

20050107/A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

無菌医薬品製造に関する国際規格の
国内導入に関する研究

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者

棚元 憲一

平成18（2006）年 4月

無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究

平成17年度 研究組織

主任研究者

棚元 憲一 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 部長

分担研究者

佐々木次雄 国立感染症研究所 細菌第二部 室長

那須 正夫 大阪大学大学院 薬学研究科 教授

川村 邦夫 大鵬製薬工業株式会社 製薬技術センター 顧問

中川 恭好 独立行政法人製品評価技術基盤機構 研究員

バイオテクノロジー本部生物遺伝資源部門 (NBRC)

遺伝資源保存課

佐々木 学 社団法人北里研究所 生物製剤研究所 品質部門長

協力研究者

浦山 由巳 千代田化工建設株式会社医薬品プロジェクト部

小久保 護 澁谷工業株式会社微生物制御技術部

小暮 慶明 デンカ生研株式会社ワクチン部

五反田 亨 社団法人北里研究所 生物製剤研究所

佐々木裕子 国立感染症研究所細菌第二部

白木澤 治 日揮株式会社 GMP 技術部

菅谷 真二 キリンビール株式会社医薬カンパニー品質保証室

谷 壽一 シーアンドエス株式会社

西畑 利明 参天製薬株式会社研究開発本部

原 芳明 ザルトリウス株式会社マーケティング部

樋本 勉 参天製薬株式会社生産物流本部

藤田 弘之 (財) 阪大微生物病研究会観音寺研究所品質保証部

曲田 純二	日本ミリポア株式会社バイオフィーマシューティカル事業本部
水田 泰一	デンカ生研株式会社信頼性保証本部
村上大吉郎	株式会社大氣社
伊藤 千鶴子	持田製薬工業株式会社品質管理部
浦山 由巳	千代田化工建設株式会社医薬品プロジェクト部
山口 進康	大阪大学大学院 薬学研究科
吉野 千春	社団法人北里研究所 生物製剤研究所品質部門
飯嶋 正也	社団法人北里研究所 生物製剤研究所品質部門
木下 忍	岩崎電気株式会社 光応用営業部技術グループ
佐々木公一	エーザイ株式会社
田尻 浩章	バクスター株式会社
出口 統也	澁谷工業株式会社 微生物制御技術部
中井 哲志	三浦工業株式会社メディカル技術部
岩崎電気株式会社	

目 次

I	総括研究報告	
	無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究	1
	棚元憲一	
II	分担研究報告	
	1. 無菌医薬品の製造に関する指針作成	9
	川村邦夫、佐々木次雄	
	別途資料：Guidance for Industry	
	Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing 2005.	
	2. USP/EP 微生物試験法の評価研究，微生物の迅速検出法の日局導入	113
	那須正夫、山口進康	
	3. 日局指定菌株の特性と維持管理に関する研究	121
	中川恭好	
	4. 防腐剤無添加製剤の無菌性保証に関する研究	127
	佐々木学、佐々木次雄、五反田亨、吉野千春、飯嶋正也、岩崎電気株式会社	
	別途資料：パルス光照射による滅菌効果に関する研究	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	139

厚生労働科学研究費補助金（医薬品医療機器等部）バイオリーサイエンス総合研究事業）

総括研究報告書

無菌医薬品製造に関する国際規格の国内導入に関する研究

主任研究者 棚元憲一 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部長

研究要旨：「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」の英訳版を作成した。さらにパラメトリックリリースの適用促進を目指して「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針（案）」の高圧蒸気滅菌部分を作成した。新しい最終滅菌法としてパルス光照射を取り上げ、その滅菌効果を菌種及び容器・容量について検討した。細菌迅速試験法を日局に取り込むに当たり、試験法の再現性、精度、感度、ラボ間のばらつき等の検証を行い、蛍光活性染色法やマイクロコロニー法が、迅速かつ簡便な細菌試験法として実施可能であることを実証した。また、日局指定菌株 5 株及び 8 株について、それぞれ抗菌剤及び抗生物質に対する感受性測定により、特性と維持管理に関する研究を行った。

分担研究者

佐々木次雄	国立感染症研究所 安全性研究部室長
那須正夫	大阪大学大学院薬学研究科 生化学・教授
川村邦夫	大鵬製薬株式会社、製品技術 センター・顧問
中川恭好	独立行政法人製品評価技術基 盤機構 研究員
佐々木学	社団法人北里研究所生物製剤 研究所 品質部門長

されている。本研究では医薬品の無菌製造法に関する ISO 規格案や欧米から出されている無菌製造法に関するガイドライン等を参考に、日本版「無菌医薬品製造に関するガイドライン」を作成する。指針は「無菌操作法」と「最終滅菌法」とに分けて作成する。これらの指針は外国に向けての発信として英文版の作成も行う。また無菌製造の一例として、新しい最終滅菌技術として注目されている光パルス滅菌法を取り上げ、無菌性保証（チャレンジテスト）及び有効性に関する検討を行う。

