試験件数)

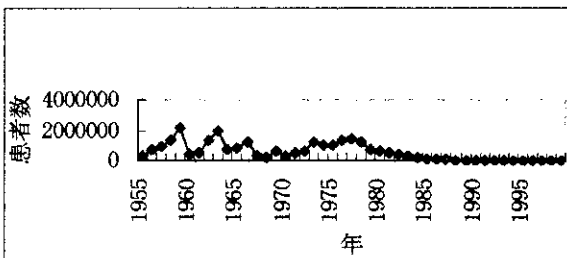
- BWDU (1/25)
- 百日咳ワクチン力価試験(1/25)

現状の問題点

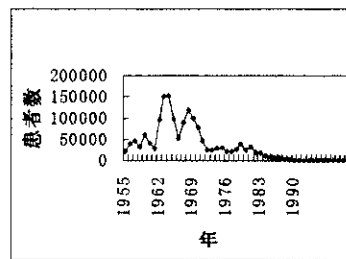
- 百日咳ワクチン(aP)の毒性試験用標準品
- aDTPiに対する標準品
- 動物の標準化
- 製造工程の改良

中国製DTPwとDTPaワクチン

百日咳患者数の推移



ジフテリア患者数の推移



破傷風患者報告数

年	患者数	死亡数	死亡率
1948	17478(Baby)	449	全死亡の69%
1951			52.9%
1964			34.8%
58-70			37.7%
71-76	18		7.9%
57-77	1238		18.33
1996	127351	457	16.39% of all death
1996	28		20% of all

DTPwとDTPaワクチンの製造量

製造所	DTPw		DTPa	
	license	Yield (ml)	License	Yield (ml)
北京	licensed	9.42 m	licensed	200,000
上海	licensed	15.4 m	test license	22,000
成都	licensed	2.47 m	licensed	60,000
武漢	licensed	15.56 m	licensed	30,000
蘭州	licensed	17.28 m	licensed	87,000
長春	licensed	6 m	licensed	—

M: million

DTPwとDTPaワクチン接種後の副反応(発熱)

ワクチン	接種後の時間	37.6-38℃	直腸温 38.1-39℃	直腸温 >39℃
DTPw	6	58/320	11/668	0/668
	24	52/320(13.5)	20/667(1.9)	3/667(0.15)
	48	20/320	8/666	0/666
DTPa	6	20/309	1/672	0/672
	24	17/302(5.0)	2/665(0.25)	0/665(0)
	48	9/309	2/372	0/672
Placebo	6	23/311	3/667	0/667
	24	16/311(5.5)	1/666(0.25)	0/666(0)
	48	12/311	1/665	0/665

DTPaワクチン接種後の局所反応(発赤と硬結反応)

ワクチン	発赤 0.6-2.5cm	発赤 2.6-5.0cm	硬結 0.6-2.5cm	硬結 2.6-5.0cm
DTPw	44/668(6.6)	7/668(1.0)	53/664(8.0)	16/664(2.4)
DTPa	11/675(1.6)	1/675(0.1)	9/673(1.3)	0/673(0)
Placebo	5/667(0.7)	0/667(0)	3/663(0.5)	0/663(0)

from CHN J Biol 6(3):131, 1993. Prog Microbiol Immunol 3:6, 1993

ブースター後の副反応(発熱)

General reaction of the children after booster inoculation				
ワクチン	接種後 時間	No	37.5-38.0℃ 38.1-39.0 ℃	>39.0℃(%)
DTPa+	6	78	5(6.4%)	1(1.3%)
DTPa	24	78	4	0
	48	78	2	0
DTPw+	6	106	11(10.4%)	4(3.8%)
DTPw	24	106	7	1(0.9%)
	48	106	4	0
DTPw+	6	133	6(4.5%)	1(0.8%)
DTPa	24	133	5	0
	48	133	3	0

From CERN J Biol Med 8(2) 115, 1991.

