

200735018A

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

新しい無菌医薬品製造技術の
無菌性評価に関する研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者
棚元 憲一

平成20(2008)年 4月

新しい無菌医薬品製造技術の無菌性評価に関する研究

平成19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
渡辺恵市郎	日揮株式会社	産業プロジェクト統轄本部	技術理事・副本部長
小久保 護	澁谷工業株式会社	微生物制御技術部	部長
曲田 純二	日本ミリポア株式会社	ハイテック事業本部	次長

協力研究者

川村 邦夫	大鵬薬品工業株式会社
伊藤千鶴子	持田製薬工場株式会社
浦山 由巳	千代田化工建設株式会社
木下 忍	岩崎電気株式会社
小暮 慶明	デンカ生研株式会社
佐々木裕子	国立感染症研究所
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
出口 統也	澁谷工業株式会社
中井 哲志	三浦工業株式会社
西畑 利明	参天製薬株式会社
原 芳明	ザルトリウス株式会社
樋本 勉	参天製薬株式会社
村上大吉郎	大気社
高木 達也	大阪大学大学院薬学研究科
岡本 晃典	大阪大学大学院薬学研究科
山口 進康	大阪大学大学院薬学研究科

貝瀬 昭夫	共和真空技術株式会社
木坂 博和	武田薬品工業株式会社
高橋 充博	アステラス富山株式会社
小林 一幸	日本イーライリリー株式会社
浦山 由巳	千代田化工建設株式会社
田原 繁広	日揮株式会社
上野 誠二	中外製薬株式会社
片山 博仁	アステラス製薬株式会社
河田 正人	財団法人 阪大微生物病研究会
川崎 康司	株式会社 エアレックス
小牧 正人	ニプロファーマ株式会社
鈴木 正彦	第一三共株式会社
須藤 浩孝	アステラス製薬株式会社
竹内 正人	第一三共株式会社
平井 武徳	財団法人 化学及血清療法研究所
三根 朗彦	財団法人 化学及血清療法研究所

目 次

I	総括研究報告	
	新しい無菌医薬品製造技術の無菌性評価に関する研究	1
	棚元憲一	
II	分担研究報告	
	1. 最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針作成	7
	佐々木次雄	
	2. 偽陰性の発生を抑えたサンプリング方法の推計学的検討	63
	那須正夫	
	3. 無菌操作法で製造する無菌医薬品へのパラメトリックリリースの適用に関する研究...	71
	渡辺恵市郎	
	4. ヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究	97
	小久保護	
	5. 無菌医薬品製造ガイドラインのフォローアップ研究	113
	曲田純二	
III	研究成果の刊行に関する一覧表	121

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等ハイテクノロジーイノベーション総合研究事業）

総括研究報告書

新しい無菌医薬品製造技術の無菌性評価に関する研究

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：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「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を作成し、平成19年6月4日付で監視指導・麻薬対策課より発出された。医薬品の微生物試験の精度を保つため、偽陰性の発生を一定以下に抑えるのに必要となる保管（培養）時間を推計学的に検討した。無菌操作法による無菌医薬品製造に関連して、まず、ISOでは無菌操作法に関する新規国際規格を検討していることから、そのもととなる日米欧の無菌操作法に関する製造指針の不整合点の抽出を行った。また、パラメトリックリリースの適用に関しては、医薬品の無菌性に直接的な影響を与える「最重要区域（SA空間）」という新たな概念を提示し、無菌操作法・最終滅菌法に関わらずSA空間の構成要素の無菌評価により、論理的な無菌性保証につなげる試みを展開した。さらにヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究として、アイソレータのトラブル解析を行い、特にグローブ操作による差圧検討を行った。

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 衛生化学・教授
曲田純二	日本ミリポア株式会社 プロセス事業本部次長
小久保 護	澁谷工業株式会社 微生物制御技術部長
渡辺恵市郎	日揮株式会社産業プロジェクト統括本部技術理事

事法の全面施行に合わせて改正された省令GMPにおいても無菌性に関する要求事項が一段と多くなった。平成15-17年度の当厚生労働科学研究班活動として、「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」と「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」の二つの指針を作成した。無菌操作法指針は、FDAガイドライン（2004年）、EU-GMP、WHO-GMP、ISO 13408 シリーズ内容を吟味の上、国際的に許容される要求事項を提示したもので、監視指導・麻薬対策課が発行する「医薬品GMP解説事例集」の中におさめられた。本研究では、1）作成した2つの指針のフォローアップ研究、2）ヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究、3）無菌操作法で製造する無菌医薬品へのパラメトリックリリース適用に関する研究、4）超ろ過法で製造する製薬用水の膜（RO/UF