さらに本研究では国際規格を反映した日局微生物試験法の充実を目指す。具体的には「微生物の迅速検出法の日局導入」、「日局指定菌株の特性と維持管理」及び USP/EP 収載試験法の日局導入評価研究を行う。自然環境中の微生物の大部分は通常の方法での培養、もしくは肉眼でのコロニー観察が困難であることが明らかとなってきたことから、蛍光染色法のような新規技術を用いた、迅速・簡便、さらには高精度に定量す

A. 研究目的

わが国では、医薬品の製造及び品質管理は、省令 GMP として施行されている。現在、医薬品 GMP 中に、無菌医薬品の製造に関する要件がかなり導入されてきてはいるが、多岐にわたる無菌医薬品製造工程について詳細に触れることは困難である。無菌医薬品の製造に関しては、米国では FDA ガイドラインとして、EU では EU-GMP として発行

るための手法が検討されている。今年度はそのような目的で蛍光活性染色法やマイクロコロニー法の検証を行い、適切な日局導入のための検討を行うこととした。

また、日局指定株が適正に維持することは日局微生物試験法全体に関わる重要な課題である。これらの指標菌は、培養中に変異を起こすことがあり、試験目的としている性状からかけ離れてしまう可能性が常にある。そのため、菌株が本来有すべき性状を示すと同時に理想的な保存管理方法について日局参考情報に示す方向で検討する。

B. 研究方法

1. 無菌医薬品製造に関するガイドライン

作成：平成 15～16 年度に完成させた「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を監視指導・麻薬対策課が発行する「医薬品 GMP 解説事例集」に掲載するため、省令 GMP 内容との整合性の観点から精査した。さらに、その英訳版の作成を行った。「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」は最終滅菌医薬品へのパラメトリックリリース適用を目指すため、監視指導・麻薬対策課及び医薬品医療機器総合機構からの参加を得て班会議を開催し指針案を作成した。

2. 防腐剤無添加製剤の無菌性保証に関する研究：1. バイアル容器（ポリプロピレン製）を用い、代表的な菌種（*B.subtilis*,

A.niger, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *C.albicans*, *E.coli*) の、パルス光による滅菌効果を検証する。2. 容器（材質）による滅菌効果の検証として、シリンジ容器（高機能樹脂 COP 製）2mL, 5mL, 10mL の 3 種類の容量と、最も光に耐性な菌種（*A.niger* *B.subtilis*）を用いた。3. 容器

の透過率、菌種ごとの透過率を確認する。

4. 光量は 500J、1000J、1500J とし照射条件の確認を行う。

3. 微生物の迅速検出法の日局導入：細菌迅速試験法の技術研修会を開催し、ナチュラルミネラルウォーター中の細菌数を蛍光活性染色法およびマイクロコロニー法で測定すると共に、本試験法に対するアンケート調査を実施した。さらに、操作の習熟度と測定値の個人差の関係について検討するための共同実験を行った。試料として、標準株（大腸菌）を異なる菌数で添加した注射用水を用いた（サンプル A： 10^4 cells/mL、サンプル B： 10^6 cells/mL、サンプル C：0 cells/mL）。各試料中の細菌数を蛍光活性染色法、マイクロコロニー法、平板培養法（混濁法）で測定し、得られた結果を比較した。蛍光活性染色では 6-carboxyfluorescein diacetate と 4',6-diamidino-2-phenyl indole を用いた二重染色法を、マイクロコロニー法では SCD 培地上での静置条件を 30°C、6 時間とし、生じたマイクロコロニーを SYBR Gold で染色後、蛍光顕微鏡下で計数した。データの解析は、蛍光顕微鏡操作に習熟した者の群としていない者の群に分けた。

4. 日局指定菌株の特性と維持管理：

Staphylococcus aureus NBRC 13276

Pseudomonas aeruginosa NBRC 13275

Candida albicans NBRC 1594

Aspergillus niger NBRC 9455

Escherichia coli NBRC 3972

以上の 5 菌株につきパラオキシ安息香酸エチルおよびパラオキシ安息香酸プロピルによる最小発育阻止濃度を測定した。

また、8 菌種につき 11 種の抗生物質に対す

る感受性を第十四改正日本薬局方に準じて円筒平板法により測定を行った。

C. 研究経過

1. 無菌医薬品製造に関するガイドライン作成

本指針を医薬品 GMP 解説事例集に収録するために法令担当官が精査した用語の使い方や表現法について確認作業を行った。また、指針の英訳版を作成し、国内外の関係者や関係機関に配信した。「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針(案)」の検討を行い、高圧蒸気滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース要件を纏め上げた。

2. 防腐剤無添加製剤の無菌性保証に関する研究

分光透過率測定及びチャレンジ試験を行い、バイアル容器(ポリプロピレン製)においては滅菌効果を認めた。シリンジ容器(高機能樹脂 COP)では、チャレンジ菌の菌数が多いため、生菌数が多少認められた。菌種では、*A.niger*、*B.subtilis* 等は 10^6 では生存している可能性があること。また、パルス光滅菌装置による滅菌は、光が透過する容器の材質・厚みが求められること、さらに多少熱が発生するため、光が透過し、且つ耐熱性であることが明らかになった。

