

201132066A

厚生労働省科学研究費補助金
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

**医薬品を巡る環境の変化と
生物学的製剤基準の在り方に関する研究**

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 加藤 篤

平成 24 (2012) 年 3 月

目次

I.	研究の概要	1
II.	総括研究報告書	
	医薬品を巡る環境の変化等に対応した生物学的製剤基準の改正のための研究 主任研究者 加藤 篤	5
III.	分担研究報告書	
	沈降インフルエンザワクチン (H5N1 株) の生物学的製剤基準に 関する研究 板村繁之	10
	沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン 生物学的製剤基準(案)の作成 白土東子	14
	生物学的製剤基準案資料 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン(案)	21
	細菌ワクチン、抗毒素に関する調査・研究 岩城正昭 他	26
	乾燥細胞培養日本脳炎ワクチンのたん白質含量試験 (ローリー法) におけるメーカ自家試験値と感染研試験値の乖離の原因と解決に 向けた研究 浜口 功 他	35
	静注用グロブリン製剤の重合物否定試験および抗補体性否定試験 の標準化について 野島清子 他	40
	グロブリン製剤の麻疹抗体価測定について 駒瀬勝啓	46
IV.	わが国と欧州の生物学的製剤基準上の規格の違い 試験法に関する相違	51
	要求される試験項目の相違	52
V.	国際会議「国際会時代の生物学的製剤基準とワクチンの品質確保のありかた ワーキンググループ活動記録	54

わが国におけるワクチンの品質管理試験における異常毒性否定試験の役割 浜口 功	66
Animal testing and Vaccine Release Control in the EU Cecile Ponsar	74
US-licensed Vaccines, Lot Release Testing, and Animal-based Testing William Egan	81
生物学的製剤基準とワクチンの品質確保にどこまで動物実験は有用か 小島 肇	88
Knowledge & Control on Combo Vaccines Elisabeth Sauzeat	96
US-licensed Acellular Pertussis Vaccines William Egan	107
わが国の DPT ワクチンの安全性と有効性 岩城正昭	112
ワクチン評価に関する制度と科学 堀内善信	116
Round Table Discussion 「生物基のあり方と科学技術」	123
VI. 国際会議に出された生物学的製剤基準に関する業界からの要望と会議の総括	127
VII. 研究成果の刊行に関する一覧表	135
VIII. 研究成果の刊行物【資料】	137

I. 研究の概要

(1) 研究課題：医薬品を巡る環境の変化等と生物学的製剤基準の在り方に関する研究
(H23-医薬-指定-006)
1年計画の1年目

(2) 研究者：本研究は、以下の分担研究者、協力研究者によって行われた。
(敬称略)

	氏名	所属
主 任	総括	
	加藤 篤	国立感染症研究所・ウイルス第3部・室長
分 担 研 究 者	細菌製剤・抗毒素	
	岩城正昭	国立感染症研究所・細菌第2部・主任研究官
	ウイルス製剤	
	白土東子	国立感染症研究所・ウイルス第2部・主任研究官
	板村繁之	国立感染症研究所・インフルエンザウイルス研究センター・室長
	駒瀬勝啓	国立感染症研究所・ウイルス第3部・室長
	血液製剤	
浜口 功	国立感染症研究所・血液安全性研究部・部長	
野島清子	国立感染症研究所・血液安全性研究部・主任研究官	
研 究 協 力 者	日本ワクチン産業協会	
	通山哲郎	(財)阪大微生物病研究会・製造部
	福家 功	(財)阪大微生物病研究会・品質管理部
	末原章宏	武田薬品工業(株)・ワクチンビジネス部
	佐々木 学	北里第一三共(株)
	中島秀文	デンカ生研株式会社・GMP 管理部
	欧州製薬団体連合(EFPIA Japan)	
	長谷川雅一	グラクソ・スミスクライン(株)・開発本部
	池田昇司	バクスター株式会社
	米国研究製薬工業協会(PhRMA)	
	杉山洋子	MSD 株式会社・医薬政策部門
	日本製薬工業会	
	椎名邦彦	アステラス製薬株式会社・ワクチン事業推進部門

研究協力者 (続き)	国立感染症研究所	
	加藤 はる	細菌第二部
	山本明彦	細菌第二部
	小宮貴子	細菌第二部
	妹尾充敏	細菌第二部
	岡田義昭	血液安全性研究部
	楠 英樹	血液安全性研究部
	その他	
	長谷紳一郎	血液製剤協会 (株式会社ベネシス)
	森 堅志	株式会社ベネシス 品質管理部
上村晃一朗	化学及血清療法研究所 品質管理部	
武宮陽子	日本製薬株式会社 品質管理部	
木村成明	日本赤十字社血漿分画センター 品質管理部	
渡辺嘉治	バクスター株式会社 品質管理部	
大根田 守	ベーリング株式会社 八潮工場品質管理部	
内山 進	大阪大学大学院工学研究科	

