

プラズモン共鳴により、A型標準抗毒素だけでなく、自家標準A2抗毒素について、サブタイプ間で異なるBoNT中和力価を抗体とBoNTの複合体形成における反応速度定数(結合・解離)として数値化できた。

A型およびB型BoNTサブタイプ間で抗原とした標準抗毒素に対する反応性が異なることから、わが国のボツリヌス症発生状況を考えれば、各サブタイプが持つBoNT多様性に適応した抗毒素を用いるべきである。

E. 結論

A型およびB型BoNTサブタイプ間で現在用いられている標準抗毒素に対する中和力価・反応速度定数が異なる。標準抗毒素の抗原毒素となったA1, A2またはB1サブタイプと異なるサブタイプBoNTとの反応性はいずれも低かった。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Zhao, H., Nakamura, K., Kohda, T., Mukamoto, M., Kozaki, S. Characterization of the monoclonal antibody response to botulinum neurotoxin type A in complexed and uncomplexed forms. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65, No. 2. (2012) *in press.*

2. 学会発表

1) 幸田知子、居原秀、向本雅郁、小崎俊司 Translocation of light chain of *Clostridium botulinum* type B neurotoxin into PC12 cells. IUMS 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許出願

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. 標準抗毒素の力価測定(L+/5)

(A型抗毒素)

BoNT subtype	LD ₅₀ /ml	相対値
A1	5,660	1
A2	790	0.14

(B型抗毒素)

BoNT subtype	LD ₅₀ /ml	相対値
B1	11,310	1
B2	707	0.06
B2	5,040	0.45

図2. A型抗毒素のBoNT/A1およびBoNT/A2に対する親和性

(標準抗毒素)

BoNT subtype	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (M)
A1	2.16 x 10 ⁵	7.49 x 10 ⁻⁵	3.47 x 10 ⁻¹⁰
A2	1.40 x 10 ⁵	1.22 x 10 ⁻⁴	8.73 x 10 ⁻¹⁰

(自家A2抗毒素)

BoNT subtype	K _a (1/Ms)	K _d (1/s)	K _D (M)
A1	4.18 x 10 ⁵	2.99 x 10 ⁻⁴	7.15 x 10 ⁻¹⁰
A2	2.10 x 10 ⁵	7.64 x 10 ⁻⁵	3.64 x 10 ⁻¹⁰

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

蛇毒抗毒素に関するWHOガイドライン改訂等に伴う、抗毒素製剤等の効率的
製造・品質管理応用に関する研究

分担研究報告

WHOガイドラインの検証及びマムシ抗毒素製剤使用アンケート解析

研究分担者

山本 明彦 国立感染症研究所・細菌第二部

研究要旨： 平成23年度は、まむし及びハブ抗毒素製剤のWHOガイドライン（WGL）が公開された。これに照らして、蛇抗毒素の原料から、製剤製造そして市販後調査までそれぞれの担当部署における検証を行い、原材料供給から製造に至る各所での受け入れ可能なWGL対応が行われた。本年度は製造所で行われている品質管理試験について、現状とWGLでの規定とを比較した。日本においては抗致死活性に加えて、マムシ抗毒素製剤については抗出血活性をハブ抗毒素製剤についてはさらに抗出血I, II活性まで規定されているが、WGLでは、どの蛇抗毒素についても1つの主要な活性すなわち抗致死活性のみでの品質管理を規定していることから、抗出血毒活性による品質管理を再考する必要がある。

まむし及びハブ抗毒素製剤のWHO
ガイドラインの検証

A. 研究目的

毒蛇による咬傷は、アフリカ、中東及び東南アジアで、毎年数十万件起こり、その約10%の数十万人が死亡している。WHOは毒蛇咬傷に対する有効治療薬である蛇抗毒素製剤の安全性や有効性を一定に保ち、同種の蛇の生息する地域では同じ製剤を共用し、多くの

種類の毒蛇に対処できる多価の抗毒素製剤の製造を目指して、製造と品質管理についての国際的なガイドラインが検討されてdraftが作成されて、平成23年5月に公開された。

そのWGLは、以下のような内容であった。1) 蛇抗毒素製剤は、生産性が低く、発展途上国での製造と使用が多く、安価で安全性を担保しなければならないという特徴を持つが、これに他の生物学的製剤で導入が進んでいる