3. 微生物の迅速検出法の日局導入

①蛍光顕微鏡操作に習熟している者の群では蛍光顕微鏡法での相対標準偏差(標準偏差/平均値)は 18%~31%(平均 26%)であったのに対し、習熟していない者の群では 33%~78%(平均 60%)であった。②平板培養法(混釈法)の相対標準偏差は、22%~41%(操作の習熟度を一定と見なし

群に分けずに解析;平均 32%)であった。③蛍光顕微鏡操作に習熟している者であっても、蛍光顕微鏡 1 視野あたりの細菌数が約 80 の場合に、1 視野あたりの細菌数が約 30 の場合に比べて、計数値の相対標準偏差が小さくなった。④蛍光活性染色法に比べ、マイクロコロニー法の方が相対標準偏差が小さくなった。⑤マイクロコロニーの計数にあたり、自動計数装置を用いた場合の相対標準偏差は、蛍光顕微鏡を用いた場合の相対標準偏差と同じ、または小さくなった。

4. 日局指定菌株の特性と維持管理

日局の微生物試験法中で、特に用いられる標準菌株が問題となると思われる試験法は、判定に直接関係してくる抗生物質力価試験法と、保存効力試験法である。

この試験法に照準を合わせ、抗菌力試験と抗生物質の力価試験に関連する標準菌を用いて検討した。

D. 考察

本研究班は大きく分けて二つの研究項目からなる。一つは「国際規格を反映した無菌医薬品の製造に関する指針作成」であり、もう一つは「国際規格を反映した日局微生物試験法の充実」である。日本薬局方参考情報には、最終滅菌法及び滅菌指標体、最終滅菌医薬品の無菌性保証、培地充てん試験法、無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法等の無菌医薬品製造に関するチャプターが幾つかある。これらのチャプターは GMP を補完する目的で導入されたが、無菌医薬品の製造法は多岐にわたるため、一つの完結したチャプターとして導入することは日局には馴染まないと考えられる。以上の理由から、FDA ガイドライン(Guideline

for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing, 2002 年)、EU-GMP、WHO-GMP 等を参考にして、無菌医薬品製造に関する日本版ガイドラインを作成し、省令 GMP と対にして製薬企業や薬事監視の場で活用できる指針作成を行い、EU-GMP や FDA ガイドライン等と比肩できる日本版「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を作成した。本指針が「医薬品 GMP 解説事例集」に掲載されたことより、国内企業に広く利用されることは間違いない。また、本指針の英訳版を完成させたことにより、海外の規制当局や製薬企業に日本における無菌医薬品の製造レベルが理解され、無菌医薬品の国際流通にも好影響をもたらすものと期待される。平成 17 年度より作成を開始した「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」は高圧蒸気滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース要件を纏め上げたが、完成に至らず平成 18 年度に先送りとなった。

新しい最終滅菌法としてパルス光照射を取り上げ、その滅菌効果を菌種及び容器・容量について検討した。用いたバイアル容器（ポリプロピレン製）及びシリンジ容器（高機能樹脂 COP 製）の分光透過率に差は見られず、菌液での透過率では、*A.niger* が *B.subtilis* に比べわずかに差は見られたものの、滅菌効果のある波長（200～300nm）では差はないと考えられる。バイアル容器を用いたチャレンジ試験結果は、1500J において 10^6 の滅菌効果が得られたが、菌種により *C.albicans* の様に菌のサイズの大きいものは、パルス光対照に影響を与える可能性もある。シリンジ容器の場合は、各菌種とも生存が見られたが、これは

シリンジがゴム栓（トップキャップ）により封かんされているため、パルス光が照射されない箇所があるためと考察される。

一方、「国際規格を反映した日局微生物試験法の充実」として、日局が現在検討中の「培養法を用いない微生物の迅速検出法」や「日局指定菌株の特性と維持管理」に関するチャプターの導入のための基盤となる研究の推進を行っている。

微生物の迅速検出法研修会後のアンケートの結果、蛍光活性染色法とマイクロコロニー法のいずれも速性・簡便性が高く評価されていること、蛍光顕微鏡操作の簡便化と計数基準の明確化が課題であることがわかった。細菌迅速試験法の共同実験の結果、操作の習熟により、計数値の個人差は小さくなることがわかった。また、蛍光顕微鏡操作の習熟度にかかわらず、蛍光活性染色法に比べてマイクロコロニー法は計数対象が大きく、蛍光強度も強いために計数値の相対標準偏差が小さくなったと考えられる。

現在あらゆる分野での微生物管理は有害微生物の迅速・適確・高感度な検出・同定が求められている。しかし従来法は煩雑な操作と長期にわたる培養、さらには科学的な不確定さ等、時代に対応できない本質的な欠陥を抱えていて、有害微生物による被害が生じた際に迅速・適確な対応がなされていない。諸分野における科学技術が発展した今日、最新の技術を応用した迅速・適確な検出法を確立し、微生物問題を対処する必要がある。本研究はその意味においても画期的な研究であり、世界に先駆けて局方に掲載されることになる。