(3) 研究の背景

ワクチン、抗毒素および血液製剤は保健衛生上特別の注意を要する医薬品として、薬事法第 42 条により生物学的製剤基準と国家検定制度が設けられ、その有効性と安全性の確保が一般医薬品よりも厳重にされている。医薬品をとりまく環境は、新知見の発見あるいは新測定技法の開発等の科学的進歩の他に、新たな管理技法として GMP (Good Manufacturing Practice: 適正製造規範)の製造現場への適応、あるいは国民の医薬品や食品の安全性に関する感心の向上等により変化している。それ故、生物学的製剤基準はそれらの変化に見合ったの見直しが適宜行われてきた。ところが、近年、新型インフルエンザ等の国境を超えた感染症の脅威に備えるため、従来以上に国産のすぐれた生物学的製剤あるいは製造技術を国際協力として輸出する事、あるいは海外で実績を得た国産には無い生物学的製剤を輸入する事が強く望まれるようになってきている。これらの医薬品を取り巻く環境の変化は今までに無く大きなもので、これらの変化に対応した生物学的製剤基及び国家検定基準の在り方、記載内容の見直しが求められている。本研究班では主に WHO(世界保健機構)や欧州、北米の規制と我が国の規制とを比較し、規格が異なる場合には製剤の安全性と有効性の管理精度的に意味のある差なのか否かを検討し、科学的に合理的な生物学的製剤の姿を提案することを計画している。研究組織は、分担研究者が中心となり、国内外の生物学的製剤を製造販売する業

者の代表者、ならびに規制当局の担当者を協力研究員として招いてワーキンググループを組織し、海外の規制と我が国の規制と比較検討し、合理的な案が作成可能かを協議および、問題点をクローズアップするために専門家による国際研究会を企画した。

(4) 研究の目的と必要性及び期待される成果

本研究班の目的は生物学的製剤を取り巻く環境の変化に合った生物基及び国家検定項目の在り方を検討することである。そもそも、生物基はわが国の国民を健康被害から守るために作られたものであり、そのため、わが国独自の規格が存在してもおかしくはない。一方、医薬品は既にグローバル化しており、北米、ヨーロッパ、WHO で採用されている規格とわが国の規格が異なり、それが国産のすぐれた生物学的製剤あるいは製造技術を国際協力として輸出する場合、あるいは海外で実績を得た国産には無い生物学的製剤を輸入する場合の障害となり、国際貢献、あるいは国民の健康に関する脅威への迅速対応に遅れが生じる事も予想される。

近年、医薬品の製造と販売に関してはGMPの準拠が法的に必須要件となったため、一定品質の生物製剤が製造できるような体制がソフト、ハードの両面で整えられた。加えて、感染症のグローバル化に対応して国産のすぐれた生物学的製剤あるいは製造技術が海外協力等により輸出される一方で、国際的に実績を得た海外の生物学的製剤の輸入の加速を望む声が大きくなっている。この一方で、北米、ヨーロッパ、WHO とわが国で採用されている品質管理試験との間に相違があり、活動の妨げになっているとの考えがある。これら医薬品を取り巻く環境の変化に対応するには、生物学的製剤基準及び検定基準で定めた品質管理試験を国際的に共通性の高いものに置換え可能か、生物学的製剤基準の記載内容の汎用性を高める見直しが可能かを検討する必要がある。

本研究班では主に WHO や諸外国の規制と我が国の規制を比較し、その違いが安全性と有効性を損なわないか、従来まで得られていた副作用情報と品質管理試験成績の因果関係を引き継げるかを検討し、可能であれば共通性の高い生物学的製剤基準の姿を提案することを計画している。成果の一部は、少なくとも生物学的製剤基準の次期改正案に反映でき、ただちに実績を上げられると期待される。それにより、国民が安全で有効な生物学的製剤を使える可能性が大きくなり、健康で豊かな生活に貢献できると推察される。一方、製剤を製造・販売する業者にとっては国際化への敷居が下がると期待され、より一層の企業活動が期待される。

II. 総括研究報告書

医薬品を巡る環境の変化と生物学的製剤基準の在り方に関する研究

主任研究者 加藤 篤 国立感染症研究所・ウイルス第三部・室長

研究要旨

海外では優れた実績をあげているものの、わが国には無いワクチンが多数存在する。この様な海外製のワクチンを輸入するのに対して、日本独自の規則・試験・規格は製造販売業者に対して日本専用の事務処理、試験あるいは製品出荷等を強いることになる。海外メーカーが日本をマーケットとして考える場合、多少の手間を払っても、そのコストを製品に上乗せして日本向けに製品を供給するだろう。しかし、世界的に感染症の流行が懸念されるなどの場合、市場は容易に売り手有利になり、余計な手間のかかる日本向けに製造するか否かが懸念される。国民の健康を考えて作った規則・試験・規格が、結果的にワクチンの供給不足を招いたり、あるいは価格上昇による更なる出費を招く事が懸念される。ワクチンには科学的な議論だけでは解決できない問題があるが、本研究班では科学的以外の部分は他の議論に委ねることとし、海外と日本の規則・試験・規格の調和が可能かどうか、そしてそれが規則としての生物学的製剤基準にどの様に反映できるかを検討した。

