

定められている。

米国では当初全ロットについて検定を行う。その後、CBERは製剤の新規性、試験の新規性、原材料の特性、製造数と製造間隔、試験結果のトレンド、そしてGMP査察の適合性などを勘案して、試験の実施頻度を20%、10%、5%と減らしている。科学的根拠だけでなく、社会的、政治的状況の変化で試験頻度を増加させることもあるとのこと。別に製造者側から、製品に関する製造時における問題点、そして、その対応状況などの資料を根拠に検定頻度の軽減申請をCBERに対して行うことが出来る。CBERは審査に基づきそれを実行する(Surveillance制度)。試験項目は製剤の承認審査の時に製剤ごとに決定される。検定を全く行わないExemption制度もあるが、バイオ医薬品や抗体医薬のみで、現在までワクチンで該当するものは無い。

検定(試験)の事務処理期間

EUではワクチン製剤が基本的には60日であるが、血液製剤は30日(日本は50-60日)。英国NIBSCではインフルエンザワクチンの80%は10日以内で行う。EUではこの製剤に対して動物試験が行われないことが短期間の事務処理の理由である。EUの各国ではその国に所在するワクチンメーカーとNCLの連携が強く、実際の検定期間をいかに短くするか腐心している。フランスでは生物製剤の国家検定部門がパリの本部とは離れて大手ワクチンメーカーと同じリヨンに所在する。ベルギーでもGSKと国家検定機関は距離的に極めて近い位置に所在するが、実際の事務処理期間についてNCLであるIPHが頻繁に自己評価し、改善に努

めている。

米国では事務処理期間が法令で定められていないが、平均的には30日程度である。

検定の費用

EUは申請者の負担である。金額は国ごとに異なる。ワクチンの検定費は個別の製剤ごとではなく、種類別に決まっている(ドイツ)。混合ワクチンの場合には、別に定められている単品の費用の積算で決められる。

米国は無料である。FDA/CBERの資金は承認審査時に徴収する費用が源になっている。

(3) GMP査察

所轄機関

EUの英国では医薬品医療機器管理庁(MHRA)、ドイツでは州政府、ベルギーでは健康・環境省などNCLとは全く別組織が行い、NCLが主体的には行わない。ただし、ドイツやベルギーでは新しい試験が導入されたときや、問題が発生した場合にはNCLの職員が専門アドバイザーとして参加する。

米国ではCBERの専門の部局が行う。

査察の頻度

EUでは2-3年に一回の割合で定期査察が行われ、設備の変更、製造工程の変更など一部変更申請や、GM違反また製造者による回収にさいして臨時的査察を行っている。

米国では2年一度、一週間程度行われる。インフルエンザワクチンに関しては毎年行われる。

制度的には世界的には同様なものとなっている。

(4) 標準品

国際標準品は WHO の主導のもとに提言されているが、EU では実務の大半は英国の NIBSC が行っている。それをもとに、各国が国内標準品を整備しているが、地域性のある病原体株が必要な場合には、すべて対応が出来ていない。EDQM が管理し、加盟国に提供している。

米国では CBER が製造している。現在 GMP 対応の製造施設を検定試験室に隣接して整備してきている。

D. 考 察

3 年間の調査で生物製剤の品質管理の先進国である EU と米国の国家検定制度の詳細が判明した。基本的な枠組みは WHO の方針とも一致するものであったが、それぞれの歴史や生物製剤に関する科学的立場、あるいは政治的な立場を反映して、その実施の方法は異なっている。例えば、EU では全ロット検定であるのに対して、米国では当初のみ全ロット検定であるが、一定の条件下で検定の頻度を減らしている。日本のシステムは WHO の指摘にもあったように、正式なプロトコール審査を行っていないという点で、どちらのシステムとも異なっている。しかし、実際に行っている自家試験記録の審査は米国のプロトコール審査に近い内容となっている。ただし、米国では GMP 査察で製造に関する情報を得て、プロトコール審査の補充としている。日本では総合機構が行う GMP 査察は感染研の検定試験（自家試験記録の審査も含め）と連携がうまく取られていないという問題がある。

E. 結 論

今回の調査で明らかになった点を考慮

し、日本が EU と米国のシステムの利点を取り入れ、いかに現状のシステムを改善できるかが今後の課題となった。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 実用新案登録

なし

2. その他

なし

参考資料 1

欧州連合 (EU) の検定制度

1. EU 連合の組織、生物製剤を管理する部門および法規制

1.1. EU 連合の組織

EU 連合の中心的な機能をつかさどる機関として、主に加盟国の元首で構成される欧州理事会 (欧州閣僚理事会は大臣クラスで構成) とその下で実務をつかさどる欧州委員会 (省庁に相当、閣僚は各加盟国から一人選出された人達で分担する) がある。また、主に加盟国の人口に従って割り当てられた議員から構成される欧州議会が議決機関となっている。ただし、重要な案件は欧州理事会 (欧州閣僚理事会) で討議されている。その他機関としては、欧州裁判所や会計検査院などがある。