一方、現在日局に多数微生物関連の試験法が掲載されているが、その多くの試験法

に標準菌株が記載されている。言うまでもなく試験成績はこの標準菌株を基準として行われ、評価されるものであることから、標準菌株の品質は科学的に十分保証されたものでなければならない。そのような見地から、標準菌株の科学的検証を行っている。今年度は日局指定菌株の特性と維持管理に関する研究として、局方に収載されている5株及び8株について、それぞれ抗菌剤及び抗生物質に対する感受性測定により、性状検討を行った。局方微生物試験法が正しく行われるためにも、安定した標準株の提供を維持することが必要であり、今後は日本で供給しているNBRC株と、ATCC株の性状差について明らかにすることと、少なくとも国際的に共通認識となりつつある継代数5代までの菌株の性状変化を確認し、保証された菌株の供給が出来る体制を作る必要がある。

E. 結 論

今年度は、以下の成果を得た。

1) 日本版無菌ガイドラインである「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針案」の

日本語版及び英語版を完成させた。「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」は高圧蒸気滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース要件を纏め上げた。

2) パルス光により滅菌する場合の容器は、バイアル容器のように全て樹脂製で、光を透過すること、さらに多少熱が発生するため、耐熱性である必要があることを明らかにした。

3) 細菌迅速試験法を日局に取り込むに当たり、試験法の再現性、精度、感度、ラボ間のばらつき等の検証を行い、蛍光活性染色法やマイクロコロニー法は、迅速かつ簡便な細菌試験法として、微生物学の基礎的な手法を習得した者であれば実施可能であることを実証した。

4) 局方に収載されている5株及び8株について、それぞれ抗菌剤及び抗生物質に対する感受性測定により性状検討を行い、現在の実態を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Mutsuga M., Kawamura Y., Sugita-Konishi Y., Hara-Kudo Y. Takatori K., Tanamoto K. Migration of formaldehyde and acetaldehyde into mineral water in polyethylene terephthalate (PET) bottles. *Food Addit Contam.* 23, 212-218, 2006
2. Muroi M. & Tanamoto K. Lipid A and its precursor lipid IVa require different region of mouse MD-2 molecule to induce Toll-like receptor 4-mediated NF- κ B activation. *J. Biol. Chem.* 2006
3. Mutsuga M., Tojima T., Kawamura Y., Tanamoto K. Survey of formaldehyde, acetaldehyde and oligomers in polyethylene terephthalate food-packaging materials. *Food Addit. Contam.* 2005 22(8):783-789.
4. Kawasaki Y., Kubota T., Yomota T. & Tanamoto K. Determination of sodium chlorite in processed herring role by CD-ion chromatography with a conductivity detector. *J. Food Hyg.*

- Soc. Japan, 46, 161-164, 2005
5. Ohkado Y., kawamura Y., Mutsuga M., Tamura H & Tanamoto K. Analysis of formaldehyde and oligomers in recycled polyethylene terephthalate. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 218-223, 2005.
 6. Tada A., Kin Z-L., Sugimoto N., Sato K., Yamazaki T. & Tanamoto K. Analysis of the constituents in Jojoba Wax, a natural gum base, by GC/MS and LC/MS/MS. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 198-204, 2005
 7. Ohkado Y., kawamura Y., Mutsuga M., Tamura H & Tanamoto K. Metals in recycled terephthalate and discrimination method for its use. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 109-115, 2005.
 8. Shimomura-Shimizu M., Sugiyama K., Muroi M. & Tanamoto K. Alachlor and Carbaryl suppress lipopolysaccharide-induced iNOS expression by inhibiting $\text{NH}_2\text{-}\square\text{B}$ activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 332, 793-799, 2005
 9. Yagyu F., Okitsu S., Tanamoto K. & Ushijima H. Determination of HIV-1 subtypes (A-D, F, G, CRF01_AE) by PCR with novel designed primers. *J. Med virol.* 76, 16-23, 2005
 10. Hatao F., Hiki N., Mimura Y., Ogawa T., Kojima J., Mafune K., Hawkins LD., Muroi M., Tanamoto K., Kaminishi M. The induction of super-resistance using synthetic lipopolysaccharide receptor agonist rescues fatal endotoxemia in rats without excessive immunosuppression. *Shock.* 23, 365-370, 2005.
 11. Iso T., Sugimoto N., Sato K., Yamazaki T., Ishibashi K., Shiomi S. & Tanamoto K. Identification Test of Alo extract from Aloe arborescens, a natural thickening stabilizer. *Jpn. J. Food Hyg. Chem.*, 12(1), 23-27, 2005
 12. Ohkado Y., kawamura Y., Mutsuga M., Tamura H. & Tanamoto K. Analysis of Residual volatiles in recycled polyethylene terephthalate. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 46, 13-20, 2005.
 13. Jin Z-L., Tada A., Sugimoto N., Sato K., Yamazaki T. & Tanamoto K. Constituents of Fish Scale Foil, a natural Food Colorant. *Jpn. J. Food Chem.* 12(2), 85-87, 2005
 14. Kawamura Y., Mutsuga M., Kato T., Iida M. and Tanamoto K. Estrogenic and anti-androgenic activities of benzophenones tested by the human estrogen and androgen receptor mediated receptor gene assays. *J. Health Sci*, 51, 48-54, 2005
 15. 佐々木次雄：日本版「無菌医薬品製造ガイドライン」について，*PHARM TECH JAPAN*, 21 (7):7-11, 2005.
 16. 佐々木次雄：日本版無菌医薬品の製造ガイドラインの紹介，*クリーンテクノロジー*，3-5, 2006.
 17. Nakajima, K., Nonaka, K. Yamamoto, N. Yamaguchi, K. Tani and M. Nasu. Rapid monitoring of microbial contamination on herbal medicines by fluorescent staining method. *Lett. Appl. Microbiol.*, 40: 128-132 (2005)
 18. Yamaguchi, N., C. Sakamoto, M. Nasu. Rapid and simple quantification of bacterial cells using a microfluidic device. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71: 1117-1121 (2005)