A. 研究目的

今の我が国では衣食住、上下水道、医療などの公衆衛生上の社会的基盤が整い、健康な生活を送る事があたりまえの時代になった。しかし、戦後しばらくは衛生環境が悪く、シラミが媒介するリケッチアを原因菌とする発疹チフスの発生を防ぐため、進駐軍が持ち込んだ有機塩素化合物 DDT の白い粉を頭から降りかけられるような状態であった。終戦から3年後の1948年にGHQの強い関与のもと感染症対策として予防接種法が制定された。法が成立した当時は感染症患者がいたるところに見られ、社会的損失を防止することが急務とされたために、12疾患の予防接種を法により義務化した。子供は学校で、大人は職場でと、集団が形成されている場所での「集団接種」が頻繁に行われた。これらの強行的手段と社会基盤の整備が功を奏し、感染症患者数が減少し

た。しかし、その一方で京都ジフテリア事件、種痘禍事件といった予防接種による健康被害が社会問題化していった。

ワクチンは誰もが勝手に製造・販売してよいものではなく、国の製造承認制度が採用されている。かつてはワクチンの実施が国策として急がれたこと、ワクチンの開発・製造に関して現在の様なGMPの概念が無く、むしろ職人の勘に頼るところが多かったため、製造承認に必要な承認書の中身は現在の承認書に比べるとたいへん大雑把な物であった。従って、ワクチンの品質を一定以上に保ち、その製造と品質管理方法を透明性の高いものにするために生物学的製剤基準(生物基)が作成、公開され、国家検定制度とともに国の関与が明確化された。そもそも、生物基はわが国の国民によいワクチンを提供するために作られたものであり、そ

のため、国民性等を考慮した独自の規格が存在してもおかしくはない。一方、疾病のグローバル化とともに、医薬品もグローバル化しており、北米、ヨーロッパで採用されている規格とわが国の規格との調和が進んでいる。ワクチン以外の生物学的製剤、たとえば抗体製剤、生理活性物質製剤も例外ではない。

これらの規格調和は海外の優れた製品を国内でも使いたいという医療関係者、国民の願いに答えるという形で進められたものである。戦後間もなくの間はワクチンの開発は国策的に行われた結果、優れたワクチンがいくつも開発され一時は技術的な面に於いてワクチン先進国であった、しかし、予防接種による健康被害例が増えるにつれ国の関与が次第に後退し、ワクチン開発に関する技術力も後退した。そのため、既存ワクチンの改良、混合化、あるいは新規ワクチンの開発に遅れをとり、海外にはあって実績をあげているが、わが国には無いワクチンが多数存在することになってしまったと考えられる。この様な海外製のワクチンを輸入するのに対して、日本独自の規則、試験、規格に対して日本専用の試験の実施、あるいは日本専用の製品出荷等を強いることになる。日本をマーケットとして考える場合、海外メーカーは多少の手間を払っても、そのコストを製品に上乗せして日本向けに製品を供給するだろう。しかし、たとえば世界的に感染症の流行が懸念されるなどの場合、市場は容易に売り手有利になり、余計な手間のかかる日本向けに製造するか否かが懸念される。国民の健康を考えて作った規則、試験、規格が、結果的にワクチンの供給不足を招いたり、あるいはワクチン価格の上昇による出費を招く事が懸念される。

ワクチンには国家戦略的側面があり、科学的な議論だけでは解決できない問題がある。しかし、本研究班では科学的以外の部分は他の議論に委ねることとし、海外と日本の規則・試験・規格の調和が可

能かどうか、そしてそれが規則としての生物学的製剤基準にどの様に反映できるかを検討した。

B. 研究方法

日本、米国、欧州の生物学的製剤業界の専門家による生物学的製剤基準に対する国際会議の開催

日本ワクチン産業協会、米国研究製薬工業協会 (PhRMA: Pharmaceutical Research and Manufacturers of America)、欧州製薬団体連合 (EFPIA Japan: European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations Japan) に日本製薬工業会の代表を加えたワーキンググループを作製し、生物学的製剤基準に関する議論を国際会議の場で議論することを検討した。

国際会議で話し合う生物学的製剤基準の問題点について

国際会議では、日米欧から見て日本の生物学的製剤基準のどこに問題があるのかを明らかにし、その点についてレギュラトリーサイエンスの立場から検討した。そのための方策として、問題認識の共有、問題解決への糸口について方法論をワーキンググループで検討する。また、広く興味ある方に参加してもらうために、ポスターの作製に加えて、インターネットを利用したホームページの作製、メールサービスを利用したアナウンスを検討した。

分担研究者による生物学的製剤基準の改訂についての検討

インフルエンザウイルスワクチン研究班、不活化ポリオワクチン研究班、ジフテリア・百日咳・破傷風・結核菌・Hib ワクチン及び無菌試験研究班、血液製剤研究班、物理化学試験法研究班に分けて業界関係者および感染症研究所関係者を交えて検討した。