品質保証制度の適用することの妥当性について述べている。2) GMP適合性の各製造所の対応状況として、まず、原薬を蛇、毒素、馬血漿及びその分画標品のどれと規定するか、また、品質管理試験、組織、構造設備や文書管理などどこまで現状として適用できているか？また、適用させるべきか？3) 有効性のある製剤の製造法と同種の毒蛇の生息域内での特異性の確認法について述べている。4) 治療に用いた抗毒素製剤と蛇の種類の特異性について述べている。5) 抗毒素製剤市販後の有効性と安全性の調査の必要性について述べている。6) 抗毒素製剤の品質管理試験のうち、力価試験には1つの主要な活性すなわち抗致死活性による管理で十分であることを規定している。日本の蛇抗毒素製造について、このような特徴を持つWGLの検証を目的とする。

B. 研究方法

日本の蛇抗毒素製剤の製造に関して、WGLの検証を行った。我が国における蛇抗毒素製剤の生産体制は、先ず、原料生産としての蛇毒の採取と提供は、ハブ毒は、沖縄衛生環境研究所が担当し、マムシ毒は、日本蛇族研究所が行っている。これらの原料を購入して馬に免疫し、その免疫血清を採取し、抗毒素製剤として製品化するのが、財団法人化学及血清療法研究所(化血研)という位置づけとなっている。このような日本の体制を、原材料供給、抗毒素製造、品質管理試験さらに市販

後調査に分けてWGLに表現される個々の注意点を検証した。

C. 研究結果及び考察

原材料供給について、ハブ毒を担当する沖縄衛生環境研究所では、ハブの飼育管理について実際の方法とGMPの検証が行なわれ、ハブ飼育管理やハブ抗毒素原料としての取り扱う職員の意識改革を目指した。また、ハブ毒原材料のトレーサビリティを実施出来るように飼育施設の捕獲区分管理や健康状態の確認のためのマニュアルの作成の検討が行なわれた。

一方、マムシ毒素を担当する日本蛇族研究所では、マムシの飼育管理について実際の方法とGMPの検証が行なわれた。検疫室の整備のための検疫室の管理マニュアルが作成された。このように、蛇毒抗毒素の原材料供給部署でのWGL対応は適用可能な事項の整備な順調に進んだ。

次に、蛇毒抗毒素の製造所は化血研1か所が担当している。WGLの検証とその対応を目的として、ウイルス汚染の評価用にウマ由来のウイルス3種類を選択され、蛇毒ウマ抗毒素製剤製造工程のウイルスクリアランスの実証実験が実施された。さらにWGL推奨のカプリル酸沈殿法による抗毒素精製の試行が行われた。

続いて、毒蛇抗毒素の品質管理試験についてWGLに規定される試験は、蛇毒特異的な標準品を使用した毒素の中和試験、表示確認試験、タンパク含

量試験、免疫グロブリン含有試験、発熱試験、無菌試験、含湿度試験等ほとんど現行の生物学的製剤基準（1）に記載された試験と同様ものを規定されて、蛇毒抗毒素製剤の製造工程から最終製品に至るまでについて実際に品質管理試験として用いられている。しかし、毒素の中和試験については、WGLでは、どの蛇毒に関しても主たる1活性について、抗致死価試験のみを規定している。日本では、マムシ抗毒素に関しては、抗出血価試験、ハブ抗毒素については、抗出血価IおよびIIの2種類の蛇毒の出血活性を中和する試験が課せられている。この試験は、ウサギの背部皮膚を用いて、対応する一定量の出血試験毒素と濃度を変えて抗毒素製剤とを一定時間反応させたのちに皮内注射して、24時間後の出血斑の大きさを測定することで、抗毒素製剤の蛇毒に対する中和活性を測定するものである（1）。一方、WGL以外の諸外国における規制を、欧州薬局方（2）、米国薬局方（3）を参照すると、毒素の中和試験としては、マウスを用いた蛇毒の致死活性の中和試験が課せられているのみである。日本では、歴史的にマムシやハブの毒成分が分析されて、致死活性と出血活性として分けられている。実際、世界に生息する多くの毒蛇の毒素には、この出血毒成分が含まれていることが報告されている（4）。しかし、蛇毒は多くの毒素成分を含むもので、すべての毒成分についての中和活性を測定する方法が確立されているわけでは

ない。このような状況において、日本以外の諸外国は、蛇毒の主活性として、致死活性を指標にその抗毒素の毒素中和試験を規定していることから、また、昨今の動物実験の3Rsから、不必要な動物試験は廃止してゆく方向があること。また、臨床において蛇毒の出血活性の重要性の位置づけも変化しつつあることなどから、抗出血価試験の廃止を検討する必要も生まれてくると考えられる。