19. Kitaguchi, A., N. Yamaguchi, and M. Nasu: Enumeration of respiring milk spoilage bacteria within six hours by fluorescence in situ hybridization following formazan reduction. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(5):2748-52 2005.
20. Kenzaka T., Tamaki S., Yamaguchi N., Tani K., Nasu M. Recognition of individual genes in diverse microorganisms by cycling primed in situ amplification. *Appl Environ Microbiol.* 71(11):7236-44.2005.
21. Maruyama F., Kenzaka T., Yamaguchi N., Tani K., Nasu M. Visualization and enumeration of bacteria carrying a specific gene sequence by in situ rolling circle amplification. *Appl Environ Microbiol.* 71(12):7933-40, 2005.
22. Khan, S.T., Nakagawa, Y. & Harayama, S. *Krokinobacter* gen. nov., with three novel species in the family *Flavobacteriaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 56: 323-328 (2006).
23. 中川恭好. 微生物の保存方法－微生物管理の実際－. 防菌防黴, 34: 95-103 (2006).
24. Khan, S.T., Nakagawa, Y. & Harayama, S. *Sandarakinotalea sediminis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Flavobacteriaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, in press.
25. Khan, S.T., Nakagawa, Y. & Harayama, S. *Sedimnicola luteus* gen. nov., sp. nov., a novel member of the family *Flavobacteriaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, in press.

2. 学会発表

1. 畑尾史彦, 室井正志, 棚元憲一: Toll-like receptor 刺激による IRAK-4 の down regulation の機構解析、第 78 回日本細菌学会総会 (2005, 4)
2. 杉山圭一, 室井正志, 棚元憲一: 2 種類の農薬アラクロールとカルバリルの TLR4 シグナル伝達に与える影響、第 78 回日本細菌学会総会 (2005, 4)
3. 室井正志, 棚元憲一: Lipid IVa のアンタゴニスト作用発現に必要なヒト MD-2 分子領域の探索、第 78 回日本細菌学会総会 (2005, 4)
4. 大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: TLR4 細胞内領域の会合は MyD88 との結合に必要である第 78 回日本細菌学会総会 (2005, 4)
5. 室井正志, 棚元憲一: Lipid IVa のアゴニスト/アンタゴニスト活性を支配する MD-2 の分子領域、第 11 回日本エンドトキシン研究会
6. 室井正志, 棚元憲一: Lipid IVa のアゴニスト/アンタゴニスト変換を支配する MD-2 の分子領域の役割、第 79 回日本細菌学会総会 (2006, 3)
7. 大西貴弘, 室井正志, 棚元憲一: MD-2 非発現細胞における LPS 認識機構の解析、第 79 回日本細菌学会総会 (2006, 3)
8. 杉山圭一, 室井正志, 棚元憲一: TLR4 をターゲットとした LPS シグナル阻害作用ペプチドの探索、第 79 回日本細菌学会総会 (2006, 3)
9. 村松由貴, 笠井宏朗, 鈴木健一郎, 中川恭好. *Alphaproteobacteria* 綱細菌に属する新属

新種 *Stellatibacter mobilis* の提案. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月.

10. 高橋麻衣, 金安美香, 飯野隆夫, 鈴木健一郎, 中川恭好. *Flavobacterium-Cytophaga* 類縁細菌群の 1 属, *Persicobacter* の新種について. 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月.
11. 中川恭好. 微生物の保存方法 —微生物管理の実際—, 日本防菌防黴学会「GMP とバリデーションをめぐる諸問題に関するシンポジウム第 20 回記念大会」, 東京, 2005 年 3 月.
12. 宮下美香, 鈴木健一郎, 中川恭好. *Myxococcus* 属の 16S rDNA および 16S-23S ITS 塩基配列に基づく系統解析. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 2005 年 3 月.
13. 高橋麻衣, 鈴木健一郎, 中川恭好. *Flavobacterium-Cytophaga* 類縁細菌群の 1 属, *Flammeovirga* 属の新種について. 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 2005 年 3 月.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし
3. その他: なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

分担研究報告書

無菌医薬品の製造に関する指針作成

分担研究者 川村 邦夫 大鵬薬品工業株式会社顧問
佐々木次雄 国立感染症研究所細菌第二部第二室長

研究要旨：平成 15～16 年度に 7 回の班会議を開催し、日本版「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を作成したが、平成 17 年度はその英訳版を作成した。英訳版は、FDA ガイドラインや EU-GMP 同様、医薬品の国際流通上、日本における無菌医薬品の製造管理のあり方を海外の規制当局や製薬企業に示す上で大いに役立つものと期待される。また、平成 17 年度は「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針（案）」の作成に着手した。班会議を 4 回開催し、高圧蒸気滅菌に対する指針作成は完了した。本指針は最終滅菌医薬品へのパラメトリックリリースの適用促進を目指しての作成であり、更に照射滅菌や高周波滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース要件を組み入れた指針の完成は平成 18 年度を予定している。