C. 研究成果

日本、米国、欧州の生物学的製剤基準に

関する国際専門家の開催

日本ワクチン産業協会、米国研究製薬工業協会(PhRMA)、欧州製薬団体連合(EFPIA JAPAN)、日本製薬工業会の代表者(世話人)と生物学的製剤基準に関する専門家会議の開催を目指したワーキンググループを作製し、議論を煮詰めた。開催日は2月6日月曜日、国立感染症研究所、共用第一会議室(収容人数140名)で行うことになった。欧米から専門家を呼んで議論し、また、その内容を聴衆の皆さんにも判ってもらうために同時通訳をつける。感染研職員にも広く問題点を知ってもらうために、会場は感染研戸山庁舎とすることになった(詳細は資料参照)。

国際専門家会議の内容

会議は議題：「国際化時代の生物学的製剤基準とワクチンの品質確保のありかた」とし、1月末から2月中旬までの間の平日に実施する。日本ワクチン産業協会、EFPIA Japan、PhRMA、製薬工業会の各団体には、会議開催の協力者という形で加わってもらう。

会議は、3部構成として、第一部は動物を使った品質管理試験の Replacement, Reduction, Refinement(3R's) の意義に注目し、日本、EU、北米のそれぞれの状

況について発表頂く。第二部は海外ワクチン規格との調和に着目し、DTP ベースワクチンにおけるアルミニウムアジュバント(免疫獲得と安全性確保のバランス)に関して、日本、EU、北米のそれぞれの状況について発表頂く。第三部は日本、EU、北米の専門家をパネラーとして、聴衆の眼前で国際化時代の生物基のあり方について議論するという構成にした。

国立感染症研究所の担当室からの生物学的製剤基準の改訂要望調査

感染症研究所の製剤担当室、試験担当室に対して平成21年4月に生物学的製剤基準の中規模改訂を行って以来、新たに追加されるべき事項、あるいは中規模改訂時に結論が出ず、積み残した再検討事項が有るか否かについて調査した。その結果、沈降インフルエンザ H5N1 ワクチンの規格試験の見直し、不活化ポリオウイルスワクチンの基準案作り、ジフテリア・百日咳・破傷風(DPT)製剤の品質管理試験法の見直し、静脈注射用ガンマグロブリン製剤の重合体否定試験方法とその規格値の見直しの検討、静脈注射用ならびに筋注用ガンマグロブリン製剤の麻疹抗体価測定に関する試験法の変更を検討した。

III. 分担研究報告書

沈降インフルエンザワクチン (H5N1 株) の生物学的製剤基準に関する研究

分担研究者 板村繁之 国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター

研究要旨

沈降インフルエンザワクチン (H5N1 株) においては、原液での力価試験成績で小分製品での力価を担保しようと意図していたものが、現行の基準では、本来の意図を実現できていない。現行基準を小分製品での力価を担保できるように改訂する必要がある。また、小分製品での力価試験の検討を充分行った上で、小分製品での力価試験の導入を検討するべきである。プレパンデミックワクチンとして使用する際に現行の試験項目で充分であるのかどうかについては、ワクチン製造所、関係規制当局を含めて議論する必要があるが、製剤の性状を考慮すると全体としては主要な試験項目を網羅していると考えられる。国家検定に出検する原液の検体については、その規定の変更を検討するべきである

A. 研究目的

1997年の香港に始まる高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) ウイルスの鳥からヒトへの感染は、現在までのところ幸い本ウイルスによるパンデミックには至っていないが、2003年末以降アジア地域から中央アジア、中近東、欧州、アフリカへと本ウイルスは家禽や野鳥の世界で常在化し、ヒトへの感染を繰り返している。現在 (3/1/2012) に至るまで590名の感染者が報告され、その内349名が死亡しており、致死率は約60%に及ぶ。このような高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) ウイルスによるインフルエンザ・パンデミックに対応するためのワクチンとして沈降新型インフルエンザワクチン (H5N1株) が開発され、2007年に製造承認された。本ワクチンは開発と並行して高病原性鳥インフルエンザ (H5N1) ウイルスによるパンデミックに対応するために国家備蓄も実施された。2008年には本ワクチン接種によって得られるプライミングとブースター効果、抗原性の異なるウイルス株に対する抗体応答や持続期間についての臨床研究が実施され、本ワクチンが同亜型のウイルスについて比較的良好なプライミング効果を賦与することが明らかになった。それらの成績に基づいて、医療従事者等を対象としたプレパンデミックワクチンとしての使用についても本格的に検討されるようになった。その後、本ワクチンは2009年にプレパンデミックワクチンとしての使用を考慮してワクチンの一般的製剤名を沈降インフルエンザワクチン (H5N1株) と改定された。しか

しながら、本ワクチンは承認審査時にはパンデミックを主要な対象として、リスク・ベネフィットの観点から製造承認を取得していることから、プレパンデミックワクチンとして使用するには生物学的製剤基準として充分であるのか検討する必要があると思われる。