最後にWGLで規定されている市販後調査での蛇毒抗毒素の有効性の確認について現状を考察する。まず、ハブは、その主な生息地域である日本南西部の鹿児島県および沖縄県において、ハブ咬傷の発生数とハブ抗毒素の医療機関での配備状況やその使用数、ハブ咬傷を減少させるための対策等を含めた総合政策として実施されている（5）。このように、ハブ抗毒素に関しては必要十分な市販後調査が行われている。一方、マムシに関しては、その分布が日本全国にわたっているが、製造所でのマムシ抗毒素の販売数は把握されているが、その使用実態が明らかではない。そこで、昨年当研究班にて、全国219救急救命センターの協力を得て行ったマムシ抗毒素使用実態調査にて、少なくともこれらセンター全体では、毎年400例のマムシ咬傷症例が受け入れられ、その60%でマムシ抗毒素が使用されていることが明らかとなった。（6）

D. 結 論

平成23年度は、公開された蛇毒抗毒素製剤のWGLに照らして、蛇抗毒素の原料から、製剤製造そして市販後調査までそれぞれの担当部署における検証を行った。原料から製剤製造までの過程において、順調にWGL対応が行われた。また、製造所で行われている品質管理試験について、現状とWGLでの規定とを比較した。日本においては抗致死活性に加えて、マムシ抗毒素製剤については抗出血活性をハブ抗毒素製剤についてはさらに抗出血I, II活性まで規定されているが、WGLでは、どの蛇抗毒素についても抗致死活性のみでの品質管理を規定している相違があり、抗出血毒活性による品質管理を再考する必要がある。

参考文献

1. 生物学的製剤基準、厚生労働省告示
2. 欧州薬局方
3. 米国薬局方
4. 武田壮一、蛇毒メタロプロテアーゼの立体構造とラッセルクサリヘビ毒素によるX因子活性化機構、日本血栓止血学会誌、Vol.20 (No.3)、pp307-314、2009.

5. ハブ対策事情の概要、鹿児島県保健福祉部編

6. Hifumi T, Yamamoto A, Morokuma K, Ogasawara T, Kiriu N, Hasegawa E, Inoue J, Kato H, Koido Y, Takahashi M. Surveillance of the Clinical Use of Mamushi (*Gloydius blomhoffii*) Antivenom in Tertiary Care Centers in Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2011 Sep;64(5):373-6

F. 健康危険情報

特記すべきものなし

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. 特許出願
なし
2. 実用新案登録
なし

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

蛇毒抗毒素に関する WHO ガイドライン改訂等に伴う、抗毒素製剤等の
効率的製造・品質管理対応に関する研究

分担研究報告

「ボツリヌス抗毒素製剤の WHO ガイドラインの検証」

研究分担者 見理 剛 国立感染症研究所 細菌第二部

要旨：

蛇毒抗毒素製剤の WHO ガイドラインが 2010 年に発行された。近い将来、ボツリヌス抗毒素のガイドラインも作成されてくると考えられる。蛇毒抗毒素ガイドライン（2010 年）を検証し、記載内容をボツリヌス抗毒素に置き換えて考えた場合、問題となる項目を検討した。また、米国では新しい抗毒素の開発も積極的に行われているので、その動向も調査した。

A. 研究の目的

2010年にWHOの蛇毒抗毒素関連のガイドラインが発行された。昨年度の本研究では、2008年に出された同ガイドラインの案について検証を行ったが、本年度は、正式なガイドラインを検証し、今後、ボツリヌス抗毒素のガイドラインが作成された場合に問題になると考えられる部分を考察した。

現在、国内のボツリヌス抗毒素はすべて国有のワクチン類として生産されおり、一般の流通はない。近年はボツリヌス症の国内発生ほとんどなく、抗毒素が使用される機会も少なくなってきた。しかし、ボツリヌス症は致死率が高く、治療には緊急性が求められるので、発生時に備えてボツリヌス抗毒素を国で準備しておくことは必須である。また、ボツリヌス毒素はバイオテロでの使用が懸念されている物質であり、その対抗策としてのボツリヌス抗毒素の必要性が、しばしば議論されている。米国ではこの問題意識が日本よりもはるかに高く、新しいボツリヌス抗毒素やワクチンの開発が積極的に行われている。これらの動向についての情報収集も行った。

B. 研究方法

2010年に提示されたWHO蛇毒抗毒素の製造、管理、規制に関するガイドライン[WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulines, 2010 (<http://www.who.int/bloodproducts>

[snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/](http://www.who.int/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguide/en/))]を点検し、ボツリヌス抗毒素にあてはめて考えた場合に問題となる部分を考えた。

また、文献調査とボツリヌス関連の国際会議への参加(IBRCC会議: 48th Intragency Botulism Research Coordinating Committee, 2011年10月5-7日、米国 ニューメキシコ州、サンタフェ)などから、米国における新しいボツリヌス抗毒素、ワクチンなどの開発状況を調査した。