A. 研究目的

国内外とも無菌医薬品の製造に関しては一段と厳しいバリデーションと日常管理が求められている。

わが国においても平成17年度の改正薬

膜)の微生物学的堅牢性を保証するための微生物の迅速モニタリングシステムの開発や微生物の迅速計測法の日局導入に関する研究を展開する。

B. 研究方法

国際的に欧米規制当局から出ている最終滅菌医薬品に対するパラメトリックリリース (PR) 導入に対するガイダンスや ISO 規格、USP や日本薬局方における PR 要件を考慮に入れながら、最終滅菌医薬品に PR を適用するための諸条件について検討し、それらを指針の形にまとめた。

細菌数測定において、サンプリング手法により発生する偽陰性の確率と検出までの必要時間との関連を、サンプリング方法の条件に基づいたモンテカルロ・シミュレーションを行うことで推計学的に評価・検討した。一回の計算の試行において検体中に必ず菌が 1cell 入っているものとして、菌の特徴、直接計測に必要な菌数等のパラメータを固定し、検体からのサンプリングのみを確率的な事象として菌を検出可能な確率を 99.99%以上に保持できる培養時間を、条件に応じて算出される理論値と乱数シミュレーション計算による計算値として求めた。

無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する研究では、まず日米欧の無菌操作法に関する製造指針 (FDA "Aseptic Processing Guidance (2004)"、EU GMP Annex 1 revision (2008)、日本の「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」(2006))、及び国際規格作成作業状況の内容の検証を行った。

PR の適用に向けての研究班では 13 名の研究協力者のもと、7 回の班会議を開催し、

まず医薬品の無菌性に直接的な影響を与える「最重要区域 (SA 区域)」という新たな概念を導入し、その構成要素として

1. SA 区域を限るバリアー内面の微生物学的状態、
2. SA 区域内の気体の微生物学的状態、
3. 製品の気流方向の上流に存在する固体表面の微生物学的状態

を評価基準として取り上げ、これらの客観的な評価が無菌医薬品全体に対する論理的な無菌性評価につながるものとした。さらにこの無菌性レベルの決定に客観的を持たせるために、Rule Book を導入し、決定樹 (Decision Tree) の提案と、ヒトの介在に対する開口度レベルの設定により SA 状態分析法の確立を図った。

ヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究では、9 名の研究協力者のもと、上記 PR 検討班との合同会議を含め 5 回の班会議を開催してアイソレータ方式の潜在リスクの調査を実施し、一部については FMEA によるリスク分析表を作成した。

また、差圧に関しては実際の製造設備を用いて試験を実施した。

C. 研究経過

「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を作成し、2007 年 6 月 4 日：監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部 (局) に事務連絡として発出した。さらに指針の英語版を作成した。指針の構成は、序論、用語定義の他、パラメトリックリリースの一般的要件、品質システム、職員、建物及び施設、無菌医薬品製造区域の清掃および消毒、原材料及び容器並びに栓の管理、充

てん・閉そく工程、環境モニタリング、高圧蒸気滅菌工程から成り、付属資料として、放射線滅菌及び高周波滅菌を加えた。

細菌数の測定誤差について、統計的解析を行った結果、偽陰性が 0.01%以下に抑えられるのは、菌の検出に必要な最低限度個数(閾値)が 10 cells と高感度の時、サンプリング量 1、10、100mL に対してそれぞれ 13, 11, 10 単位時間となった。この結果に lag time および doubling time を合わせると、一般的な菌 (lag time : 24 hr, doubling time : 1 hr) では、およそ 1 日半 (34 から 37 hr) の時間が必要であると算出された。得られた結果から、菌のもつ特性 (lag time や doubling time) は、時間に配慮した上で偽陰性を一定以下に抑えるためには、非常に重要な要因であること、逆にサンプリングの容量や菌検出に必要な菌数(閾値)は、菌の特性に比較すると、偽陰性の発生に対し大きな影響を持たないことが明らかになった。

無菌操作法による無菌医薬品の製造ガイドラインのフォローアップ研究の一環として国際規格の比較を行った。医薬品業界のグローバル化に伴い、ISO TC198/WG9では日米欧の調和のため各局の無菌操作法による無菌医薬品の製造の規格作成作業を行っているが、この作成作業班に参加し日本の意見を反映させた。また、最近発効されたEU GMP Annex1 revisionでは、日本やUSと調和された内容もある一方、EU独自の要求項目がある。新たに、環境中の微粒子モニタリング、プロセスシミュレーション、バイオバーデン、打線・巻き閉め工程、以上の4点が変更された。

パラメトリックリリースの適用に向けて

の研究においては、まず「最重要区域 (SA 区域)」という新たな概念を導入した。SA 空間は無菌の製品を直接に取巻く環境であり、評価対象は SA 空間の無菌性レベルであることから、この SA 空間の構成要素を検討し、