ブースター後の副反応(発赤)

Local reaction(redness) of the children after booster inoculation				
ワクチン	接種後 時間	No	0.6-2.5cm (%)	2.5-5.0cm (%)
DTPa	6	78	0(0%)	0
+	24	78	0(0%)	0
DTPa	48	78	0(0%)	0
DTPw	6	106	0(0%)	0
+	24	106	2(1.9%)	0
DTPw	48	106	3(2.8%)	0
DTPw	6	133	0(0%)	0
+	24	133	2(1.5%)	0
DTPa	48	133	1(0.8%)	0

From CERN J Biol Med 8(2) 115, 1991.

ブースター後の副反応(硬結)

Local reaction(induration) of the children after booster inoculation				
ワクチン	接種後時間	No	0.6-2.5cm	2.5-5.0cm (%)
DTPa	6	78	0(0%)	0
+	24	78	2(2.6%)	0
DTPa	48	78	2(2.6%)	0
DTPw	6	106	1(0.9%)	0
+	24	106	5(4.7%)	3(2.8%)
DTPw	48	106	5(4.7%)	4(3.8%)
DTPw	6	133	0(0%)	0
+	24	133	3(2.3%)	0
DTPa	48	133	1(0.8%)	0

From CERN J Biol Med 8(2) 115, 1991.

第4相治験成績

- これまで2回実施
- 3回接種者: 107,184名
- 1回接種者: 103,821名(ブースター)
- 特記すべき副反応は観察されなかった

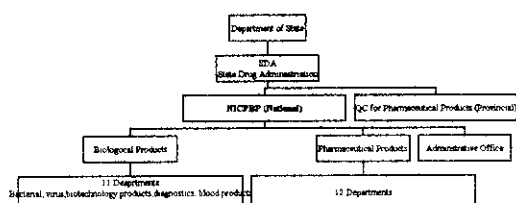
結論

- 国産DTPwワクチンの副反応発生率は約5%、輸入品の方が副反応発生率が高かった。
- 国産DTPaワクチンの副反応発生率は約1~5%、しかし特記すべき副反応は観察されなかった。しかし、輸入ワクチンでは15%に副反応が観察された。

中国NCLの機能

NICBPB
National Institute for the Control of
Pharmaceuticals & Biological Products

医薬品の品質管理体制



中国NCL組織

- Department of State
 - State Drug Administration (SDA)
 - NICBPB
 - New Drug Evaluation Committee (NDEC)
 - GMP Inspection
 - Adverse Reaction Center
 - Committee of Chinese Pharmacopoeia

中国におけるワクチン製造

- 2001年：中国に6ヶ所ある生物製剤製造所が1企業体になり、外資を積極導入中
- 上海製造所：中国最大の生物製剤製造所で約5割の製造量、5億元(75億円)／年、GMP対応施設・設備に4000万元(6億円)投入予定
- 5年間位は現状路線で行かざるを得ないが、その後は、GMP適合の安価な製剤を供給可

中国は、広大なワクチン市場

- 面積：9.6 million km²(日本の25倍)
- 人口：12~14 億人(日本の10倍)
- 人種：56
- 言語：中国語
- 首都：北京
- 歴史：5000 年

NICBPBの主な品質管理部門

ウイルス部門

- ワクチン第一部：日本脳炎、出血熱、他
- ワクチン第二部：肝炎 A、B、C、D、E、風疹、他
- ワクチン第三部：ポリオ、インフルエンザ、おたふくかぜ、他

NICBPBの主な品質管理部門

• 細菌部門

- 血清部：DTP、抗毒素、蛇毒血清
- シード部：肺炎球菌、HiB、髄膜炎球菌
- 診断第一部：BCG
- 診断第二部：梅毒
- 診断第三部：寄生虫

NICBPBの主な品質管理部門

・ バイテク部門

生化学部: 組換え製剤

血液部: 血液製剤

細胞部: サイトカイン、HIV

NICBPBの機能

- 国内製造される全ての生物製剤の品質管理試験
- 承認申請新薬に対して製造技術及びQCの評価
- 全ての輸入製品に対してロット毎に製造技術及びQCの評価
- GMP査察
- ワクチン及び体外診断薬の出荷判定