協力研究者：

1) 無菌操作法による無菌医薬品の製造指針，作成班員

浦山由巳 (千代田化工建設株式会社医薬品プロジェクト部)
小久保護 (澁谷工業株式会社微生物制御技術部)
小暮慶明 (デンカ生研株式会社ワクチン部)
佐々木学 ((社)北里研究所品質保証部門)
佐々木裕子 (国立感染症研究所細菌第二部)
白木澤治 (日揮株式会社 GMP 技術部)
菅谷真二 (キリンビール株式会社医薬カンパニー品質保証室)
谷壽一 (シーアンドエス株式会社)
西畑利明 (参天製薬株式会社研究開発本部)
原芳明 (ザルトリウス株式会社マーケティング部)
樋本勉 (参天製薬株式会社生産物流本部)
藤田弘之 ((財)阪大微生物病研究会観音寺研究所品質保証部)
曲田純二 (日本ミリポア株式会社バイオフィーマシューティカル事業本部)
水田泰一 (デンカ生研株式会社信頼性保証本部)
村上大吉郎 (堀ガラス株式会社)

2) 最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針，作成班員

伊藤 千鶴子 (持田製薬工場株式会社品質管理部)
浦山由巳 (千代田化工建設株式会社医薬品プロジェクト部)
木下 忍 (岩崎電気株式会社:光応用営業部技術グループ)
小暮慶明 (デンカ生研株式会社ワクチン部)
佐々木裕子 (国立感染症研究所細菌第二部)

佐々木公一	(エーザイ株式会社)
田尻浩章	(バクスター株式会社)
白木澤治	(日揮株式会社 GMP 技術部)
出口統也	(澁谷工業株式会社微生物制御技術部)
中井哲志	(三浦工業株式会社メディカル技術部)
西畑利明	(参天製薬株式会社研究開発本部)
原 芳明	(ザルトリウス株式会社マーケティング部)
樋本 勉	(参天製薬株式会社生産物流本部)
曲田純二	(日本ミリポア株式会社バイオフィーマシューティカル事業本部)
村上大吉郎	(大氣社)

A. 研究目的

無菌医薬品の製造に関する基本的な要件は、省令 GMP や日本薬局方参考情報に記載されている幾つかのチャプター（最終滅菌法及び滅菌指標体、最終滅菌医薬品の無菌性保証、培地充てん試験法、無菌医薬品製造区域の微生物評価試験法、他）で対応してきたが、新しい製造技術（アイソレータ、CIP/SIP、BFS 等）や概念（リスクマネジメント、変更管理等）に対応するためには、一連の要件をとりまとめた指針が必要であった。そこで、FDA ガイドライン（Guideline for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing, 2004 年）、EU-GMP、ISO 13408 シリーズ、PIC/S ガイドライン、WHO-GMP 等を参考に、「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を作成した（平成 15～16 年度）。本指針は、省令 GMP 中に示されている構造設備や無菌製造管理に関する要件を補完する情報として、監視指導・麻薬対策課が発行した医薬品 GMP 解説事例集に記載された。医薬品の国際流通が活発な現在、海外の規制当局や製薬企業に日本における無菌医薬品の製造管理規制を理解していただくため

に、英訳版を作成した（平成 17 年度）。本英訳版は、EU との無菌医薬品に対する GMP 相互認証（MRA）を推進するためにも役立つものと思われる。また、平成 17 年度は、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」作成に着手した。

B. 研究方法

平成 15～16 年度に完成させた「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を監視指導・麻薬対策課が発行する「医薬品 GMP 解説事例集」に掲載するため、省令 GMP 内容との整合性の観点から法令担当官が用語の使い方や表現法を精査したため、最終的完成は平成 18 年 2 月になった。英訳版は国内関係者のみならず、海外の関係者、関係機関にも配信した。

平成 17 年度より作成を開始した「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」は最終滅菌医薬品へのパラメトリックリリース適用を目指すものだけに、規制当局者の理解が必要である。そのため、平成 17 年度に 4 回開催された班会議には、監視指導・麻薬対策課より 1 名、医薬品医療機器総合機構から 5 名のオブザーバーを迎えながら指針案を作成した。本指針の最終完成は平成 18

年度である。

C. 研究経過

平成17年度：本指針を医薬品 GMP 解説事例集に掲載するために法令担当官が精査した用語の使い方や表現法について確認作業を行った。また、指針の英訳版を作成し、国内外の関係者や関係機関に配信した。更に、「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針（案）」の作成を行い、高圧蒸気滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース要件を纏め上げた。

D. 考察

EU-GMP や FDA ガイドライン等と比肩できる日本版「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」を作成できた。本指針が「医薬品 GMP 解説事例集」に掲載されたことより、国内企業に広く利用されることは間違いない。また、本指針の英訳版を完成させたことにより、海外の規制当局や製薬企業に日本における無菌医薬品の製造レベルが理解され、無菌医薬品の国際流通にも好影響をもたらすものと期待される。平成17年度より作成を開始した「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」の完成は平成18年度にずれ込んだ。

E. 結論

日本版無菌ガイドラインである「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針案」の日本語版及び英語版を完成させた。「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針案」の作成にも着手したが、完成は平成18年度にずれ込んだ。

F. 研究発表

1) 佐々木次雄：日本版「無菌医薬品製造ガイドライン」について、PHARM TECH

JAPAN, 21 (7):7-11, 2005.

