

- (8) 手術等で摘出された細胞又は組織を利用する場合においても、(5)及び(6)に従って同意を得たものでなければならない。なお、この場合にあつては、当該手術等が細胞又は組織の採取の目的を優先して行われたものであつてはならない。
- (9) ドナーからの細胞又は組織の採取が無対価で行われたものでなければならない。ただし、細胞又は組織の提供により生じるドナーの負担につき、交通費等実際にかかった費用を勘案しつつ、倫理委員会等の了承を得た上で、適切な補填がなされることは、この限りではない。
- (10) 細胞組織製品の原材料となる人の細胞又は組織についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
- ア 当該細胞又は組織を採取した施設
 - イ 当該細胞又は組織を採取した年月日
 - ウ ドナースクリーニングのための問診、検診、検査等による診断の結果及び状況
 - エ 当該細胞又は組織を採取する作業の経過
 - オ 倫理委員会等の審議結果
 - カ 同意説明文書及び同意文書
 - キ ドナーに関する識別番号
 - ク アからキまでに掲げるもののほか、人細胞組織製品の品質及び安全性の確保に關し必要な事項

人尿由来原料基準

(生物由来原料基準 第3「人由来製品原料総則」の2)

- (1) 原材料として人の尿が用いられる医薬品等については、人尿由来原料基準を適用するほか、1 人細胞組織製品原料基準 (9) の規定を準用するものとする。
- (2) 原材料として用いる尿又はプール尿（提供者ごと又は複数の提供者から提供された尿を集めて混合したもの。以下同じ。）の適切な段階において、感染症に関する適切な検査が行われ、病原微生物等に汚染されていないことが確認されていなければならない。ただし、病原微生物その他疾病の原因となるものが製造過程において不活化又は除去されることが確認され、その旨が薬事法に基づく当該製品の製造販売の承認の際に交付される承認書に記載されているものについては、この限りではない。
- (3) 原材料として用いる尿については、プール尿の適切な段階において、少なくとも B 型肝炎ウイルス DNA、C 型肝炎ウイルス RNA 及びヒト免疫不全ウイルス RNA に対する核酸増幅検査を行わなければならない。ただし、B 型肝炎ウイルス DNA、C 型肝炎ウイルス RNA 及びヒト免疫不全ウイルス RNA が検出されないことが適当な核酸増幅検査により確認されている尿を原材料として用いる場合は、この限りではない。
- (4) 原材料として用いる尿について、製造過程において、細菌、真菌、ウイルス等が不

活化又は除去されることが確認されていなければならない。

- (5) 原材料として用いる尿についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
- ア プール尿を作製した機関名
 - イ プール尿を作製した年月日
 - ウ プール尿の検査等の結果
 - エ プール尿を作製する作業の工程
 - オ プール尿のロットの番号
 - カ アからオまでに掲げるもののほか、当該医薬品等の品質及び安全性の確保に関し必要な事項

人由来原料基準

(生物由来原料基準 第3「人由来製品原料総則」の3)

- (1) 血液、尿及び人細胞組織製品の原材料以外の人に由来する原料又は材料（細菌又はウイルスの感染リスクが否定されていることが科学的に公知のものとされるものを除く。以下人由来原料基準において同じ。）の原材料については、人由来原料基準によるものとする。ただし、人に由来するセル・バンクによる原材料であって、本基準の適用の際現に構築され、かつ、品質及び安全性の確保の観点から、原材料として用いることについて(2)の規定と同等以上の妥当性を有することが確認され、その旨が、薬事法に基づく製品の製造販売の承認の際に交付される承認書に記載されているものについては、(2)の規定は適用しないものとする。
- (2) ヒトに対して感染性及び病原性を示す可能性のあるウイルスの存在の有無を確認するために、原材料として用いる細胞又は組織（セル・バンクを出発基材とし細胞培養により生産される製品については、細胞株や培養終了後の細胞を含む。）に対して、ウイルスを検出するために必要な試験（以下「ウイルス試験」という。）を行わなければならない。更に、未加工又は未精製バルクの段階において、適切にウイルス試験を実施しなければならない。ただし、工程をごく一部進めることによってウイルスを検出する試験がより高感度に行えることとなる場合にはこの限りではない。これらの試験において、外来性ウイルスが検出された場合には、原則として、医薬品等の原材料として用いてはならない。
- (3) 原材料について、製造過程において、細菌、真菌、ウイルス等を不活化又は除去する処理を行わなければならない。
- (4) 原材料についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
- ア 原材料を作製した機関名
 - イ 原材料を作製した年月日

- ウ 原材料の検査等の結果
- エ 原材料を作製する作業の経過
- オ 原材料のロットの番号
- カ アからオまでに掲げるもののほか、当該製品の品質及び安全性の確保に関し必要な事項

反芻動物由来原料基準

(生物由来原料基準 第4「動物由来製品原料総則」の1)