1. SA 空間を限る境界面の微生物学的状態、
2. SA 空間内の気体の微生物学的状態、
3. SA 空間内固体表面の微生物学的状態、

の3要素で決定されることを明確にした。その上で、SA空間の無菌性レベルを区分するため、本研究では無菌(aseptic)のランクを無菌(sterile)の状態が損なわれる(汚染される)リスクで区分することを提案し、R-0 から R-4 までの5段階に区分した。さらに、そのSA空間の評価には客観性を高めるため“Rule book”に基づく決定樹(Decision Tree)を導入した。この“Rule book”とは評価対象に対する適正な管理と、一定の無菌性レベルを保証する約束事であり、7 項目からなる。さらに、このSA空間の妥当性を検証するため、適用事例として凍結乾燥工程及び一連の無菌操作法での製造工程を例にとって、検討した。一方、無菌性に最も大きな影響を与えるものはヒトの介在であることから、その評価として SA 空間の構成要素の第一要素である①SA 境界面の堅牢性への影響要素として A-0 から A-4 までの5段階区分を行い、整備した。

ヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究においては、アイソレータ方式の無菌医薬品製造設備で考えられるリスクとして、①グローブ、②気密度、③マウスホール、④RTP、⑤圧力、気流、清浄度、HEPA、⑥ 除染、⑦洗浄、⑧トンネル滅菌機の冷却部滅菌、⑨その他(トラブル、メンテナンス)、という9項目のリスト

をピックアップし、特に⑤についてはリスク分析表を作成した。

さらに、実際にアイソレータを採用している製薬会社5社を対象にこれまでの運転中に発生したトラブルについてアンケートを実施し、結果を集計した。その結果、差圧低下による非常停止や非微生物粒子の増加、RTP部のかみ合わせ不良、グローブのピンホールや破損などのトラブルの発生が報告された。この中で特に差圧に関しては実際の生産設備を借用し、グローブ操作に伴う差圧の変化について検証を行い、20Pa程度の差圧を維持していれば差圧の逆転現象が起こらないことを確認した。

D. 考察

日本版「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」の中で、高圧蒸気滅菌による最終滅菌医薬品にPRを適用するに当たっての滅菌条件を提示した。国際的には、EMAの無菌医薬品の製造法が採用されている。すなわち、製品を121℃で15分間湿熱滅菌するか、この条件が難しい場合は、 $SAL=10^{-6}$ を達成させるのに $F_0=8$ 分で湿熱滅菌できるならこの条件で滅菌を行う。これら以外の無菌医薬品製造は、基本的に無菌操作法による。今回の指針では、EMAと違い、滅菌前製品中の最大許容生菌数、バイオバーデンの最大 D_{121} 値、微生物試験（生菌数試験、耐熱性試験）についても規定したことである。さらに、条件3として、 $F_0=4\sim 8$ で処理された製品についても一定条件が満たされればPRを認めることにした点が特徴である。本指針は最終滅菌医薬品へのPRの適用促進を目指しての作成であるが、規制当局が本指針を参考に最終滅菌医薬品へ

のPR導入を積極的に推進することが実行上重要であると思われる。

医薬品などの微生物試験において、結果を得るまでの時間の短縮は重要であり、使用期限のある製剤などでは特に重要である。ただし細菌の検出にかかる時間と検出の確率は基本的に対の関係となっているため、検出に必要な時間を短縮することにより、検出の確率が低下する、つまり偽陰性が増えることとなる。一般に蛍光染色法による菌の直接計測は、培養にかかる時間を短縮できるため迅速な検出法として環境微生物学分野では広く用いられているが、サンプリングの際には検体の一部を抽出しその結果から全菌数を推定するため、サンプリング方法は偽陰性の発生に影響する。したがって、偽陰性の発生確率を十分低く抑えたサンプリング方法を検討することが必要である。今回の結果から、lag timeやdoubling timeといった特徴が既知である菌の検出において、偽陰性の発生する確率を十分に低くするために必要な時間は推測し易いと考えられる。さらに、菌検出に必要な菌数が大きく変化(10~10,000)しても(測定手法の感度が大きく変化しても)、十分に偽陰性を抑えた検出を行う上で必要な時間としては大きな差にはならない可能性が示唆された点は興味深い。

無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する研究に関して、まず「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」は業界および地方薬務課へ周知することが当面重要なことである。しかし今後は、欧米の指針と不整合が確認された事項の検討を含め、改訂版に向けての長期的な対応を視野に入れなければならない。

PRの適用に関する研究では、医薬品の無菌性に直接的な影響を与える「最重要区域 (SA空間)」という概念を提示し、SA空間は「Sterile/Aseptic」の何れかの状態が必要条件であるという結論を導き出した。この概念は無菌製品全体に対して普遍化が可能であり、如何なる複雑な製造システムであっても、このSA空間の構成要素が製品の無菌性 (Sterile/Aseptic) に影響を与えることが今年度の研究を通じて明らかとなった。この構成要素の無菌 (Sterile/Aseptic) 状態を客観的に評価出来る手法を開発さえすれば、無菌医薬品全体に対する論理的な無菌性の議論の展開が可能となると予想される。現実の技術とどの様に適合するかが今後の課題であろう。