NICBPBにおける品質管理試験

- 申請のあった新製剤又は輸入製剤は、連続3ロット、安全性と有効性に関して必要な試験を全て行う。供試検体はSDAによってサンプリングされる。
- 国内製造品については、SDAが無作為サンプリングし、全て又は一部の試験を行う。採取検体は、製造者から送られてくる。
- 輸入製剤及びHBV、HCV、HIV and 梅毒キットについては、全ロットについて試験
- EPIワクチンに対するロットリリースは、2001年12月1日より実施

中国で使用している主な基準

- 中国薬局方
- 生物学的製剤基準
- 製造基準
- USP, EP, JP

生物製剤に関する中国GMP

1998年:血液製剤の製造にGMPを適用

1999年:組み換え製剤、幾つかの体外診断薬キット、ワクチンの製造にGMPを適用

2002年末までに、全てのワクチン製造にGMPを適用

GLP と GCP

1999年:国立のラボはGLPに沿って作業を開始しているが、多くの分野で改善の余地がある。

1999年:新医薬品に対してGCP制度を導入

1998年:ICH の考え方を中国に広めている

NICPBPの主な品質管理部門

血清部

- 組換えTT, PT ワクチン、新しいワクチン開発研究
- ワクチンの治験
- 蛇毒: サソリ及び蛇毒
- 診断キット

NICPBPの主な品質管理部門

血清部

- DTP ワクチン:国内製, SB, Pasteur (主)
- 免疫キット
- 米国からの輸入品、Botox
- 嫌気性細菌製品
- 日本からの輸入品: Neurotropin
- 組換え製品

資料2

**Qualification Requirements for
Aseptic Processing/ISO 13408**

Tsuguo Sasaki, Ph.D.

National Institute of Infectious Diseases

ISO 13408 series

- **Aseptic processing of health care products**
- **Part 1: General requirements**
- **Part 2: Filtration**
- **Part 3: Lyophilization**
- **Part 4: Sterilization in place (SIP)**
- **Part 5: Cleaning in place (CIP)**
- **Part 6: Isolator/barrier technology**

**Establishment of Qualification
Requirements (1)**

- The Product with specification of the quality characteristics to be achieved in the process.
- Facilities, including layout, material and personnel flow, HVAC system and separation concept for maintenance of the required cleanroom conditions.

**Establishment of Qualification
Requirements (2)**

- Utility systems, including systems for purification, storage and distribution of water and process gasses.
- Equipment, including a complete list of equipment with a description of its intended use and purpose in the process.
- The overall process with a flow chart and with identification of unit operations and key equipment.

Unit Operations (1)

- The process should be divided into unit operations each of which is achieving a defined step in the process by a contribution to the overall quality characteristics of the product.
- For all unit operations their contribution to achieve the overall quality characteristics of the product shall be defined.

Unit Operations (2)

- Equipment properties, process parameters to be achieved, settings of key equipment, and other factors that are instrumental to reach the necessary contribution of the unit operation are considered critical process steps or parameters which shall be defined and their role in the process verified during validation.
- Acceptance criteria shall be established for critical process steps and parameters.
- Facilities, systems and key equipment shall be qualified to correctly perform in the unit operation.

User Requirements for Facilities, Systems, Key Equipment (1)

- Suitability of the facility for the unit operation to be performed therein (e.g. cleanroom with sufficient segregation to achieve the required cleanliness conditions).
- Suitability of the system, or equipment to achieve the intended outcome of the unit operation (e.g. water system delivering water of the required purity, sterilizer which performs suitable sterilization cycles for the type of product to be sterilized)

User Requirements for Facilities, Systems, Key Equipment (2)

- Suitability of the equipment to be operated under the conditions as required (e.g. filling equipment serviceable without routinely breaking cleanroom segregation).
- Cleanability or sterilizability of the equipment as required in the unit operation (e.g. equipment with CIP/SIP equipment to avoid aseptic handling).
- Compliance with applicable ISO and/or GMP requirements.

Design Qualification (1)

- the required functions of the item.
- the essential parts including for example piping, electric wiring, valves, switches.
- any essential controlling instruments with a specification of the required precision and calibration requirements.
- any required safety features.