一方、本ワクチンの生物学的製剤基準 (生物基) には通常あまり使用しない、「別に定める」とした基準が含まれている。これは当初、パンデミックに対応できるワクチンが存在しなかったために製造承認をできるだけ迅速に実施することを目的として、細かい基準値についてはもう少し製造実績を反映させたような値を与えるために、「別に定める」とした。しかしながら、一般的には「別に定める」とは製造販売承認書に定めるとの意味であり、各製造所によって異なる内容となり、本来生物基で規定すべき内容とは整合性を欠く結果となっている。特に力価試験については、最終小分製品における力価を担保できるような記載内容とはなっていない。また、本ワクチンは先に述べたように臨床研究のために何度か実際に国家検定に供された経験を有する。その経験からも、いくつか実務的な問題点が明らかになってきた。

本研究では、沈降インフルエンザワクチン (H5N1株) の生物基に関連する問題点について検討を行い、本基準の改訂に向けた原案を作成することを目的とした。

B. 研究方法

沈降インフルエンザワクチン (H5N1 株) の生物基について、試験項目の内容と実際に国家検定に出検された経験に基づいて検討を実施した。

C. 研究結果・考察

沈降インフルエンザワクチン (H5N1 株) の生物基について見直しを行い、試験項目を検討した。表に生物基の項目をまとめた。その結果、現行の基準では力価試験が原液の試験として位置付けられているが、「別に定める」とした製造販売承認書の内容では小分製品で力価を保証するには規定されていない。生物基が制定された時点では、小分製品に対して力価試験を実施するための方法が技術的に充分検討されていないということで、小分製品の試験として規定することが見送られた経緯がある。しかしながら、制定の際に原液での力価試験成績で小分製品での力価を担保しようとしていたものが、現行の基準では製造販売承認書に規定された値として判定されることになって、本来の意図を実現できていない。従って、現行基準を小分製品での力価を担保できるように改訂する必要がある。また、小分製品での力価試験の検討を充分行った上で、小分製品での力価試験の導入を検討するべきである。

また、パンデミックワクチンとしては、すでに緊急時は例外として検定試験の実施を省略できる規程が定めてあり、WHO のガイドラインで指摘されている点についても検討されて、すでに導入されている。

プレパンデミックワクチンとして使用する際に現行の試験項目で充分であるのかどうかについては、ワクチン製造所、関係規制当局を含めて議論する必要があるが、製剤の性状を考慮すると全体としては主要な試験項目を網羅していると考えられる。一方で、プレパンデミックワクチンとしての使用には、リスクベネフィットの観点から、臨床研究の成果を踏まえて十分に検証すべきである。

本ワクチンの生物基に関連する課題として、国家検定に出検する原液の検体がある。現行では、最終バルク濃度に希釈された原液の検体が提出されている。しかしながら、原液作成時には力価試験に使用する標準抗原や参照抗血清が準備できない場合があり、最終的にバルクを構成する濃度を正確に決定できないことがある。そのために、それに変わる規定をした方が、実際的であると考えられる。

D. 結論

- 1) 沈降インフルエンザワクチン

(H5N1 株) の小分製品での力価を担保するように原液での力価試験の基準を改訂する必要がある。

- 2) 小分製品での力価試験の導入を検討するべきである。
- 3) プレパンデミックワクチンとして使用する際に現行の試験項目で充分であるのかどうかについては、ワクチン製造所、関係規制当局を含めて議論する必要があるが、製剤の性状を考慮すると全体としては主要な試験項目を網羅していると考えられる。
- 4) 国家検定に出検する原液の検体については、その規定の変更を検討するべきである。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeno D, Kimachi K, Ibaragi K, Kudo Y, Goto S, Odoh K, Itamura S, Odagiri T, Tashiro M, and Kino Y.: Differences in the priming effect of various clades/subclades of inactivated H5N1 vaccine for booster injection with heterologous clades of vaccine strains. *Vaccine* 29, 4156-4161 (2011)
- 2) Ohnishi K., Takahashi Y., Kono N., Nakajima N., Mizukoshi F., Misawa S., Yamamoto T, Mitsuki Y., Fu S., Hirayama N., Ohshima M., Ato M., Kageyama T., Odagiri T., Tashiro M., Kobayashi K., Itamura S., Tsunetsugu-Yokota Y.: Immunological detection of H5N1 influenza viruses by newly established monoclonal antibodies. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65, 19-27 (2012)
- 3) Ohkura T., Kikuchi Y., Kono N., Itamura S., Komase K., Momose F., Morikawa Y.: Epitope mapping of neutralizing monoclonal antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin. *Biochem Biophys Res Commun* 418, 38-43 (2012)
- 4) 板村繁之: パンデミックインフルエンザワクチン. *総合臨床* 60: 2215-2217 (2011)
- 5) 原田勇一、板村繁之: インフルエンザワクチンの最新動向と展望. *日本臨床* 69: 1567-1570 (2011)