1.2. 生物製剤を管理する部門

欧州委員会には省庁に相当する様々な総局 (Directorate-General, DG) があり、その中の企業・産業総局 (DG Enterprise and Industry) と健康・消費者保護総局 (DG Health and Consumer Protection) が医薬品に関係する。前者は医薬品の開発と審査に係る総局であり、後者の総局の傘下には医薬品の品質管理を担当している医薬品・健康管理局 (European Directorate of Quality of Medicines & Healthcare, EDQM) がある。欧州委員会直属の外局として、欧州医薬品庁 (European Medicines Agency, EMA)、薬物監視庁 (European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction, EMCDDA) などがある。感染症関係では、科学的助言、サーベイランス、ワクチン備蓄戦略および欧州警告システム (Early Warning and Response System, EWRS) を担当する疾病予防管理庁 (European Centre of Disease Prevention and Control, ECDC) が 2005 年にストックホルムに設立された。

1.3. 法規制

EU の法規制には直接加盟国に適用する「規則」(Regulation)、加盟国に達成努力を求める「指令」(Directive)、特定国や加盟国の当事者を拘束する「決定」(Decision) と拘束性を持たない「勧告」および「見解」(Recommendation and Opinion) がある。医薬品に関しても同様の異なるレベルの規制に属する法規やガイドラインが適用される。EU 指令は加盟国が直接適用する場合と、加盟国の国内法に取り入れて適用する場合がある。生物製剤の品質管理に関するガイドライン等は EMA や EDQM から発出されるものが多い。

2. EMA (欧州医薬品庁) と中央審査・認可システム

2.1. EMA (図 3)

1995 年にロンドンに設立された EU 連合の外局組織で、ヒトと動物用医薬品の評価と管理を行っている。(欧州議会および理事会規則、EC726/204)。主な部門として、ヒトの医薬品の承認、ヒトの医薬品の承認後評価および動物用医薬品の 3 つがある。EMA の承認審査の特徴として、

- EU 内通用の許認可
- 単一の製品名の付与
- 20 の言語による共通のラベル表示
- 製品概要文書 (SPC) ・ラベル ・包装の規格の統一
- 短期の審査期間 (120 日+110 日の 2 段階)

などがあげられる。 EMEA は医薬品の危機管理の施策 (European Risk-Management strategy, ERMS) も担当している

2.1.1.組織と業務

EMEA の最も重要で実務的にも中心的な役割をもつ委員会としてヒト医薬品委員会 (The Committee for Medicinal Products for Human Use、CHMP) がある。CHMP は EU 向けの医薬品の中央承認審査(Centralized Procedure)のほか、国別承認審査(Decentralized Procedure)や相互承認システムなどにおいて発生する諸問題の調整などを行うほか、EMEA のすべての方針、見解、評価、ガイドライン作成などをまとめる。構成員は 27 加盟国の代表が中心となっている。CHMP には下部組織として、ワクチン、血液製剤、遺伝子治療、細胞由来医薬品などの製剤種別の作業部会があり、品質、安全性、有効性などを含めて、13 の委員会が実務を担当している。また、科学的なアドバイスを行う作業部会(SAWP)や各種のウイルス病に対する助言を行う科学的助言グループ(Scientific Advisory Groups, SAGs)も組織されている。これらの委員会やグループは 3,500 人ほどの EU 加盟国から参加する外部専門家によって構成されている。

2.1.2 審査の方法

ワクチンや血液製剤などの生物学的製剤は加盟国の審査機関で承認審査が行われるが、リスト A(遺伝子組み替え製剤、遺伝子治療剤、単クローン抗体製剤)やリスト B (細胞治療剤等の先端医療製剤) に属する製剤は EMEA の中央審査システムで承認審査が行われる。ただし、申請者や各国の審査機関が中央審査のほうが望ましいと判断した場合には、生物学的製剤であっても EMEA が行う場合がある。また、緊急性のあるワクチン、例えば新型インフルエンザワクチンは中央審査で行われている。審査は一次審査が 120 日で行われ、その後申請者側の検討期間が設けられる。その後の二次審査の期間としては 90 日が設定され、全体での審査期間を 210 日とする迅速審査をモットーとしている。審査には加盟国から選任される査読と副査読官、評価チーム、専門査察官、CHMP 委員、各作業部会委員、科学的助言グループ委員などが時限を区切って順次参加して行われる。これらの審査経過・結果は透明性を高めるために EU 規則 726/2004 の 13 条の 3 に従い、CHMP の評価レポート (European Public Assessment Report, EPARs) として、必要なデータとともに EMEA のホームページ上に公開される。使用言語は加盟国のすべての数に上り、2006 年には 160 の承認の医薬品の評価レポートが EPARs で公開された。

危機管理の対策としては医薬品の疫学と監視に関するシステムがあり、小児用の医薬品やワクチンに関する監視について助言を行う専門の委員会も設けている。

2.2.EDQM (欧州医薬品・健康品質局)

欧州委員会の部局(省庁に相当)の一つであって、フランスのストラスブールに本拠を置き、ヒトおよび動物の健康管理と医薬品の品質保証を担当している。

2.2.1 組織と業務

業務の中心はヨーロッパ局方(EP)の策定、医薬品の相互承認、国家検定試験機関ネットワーク(OMCLs)等に関するものである。標準品の管理や試験法の評価も行うために物理化学、生物学、微生物学の試験研究部門も設置している。