2) 佐々木次雄：日本版無菌医薬品の製造ガイドラインの紹介、クリーンテクノロジー、3-5, 2006.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Guidance for Industry
Sterile Drug Products Produced by Aseptic
Processing
2005

Prepared by Task Force

Task Force
on
Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing

**With the support of a Grant for Research on Regulatory Science of
Pharmaceuticals and Medical Devices from Ministry of Health, Labour and
Welfare of Japan.**

Chaired by:

Ken-ichi Tanamoto	National Institute of Health and Sciences (Chair)
Kunio Kawamura	Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd. (Co-chair)
Tsuguo Sasaki	National Institute of Infectious Diseases (Co-chair)

Members:

Yoshimi Urayama	Chiyoda Corporation
Mamoru Kokubo	Shibuya Kogyo Co., Ltd.
Yoshiaki Kogure	Denka Seiken Co., Ltd.
Satoru Sasaki	Kitasato Institute
Yuko Sasaki	National Institute of Infectious Diseases
Osamu Shirokizawa	JGC Corporation
Shinji Sugaya	Kirin Brewery Co., Ltd.
Toshikazu Tani	C&S Corporation
Toshiaki Nishihata	Santen Pharmaceutical Co., Ltd.
Yoshiaki Hara	Sartorius K.K.
Tsutomu Hinomoto	Santen Pharmaceutical Co., Ltd.
Hiroyuki Fujita	Research Foundation for Microbial Diseases of Osaka University
Junji Magata	Millipore Corporation
Taiichi Mizuta	Denka Seiken Co., Ltd.
Daikichiro Murakami	Taikisha Co., Ltd.

Notice: This English version of the Guidance on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing is prepared for the convenience of users unfamiliar with the Japanese language. When and if any discrepancy arises between the Japanese original and its English translation, the former is authentic.

TABLE OF CONTENTS

1. INTRODUCTION	7
2. GLOSSARY	7
3. QUALITY SYSTEM	15
3.1 GENERAL REQUIREMENTS	15
3.2. ROUTINE MONITORING AND CONTROL	17
3.3. VALIDATION	17
4. PERSONNEL	17
4.1. PERSONNEL TRAINING	18
4.2. PERSONNEL HEALTH MANAGEMENT	19
4.3. MICROBIOLOGICAL MONITORING OF PERSONNEL	19
5. PREVENTION OF CONTAMINATION BY PERSONNEL.....	20
5.1. GOWNING REQUIREMENTS	20
5.2. GOWN CONTROL AFTER WEARING	20
5.3. GOWNING TRAINING	21
6. BUILDINGS AND FACILITIES	21
6.1 KEY FEATURES OF FACILITY DESIGN	21
6.2 FACILITY DESIGN FEATURES	22
7. PROCESSING AREAS OF STERILE DRUG PRODUCTS.....	23
7.1. CLASSIFICATION OF MANUFACTURING AREAS BY AIR CLEANLINESS	23
7.2. HEATING, VENTILATION, AND AIR CONDITIONING SYSTEM	25
7.3. INTEGRITY OF HEPA FILTERS.....	26
8. CLEANING AND DISINFECTION OF PROCESSING AREAS.....	27
8.1. DISINFECTANTS AND DETERGENTS.....	27
8.2. VALIDATION OF DISINFECTION PROCEDURES	28
8.3. MONITORING OF ADEQUACY AND EFFICACY OF CLEANING AND DISINFECTION PROCESSES	28
9. PEST CONTROL OF PROCESSING AREAS.....	28
9.1. GENERAL REQUIREMENTS.....	28
9.2. PEST CONTROL PROGRAM	29
9.3. STANDARD OPERATING PROCEDURES (SOPs)	29
9.4. MONITORING.....	29
9.5. CONTROL CRITERIA	30
9.6. CORRECTIVE AND PREVENTIVE ACTIONS	30
9.7. RECORD KEEPING	30
9.8. Preventive Measures against Insects.....	30
9.9. NOTES	31
10. CONTROL OF RAW MATERIALS, CONTAINERS, AND CLOSURES.....	31
10.1. CONTROL OF RAW MATERIALS.....	31
10.2. CONTROL OF CONTAINERS/CLOSURES	32