2. 学会発表

- 1) Takashi Ohkura, Yuji Kikuchi, Naoko Kono, Shigeyuki Itamura, Katsuhiko Komase, Fumitaka Momose and Yuko Morikawa : Epitope mapping of neutralizing antibody in avian influenza A H5N1 virus hemagglutinin and

- construction of its single-chain variable fragment. XV International Congress of Virology, Sapporo, Sept.11-16, 2011.
- 2) Kayoko Sato, Hideki Asanuma, Michiyo Kataoka, Noriyo Nagata, Masato Tashiro and Shigeyuki Itamura : Morphological characterization of A/H1N1pdm09 viruses isolated in egg from clinical specimens. XV International Congress of Virology, Sapporo, Sept.11-16, 2011.
 - 3) Hitoshi Takahashi, Yuichi Harada, Noriko Shimasaki, Kazuya Nakamura, Itsuki Hamamoto, Norio Yamamoto, Takato Odagiri, Shigeyuki Itamura and Masato Tashiro, Inefficient ability of LLC-MK2 cells in supporting the growth of influenza viruses isolated from clinical specimens: analysis of adaptation of viruses to LLC-MK2 cells and underlying mechanism. XV International Congress of Virology, Sapporo, Sept.11-16, 2011.
 - 4) Yuichi Harada, Hiroshi Takahashi, Masayuki Shirakura, Eri Nobusawa, Norio Yamamoto, Kazuya Nakamura, Itsuki Hamamoto, Hideki Asanuma, Takato Odagiri, Masato Tashiro and Shigeyuki Itamura. Growth ability of reverse genetically generated influenza A/H1N1pdm09 viruses in MDCK and LLC-MK2 cell lines. XV International Congress of Virology, Sapporo, Sept.11-16, 2011.
 - 5) Noriko Shimasaki, Hitoshi Takahashi, Shigeyuki Itamura and Masato Tashiro. Comparison of antigenic stability of influenza viruses and vaccines among different vaccine viruses. XV International Congress of Virology, Sapporo, Sept.11-16, 2011.

F. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 沈降インフルエンザワクチン(H5N1株) の生物学的製剤基準

試験	「別に定める」とする項目の有無
3.1 不活化ウイルス浮遊液の試験	
3.1.1 不活化試験	
3.2 原液の試験	
3.2.1 無菌試験	
3.2.2 力価試験	○
一元放射免疫拡散試験又はHA含量試験を行う。	
3.2.2.1 一元放射免疫拡散試験	
3.2.2.2 HA含量試験	
3.2.3 発熱試験	
3.2.4 卵アルブミン含量試験	○
3.2.5 エンドトキシン試験	○
3.3 小分製品の試験	
3.3.1 アルミニウム含量試験	
3.3.2 たん白質含量試験	
3.3.3 チメロサール含量試験	
3.3.4 ホルムアルデヒド含量試験	
3.3.5 無菌試験	
3.3.6 異常毒性否定試験	
3.3.7 表示確認試験	

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン
生物学的製剤基準（案）の作成

分担研究者 白土東子 国立感染症研究所 ウイルス第二部

研究要旨

沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株由来）混合ワクチン（DPT-sIPV）生物学的製剤基準（案）（生物基（案））小委員会を発足させ、Recommendations (WHO TRS 910 2002) にあって生物基(案)にない項目の洗い出しを行い、さらにそれらを基にした生物基(案)の修正を行った。この生物基(案)を基に、今後、各メーカーの生物基が作製される予定である。

A. 研究目的

先進国のほとんどは、すでに不活化ポリオワクチン（IPV）（通常、4回接種）を使用している。わが国において、OPV から IPV に転換するには、高い接種率を保持することが必須の条件となる。公衆衛生審議会感染症分科会ではポリオ予防接種検討小委員会の答申をうけ（平成 15 年 3 月）、ポリオ不活化ワクチンの早期導入が必須であること、そして OPV から IPV への円滑な移行のためには、沈降精製百日せきジフテリア破傷風（DPT）ワクチンと IPV の混合ワクチンの導入が望ましいとしている。わが国において、独自に開発された弱毒ポリオウイルスセービン株を用いた不活化ポリオワクチン（sIPV）、ならびにこれと現在製造市販されている沈降精製ジフテリア百日咳破傷風混合ワクチン（DPT）を混合した DPT-sIPV 4 混ワクチンが開発されており、一刻も早い実用化が必要である。早期の DPT-sIPV ワクチンの導入には、ワクチンの製剤化のみでなく、生物基(案)の作成を早急に行う必

要がある。本研究では、平成 15-17 年度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「混合ワクチンの品質確保に関する研究」班において作製された生物基(案)が WHO の規制に比較して安全性と有効性を損なわないか否かを検討し、反映させることを目的とする。