EPについては物理化学、生物学の専門家グループで構成される専門の部局があり、試験法の実際的な評価も行っている。米国薬局方(USP)、日本薬局方(JP)との国際調和会議(ICH)にも対応する部門もある。(最近の開催は2006年6月横浜)。以下に組織と業務を示す

1.欧州薬局方部 (Dept of the European Pharmacopoeia)

ヨーロッパ局方(EP)の策定(2006年では938件)。物理化学、生物学の専門家グループで構成されていて、試験法の実際的な評価も行っている。米国薬局方(USP)、日本薬局方(JP)との国際調和会議(ICH)にも対応する部門もある。

2.試験研究部 (Dept. of the Laboratory)

試験法の開発とそのバリデーションも行うために物理、化学、生物学、微生物学の試験研究部門も設置している。

3.標準品部門 (Div. of Reference Standards and Samples)

生物製剤試験法の標準化プログラムを担当している。各検定機関で行われる試験で使用される標準品の製造・管理、その品質の評価および配布を行う。標準品の設定はWHOやNIBSCなどと共同で行われている

4.OMCLs 部門 (Dept. of OMCLs, Network)

国家検定試験機関(OMCLs)の組織化(後述)。OMCLs, EMEM, 欧州委員会および欧州理事会との調整、試験法の標準化、品質管理システムの相互調和、動物代替え試験法の開発等を行っている

2.3.医薬品国家検定試験機関 (Official Medicines Control Laboratories, OMCLs)

EU各国の国家検定試験機関の連携を深めるためにOMCLネットワークが1995年に欧州委員会の下に設立され、EPの構成国(EU,EEAおよびスイス)とオブザーバー国(東欧など)の国家検定機関から構成されている。その数は現在では80に上る。その業務の実施にあたってはEDQMと密接に協力している。主な業務は以下のように大別される。

- 1.各加盟国およびEU向けの医薬品の承認 (market authorization)
- 2.各加盟国およびEU向けの医薬品の検定 (batch release)。
- 3.中央審査の補助やEU連合加盟国間の

相互承認 (mutual recognition)、

4.市販後調査(post-marketing surveillance)。

上記の業務を適切に遂行するために以下の活動を行っている

1. 事務手続きや技術的な業務の共同作業の実施
2. 検定での標準品や試験法の共通化
3. 中央承認に薬品の市販後調査の共同作業
4. EU と EEA 内での血液製剤とワクチンの検定結果の相互承認
5. 市販後調査のための試験の共同作業
6. 試験機関の品質評価 (ISO/IEC17025 の実施状態や共同比較試験) の実施
7. 新しい品質評価のための試験法の開発

3.国家検定

3.1 EU 国家検定基準 (Official Control Authority Batch Release, OCABR)

EU で、中央審査に該当しないヒト用生物製剤 (ワクチン、血液および分画製剤) は任意の加盟国に申請され、承認された製剤は EU 内の任意の加盟国に検定の審査を申請することが出来る。そのため、OMCL は加盟国内どの国において同一の作業が行われるための検定基準 (OCABR) を設けている。生物学的製剤の各品目については OCABR によってガイドラインおよび試験に関する手順書を作成されている。各国の検定試験機関はこれらに従って試験を行うことによって、相互承認に必要な結果を得ることが可能となり、EU 内で通用する証明書を発行出来る。2006 年には新しくインフルエンザ (HA) ワクチン (Virosome)、MMRV、ロタウイルスワクチンについて新しいガイドラインを発出し、OPV パルクの遺伝子改変マウスでの試験に必要な訓練の手順書も作成している

3.2.所轄機関

申請を受けた EU 加盟国の OMCL が行う。

3.3 試験機関の認証規格

相互承認を行うにあたっては、各国の品質管理システムを高いレベルで均一化するために各試験機関の認証資格として 1999 年から EN45001 を要件としていたが、2003 年から ISO/IEC17025 を相互承認規格としている。別途、検定の試験についてはその品質を均一化するために様々なプログラムが実施されている。加盟国間では相互査察(mutual joint audit)、視察 (mutual joint visit)や品質管理や教育プログラムを実施している (下記参照)

3.4 検定の書類審査

文書は SLP 審査である。文書審査は承認書と照合して行われる。EU 加盟国では検定試験担当官とは別に文書審査専門官をおいていることが多い。SLP の書式は定められていないが OCABR の製品別ガイドラインで指示されている項目について記載する (概ね 50 ページ)。

3.6 検定 (試験)

試験項目についても OCABR の製品別ガイドラインで指示されている

3.7 検定の頻度

全ロットである。最近、一つのワクチン製剤を2ヶ国の OMCL が検定行う方針が打ち出されている。例えば、ヒトパピローマウイルスワクチンの1製剤はドイツとベルギーが他の製剤は英国とオランダが検定を行っている。品質管理の強化と危機管理対策とのことである。

3.8 検定品の抜き取り方法

OMCL が承認した方法で申請者が抜き取る（ベルギー、ドイツ）

3.9 標準事務処理機関

OCABR で取り決めがあり、60日である。英国ではインフルエンザワクチンは10日以内、血液製剤は30日としている

3.10 検定の費用

申請者が支払う。検定費用は国によって、異なる。ドイツの場合には個別の品目ではなく、製剤の種類ごとに決まっている。安い国に検定が流れることはないとのこと。事務処理の時間や規制当局との長年の信頼関係が重要と考えられ、一般的に、多国籍企業であっても、製造所のある国で検定を受ける場合が多いている。フランスのリヨンのようにメーカーと規制当局が同じビルの中に事務所を構えている場合もある。