C. 研究結果

2010年蛇毒抗毒素WHOガイドラインは19セクションからなっており、記載内容は、2008年に出された同ガイドライン案(Proposed WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulines, 2008)と同様な構成になっている。各セクションを分類すると表1のようになる。このうち、セクション1-6の蛇毒抗毒素の概要と、セクション7-8の免疫用抗原の調製は、蛇毒抗毒素製造に特化した内容である。それ以降の記述は抗毒素製剤製造全般にかかわる内容になっている。

ボツリヌス抗毒素のガイドラインが作成されるとすれば、当然、セクション1-8はボツリヌスに関連した内容になるので、記載が大きく変わってくると思われる。

蛇毒抗毒素ガイドラインでは、多数の毒蛇とこれに対応する抗毒素の概説、毒蛇の扱い方、管理、採毒の方法

などが詳しく記載されている。またこれらの項目に対してGMPの考え方をかなり導入されている。ボツリヌスに置き換えて考えると、ボツリヌス毒素は、A-G型の7つの血清型があるものの、蛇毒に比べれば単一的である。毒素型によって免疫用抗原毒素の精製条件は少しずつ異なってくるが、菌の扱い方などは基本的に同じ作業と考えてよい。ボツリヌス関連で特に問題になるのは、菌と毒素取り扱いの法的規制の問題である。日本ではボツリヌス菌および毒素は感染症法で特定二種病原体等に指定されている。特定二種病原体等の取り扱いは厳重に規制されており、今後、ボツリヌス抗毒素関連のWHOガイドライン案が提示されてきた場合は、特定二種病原体等としての取り扱いと、WHOガイドラインとの整合性について確認する必要がある。

蛇毒ガイドラインでは、蛇毒調製時に発生しうる咬傷事故の対応策などについても記載されている。ボツリヌス毒素も非常に強力な危険な物質であり、これを取り扱う作業員は何かの安全対策が必要である。事故に備えて抗毒素を準備しておくことも当然だが、日常的に毒素を取り扱う作業員には、トキシイド（ワクチン）をあらかじめ接種するなどして、事故から守る対策が必要である。ただし、ボツリヌストキシイドは一般的な需要がある製剤ではないため、世界的にもボツリヌストキシイド承認薬は存在しない。日本国内では唯一、2008年度に厚生労働科研費、抗毒素研究班の活動に

よって製造された ABEF 型の混合トキシイドが約700本存在するのみである（国立感染症研究所(などに保管)）。このトキシイドは、おもに研究者などの利用を想定して生産されたもので、有効性の確認と、破傷風トキシイド製剤の基準に準じた安全性試験は国立感染症研究所で行っている。しかし、承認薬ではないので、接種は自己責任となる。将来、ボツリヌス抗毒素関連のWHOガイドライン案が提示され、ボツリヌス作業員の安全性確保が問題になる場合は、このようなトキシイドワクチンの調達方法と使用方法を考えていく必要が出てくる。

セクション15の抗毒素製剤の品質管理の部分に注目するとWHOの蛇毒ガイドラインでは、表2に示すような試験項目が記載されている。この部分の記載は2008年のガイドライン案の時とほとんど同じだが、試験の記載名称が若干変わっている。昨年の報告書にも記載したように、この中で下線を入れたものが、日本の生物学的製剤基準では記載されていない。これらの試験は、物理化学的な性質や、製造時の添加剤の含有量に関する試験であり、その有無によって製剤の品質に重大な影響を与える項目ではないが、日本の抗毒素製剤でもこれらの試験が必要か検討する必要がある。

品質管理上、重要な試験の一つは力価試験である。ボツリヌス抗毒素の力価試験については、昨年までの本研究課題の分担報告書に詳しく記したので割愛するが、再度注意喚起する点は、

国際標準品の問題である。ボツリヌス抗毒素の力価は国際標準品に基づく国際単位 (IU) で値が付けられている。現在日本には、国際標準品に基づいた国内標準抗毒素があり、国際標準品による力価試験との整合性が保てるようになっている。しかし、国内標準品が枯渇した場合は国際標準品を用いた国内標準品の再設定が必要になる。ボツリヌス抗毒素の国際標準品は英国の NIBSC が管理しているが

(http://www.nibsc.ac.uk/Products/Catalogue_List.aspx?CatId=2)、現時点の情報によると、正規の WHO 標準品が残っているのは、B 型と D 型の抗毒素のみであり、A, C, E, F, G 型は WHO 暫定標準品あるいは参照品として交付可能ということである。今後、この点は確認や国際的な調整作業が必要である。