B. 研究方法

平成 15-17 年度「混合ワクチンの品質確保に関する研究」班において、作製された「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン生物学的製剤基準（案）」について、以下のメンバーから成る生物基（案）小委員会を発足させ、Recommendations (WHO TRS 910 2002) にあって生物基(案)にない項目の洗い出しを行い（平成 21 年度）、さらにそれらを基に生物基(案)の修正を行った（平成 22-23 年度）。なお、本研究は平成 21-22 年度・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「医薬品を巡る環境の変化等に対応した生物学的製

剤基準の改定のための研究」班より継続して行っており、今年度も含め計四回の小委員会を開催している（第一回小委員会平成 21 年 12 月 25 日開催、第二回小委員会平成 22 年 12 月 22 日開催、第三回小委員会平成 23 年 4 月 21 日、第四回小委員会平成 23 年 10 月 24 日開催）。

生物学的製剤基準（案）小委員会

塩先巧一（財）化学及血清療法研究所
園田憲悟（財）化学及血清療法研究所
山下利明 武田薬品工業（株）
尾山誠一郎 武田薬品工業（株）
住田丈 武田薬品工業（株）
大東貴之 武田薬品工業（株）
白井宏樹 （財）阪大微生物病研究会
小川博暢 （財）阪大微生物病研究会
田野良夫 （財）ポリオ研究所
若林建吾 （財）ポリオ研究所
柴山恵吾 国立感染症研究所
高橋元秀 国立感染症研究所
蒲池一成 国立感染症研究所
加藤はる 国立感染症研究所
岩城正昭 国立感染症研究所
落合雅樹 国立感染症研究所
藤田賢太郎 国立感染症研究所
脇田隆字 国立感染症研究所
片山和彦 国立感染症研究所
染谷雄一 国立感染症研究所
白土東子 国立感染症研究所

C. 研究結果、及び考察

今年度は平成 23 年 4 月 21 日に第三回小委員会、平成 23 年 10 月 24 日に第四回小委員会を開催し、生物基（案）の全ての項目を検討した。以下、小委員会における審議事項を、生物基案の項目番号順に列記する。小委員会にて審議されたものの、提案に留まった箇所は「未承認」として下線で示した。

（平成 15-17 年度「混合ワクチンの品

質確保に関する研究」班において作製された「沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン生物学的製剤基準（案）」は本報告書の末尾に参考資料として添付した。）

C-1. 生物基（案）品目名 に関して

ポリオ研提案事項 1 に基づき品目名に関して審議を行い、下記文言案とすること承認された。

ポリオ研提案事項 1：ポリオ研より、医薬品名のところに「セービン株由来」と文言を追加すべきではないか、と提案があった。

文言案（承認済み）：『沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ（セービン株由来）混合ワクチン』

C-2. 生物基（案）2.1.1 百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド 2.1.2 不活化ポリオウイルス に関して

第三回小委員会において原材料の項目名に関して指摘が出たため、第四回小委員会にて審議を行った。下記文言案が候補として上がったものの、承認は得ていない。

第三回小委員会指摘事項：項目名となっている「百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド」は原材料名ではない、との指摘が出た。

文言案（未承認）：『2.1.1 百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドの原材料』『2.1.2 不活化ポリオウイルスの原材料』

C-3. 生物基（案）2.1.2.1 製造用ウイルス株 に関して

第三回小委員会指摘事項に基づき、2.1.2.1 製造用ウイルス株の文言に関して審議を行った。下記文言とすることが第四回小委員会にて承認された。第三回小委員会指摘事項：I 型ウイル

ス LS-c, 2ab 株、Ⅱ型ウイルス P712, Ch, 2ab 株、Ⅲ型ウイルス Leon, 12a1b 株以外の株を用いることはないので、「本剤の製造に相当と認められたウイルス株」の文言を削除しても良いのではないかと指摘がなされた。また、「科学的に問題ないと証明された代数」よりは「所定の代数」の方が表記として相当ではないかと指摘がなされた。

文言案（第四回小委員会にて承認済み）：『2.1.2.1 製造用ウイルス株

I 型ウイルス LS-c, 2ab 株、Ⅱ型ウイルス P712, Ch, 2ab 株及びⅢ型ウイルス Leon, 12a1b 株を用いる。それらの株を用いてシードロットを設定する。本剤に含まれるウイルスは、定められた培養条件の下で継代を行い、かつ、その継代数が所定の継代数を超えてはならない。』

C-4. 生物基（案）2.2.1 百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド原液 2.2.2 不活化ポリオワクチン原液 に関して

第三回小委員会において、原液の項目名に関して指摘が出たため、第四回小委員会にて審議を行い、下記文言とすることが承認された。

第三回小委員会指摘事項：「百日せき菌の防御抗原、ジフテリアトキソイド」という文言は適当か、との指摘がなされた。

文言案（第四回小委員会にて承認済み）：『2.2.1 百日せき菌の防御抗原を含む原液、ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液』『2.2.2 不活化ポリオワクチン原液』