3.11 相互承認

EU加盟国間で行われている。相互承認の前提のために、検定機関の基礎的な品質保証として、ISO/IEC 17025 基本要件としている。そのほか、各国の品質管理システムを高いレベルで均一化するために、品質管理均一化プログラムとして以下の制度がある

訪問教育(Training visit)

滞在教育指導(Tutorials)

視察(Mutual joint visit)

相互査察(Mutual joint audit)

試験法や試験結果の相互評価、また、教育訓練などの品質マネジメントプログラムに係る下記の研修を実施している。

技術訓練プログラム

査察官訓練プログラム

品質保証ガイドライン

試験習熟度プログラム (Proficiency

Testing Scheme Studies、PTS)

市販後製品の共同品質試験

試験習熟度プログラムはネットワーク内外の各試験機関の技術を均一化するためのものであり、相互承認に必須と考えている。年間4製剤と5-6試験項目数について行われる 例年約50機関が参加する。参加費は無料である。2006年の試験習熟度プログラム試験としては以下の項

目がある

HCV-NAT (PTS091)

B19-NAT (PTS092)

第8凝固因子の力価 (PTS093)

経口ポリオワクチンの力価 (PTS094)

紫外吸収スペクトル試験法 (PTS086)

乾燥減量法 (Ph. Eur. 2.2.25 & 2.2.32)

浸透圧試験法 PTS087 (Ph. Eur. 2.2.35)

ガスクロマトグラフィー法 (PTS088)

水分定量法 PTS089 (Ph. Eur. 2.5.12)

溶解度試験 PTS090 (Ph. Eur. 2.9.3)

4. GMP 査察

4.1 所轄機関

各加盟国 NRA

4.2 査察の頻度

2-3年ごとに全所査察を行う (ベルギー、オランダ)。その他、新規の製剤の申請時、重要な変更がある場合にも行う。法律に抵触する行為があった場合、製品の欠陥、取り下げがあった場合には緊急の査察を行う

5. 標準品

各国検定機関で行われる試験で使用される標準品の製造・管理と配布は EDQM が行う。EDQM にはその品質の評価を行う専門の部署がある。標準品の設定は WHO や NIBSC などと共同で行われている。

6. 市販後調査

各国で承認・販売されている医薬品の品質比較調査は収去品を共通の試験法で検討する。平均12ヶ国の OMCL から査察官と品質保証専門官とで行う。調査結果を欧州薬局方に反映させる。

7. EU 各国の国家検定機関 (OMCL/NCL)

英国の OMCL は国立生物学的製剤研究所 (NIBSC) で、WHO の標準品や参照品の製造も精力的に行っている。NRA である医薬品・医療機器品質管理庁 (MHRA) と統合準備中である。ドイツの OMCL は連邦血清・ワクチン研究所 (Paul Ehrlich Institute, PEI)。米国 FDA と同様に NRA と NCL の両者の機能を有している。EU 基準とは別に独自に厳しい規制をとっている製剤もある。医薬品のウイルス不活化・除去の研究の実績がある。フランスの OMCL は NRA

と同じ医薬品・健康管理庁(Afssaps)に所属する。ワクチンの品質管理部門は有力製薬メーカーのあるリヨンに分室として所在する。ベルギーの OMCL は連邦政府の公衆衛生研究所(IPH)の中にある。審査・査察機関は連邦政府の別組織。Glaxo SmithKline が同国にあるためにワクチンの審査に実績がある。オランダの生物製剤の OMCL は連邦政府環境・公衆衛生研究所(RIVM)に所属する。歴史的に連邦政府がワクチン開発を行ってきた国であり、現在も隣地にウイルス研究所(製造メーカー)が所在する。EU で NRA と OMCL が同一の機関に属するのが、フランス、ドイツ、スイス、英国(MHRA と NIBSC が統合準備中)等である。ベルギー、オランダ、イタリアなどは NRA が本省内にあるか、別組織となっており、OMCL は国の研究機関の中にある。GMP 査察は基本的には各国の NRA に属する機関(ドイツは州政府)の業務であるが、PEI や IPH では専門アドバイザーとして専門官を補助している。

8. 各国の OMCL と EMEA・EDQM との関係

EMEA や EDQM には独自に専門の部局があるが、多くは調整を主業務としており、実際の審査や検定などの品質管理の必要な実務は各国の OMCL から派遣される基礎サイエンスと品質管理業務に熟知した専門家が中心になっている。従って、国家検定機関の職員であっても、特定の分野の専門家であれば、審査のワーキンググループの構成員としてその評価にも関わることになる。

参考資料 2

米国の検定制度

1. 審査・承認

1.1 法的根拠

公衆健康サービス法 (Public Health Service Act)。連邦食品薬品化粧品法 (the Federal Food, Drug and Cosmetic Act, Section 351)。より詳細な実務に関しては連邦規制集の食品・医薬品関係がまとめられている21CFR(code for Regulations)

1.2 所轄機関 (図1, 図2)