アイソレータ方式の無菌医薬品製造設備で考えられるリスクとして9項目のリストをピックアップしたが、これらの内、①グローブ、③マウスホール、④RTP、⑤圧力、気流、清浄度、HEPAは実際の生産時のトラブルであり、要注意リスク項目と判断した。⑤に関してはリスク分析表を作成したが、今後内容の吟味が必要である。マウスホールに関する実験で、中央部での気流の逆転などは一般的な操業では起こらないことを確認したことから、無菌アイソレータでのマウスホールによる無菌性を阻害するリスクが基本的にないことを意味すると考えられる。

E. 結論

今年度は以下の成果を得た。

1) 「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を作成し、2007年6月4日：監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部 (局)

に事務連絡として発出した。さらに指針の英語版を作成した。

2) 細菌数の測定誤差について、統計的解析を行い、偽陰性を一定以下に抑えるためには、菌のもつ特性 (lag time や doubling time) が非常に重要な要因であること、一方、サンプリングの容量や菌検出に必要な菌数 (閾値) は大きな影響を持たないことが明らかにした。

3) 無菌操作法による無菌医薬品の製造ガイドラインのフォローアップ研究の一環として国際規格の比較を行い、日米欧の無菌操作法に関する製造指針の不整合点の抽出を行った。

4) パラメトリックリリースの適用に向けて、医薬品の無菌性に直接的な影響を与える「最重要区域 (SA空間)」という新たな概念を提示し、無菌操作法・最終滅菌法に関わらずSA空間の構成要素の無菌評価により論理的な無菌性保証につなげる試みを展開した。

5) ヒトの介在しない無菌製造技術の無菌性評価に関する研究として、アイソレータのトラブル解析を行い、特にグローブ操作による差圧検討を行った。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohnishi T., Muroi M., & Tanamoto K. Novel lipopolysaccharide-recognition mechanism in cells expressing TLR4 and CD14 but lacking MD-2. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 51, 84-91, 2007

- 2) Yokota S., Ohnishi T., Muroi M, Tanamoto K., Fujii N., Amano K. Highly-purified *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide preparations induce weak inflammatory reactions and utilize Toll-like receptor 2 (TLR2) complex but not TLR4 complex. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 51, 140-148, 2007
- 3) Yamamoto M, Zhu C, Yi L, Rong Z, Miura Y, Izumi M, Nakajima S, Tanamoto K., Shimizu S, Baba N. Synthesis of Lipid Derivatives of Pyrrole Polyamide and Their Biological Activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71, 1078-82, 2007
- 4) Sugimoto N., Koike R., Furusyo N., Tanno M., Yomota C., Sato K., Yamazaki T., Tanamoto K. Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy determination of the oxyethylene group contents of polysorbates. *Food Addit Contam.* 24, 799-806. 2007
- 5) Ohnishi T., Yoshida T., Igarashi A., Muroi M. & Tanamoto K. Effects of Possible Endocrine Disrupting Chemicals on MyD88-independent TLR4 signaling. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52, 293-5, 2007
- 6) Muroi M. & Tanamoto K. Differential involvement of TRAF6 in MyD88- and IRAK-1-induced activation of NF- κ B. *J. Leukocyte. Biol.* 83, 702-7, 2007
- 7) Kumada H, Haishima Y, Watanabe K, Hasegawa C, Tsuchiya T, Tanamoto K., Umemoto T. Biological properties of the native and synthetic lipid A of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide. *Oral Microbiol Immunol.* 23, 60-69, 2008

2.学会発表

- 1) Kikuchi Y., Kakeya T., Nakajima O., Sakai A., Yamazaki T., Tanamoto K., Matsuda H., Sawada J., and Takatori K., Effect of hypoxia on the expression of a splice variant of prion protein mRNA lacking the GPI anchor signal sequence in human glioblastoma cell line T98G Keystone Symposia, Molecular Mechanisms of Neurodegeneration (2007.1)
- 2) Nakamura K., Sato K., Tanamoto K., Ushijima H, Haishima Y., Tsuchiya T, Ogawa H. Interaction of synthesized pseudoproteoglycan (pseudoPG) with specific proteins and its biological meanings. The 4th Takeda Science Foundation Symposium on PharmaSciences Tokyo (2007. 12)
- 3) Sugiyama K., Muroi M., Tanamoto K., Nishijima M, Sugita-Konishi Y., Effect of deoxynivalenol on LPS signaling in macrophage. The Society of Toxicology Annual Meeting (2008.3)

H. 知的財産の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器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

最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針作成

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

研究要旨：本研究事業で作成した「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針」は、平成18年7月4日、監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部（局）に厚生労働科学研究の成果物として発出された。更に「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」も同じく平成19年6月4日付で発出された。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、規制当局も本指針を参考に最終滅菌医薬品へのパラメトリックリリース導入を積極的に推進すべきである。