C-5. 生物基（案）3 試験 に関して

第四回小委員会において試験の項の

記載に関して指摘が出たため、審議を行った。感染研が文言案を作成したものの、承認は得ていない。

第四回小委員会指摘事項：試験の項には小分製品の試験も含まれているにも関わらず、前書き部分では DPT の原液と IPV の原材料及び原液までの試験についてしか言及されていない、との指摘がなされた。

文言案（未承認）：『3 試験 百日せき菌の防御抗原を含む原液、ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液について 3.1 の試験を行う。不活化ポリオウイルスについては 3.2 の試験を行う。』『3.1 百日せき菌の防御抗原を含む原液、ジフテリアトキソイド原液及び破傷風トキソイド原液の試験 沈降精製百日せきワクチン 3.1、ジフテリアトキソイド 3.1 及び破傷風トキソイド 3.1 をそれぞれ準用する。』また、3.1 原材料の試験、3.2 原液の試験、3.3 小分製品の試験と大きく分けた方が良いのではないかと、この提案もなされた。

C-6. 生物基（案）3.2.1 シードロット（マスター・シード）の試験 3.2.2 シードロット（ワーキング・シード）の試験 に関して

追加審議事項 2 に基づき、3.2.1 シードロット（マスター・シード）の試験、3.2.2 シードロット（ワーキング・シード）の文言に関して審議を行った。追加審議事項 2：マスター・シードとワーキング・シードの試験項目を設定する必要がある。試験項目に関して第四回小委員会にて審議を行い、無菌試験 3.2.4.1 を設定することが承認された。

文言案（第四回小委員会にて承認済み）：『3.2.1 シードロット（マスター・シード）の試験 マスター・シードについて、3.2.4.1 の試験を行う。』

『3.2.2 シードロット（ワーキング・シード）の試験ワーキング・シードについて、3.2.4.1の試験を行う。』

C-7. 生物基（案）3.2.3.1 培養細胞の試験 3.2.3.1 培養観察 3.2.3.2 Vero 培養細胞接種試験 3.2.3.3 血球吸着ウイルス否定試験 に関して

審議事項2に関して、第三回小委員会終了後に再審議の要望が出たため（第三回小委員会終了後の要望1,2参照）、第四回委員会にて再審議を行い、下記文言とすることが承認された。ただし、3.2.3.1 培養観察の文言に関しては、第四回小委員会終了後に再審議の要望がメーカーより出た（第四回小委員会終了後の要望1参照）。

審議事項2：RecommendationsのA.3.2.1 Tests for haemadsorbing viruses、A.3.2.2 Tests for other adventitious agents、A.3.2.5 Identity testsを生物基案3.2.3に組み込むべきか否かに関して、第二回小委員会において「Master Cell Bank、Working Cell Bankを作製・更新する際に Identity testsを実施することが規定されているため、ロット毎にA.3.2.5に相当する試験を実施する必要は無い、すなわち生物基案3.2.3に組み込む必要はない。A.3.2.1、A.3.2.2に関しては、相当する試験が製造工程内管理試験として含まれているため、生物基に盛り込む。」ことを確認した。経口生ポリオワクチンの生物基に習い、追加文言案を感染研が作成し、第三回小委員会にて提案、一旦承認を得た。しかし、第三回小委員会終了後、文言を一部削除して欲しいとの要望がメーカーより出た（第三回小委員会終了後の要望1,2参照）。第三回小委員会終了後の要望1：ヒト培養細胞接種試験は、最終培養細胞液

の工程内管理試験として設定されているものの、開発段階においては実施していないため、生物基から削除して欲しい。

第三回小委員会終了後の要望2：経口生ポリオワクチンの生物基にあるVero培養細胞接種試験に関して、Recommendationに「SV40 その他の」という文言はない。また、他の製剤の生物基において経口生ポリオワクチン以外に特定のウイルス名を記載しているものはない。よって、本生物基案のVero培養細胞接種試験からは「SV40 その他の」の文言を削除して欲しい。

第四回小委員会終了後の要望1：本試験については、対照細胞の培養時にウイルス培養と同一の培地を使用することで間違いないが、その温度については、ウイルス培養が34.0℃に対して、対照細胞培養は36.0℃で行っている。修正案として、“ウイルス培養と同じ培養条件で” → “ウイルス培養と同じ培地を用い培養し、その細胞状態を”などと変更して欲しい。

文言案（下線部のみ未承認）：『3.2.3.1 培養観察 培養細胞の500mL以上に相当する量を対照培養細胞とし、ウイルスを接種することなく、ウイルス培養と同じ培地を用い培養し、その細胞状態を観察するとき、細胞変性を認めてはならない。また、観察期間中、その20%以上が非特異的又は偶発的事由により観察できなくなつてはならない。観察期間の終わりに、対照培養細胞の各容器からそれぞれ細胞維持液を採り、これを混合したものを試料として、3.2.3.2の試験を行う。また、観察期間の終わりに細胞維持液を除いた対照培養細胞について、3.2.3.3の試験を行う。』『3.2.3.2 Vero 培養細胞接種試験 試料10mLをVero培養細胞に接