米国保険省、米国食品医薬品庁 (Food and Drug Administration, FDA)。生物製剤評価研究センター (Center for Biological Evaluation and Research, CBER), ワクチン研究評価課 (Office of Vaccines Research and Review), 血液研究評価課 (Office of Blood Research and Review)

2. 審査・承認の相互承認

無し

3. 国家検定

3.1 法的根拠

米国連邦規則 (21C.F.R. Food and Drug)

医薬品検定 (section 610, General Biological Products Standard)。製造者についてはガイドライン (Guidance for Industry) がCBER (後述) から出されている。

3.2 所轄機関

米国食品医薬品庁 (Food and Drug Administration, FDA)、生物製剤評価研究センター (Center for Biological Evaluation and Research, CBER)。CBERではワクチン、血液製剤、アレルギー、細胞・遺伝子治療剤、医療機器、組織および移植等を担当している抗体医薬等のバイオテクノロジー医薬品は医薬品評価研究センター (Center for Drug Evaluation and Research, CDER) が担当している

3.3 試験機関の認証規格

WHOの路線なども踏まえて、認証規格の整備に力を入れている。2000年から管理規格であるISO9001を取得。試験機関の試験と校正の規格であるISO17025については一部について1999年から取得していたが、2009年7月にCBERのすべての実験室が取得のため準備している。

3.4 検定(文書審査)

文書 (製造プロトコールと自家試験成績) の提出。安全性、純度、力価について評価を行う (40 FR 31313, July 25, 1975, as amended by 49 FR 23834, June 8, 1984; 50 FR 10941, Mar. 19, 1985; 55 FR 11013 and 11014, Mar. 26, 1990; 67 FR 9587, Mar. 4, 2002; 70 FR 14984, Mar. 24, 2005)。

21 CFR 601.14 (電子版 21CFR Part11)で電子ファイルでのプロトコールの提出法が規定されているが、実際は、まだ少なく、大半は紙印刷物である。全ロットについて行われる。ただし、監視 (Surveillance) 品目は除かれる (後述)

3.5 検定 (試験項目)

承認審査時に、検定における試験項目が決定される。試験法は米国薬局方 (USP) のFDA医薬品承認基準 (Monograph) に記載されている項目である。USPは非営利の国際公衆衛生機関で米国保健省と連携している。

3.6 検定 (試験) の頻度

承認直後の市販品の検定についてはすべての製剤のすべての試験項目について試験が実施されている。その後、製剤の新規性、試験の性質、原材料の特性、製造数・製造間隔、トレンド解析の評価、GMP査察の評価等をアルゴリズムによって、評価し、試験毎に実施の頻度を定める (5~20%)。この評価は頻繁に再評価され、頻度の変更などは柔軟に運用されている。従って、社会情勢や問題の提起があれば試験の頻度を増やすこともある。経口生ポリオワクチン (OPV) のサル神経毒試験は全ロットについて行われている。

メーカーからの申請をCBERが承認することによって、検定の回数を減らすことのできる監視 (Surveillance) 品目へ認定することが出来る。この場合は一定ロット毎にプロトコールと検体の提出が求められる (プロトコールのみの場合もある)。この申請をする場合には

- 製品の試験に関するすべての記録
- 規格試験で不合格になったロット、バルクの措置に関する記録
- 問題事象と当該ロットの措置に関する記録
- 回収または注意喚起を行ったロットに関する記録
- 製造変更に関する記録

等の資料を提出して、審査を受ける。

検定免除 (Exemption) 品目の認定もある。この場合、プロトコールと検体の提出を要求されない。ただし、バイオ医薬品や抗体医薬で承認されているが、ワクチンでは今のところ該当する製剤はない。

3.7 検定品の種類と数

CBERが2007年度に行った検定件数は以下の通りである

- ワクチン (2724件)
- 血漿分画製剤 (1589件)
- 医療機器 (919件)
- アレルギー製剤 (496件)
- その他 (183件)

3.8 検定品の抜き取り、提出方法

メーカーによって抜き取り、提出が行われる。法により、代表的な検体を提出することが規定されている。

3.9 検定事務処理時間

法規で規定されていない。平均的には30日程度

3.10 検定の費用

無料（FDAが負担する）。FDAの収入の大半は承認審査や承認前相談に依っている。

3.11 検定の相互承認

相互承認を行っている国はない。外国へ輸出する際に添付する外国政府向けの証明書を発行している。

4. GMP査察

4.1 所轄機関

連邦食品薬品化粧品法 (the Federal Food, Drug and Cosmetic Act)による。FDA/CBERと規制事業部 (Office of Regulatory Affairs, ORA)。査察はCBERおよび各州の査察官で構成される生物製剤査察チーム (Team Biologics) から派遣される。このチームは地方とFDAの査察官のレベル向上の目的として設立された。医薬品機器の査察においてはEUとの間に相互承認条約 (U.S./EC Mutual Recognition Agreement, MRA)、連邦食品薬品化粧品法(704(g))がある。

4.2 査察の頻度 (定期、不定期と理由)