D. 考察

現在、日本のボツリヌス抗毒素には ABEF 型の混合製剤と E 型単独の製剤がある。ヒトのボツリヌス症はほとんどが、A, B, E 型、まれに F 型で起こるため、病気としてのボツリヌス症対策を考える上では、ABEF 型の抗毒素が備えられていれば十分である。しかし、バイオテロリズムとしてボツリヌス毒素が使用されるような事態では、C, D, G 型の毒素による脅威も十分に考えられる。米国では Sanofi Pasteur 社が製造している AB 型と E 型のウマ抗毒素が、ボツリヌス症の治療に使われてきた。しかし、2010 年にこれらの製

剤が承認期限切れとなったため、カナダの Cangen 社が製造している ABCDEFG 7 価型のウマ抗毒素 (HBAT: heptavalent equine-based botulinum antitoxin) にボツリヌス症治療用の抗毒素製剤に変更されている。現在米国でボツリヌス症に適用できる抗毒素はこの製剤だけである。2011 年の IBRCC 会議では、米国 CDC がこの抗毒素を約 100 名の患者に投与した成績を報告しており、その有効性と、重篤な副作用は見られなかったことを報告していた。この製剤は 7 価型の抗毒素であり、現在まで知られているすべての型のボツリヌス毒素に対応できる。米国はこの HBAT を大量に発注しているとの報道もあり、この抗毒素をボツリヌス症の治療用のみならず、バイオテロ対策にも使用する姿勢であることがうかがえる。

米国では、ボツリヌス毒素によるバイオテロ脅威の意識が日本よりも格段に高い。また、ボツリヌス症の発生数も多いため (年間 100 例程度)、新しいワクチンや、抗毒素などの治療薬を開発しようとする動きが積極的に見られる。米国で発生率の高い乳児ボツリヌス症の治療用には、ヒト抗ボツリヌス免疫グロブリン製剤 (製剤名: BabyBIG[®]) が開発されている

(<http://www.infantbotulism.org/general/babybig.php>)。米国ではさらにヒト型モノクローナル抗体による、ボツリヌス抗毒素の開発も積極的に進められている。これは米国の NIAID (National Institute of Allergy and

Infectious Diseases) が XOMA 社 (<http://www.xoma.com/>) と開発を進めているもので、すでに A、B、E 型のボツリヌス毒素中和に有効なモノクローナル抗体製剤、XOMA 3AB、XOMA 3BB、XOMA 3EB が開発されている。これらの製剤はそれぞれの毒素型に反応するモノクローナル抗体が3種類ずつ混合されていて、毒素を完全中和する。現時点の情報では、XOMA 3AB は Phase 1 の臨床試験が進められている状況である。将来、このようなヒト型モノクロ抗毒素が実用化され、安定的に供給されるようになるとすれば、現行のウマ抗毒素製剤と競合するなどの可能性もある。このような抗毒素製剤開発の動向はよく把握しておく必要がある。

E. 結論

ボツリヌス抗毒素に関する WHO ガイドラインは、いまだに提示されていないため、内容を正確に予測することは難しい。しかし、蛇毒抗毒素のガイドラインを検証したことによって、ボツリヌス菌や毒素の取り扱い、作業者の保護、品質管理試験法、国際標準品の

問題など、いくつかの今後検討すべき項目が見つかった。

一方で米国などを中心に、ボツリヌス抗毒素には新製剤などの新しい動き（7 価型ウマ抗毒素 HBAT、ヒト型 IgG 製剤、ヒト型モノクロ抗毒素）が出てきている、今後はこういった動向や状況をよく把握した上で、将来の日本におけるボツリヌス抗毒素の国家備蓄の方法も考えていく必要がある。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

3. その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

表 1. 蛇毒抗毒素 WHO ガイドライン(2010 年) の内容概要

蛇毒抗毒素 WHO ガイドライン (2010 年) (Proposed WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulines, 2010)	
Section 1-6	蛇毒抗毒素の概要 (概論、蛇毒被害の疫学、各地域で生産すべき抗毒素の種類、剤型など)
Section 7-8	免疫用抗原の調製、保管、品質管理
Section 9-14	抗毒素製造工程 (ウマの管理、免疫、採血、精製、工程管理)
Section 15-16	抗毒素製剤の品質管理、保管、供給方法
Section 17-18	前臨床、臨床試験評価
Section 19	NRA の役割