Design Qualification (2)

- any required handling or maintenance features (e.g. cleanability, sterilizability, servicability).
- materials of construction.
- required compatibility with facilities, utilities and services to be supplied by the user.
- the extent of documentation necessary to be supplied for installation, operation, maintenance.
- the extent of training to be supplied to the operators.

Installation Qualification (IQ)

- IQ shall include, but not be limited to the following:
- installation of piping, electric wiring, valves, switches, instruments checked to current engineering drawing and specifications; (Change Control).
- verification of compatibility with facilities, utilities and services.

Installation Qualification (IQ)

- completeness of the installation with availability of all required instruments and safety features.
- documentation of any modifications to facilities, utilities and services needed to install the system or equipment.
- collection and collation of supplier operating and working instructions and maintenance requirements; (Change Control).

Installation Qualification (IQ)

- calibration requirements; (Change Control).
- verification of materials of construction.
- a formal report attesting correct delivery and installation, signed by supplier and user.

Operational Qualification (OQ)

- OQ shall include, but not be limited to the following:
- tests to verify the specified functions of the facility, system, or key equipment under expected operational conditions and at the defined upper and/or lower limits of performance; (Requalification).
- documentation of any setting of switches, controllers, gauges etc. or necessary to achieve the functions as specified; (Change Control).

Operational Qualification (OQ)

- documentation of any setting for facility systems, utilities and services needed to achieve correct functionality (Change Control).
- tests to verify the functionality of all safety features; (Requalification).
- calibration of all measuring equipment in accordance with calibration requirements; (Maintenance).

Operational Qualification (OQ)

- verification of suitability for operation and servicability under the conditions as required.
- verification of cleanability and sterilizability as specified.
- training of operators and service personnel as specified.
- a formal report including official release of the facility, system, or key equipment for performance qualification.

Performance Qualification

- PQ shall include, but not be limited to the following:
- tests using production materials, qualified substitutes or simulated product to verify the specified outcome of the process conducted in or by use of the facility, system, or key equipment under operational conditions and under defined worst case conditions; (Requalification).
- documentation of any setting for facility systems, utilities and services needed to achieve correct output of the unit operation within the process (Change Control).

Performance Qualification

- setting of operating limits for control instruments; (Change Control).
- specification of necessary in-process controls including limits of acceptance.
- accumulation of monitoring results demonstrating the facility, system, or key equipment to achieve the specified process conditions homogeneously throughout the process and consistently in repeated process runs; (Revalidation, Change Control).

Performance Qualification

- documentation of monitoring results and setting of monitoring plans including sites, frequencies and alert and action levels; (Change Control).
- finalization of operating procedures and cleaning procedures; (Change Control).
- finalization of preventive maintenance requirements and schedules; (Change Control).
- specification of requirements and frequencies for re-qualification (Re-qualification).

Qualification of Established (in-use) facilities, systems, and Equipment: IQ

- installation of piping, electric wiring, valves, switches, instruments checked to current engineering drawing and specifications; drawings updated to reflect actual situation where necessary.
- verification of calibration requirements.
- actualisation of operating and working instructions and maintenance requirements where necessary.
- verification of materials of construction for any modifications which may have not been documented.

**Qualification of Established (in-use) facilities, systems, and Equipment:
OQ**

- tests to verify the specified functions of the facility, system, or key equipment under expected operational conditions and at the defined upper and/or lower limits of performance.
- documentation of any setting of switches, controllers, gauges etc. or necessary to achieve the functions as specified.

**Qualification of Established (in-use) facilities, systems, and Equipment:
OQ**

- documentation of any setting for facility systems, utilities and services needed to achieve correct functionality.
- tests to verify the functionality of all safety features.
- calibration of all measuring equipment in accordance with calibration requirements.

**Qualification of Established (in-use) facilities, systems, and Equipment:
PQ**

- tests using production materials, qualified substitutes or simulated product to verify the specified outcome of the process conducted in or by use of the facility, system, or key equipment under operational conditions and under defined worst case conditions.
- documentation of any setting for facility systems, utilities and services needed to achieve correct output of the unit operation within the process.
- verification of setting of operating limits for control instruments.