承認前査察:承認申請時はフルバリデーション評価が行われる。

定期査察:2年に一回、ただし、インフルエンザワクチンの製造所に対しては毎年行っている。

不定期査察:製造設備の変更、製造工程の変更、法律やGMP違反が疑われる場合

5. 標準品

約400種類の標準品をCBERが製造交付している。そのため、GMP対応の製造施設を実験室の隣りに併設している。

6. 感染症情報、副作用情報

6.1 所轄機関

21CFR 600.80で市販後の副作用報告について規定されている。ワクチンに関してはCDCと一緒に運営しているVAERS (Vaccine Adverse Events Reporting System)、VSD (ワクチン安全性データリンク)があり、評価についてはCISA (Clinical Immunization Safety Assessment Centers)を設置している。

2007年のFDA改正法により、市販後のリスク発見が強化され、複数の情報ソースから安全性の

分析を行うことにした。目標としては2010年までの25,000千人、2012年までに100,000千人からの情報収集を目指している。

分担研究報告書

日本脳炎ワクチン力価試験の国際的標準化のための
SEAR 標準ワクチン候補品の評価

研究分担者 高崎智彦 (国立感染症研究所ウイルス第一部)

研究協力者: 田島 茂、林 昌宏、大松 勉、倉根一郎

(国立感染症研究所ウイルス第一部)

日本脳炎ワクチンの力価試験は、中和抗体価を測定することで評価している。中和抗体測定法としては、プラーク減少法を用いている。プラークを形成するための細胞としては、従来は鶏胚細胞を用いていたが、初代鶏胚細胞の準備が煩雑であること、ペトリ皿を大量に用いるため、インキュベーター内のスペースも必要であることから、現在、わが国では株化細胞 (Vero細胞) を用いて、6穴プレートを用いる方法で実施している。この試験においては、基準となる標準ワクチン (参照品) の力価を試験品が上回ることによって合格と判定する。日本脳炎ワクチンに関しては国際的な標準品がなく我が国の国内参照品が事実上の国際的な標準品である。しかし、タイでは日本から供与された参照品がそのまま使用され、韓国では日本の参照品を基準に自国で同等品を製造し使用しているのが現状である。そこでWHO (SEAR: South-East Asian Region) の要請に基づいてタイによって製造された標準候補品を評価した。

A. 研究目的

日本脳炎ワクチンの力価試験は、中和抗体価を測定することで評価している。中和抗体測定法としては、プラーク減少法を用いている。プラークを形成するための細胞としては、従来は鶏胚細胞を用いていたが、初代鶏胚細胞の準備が煩雑であること、ペトリ皿を大量に用いるため、インキュベーター内のスペースも必要であることから、現在、わが国では株化細胞 (Vero細胞) を

用いて、6穴プレートを用いる方法で実施している。この方法は、日本脳炎不活化ワクチンを製造しているタイ、ベトナムなどとも統一する計画が WHO (SEAR: South-East Asian Region) を通じて進行中である。力価試験の判定には標準品 (参照品) の力価を上回ることによって合格としている。この力価試験に用いる標準品を SEAR 域内で統一するため、タイにより候補品が製造

された。本候補品を我が国の現行参照品と比較検討した。この際昨年評価した日本脳炎中和抗体陽性血清をした。

B. 研究方法

試験品

1. SEARO 標準候補品 (製造元: Division of Biological Products, Department of Medical Science, Thailand)
2. 国内参照品
Reference JE vaccine, Beijing 1 strain (Lot. # 105-2006)

力価試験

検体及び参照品をそれぞれ希釈し、対数的等間隔に4倍、8倍、16倍、32倍と希釈する。

4週齢のマウス10匹以上を1群とし、各希釈を1群ずつに用いる。1匹当たり0.5mLを7日間隔で2回腹腔内に注射する。第2回注射の7日後に、全ての動物から等量採血し、血清を採り56℃30分間加熱する。各群の血清をウシ胎児血清加イーグル MEM 液で適当に希釈し、希釈血清と中和用ウイルス浮遊液の等量を混合し、36±1℃の恒温槽に1.5時間置く。各混合液をそれぞれ3ウェル以上の培養細胞上に100μLずつ接種する。別に中和用ウイルス浮遊液とウシ胎児血清加イーグル MEM 液の等量を混合し、同様に36±1℃の恒温槽に1.5時間置いたものを、12ウェル以上の培養細胞上に100μLずつ接種し対照とする。その後、すべてのプレートを36±1℃のCO₂インキュベータに1.5時間置いた後、各ウェルに重層培地を添加し、36±1℃のCO₂インキュベータで5~8日間培養する。培養終了後、各ウェルの重層培地上にホルマリン液を加え、固定する。ホルマリン固定終了後染色し、ブラック数を数える。検体と参照品のブラック数をそれぞれ対照のブラック数と比較して、50%減少率を求め、各血清中の中和抗体価を算出する。対照のブラック数の平均は50~150でなければならない。

相対力価の算出と合否判定

計測したフォーカス数から、

reduction%を算出し、中和力価を対数表示で算出し、統計解析ソフト (BioAssay Assist) による平行線定量法を用いて参照品に対する試験品の相対力価を算出した。