最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針，作成班員

川村邦夫	（大鵬薬品工業株式会社）
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	（大気社）

A. 研究目的

最終滅菌法で製されるヘルスケア製品（医薬品、医療機器、体外診断薬等）に対しては、無菌性保証水準（SAL）は 10^{-6} 以下が求められる。国内調査の結果、医薬品

に適用される最終滅菌法の9割が高圧蒸気（流通蒸気）滅菌、1割が照射（高周波、光パルス、電子線）滅菌や乾熱滅菌であった。9割を占める高圧蒸気滅菌法は滅菌機構も明らかであり、滅菌パラメータ（温度、

圧力、時間)や附帯要件(蒸気の品質等)管理の下、無菌試験を実施せずに製品を出荷させることは可能である。これをパラメトリックリリース(PR)と言うが、日本ではまだ1社もPRを導入していない。そこで、無菌医薬品製造業者並びに薬事監視員に、最終滅菌法で製造される無菌医薬品(最終滅菌製剤)の無菌性保証に関する基本的な考え方を示し、無菌医薬品の品質を確保することを目的として指針を作成した。本指針では、最終滅菌製剤のパラメトリックリリースにおける一般的な製造管理の他、高圧蒸気滅菌によるパラメトリックリリースの具体的な要件を示した。ただし、最終滅菌医薬品にパラメトリックリリースを適用する場合には、予め規制当局の承認を得ることが必要である。なお、医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令(平成16年厚生労働省令第179号)(以下「GMP省令」という。)や規制当局からの通知等による要求事項以外は、本指針と同等以上、あるいは合理的な根拠により医薬品の品質が確保される場合には、一律にその適用を求めるものではない。

B. 研究方法

PRを適用できる滅菌法とは、①滅菌の作用機序が十分解明されていること、②滅菌工程の重要な物理的管理パラメータが明らかで、それらの値が測定可能であること、③滅菌工程を適切なBIを用いて微生物学的にバリデートできること、④滅菌操作を効果的かつ再現性よく実施できることである。医薬品に適用される高圧蒸気滅菌や照射滅菌はこれらの条件を満たしており、PRの適用が可能である。ヘルスケア製品の中でも

医療機器に対しては、平成10年3月31日医薬審第347号審査管理課長通知「滅菌医療用具の製造(輸入)承認申請における滅菌に関する取扱いについて」で、更に平成12年7月18日医薬審第877号審査管理課長通知「滅菌医療用具の製造(輸入)承認申請における滅菌に関する取扱いについて(その2)」で滅菌医療機器にはPRを求めている。同じような条件で滅菌される医薬品にPRが普及しないのは、製造業者もさることながら、規制当局の積極的姿勢の欠如によるものと思われる。そこで、最終滅菌医薬品にPRを適用するための諸条件について検討し、それらを指針の形にまとめた。最終滅菌医薬品に対するPR導入に対する規制当局からの指針や公定書を歴史的にみると;

1987年10月発行:FDA「FDA Compliance Policy Guide 7132a.13: Parametric Release of Moist Heat Terminally Sterilized Products」

2005年4月改訂:欧州医薬品審査庁(EMA)「Note for Guidance on Parametric Release」

2001年7月改訂:EU-GMP Annex 17「Parametric Release」

2007年9月改訂:PIC/S GMP Annex 17「Parametric Release」

ISO 13408 シリーズ:Aseptic processing of health care products

USP <1222> Terminally Sterilized Pharmaceutical Products - Parametric Release

日本薬局方参考情報:最終滅菌医薬品の無菌性保証、などがある。

これら欧米規制当局から出ているPRに対

するガイダンスや ISO 規格, USP や日本薬局方における PR 要件を考慮に入れながら指針作成を行った。

現実的には, 日米欧ともに最終滅菌医薬品に PR を推奨する姿勢を見せているにも関わらず, 米国で PR を導入した企業は大容量製剤を製造しているバクスター社 (1985 年) とアボット社 (1996 年) のみである。日本薬局方製剤総則/注射剤で「本剤は, 別に規定するもののほか, 無菌試験法に適合する」とあり, 製法を問わず無菌医薬品には無菌試験は必須なものと捉えられてきた。そこで, 日本薬局方製剤通則第 6 項を設定し, 「製造工程のバリデーション及び適切な工程管理とその記録の証査により, 高度の無菌性が恒常的に保証される場合には, 出荷時の試験において, 無菌試験を省略することができる (パラメトリックリリースという)」と PR 可能な表現を導入した。本通則第 6 項は最終滅菌医薬品のみならず高度の無菌性が恒常的に保証されているならば, 無菌操作法で製した医薬品にも PR 適用が可能な表現をとっているところが, ユニークなところである。これにより, 国内的には最終滅菌医薬品に PR 導入は可能になった。