11.	STORAGE AND TRANSPORTATION OF STERILE INTERMEDIATE PRODUCTS	33
11.1.	GENERAL REQUIREMENTS	33
11.2.	CONTAINERS/CLOSURES FOR STORAGE AND TRANSPORTATION	33
11.3.	STORAGE AND TRANSPORTATION	34
11.4.	STORAGE AND TRANSPORTATION CONDITIONS	34
12.	ENVIRONMENTAL AND PERSONNEL MONITORING	35
12.1.	GENERAL REQUIREMENTS	35
12.2.	ROUTINE MONITORING AND CONTROL	36
12.3.	EXAMPLE ASSESSMENT CRITERIA FOR ENVIRONMENTAL MONITORING	37
13.	QUALIFICATION OF EQUIPMENT AND UTILITIES.....	40
13.1.	GENERAL REQUIREMENTS	40
13.2.	EQUIPMENT MAINTENANCE	41
13.3.	CALIBRATION	42
13.4.	CHANGE CONTROL	42
14.	STERILIZATION PROCESSES	43
14.1.	GENERAL REQUIREMENTS	43
14.2.	AUTOCLAVING	43
14.3.	DRY HEAT STERILIZATION	46
14.4.	ELECTRON BEAM AND GAMMA RAY STERILIZATION	46
14.5.	MICROWAVE STERILIZATION	47
15.	CLEAN-IN-PLACE (CIP) SYSTEMS.....	47
15.1.	DESIGN CONSIDERATION FOR CIP SYSTEMS	47
15.2.	SELECTION OF CLEANING AGENTS	48
15.3.	CIP PROCESS PARAMETERS	48
15.4.	ROUTINE MONITORING AND CONTROL	48
16.	STERILIZATION-IN-PLACE (SIP) SYSTEMS.....	49
16.1.	GENERAL REQUIREMENTS	49
16.2.	KEY DESIGN CONSIDERATION FOR SIP SYSTEMS	50
16.3.	PERSONNEL TRAINING	50
16.4.	ROUTINE MONITORING AND CONTROL	50
17.	FILLING PROCESS.....	51
17.1.	LIQUID PRODUCTS	51
17.2.	POWDER	52
18.	STERILE FILTRATION PROCESS.....	53
18.1.	LIQUID PRODUCTS	53
18.2.	AIR AND GASES	56
19.	FREEZE-DRYING PROCESS.....	57
19.1.	GENERAL REQUIREMENTS	57
19.2.	VALIDATION	58
19.3.	CLEANING AND STERILIZATION OF FREEZE-DRYERS	60
19.4.	ROUTINE MONITORING AND CONTROL AND MAINTENANCE OF FREEZE DRYERS.....	60
20.	OTHER ASEPTIC MANUFACTURING EQUIPMENT	61
20.1.	ISOLATOR SYSTEMS	61
20.2.	BLOW-FILL-SEAL (BFS)	64

21. PROCESS SIMULATION PROCEDURES	68
21.1. PROCESS SIMULATION: OUTLINE AND SCOPE	68
21.2. PROCESS SIMULATION PROCEDURES	68
21.3. POINTS TO CONSIDER FOR PROCESS SIMULATION	68
21.4. EVALUATION	69
EVALUATION OF PROCESS SIMULATION RESULTS	69
A1. ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS (APIS) MANUFACTURED BY CELL CULTURE/FERMENTATION	70
A1.1 GENERAL REQUIREMENTS	70
A1.2 CELL CULTURE/FERMENTATION	71
A1.3 HARVESTING, ISOLATION, AND PURIFICATION	72
A2. PHARMACEUTICAL WATERS	72
A2.1 BASIC DESIGNS OF FACILITIES, EQUIPMENT, AND SYSTEMS APPLICABLE TO PHARMACEUTICAL WATER 73	
1) WATER DISTILLATION EQUIPMENT	75
2) REVERSE OSMOSIS (RO).....	75
3) ULTRAFILTRATION (UF)	76
4) STORAGE FACILITIES FOR WATER FOR INJECTION AND OTHER HIGH PURITY WATERS.....	76
5) PIPING.....	77
6) HEAT EXCHANGERS	78
7) WATER USE POINTS AND SAMPLING POINTS	79
8) VALVES AND INSTRUMENTS.....	79
9) PUMPS	79
10) ULTRAVIOLET RAY (UV) LAMPS FOR STERILIZATION AND DISINFECTION	80
A2.2 VALIDATION OF PHARMACEUTICAL WATER	80
A2.3 ROUTINE MONITORING AND CONTROL OF PHARMACEUTICAL WATER	82
A2.4 TRAINING OF PERSONNEL ENGAGED IN PHARMACEUTICAL WATER PRODUCTION.....	85
A2.5 MAINTENANCE OF PHARMACEUTICAL WATER EQUIPMENT	86
A2.6 CHANGE CONTROL	86
A2.7 DEVIATION CONTROL.....	87
A3. BIOHAZARD CONTROL.....	87
A3.1 BIOSAFETY LEVELS	87
A3.2 CONTROLLED AREAS	88
A3.3 GENERAL REQUIREMENTS FOR BSL1 FACILITIES	88
A3.4 GENERAL REQUIREMENTS FOR BSL2 FACILITIES	88
A3.5 GENERAL REQUIREMENTS FOR BSL3 FACILITIES	89
A3.6 EMERGENCY SAFETY MEASURES	91
A3.7 PERSONNEL TRAINING.....	91
A4. CHEMICAL HAZARD CONTROL.....	91
A4.1 CHEMICAL HAZARD LEVELS	91
A4.2 CALCULATION OF ALLOWABLE EXPOSURE LIMITS	92