表 2. セクション 15 に記載された、抗毒素製剤の品質管理試験法

15.1	ROUTINE ASSAYS
15.1.1	<i>Appearance</i>
15.1.2	<i>Solubility (freeze-dried preparations)</i>
15.1.3	<u><i>Extractable volume</i></u>
15.1.4	<i>Venom-neutralising potency test</i>
15.1.5	<u><i>Osmolality</i></u>
15.1.6	<i>Identification</i>
15.1.7	<i>Protein concentration</i>
15.1.8	<i>Purity</i>
15.1.9	<u><i>Molecular-size distribution</i></u>
15.1.10	<i>Test for pyrogens</i>
15.1.11	<i>Test for abnormal toxicity test</i>
15.1.12	<i>Test for Sterility</i>
15.1.13	<i>Concentration of sodium chloride and other excipients</i>
15.1.14	<i>Determination of pH</i>
15.1.15	<u><i>Concentration of preservatives</i></u>
15.1.16	<u><i>Agents used in plasma fractionation (ammonium sulphate, caprylic acid, enzymes)</i></u>
15.1.17	<i>Residual moisture (freeze-dried preparations)</i>

厚生労働科学研究費補助金
医薬品等医療技術リスク評価研究事業

抗毒素製剤の効率的製造方法の開発に関する研究

平成 23 年度分担研究報告

ジフテリア抗毒素製剤の WHO ガイドライン検証

研究分担者

岩城正昭 国立感染症研究所細菌第二部

要旨：蛇毒抗毒素に関する WHO ガイドラインのドラフトがリリースされたのを受けて 2009 年度に本研究班が発足した。2011 年の ECBS において本ガイドラインは議論され、その後発効している。本ガイドラインが発効した場合、我が国の蛇毒抗毒素の安定供給に、特に GMP 対応などの部分でどのような影響が起こりうるかを昨年度まで本研究班では分析してきた。本分担においては、生産工程上共通点の多いジフテリア抗毒素についても早晚影響が及ぶことを見越しての分析を行なってきた。当初のドラフトと、発効したガイドラインを比較すると若干の相違がみられ、緩和された部分も認められる。発効版ガイドラインにおいて想定される、ジフテリア抗毒素生産上の留意すべき点について報告する。また、前年度開始したアジア地域を主とする発展途上国におけるジフテリア抗毒素の生産、供給状況の調査を本年度も継続したので、その結果も合わせて報告する。

A. 研究の目的

2008 年、蛇毒抗毒素に関する WHO ガイドラインのドラフトが公開された。内容は詳細にわたり、現行の国内での抗毒素製造工程と完全に一致したものではなかったため、これを受けて蛇毒抗毒素については製造側、品質

管理/規制当局側の双方が対応を要することになった。

2011 年の ECBS (WHO Expert Committee on Biological Standardization) における議論を経て、本ガイドラインは正式に発効することとなった(1)。ドラフトと比較すると、若干の変更点はあるものの、全

体の考え方はドラフトと大きな相違はない。製造方法において蛇毒抗毒素と類似点の多いジフテリアウマ抗毒素の製造、品質管理、規制についても、同様のガイドラインが将来示されることが予想される。我が国では国有抗毒素として国内生産され、備蓄されているジフテリア抗毒素は、ジフテリア治療において抗生物質とともに重要な製剤であり、生産は継続されねばならない。また、昨年度までの本研究で示してきたように、世界的にみてもジフテリア抗毒素の生産は逼迫しており、その意味でも日本においてジフテリア抗毒素の生産体制を維持することは必須である。本研究では、昨年度までの研究を発展させ、発効版の蛇毒抗毒素ガイドラインの考え方がジフテリア抗毒素に適用された場合の、ジフテリア抗毒素生産に与え得る影響について検討した。また、昨年度に引き続き、アジアを主とする発展途上国での生産・供給体制についても調査を行なった。

B. 研究方法

(1) ガイドラインの検証

2011年に発表されたWHO蛇毒抗毒素ガイドラインの発効版を精読し、ジフテリア抗毒素の製造、品質管理、規制方法と関連が深いと思われる部分について、ジフテリア抗毒素に適用された場合に考えうる問題点について考察した。

(2) アジアを主とする発展途上国を対象とした調査

欧州を対象としたアジアを主とする発展途上国を対象として同様の調査を行なった。

調査は各種研修のために国立感染症研究所を訪れた各国のサーベイランス担当者、生物製剤品質管理担当者等を対象にして、アンケート形式で行なった。アンケートの項目を以下に記す（実際のアンケートは英文で行なわれたが、ここではその要旨を和文で示す）。