C. 研究経過

以下の手順で, 「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」を作成した。厚労省監視指導・麻薬対策課を通じて日本製薬団体連合会からのパブリックコメントを求めて, より洗練された指針にする予定であったが, その手順がなく, 監視指導・麻薬対策課より発出されたため, 細部にわたって洗練された文章になっていないのが残念ではある。

2005 年 5 月 11 日: 第 1 回班会議開催, 計 5 回の班会議とメールでの頻繁なる意見交換を行った。

2007 年 4 月 18 日: 監視指導・麻薬対策課に日本製薬団体連合会にパブリックコメントを求めるよう要請した。

2007 年 6 月 4 日: 監視指導・麻薬対策課より各都道府県衛生主管部 (局) に事務連絡

2008 年 3 月: 指針の英語版を完成

指針は以下の構成から成り立っている。

1. 序論
2. 用語定義
3. パラメトリックリリースの一般的要件
4. 品質システム
5. 職員
6. 建物及び施設
7. 無菌医薬品製造区域の清掃および消毒
8. 原材料及び容器並びに栓の管理
9. 充てん・閉そく工程
10. 環境モニタリング
11. 高圧蒸気滅菌工程

付属資料

A 1. 放射線滅菌

A 2. 高周波滅菌

D. 考察

高圧蒸気滅菌による最終滅菌医薬品にパラメトリックリリースを適用するに当たっては, 原則として下表の滅菌条件を採用することにした。条件 1 を第 1 選択とし, 条件 1 が適応できない場合には条件 2 を選択する。条件 2 を選択した場合は条件 1 が適応できない理由を明確にすること。条件 3 へのパラメトリックリリース適用は国際的に見ても議論の多いところである。そのため, 条件 2 との連続性を無視し, 敢えて厳しい

条件を適用した。条件3とは、ろ過滅菌をし、最終滅菌前製品中のバイオバーデン数をゼロとする。ただし、充てん・閉塞工程においては無菌操作法のように「培地充て

ん試験」は必ずしも求めないが、ろ過滅菌用フィルターの完全性試験の実施、環境モニタリング等は無菌操作法に準じること。

条件	熱負荷量 (F ₀)	最大許容 生菌数 (/容器)	Bioburden の 最大許容D ₁₂₁ 値 (min)	微生物試験	
				生菌数 試験	耐熱性 試験
1	≥121°C, ≥15min	100 cfu	1.5	定期的 ^{注1}	必要時 ^{注2}
2	F ₀ ≥8	10 cfu	1.0	定期的 ^{注3}	定期的 ^{注3}
3.	F ₀ : 4~8	0 cfu	0.5	定期的 ^{注4}	定期的 ^{注4}

注1：初期のバリデーション時に加え、少なくとも1~2回/年を推奨頻度とする。

注2：必要時とは、初期のバリデーション時、および生菌数試験で最大許容生菌数のアクションレベルを超えた時をいう。

注3：生産の頻度にも依るが、初期のバリデーション時に加え、少なくとも1回/月を推奨頻度とする。(また、生菌数試験を行う時は耐熱性試験も行うことが望ましい。)

注4：生菌数試験は、無菌試験を実施する。耐熱性試験は、ろ過前液について行う。

国際的には、1996年、EMEAが出した無菌医薬品の製造法に関する系統樹の考え方が採用されている。すなわち、製品を121°Cで15分間湿熱滅菌できる場合は、その条件で滅菌を行う。この条件が難しい場合は、SAL=10⁻⁶を達成させるのにFo=8分で湿熱滅菌できるならこの条件で滅菌を行う。これら以外の無菌医薬品製造は、基本的に無菌操作法による。日本版「最終滅菌法による無菌医薬品の製造指針」では、条件1と2はEMEAと同じであるが、EMEAと違い、滅菌前製品中の最大許容生菌数、バイオバーデンの最大D₁₂₁値、微生物試験(生菌数試験、耐熱性試験)についても規定している。また、日本版指針では条件3としてFo=4~8で処理された製品についても一定条件が満たされればPRを認めることにしたのが

ユニークな点である。

E. 結論

無菌操作法による無菌医薬品の製造指針は、EU-GMP Annex 1やFDA Aseptic Processing Guidance 2004が国際的には評価が高いが、本研究班で作成した「無菌操作法による無菌医薬品の製造指針(2006年7月4日、監視指導・麻薬対策課より事務連絡)」も欧米から評価を受けている。日本が無菌医薬品の製造に関する指針を有しないということは国際的に見ても不利である。そこで、無菌操作法と最終滅菌法に関する二つの指針を作成し、かつそれらの英訳版も揃えたことは、日本にとって大きな利点となりえる。EU-GMP Annex 1も2008年2月に改訂版を出し、ISO 13408 Part 1 (General

requirements) も 1~2 年以内に国際規格になる。このように無菌医薬品に対する規制当局の要求事項も時代を反映しながら変わっていく。日本版無菌製造指針を今後どのような位置付けにして、誰が改定作業を行うのかが見えてないが、改定は必要であるので、平成 21 年度から始まる新しい厚労科学研究費事業で改定作業を開始することを望みたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文