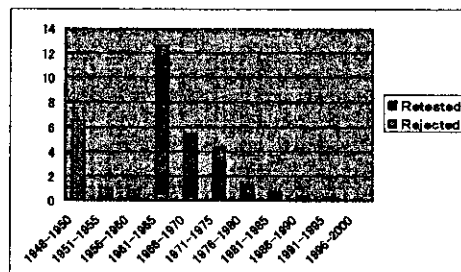
**Qualification of Established (in-use) facilities, systems, and Equipment:
PQ**

- verification from monitoring results that the facility, system, or key equipment achieves the specified process conditions homogeneously throughout the process and consistently in repeated process runs.
- verification of operating procedures and cleaning procedures.
- verification of preventive maintenance requirements and schedules.

Re-qualification, Change Control

- The function of the facility especially items marked “quality control” in the qualification outline above, system or key equipment shall be requalified to a defined depth at a documented schedule.
- Changes to the system, especially to the items marked “quality control” in the qualification outline above shall be evaluated in a formal change control procedure (to be discussed).

Sterility Testing Results for Biologics in Japan, 1948 - 2000



Current Topics in Japan

- GMP requirements for products derived from human/animal cells or tissues (April, 2001)
- Implementation of ICH/Q7A (November, 2001)
- International cooperation

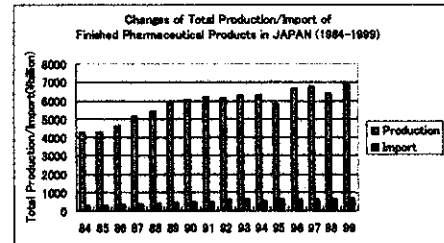
ICH/Q6A Guideline

- Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances
- Feasibility study in Japan (1998-2000)
 - Periodic/skip tests
 - In-process tests
 - Parametric release

Parametric Release for Health Care Products in Japan

- **Medical devices: PR is mandatory for terminally sterilized products, except for EOG sterilization.**
- **Pharmaceutical products: PR is being introduced.**

Finished Pharmaceutical Products in Japan (1984-1999)



安定供給に向けた国内外の抗毒素製剤の品質管理に関する研究

— 緊急用ボツリヌス抗毒素の試作製造 —

分担研究者：

所 属 財団法人 化学及血清療法研究所
研究者 大隈 邦夫

研究要旨

症状が重篤でありながら、国内では稀にしか発生がないことから、国内での製造が縮小されたり、開発の着手もなされないような治療用抗毒素が、海外では市販されている。しかし、治療を目的に緊急避難的にこれらの抗毒素を輸入し治療に用いる場合、製剤の安全性及び品質が問われる。また、医薬品についても自由化が求められており、諸外国製造の治療用抗毒素の品質保証制度、品質管理法、特に試験法については国内基準に照らし合せた評価・比較の検討が必要である。さらに、これらの抗毒素は緊急時の健康危機管理の観点から、安定供給のための体制の整備は不可欠の要素である。

本分担研究では、特にボツリヌス抗毒素について、緊急時の健康危機管理の観点から抗毒素を試験的に製造し備蓄することを目的として、原料となるウマ抗血漿を中国から輸入し、国内で抗毒素の精製を行い、先日乾燥ボツリヌス抗毒素(多価)の試作製造を終了した。現在、その品質試験成績を待っているところである。

A. 研究目的

ボツリヌス抗毒素は、一昨年の米国生物テロ事件及び国内唯一の製造所の廃業という問題から、国内需給体制の再構築が必要となった。これまでの本研究班の調査研究により、中国製ボツリヌス抗毒素は、国内製剤と比較して品質に問題のないことが確認されたが、緊急に大量の抗毒素を必要とする場合には、海外からの輸入は困難である。したがって、本研究班では中国で免疫して得られたウマ抗血漿(粗精製後)を一時的に輸入し、国内で最終精製を行い、製剤にして備蓄することを目的とする。