(1) アンケート対象国でのジフテリアあるいはその他の抗毒素生産の有無、抗毒素の種類（人、ウマ）、メーカー名

(2) アンケート対象国でのジフテリアあるいはその他の抗毒素輸入の有無、抗毒素の種類（人、ウマ）、メーカー名

(3) ジフテリア抗毒素の生産、輸入がある場合の品質管理について（品質管理を行なっているか、行なっているなら実際の試験か書類審査か）

(4) ジフテリア抗毒素の利用形態（国有抗毒素としての備蓄、生物製剤としての市販）。備蓄の主体（国、地方、等）

(5) ジフテリア抗毒素の年間使用量

(6) 対象国におけるジフテリアの年間発生数と死者数

（倫理面への配慮）

特に倫理面に配慮すべき活動は今回行なっていない。

C. 研究結果と考察

(1) ガイドラインの検証

WHO 蛇毒抗毒素ドラフトガイドラインは全部で 141 ページに及ぶ大部で、原料の確保から生産と品質管理、そして全臨床試験および臨床試験までをカバーする 19 セクションからなる。本研究で検討の対象とするのは主に生産と品質管理の部分である。以下セクションごとに検討してゆく。

(セクション 1 から 7 は省略)

7 PREPARATION AND STORAGE OF SNAKE VENOM

7.1 PRODUCTION OF SNAKE VENOMS FOR IMMUNIZATION

7.1.1 Quarantine of snakes

7.1.2 Maintenance of captive snakes for venom production

7.1.3 General maintenance of a snake farm

7.1.4 Snake milking for venom production

ドラフトと比較すると、発効版では見出しの表現が多少異なっているが、内容に大きな相違はない。これらは、ジフテリア抗毒素においては菌の培養、毒素の精製に相当するセクションである。GMP 対応が可能かどうかは課題となる蛇毒の場合と異なり、ジフテリアの場合はトキシイド生産に準じることであり、対応は蛇毒より容易と思われる。

7.2 STAFF RESPONSIBLE FOR HANDLING SNAKES

7.2.1 Safety and health considerations

7.2.2 Clothing for snake and venom handling

7.2.3 Procedures to be followed if a bite occurs

7.3 MAIN RECOMMENDATIONS

これらについてもドラフトと大きな相違は見られない。トキシイド生産におけるバイオセーフティの考え方を適用することになると考えられる。

8 QUALITY CONTROL OF VENOMS

8.1 SNAKES ORIGIN, TRACEABILITY

8.2 NATIONAL REFERENCE MATERIALS

8.3 CHARACTERIZATION OF VENOM BATCHES

8.4 MAIN RECOMMENDATIONS

抗原としての蛇毒の品質管理に関する部分である。ドラフトと大きな相違はない。標準品が準備されていることが重要とされている。蛇毒抗毒素の場合と異なり、ジフテリアにはすでに標準トキシイドが存在するので、蛇毒で懸念されるほどは標準品の問題は大きくないと予想される。

(セクション 9 は省略)

10 SELECTION AND VETERINARY HEALTH CARE OF ANIMALS USED FOR PRODUCTION OF ANTIVENOM

11 IMMUNIZATION REGIMENS AND USE OF ADJUVANT

12 COLLECTION AND CONTROL OF ANIMAL PLASMA FOR FRACTIONATION

13 PURIFICATION OF IMMUNOGLOBULINS AND IMMUNOGLOBULIN FRAGMENTS IN THE MANUFACTURE OF ANTIVENOMS

14 CONTROL OF INFECTIOUS RISKS

15 QUALITY CONTROL OF ANTIVENOMS
16 STABILITY, STORAGE AND
DISTRIBUTION OF ANTIVENOMS
17 PRECLINICAL ASSESSMENT OF
ANTIVENOMS
18 Clinical assessment of
antivenoms

これらの項目については、動物免疫以降のステップであり、ジフテリア抗毒素の生産及び品質管理と共通する部分が多いので、ジフテリア抗毒素に適用された場合にも、おおむね準用が可能であろうと考えられる)。

さらに、

19 ROLE OF NATIONAL REGULATORY
AUTHORITIES

この章に関しては、ドラフトから変更が加えられている。

19.1 IMPACT OF GOOD MANUFACTURING
PRACTICES

ドラフトでは、An establishment licensing system for antivenom manufacturers by the competent national regulatory authorities should therefore exist. The main requirements to obtain an establishment license may include especially:

Quality Assurance System and GMP applied to all steps of production とあり、ウマ飼育等関連に GMP をどう適用するかは、ジフテリアにおいても同様に問題となる可能性があると思われたが、この表現が削除され、The implementation of an appropriate quality assurance

system at all stages of manufacture, should be a pivotal element in ensuring the quality and safety of antivenoms. The following benefits derived from the compliance with GMP:

となった。ドラフトにおける「GMP は全てのステップで遵守されなければならない」という表現が、発効版においては「GMP を遵守することで以下のような有利な点がある」となり、表現が緩和されている。