1. Yamazaki T., Sasaki T., and Takahara M. Activity of Garenoxacin against macrolide-susceptible and -resistant *Mycoplasma pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 2278-2279, 2007.
2. Huong PLT, Thi NT, Nguyet NT, Van TK, Hang DT, Huong VTT, Anh DD and Sasaki T. First report on clinical features of *Mycoplasma pneumoniae* infections in Vietnamese children. *Jpn. J. Infect. Dis.*, (in print).
3. Okazaki N., Ohya H. and Sasaki T. *Mycoplasma pneumoniae* Isolated from Patients with Respiratory Infection in Kanagawa Prefecture in

1976-2006: Emergence of Macrolide-Resistant Strains, *Jpn. J. Infect. Dis.*, (in print).

4. Seki N., Kasai S., Saito N., Komagata O., Mihara M., Sasaki T., Tomita T., Sasaki T., and Kobayashi M. Quantitative analysis of proliferation and excretion of *Bartonella quintana* in body lice, *Pediculus humanus* L. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, (in print).
5. Sasaki T. and Yamamoto F. Pharmaceutical administration and regulations in Japan. *Validation of Pharmaceutical Processes* (3rd ed.), Marcel Dekker, Inc. p.683-694, 2007.
6. 佐々木次雄：第 7 節 細菌、真菌の検出法，エル・アイ・シー，「バイオ医薬品の品質，安全性」，228-235, 2007.
7. 佐々木次雄：第 17 回 ISO/TC198 会議報告，医科器械学 489-493, 2007.
8. 佐々木次雄：製薬用水の微生物学的試験，大阪医薬品協会会報，第 708 号：97-124, 2008.

2. 学会発表

なし

平成18年度厚生労働科学研究(医薬品・医療技術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

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)

最終滅菌法による無菌医薬品の製造に関する指針(案)

●「最終滅菌法による無菌医薬品の製造に関する指針」作成班●

分担研究者:

川村邦夫 (大鵬薬品工業株式会社)
佐々木次雄 (国立感染症研究所細菌第二部)

協力研究者:

伊藤 千鶴子 (持田製薬工場株式会社)
浦山由巳 (千代田化工建設株式会社)
木下 忍 (岩崎電気株式会社)
小暮慶明 (東和薬品株式会社)
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 (ファルマ・ソリューションズ株式会社)
出口統也 (澁谷工業株式会社)
中井哲志 (株式会社三浦プロテック)
西畑利明 (参天製薬株式会社)
原 芳明 (ザルトリウス株式会社)
樋本 勉 (参天製薬株式会社)
曲田純二 (日本ミリポア株式会社)
村上大吉郎 (株式会社大気社)
長谷川 浩一 (独立行政法人, 医薬品医療機器総合機構)
柳原 義彦 (独立行政法人, 医薬品医療機器総合機構)
大澤智子 (独立行政法人, 医薬品医療機器総合機構)

目次

1. 序論
2. 用語定義
3. パラメトリックリリースの一般的要件
4. 品質システム
5. 職員
6. 建物及び施設
7. 無菌医薬品製造区域の清掃および消毒
8. 原材料及び容器並びに栓の管理
9. 充てん・閉そく工程
10. 環境モニタリング
11. 高圧蒸気滅菌工程

付属資料

- A 1. 放射線滅菌
- A 2. 高周波滅菌

1. 序論

本指針は、無菌医薬品製造業者並びに薬事監視員に、最終滅菌法で製造される無菌医薬品（最終滅菌製剤）の無菌性保証に関する基本的な考え方を示し、無菌医薬品の品質を確保することを目的とする。本指針の要件は原則として注射剤を対象として記述したものであるが、他の最終滅菌製剤にも適用できる多くの共通事項を含んでいる。

本指針の3章に、最終滅菌製剤のパラメトリックリリースにおける一般的な製造管理のあり方を示した。また11章5項には、高圧蒸気滅菌によるパラメトリックリリースの具体的な要件を示した。高圧蒸気滅菌によるパラメトリックリリースを行う場合は、原則としてこれらの考え方を適用する。ただし、最終滅菌医薬品にパラメトリックリリースを適用する場合には、予め規制当局の承認を得ること。

なお、医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（平成16年厚生労働省令第179号）（以下「GMP省令」という。）や規制当局からの通知等による要求事項以外は、本指針と同等以上、あるいは合理的な根拠により医薬品の品質が確保される場合には、一律にその適用を求めるものではない。

また、医薬品に新たに最終滅菌法を適用する場合、直接容器に加え、医薬品の有効性、安全性、均質性、及び安定性への影響を十分に評価しなければならないが、本指針ではこれら医薬品の特性に係わる要件評価については言及していない。