日本脳炎ウイルス抗原 ELISA 法

96 ウェルプレートに抗日本脳炎ウイルス (E 蛋白) 抗体 (group 503) を固相化し、参照品および参照候補品の2倍階段希釈系列を作製し、各100μlを37℃、60分間反応させる。反応後プレートをPBS(-)で6回洗浄し、ペルオキシダーゼ標識抗フラビウイルス抗体 (D1-4G2-4-15) を37℃、30分間反応させ、反応後プレートをPBS(-)で6回洗浄し、TMB 基質 (Tetramethyl Benzidine) を10分間室温にて反応させる。停止液 (H₂SO₄) にて反応を停止し、プレートリーダーにより吸光度値 (OD) を測定する。希釈ごとに SEAR/ref105 比を測定し、抗原量を比較した。

C. 研究結果

SEAR 候補品と国内参照品 (Lot#105-2006) の中和抗体価を対数で表したグラフが図1である。4段階の免疫濃度 (4x, 8x, 16x, 32x 希釈) に依存した中和抗体価を示し、試験品はいずれの段階でも参照品に比べて高い抗体価を示した。この抗体価を、BaioAssay Assist を用いた平行線定量法により相対力価をもとめた。その結果、国内参照品 (Lot#105-2006) に対してその相対力価は4.18であった (表2)。しかしながら、両者の参照品の平行線の傾きは必ずしも平行ではなく (図1)、SEAR の候補品に関しては2倍階段希釈されて投与量が減少しても中和力価は用量依存的な減少を示さなかった (表2)。

一方、抗原 ELISA 法の結果では、SEAR の候補品は国内参照品に比較して他界抗原量を示した。SEAR/ref105 比から換算すると16倍希釈および32倍希釈段階で SEAR 候補品は約20倍の抗原量であった。しかし、原液では1.69倍、8倍希釈では12.9倍と20倍より低い値であった (表3)。

D. 考察

抗原 ELISA の結果から SEAR の候補品は抗原が凝集している可能性が示唆された。

そのため、希釈することにより凝集物が拡散し、抗原性が高まったと考えられる。そのため力価試験においても、希釈することで抗原性が高まり、中和力価が用量依存性に低下しなかったと考えられる。したがって、SEAR の候補品は日本の国内参照品 (Lot#105-2006) と比較して約 4 倍の高い相対力価を示すが、品質のうえで同等とは考えられない。従って単純に 4 倍希釈して使用すれば良いと考えることには慎重でなければならない。

E. 結 論

本研究班は、世界保健機関 (WHO) の日本脳炎ワクチンの評価法の統一およびワクチンによる予防可能な感染症として日本脳炎を対策疾患として WPR および SEAR 域内での重要視されだした時期と重なり、大きな進展をみた。特にワクチン評価法の重要な試験である力価試験の統一という点では、本研究班の果たした成果は大きなもの

であった。平成 20 年度には SEAR の標準品 (候補品) を評価したがそれ程満足のいく品質ではなかった。しかしながら、その結果も踏まえたうえで、WHO 本部が日本脳炎ワクチンの国際標準品を制定することを決定し、その標準品のためのワクチン原液を我が国のメーカーにより供給されることとなった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文

なし

2. 学会発表

なし

図 1

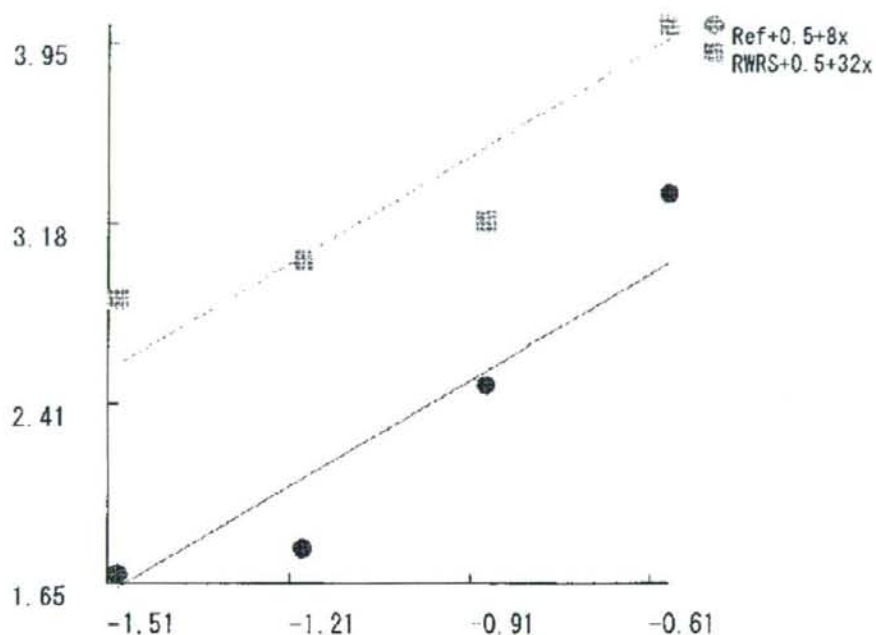


表 1

接種濃度	Japanese reference Lot105-2006(NIID)				SEARO reference candidate (RWRS)			
	0.25	0.125	0.0625	0.03125	0.25	0.125	0.0625	0.03125
力価	3.25	2.45	1.76	1.65	3.96	3.14	2.97	2.80