B. 研究方法及び結果

1. 中国からのウマ抗血漿の輸入(表1)

中国-蘭州生物制品研究所へボツリヌス抗毒素(多価)製造用の原血漿を製造委託した。蘭州生物制品研究所でボツリヌス A, B, E 及び F 型の各々の菌を培養し毒素を精製後トキソイド化し、各型のウマ免疫用抗原を作製した。これらの抗原をそれぞれのウマに注射し抗毒素価の上昇を待つて採血を行い、

各型別のウマ抗血漿を採集した。引続き、蘭州生物制品研究所で各ウマ粗血漿からペプシン消化、硫酸塩析及び非働化までを行い、硫酸液浮遊粗抗毒素を作製した。中国-蘭州生物制品研究所から輸入したウマ抗血漿(粗精製後)の総容量は、A, B, E 及び F 型がそれぞれ 16L, 18.8L, 17.7L 及び 17.2L であった。また、これら原血漿の輸入に当り、動物検疫と通関手続を実施し、その輸入関連資料を別紙 A(1回目)と別紙 B(2回目)に添付した。

2. 国内での抗毒素の精製(図2)

1. の輸入ウマ抗血漿を用い、現行製剤と同等の品質を確保することを前提に、現行の製造法(図1)に準じボツリヌス抗毒素を精製した。硫酸塩析及び透析工程を経て、ペプシン除去を行い、各型別原液(A型:2.2L, B型:2L, E型:2.8L, F型:2.5L)を得た。規定量の型別原液を混合後濃縮し、2.8Lの最終バルブを調製した。17℃に10mLずつ分注後、凍結乾燥を行い、乾燥ボツリヌス抗毒素(多価)239本を作製した。

3. 抗毒素の品質試験

本抗毒素は、生物学的製剤基準に準拠した品

質試験(たん白質含量試験、pH試験、含湿度試験、免疫化学試験、無菌試験、発熱試験、異常毒性否定試験[モット・マウス]、力価試験、重量偏差試験、不溶性異物試験、性状確認試験、浸透圧比試験、不溶性微粒子試験(第2法))を行い、現行製剤と同等の品質であることを確認しているところである。なお、各型別原液の品質試験成績を表2に示した。原液は全て、生物学的製剤基準の試験項目(たん白質含量試験、抗毒素含量試験、無菌試験、発熱試験、たん白質分解酵素残存否定試験、免疫グロブリン含量試験、免疫化学試験)に適合し高品質であった。

C. 考察

海外からボツリ双抗毒素を輸入することは、一昨年の米国で発生した生物テロ事件以来、非常に困難である。特に、最近まで製造していたフランスや米国の製造所では、昨今求められているGMP対応適合施設への転換の必要性に関わる大型投資等の問題から、ボツリ双抗毒素の製造は中止となっている。

本研究班では今回、中国-蘭州生物制品研究所に依頼したボツリ双ウマ抗毒素製剤(多価)の原料となる高度免疫血漿を入手し国内で最終製剤化を計り、極少量ではあるが緊急対策用に現行製剤と同等の品質として備蓄することの可能性が開かれたことは、一步も二歩も前進であり、緊急時の健康危機管理の観点からも大きな収穫であったと考える。

更には、このボツリ双ウマ抗毒素製剤(多価及びE型単味)の国内の安定供給と継続需給のための一方策とし、中国からの原血漿の輸入による道も選択肢の一つとして、今後考案されていくものと考えられる。

D. まとめ

ボツリ双抗毒素に関し、一昨年米国で起きた生物テロ事件及び国内唯一の製造所の廃業という問題が生じたため、国内需給体制の再構築が必要となった。緊急対策用として、高度に免疫して得たウマ血漿の部分精製したものを中国-蘭州生物制品研究所から輸入し、国内で最終精製し乾燥ボツリ双ウマ抗毒素(多価)239本を試作製造した。

現在、品質試験を実施し、完成本数は少ないものの、生物テロ対応用として使用可能な品質の、備

蓄用製剤であるかを評価しているところである。

F. 研究発表

なし。