2. 用語定義

2.1 処置基準値(action level)：測定対象物の数（微生物の場合は必要に応じて種）に対して設定した基準値をいい、この値を超えた場合には直ちに調査を行い、必要に応じて是正措置をとる。

2.2 警報基準値(alert level)：測定対象物の数（微生物の場合は必要に応じて種）に対して設定した基準値をいい、この値は予知される問題点を早期に警告するものであり、その設定レベルを超えた場合には、必ずしも直ちに是正措置を行う必要はないが、調査は行う必要がある。

2.3 無菌操作(aseptic processing)：微生物及び微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料、装置及び職員を規制している管理された環境下で無菌医薬品の充てんやその他の作業を行うこと。

2.4 無菌操作区域 (APA: aseptic processing area)：微生物及び微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料、装置及び職員を規制している高度に管理された環

境をいう。無菌操作区域は、更に重要操作区域と直接支援区域に分けられる。

2.5 バイオバーデン(bioburden)：中間製品及び原薬を含む非無菌医薬品や資材等に生存する微生物（細菌及び真菌）の数と種類をいう。

2.6 バイオロジカルインジケータ(BI: biological indicator)：滅菌工程の管理又は指標として使用される微生物学的評価システムで、規定された条件下で特定の滅菌工程に対して、既知の抵抗性を示すものをいう。

2.7 校正(calibration)：一定の条件下で、機器あるいは測定システム（特に秤量においては）、記録機器、及び制御器により示される値あるいは測定で得られた値とそれに対応する適正な標準器の既知の値との相関を確立する一連の操作をいう。予め測定結果の許容範囲を定めておくこと。

2.8 変更管理(change control)：製品、工程あるいは手順に対して提案された変更に対して正式な評価と適切性の決定を行うこと。

2.9 ケミカルインジケータ(CI: chemical indicator)：滅菌工程の管理又は指標として使用される評価システムで、プロセスに暴露することで生じる化学的あるいは物理的な変化に基づき、予め規定した一つあるいは複数の滅菌プロセスの変数の変化を表すシステムをいう。

2.10 洗浄(cleaning)：水、洗剤などを用いて次の工程あるいは意図する使用に必要な程度まで対象物から汚染を除去すること。

2.11 清浄区域(clean area)：定義された微粒子と微生物学的清浄度基準を有し、異物汚染及び微生物汚染を防止している区域。本指針中では、「清浄区域」を「無菌医薬品製造区域」と同意語的に使っている。

2.12 空気の清浄度レベル(cleanliness level)：製造区域の空気の品質を 1 立方メートルあたりに含まれる 0.5 μm 以上の微粒子数の最大許容値によって規定したものをいう。グレード A からグレード D までの 4 段階からなる。

2.13 重要区域(critical area)：重要操作区域 (critical processing area) ともいう。滅菌された容器、原料、中間製品、及びこれらと直接接する面が、環境に曝露される製造作業を行う限定された区域をいう。空気の清浄度レベルは、グレード A が適用される。

2.14 重要パラメータ(critical parameters)：本指針においては、適用される滅菌工程に必須であるパラメータを意味し、モニタリングが要求される。

2.15 設計時適格性評価(DQ: design qualification)：目的とする品質の製品を製造するために工業化研究において把握された設備に係る要求事項が、実生産に係る設備の基本設計に科学的かつ的確に反映されていることを確認し、文書化することをいう。通常、要求仕様(要求事項)と設計図面との照合等により行われる。

2.16 直接支援区域 (direct support area)：重要区域のバックグラウンドとなる区域。この区域で無菌製品が環境に直接暴露されることはない。空気の清浄度レベルは、グレード B が適用される。

2.17 消毒(disinfection)：消毒対象物の表面付着微生物を安全なレベルに減少又は除去すること。

2.18 D値(D value)：微生物の死滅率を表す値で、供試微生物の 90%を死滅させ、生存率を 1/10 に低下させるのに要する時間又は 1/10 に低下させるのに要する線量をいう。

2.19 線量分布(dose mapping)：選定された条件下で照射された物質中の線量の分布及び変動を測定すること。

2.20 線量計(dosimeter)：与えられた物質中の吸収線量を測定するための機器で、放射線に応答し、測定可能で再現性のある機器。

2.21 ドジメトリックリリース(dosimetric release)：放射線滅菌における線量計の測定の結果のみに基づくパラメトリックリリース

2.22 線量測定システム(dosimetry system)：線量計、測定機器及びそれらに関連する参照標準並びにシステムの仕様手順からなる吸収線量を決定するために使用されるシステム。

2.23 参照負荷(dummy load or reference load)：滅菌の達成を確認するために製品の代わりに滅菌工程に供される試験用の模倣品。

2.24 エンドトキシン(endotoxin)：グラム陰性菌の外膜を構成するリポ多糖で、発熱活性をはじめ多彩な生物活性を有する。