表 2

検体用量	相対力価
0.25	2.94
0.125	2.09
0.0625	3.04
0.03125	5.51
平行線定量	4.18

表3 抗原 ELISA 法による日本脳炎ウイルス抗原量の比較

	dilution		OD		INDEX	
	SEAR	ref105	SEAR	ref105	SEAR/ref105	
	1	2	1	2	1/2	dilution
A	1x	1x	3.60	2.14	1.69	1x
B	8x	2x	3.54	1.23	12.93	8x
C	16x	4x	2.95	0.58	19.77	16x
D	32x	8x	1.94	0.27	21.84	32x
E	64x	16x	1.04	0.15	14.69	64x
F	128x	32x	0.49	0.09	9.19	128x
G	256x	64x	0.23	0.07		
H	512x	128x	0.12	0.05		

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)
国家検定の国際調和に関する研究

分担研究報告書
網羅的遺伝子発現解析を用いた新しい安全性試験の開発

研究分担者： 浜口 功 国立感染症研究所 血液・安全性研究部
研究協力者： 水上 拓郎 国立感染症研究所 血液・安全性研究部

研究要旨

ワクチンや血液製剤等の生物由来製品は、ヒトや他の生物に由来するものを原材料とするためにその品質規格、感染性に関する安全性確保が特別に求められ、本邦では「生物学的製剤基準」が策定されている。生物学的製剤基準には主に製剤の有効性を確認する力価試験や、品質を確認する品質管理試験、安全性を担保する安全性試験があり、一般毒性試験として「異常毒性否定試験」が実施されている。異常毒性否定試験は、検体5mlをモルモットに腹腔内接種した後の動物の異常の有無により製剤の安全性を確認する試験であるが、毒性発現のメカニズムが不明であり、より科学的で国際調和可能な安全性試験法の開発が求められていた。

そこで我々は、同試験法に網羅的遺伝子発現解析法を応用することで、新しい安全性試験の開発ができないかどうかを検討した。全粒子型インフルエンザワクチン、HAワクチン、新型インフルエンザワクチンを用いて、網羅的遺伝子解析を行った結果、ワクチン接種後に認められる体重変動や白血球減少などの生物学的な指標と相関する76の遺伝子群(バイオマーカー)の同定に成功した。これらの遺伝子は、個々のワクチンタイプを認識するだけでなく、HAワクチンにおいても区別する事が可能であった。そこで、これらの遺伝子の内、HAワクチンの品質管理に適用可能な遺伝子を抽出し、さらに、これらの遺伝子群の内16遺伝子を一括に試験管内で定量するシステムであるQuanti GenePlex法を用いて、季節性インフルエンザの品質官に適用可能かについて検討した結果、体重減少パターンと同様の結果を示すことが明らかとなり、これらの遺伝子発現を用いる事で、季節性のインフルエンザワクチンの安全性の確認に応用可能である事が明らかとなった。

A. 研究目的

ワクチンや血液製剤は生物由来製品（あるいは特定生物由来製品）に分類される。生物由来製品はヒトや他の生物に由来するものを原材料とするためにその品質規格、感染性に関する安全性確保が特別に求められ、本邦では「生物学的製剤基準」が策定されており、メーカーは同基準に準じて製剤を製造することが義務づけられている。同時に国（国立感染症研究所）ではこれらの製剤についてロット毎に生物学的製剤基準に合致しているかについて国家検定を行い確認し、ロットリリースがなされており、WHO を中心に世界各国で同様の手法で生物学的製剤の品質が管理されている。この生物学的製剤基準には主にワクチンの有効性を確認する力価試験や、ワクチンの品質を確認する品質管理試験、安全性を担保する安全性試験がある。製剤の特性にあわせた特別な毒性試験がない製剤に関しては、一般毒性試験として「異常毒性否定試験」が実施されている。

異常毒性否定試験は、検体 5ml をモルモットに腹腔内接種した後の動物の異常の有無により製剤の安全性を確認する試験であるが、近年、その異常のパラメーターの一つとして体重変動に着目し、体重変動を数値化し、過去の製剤接種個体の体重変動母集

団と比較する事でロット毎の安全性と製剤の均質性を統計学的に担保する試験として改良がなされてきた（平成 19 年度 本研究班）。これらの試験法の改良により、より定量的かつ統計学的に異常変動を管理することが可能となったが、体重減少のメカニズムや、毒性発現のメカニズムの解明には至らなかった。また、体重減少というパラメーターは、試験実施施設の違いや利用動物グレード等の変更により微妙に異なる事が有り、各施設間や世界共通の指標として用いるには劣る点があった。とくに近年、試験法の国際調和（ICH：日米 EU 医薬品規制調和国際会議）が議論されており、より普遍的なパラメーター及びバイオマーカーの探索が求められてきた。

そこで我々は、異常毒性否定試験の新しいパラメーターの検索を目標に、網羅的遺伝子発現解析法を同試験に応用することで、新しい安全性試験の開発ができないかどうかを検討することとした。全粒子型インフルエンザワクチン、HA ワクチン、新型インフルエンザワクチンを用いて、網羅的遺伝子解析を行った結果、ワクチン接種後に認められる体重変動や白血球減少などの生物学的な指標と相関する 76 の遺伝子群（バイオマーカー）の同定に成功した。これらの遺伝子は、このワクチンタイプを認識するだけで