また SLP 照査についても記載が加えられた。

今後、ジフテリア抗毒素に関するガイドラインの制定に関して、WHO の動きに注目してゆく必要がある。

(2) アジアを主とする発展途上国を対象としたジフテリア抗毒素の生産、使用に関する調査

本年度は、

- ・インドネシア (National Quality Control Laboratory of Drug and Food, National Agency of Drug and Food)
- ・エチオピア (Ethiopian Health and Nutrition Research Institute) (2名)
- ・中国 (Hangzhou Center for Disease Control and Prevention)
- ・中国 (China CDC)
- ・中国 (Xinjiang CDC)
- ・中国 (JiangXi Province CDC)
- ・ナイジェリア (University Teaching Hospital Maidageri)

- ・ナイジェリア (WHO National Polio Laboratory, Ibaon)
- ・フィリピン (Research Inst. of Tropical Medicine)
- ・ベトナム (National institute for quality control of Vaccines and biologicals (NICVB))
- ・ベトナム (Center for Research and Prouction Vaccines and Biologicals)
- ・マレーシア (National Public Health Laboratory)
- ・マレーシア (Insitute for Medical Research)
- ・モンゴル (National Center for Communicable Diseases)

の各国のサーベイランス担当者、生物製剤品質管理担当者等に対して、「研究方法」に記した内容のアンケートを行なった。

アンケート結果は次のようであった(回答のままに記す)。アンケート対象が、必ずしも生物製剤の品質管理担当者ではないことに注意して解釈する必要がある。

(1) アンケート対象国でのジフテリアあるいはその他の抗毒素生産の有無、抗毒素の種類(人、ウマ)、メーカー名

自国での抗毒素生産を行なっているのは、インドネシア(Biopharma社)と中国(蘭州)のみ。ヒト由来かウマ由来かについては記述なし。

(2) アンケート対象国でのジフテリアあるいはその他の抗毒素輸入の有無、抗毒素の種類(人、ウマ)、メーカー名

3カ国が輸入ありと回答。ジフテリア以外の抗毒素を含む質問に対しての回答なので注意が必要。エチオピアとフィリピンはヒト型抗毒素を輸入している可能性ありと回答。ベトナムは韓国からウマ抗毒素を輸入と回答。

(3) ジフテリア抗毒素の生産、輸入がある場合の品質管理について(品質管理を行なっているか、行なっているなら実際の試験か書類審査か)

マレーシアとモンゴルは「不明」と回答。回答者の専門とも関連すると思われる。他の6カ国では、自国で品質管理を行なっていると回答。うちフィリピンは書類審査、残りの5カ国では実際の試験のみあるいは書類審査を併用と回答。

(4) ジフテリア抗毒素の利用形態(国有抗毒素としての備蓄、生物製剤としての市販)。備蓄の主体(国、地方、等)

回答が得られた国ごとに記す。

インドネシア - 国と地方で備蓄、市販もあり

エチオピア - 国と地方で備蓄

中国 - 国家備蓄あり。地方の備蓄もあるかもしれない

ナイジェリア - ユニセフを通してワクチン類は国家備蓄

フィリピン - 地方レベルまで

ベトナム - 地方レベルで地区あり。市販あり。

(5) ジフテリア抗毒素の年間使用量
これに関しては情報が得られなかった。

(6) 対象国におけるジフテリアの年間発生数と死者数

ほとんどの国が「発生なし」と回答。ベトナムでは 1984 年に人口 10 万人あたり 4.1 人を示して以来減少を続け 2009 年には 0.009 人と回答。

D. 結論

(1) 蛇毒抗毒素に関する WHO ガイドラインの検討

正式なガイドラインがリリースされた。ドラフトで検討した通り、同ガイドラインのうち、ジフテリア抗毒素に準用される可能性のある項目は多数である。その多くの項目は大きな変更なく準用可能と予想される。また、ウマの飼育等関連の部分の GMP 対応についてジフテリア抗毒素と共通の要素がある。GMP 対応への要求がドラフトに比べて緩和されているので、若干対応が容易になったと考えられる。

(2) アジアを主とする発展途上国を対象としたジフテリア及びその他の抗毒素の生産、使用に関する調査を行なった。多くの国で抗毒素は国家あるいは地方の備蓄品として重要視していることがアンケート結果から読み取れる。その一方で、ジフテリアを含む抗毒素を自国生産せず輸入に頼っている国が多いことも示された。抗毒素を自国生産あるいは輸出できる国の重要性が示されたといえる。このような状況の中、国際的な貢献という意味でも、日本における抗毒素の効率的な生産体制の維持、向上に向けて今後

も努力してゆく必要があると思われる。

E. 健康危機情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

F. 参考文献

(1) WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins (http://www.who.int/entity/bloodproducts/snake_antivenoms/snakeantivenomguideline.pdf)

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

英文雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
なし	なし				

特許出願