- (1) 反芻動物に由来する原料又は材料（脂肪酸、グリセリン、脂肪酸エステル、アミノ酸、合成オリゴペプチドその他高温及びアルカリ処理により製するものを除く。）については、反芻動物由来原料基準によるものとする。
- (2) 反芻動物の次に掲げる部位を医薬品等の原材料に用いてはならない。
 - ア 下垂体
 - イ 胸腺
 - ウ 硬膜
 - エ 三叉神経節
 - オ 松果体
 - カ せき髄
 - キ せき柱骨
 - ク 胎盤
 - ケ 頭骨
 - コ 腸
 - サ 脳
 - シ 脳せき髄液
 - ス 背根神経節
 - セ 脾臓
 - ソ 副腎
 - タ 扁桃
 - チ 眼
 - ツ リンパ節
- (3) 反芻動物に由来する原材料（乳を除く。）を医薬品等に用いる場合には当該反芻動物の原産国は次に掲げる国でなければならない。ただし、羊毛、ラノリン並びに皮由来ゼラチン及びコラーゲンについては、この限りではない。また、乳を原材料として用いる場合には当該反芻動物の原産国は、英国及びポルトガル以外の国でなければならない。
 - ア アルゼンチン
 - イ インド

- ウ ウルグアイ
- エ エルサルバドル
- オ オーストラリア
- カ ケニア
- キ コスタリカ
- ク コロンビア
- ケ シンガポール
- コ スワジランド
- サ チリ
- シ ナイジェリア
- ス ナミビア
- セ ニカラグア
- ソ ニューカレドニア
- タ ニュージーランド
- チ パキスタン
- ツ パナマ
- テ バヌアツ
- ト パラグアイ
- ナ ブラジル
- ニ ボツワナ
- ヌ モーリシャス

- (4) 反芻動物^{すう}に由来する原材料についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
- ア 原産国
 - イ 原材料を作製した年月日
 - ウ 原材料の由来となる反芻動物^{すう}の飼育又はと畜の状況
 - エ 原材料について伝達性海綿状脳症を防止するための処理及び作業の経過
 - オ 原材料のロットの番号
- (5) 医薬品、医薬部外品及び医療機器については、治療上の効果が当該原材料を用いることによるリスクを上回る場合その他必要な場合において、(2)又は(3)に適合しない原材料をやむを得ず使用する場合は、その妥当性について、薬事法に基づく製品の製造販売の承認の際に交付される承認書に記載することとする。
- (6) 化粧品については、(3)に適合しない原材料をやむを得ず使用する場合は、厚生労働省医薬食品局長が定める必要な条件に適合するもののみを使用することができる。

動物細胞組織製品原料基準

(生物由来原料基準 第4「動物由来製品原料総則」の2)

- (1) 動物細胞組織製品（人以外の動物に由来する原料又は材料から構成される医薬品又は医療機器をいう。以下同じ。）の原材料となる細胞又は組織の採取に当たっては、採取の過程における病原微生物その他疾病の原因となるものの汚染を防ぐために必要な措置を講じなければならない。
- (2) ドナー動物は、次のいずれにも該当し、動物細胞組織製品の原料又は材料となる細胞又は組織を提供するに十分な適格性を有するものでなければならない。
 - ア ドナー動物を選択するに当たっては、動物種ごとの微生物学的特性が考慮されていること。
 - イ ドナー動物の受入れ時及び受入れ後の試験検査が、当該試験検査の項目及び当該試験検査の結果を評価する基準をあらかじめ設定した上で行われていること。特に、感染症等に関する試験検査については、動物種ごとに検査すべき項目が異なる点に留意すること。
 - ウ ドナー動物の受入れに際して、感染症等の伝播を防止するための措置が適切に行われていること。
 - エ ドナー動物の飼育管理に関する実施方法及び手順を記載した標準操作手順書が作成されていること。
 - オ 感染症等の伝播を防止するため、ドナー動物の飼育管理が封じ込めの設備その他の適切な設備を有する施設で行われていること。
 - カ ドナー動物が動物福祉の精神に基づいて取り扱われていること。
- (3) 動物の生きた細胞又は組織を用いる場合にあっては、ウイルス感染リスクの検証を行わなければならない。
- (4) (3)以外の場合にあっては、無菌性が担保されていること及びウイルス感染リスクの検証が行われていることを確認しなければならない。
- (5) 動物細胞組織製品の原料又は材料となる動物の細胞又は組織についての、品質及び安全性確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
 - ア 当該細胞又は組織を採取した施設
 - イ 当該細胞又は組織を採取した年月日
 - ウ ドナー動物の受入れ並びに試験検査及び飼育管理の状況
 - エ 当該細胞又は組織を採取する作業の過程
 - オ 当該細胞又は組織のロットの番号
 - カ アからオまでに掲げるもののほか、当該動物細胞組織製品の品質及び安全性の確保に関し必要な事項
- (6) 動物細胞組織製品の原料又は材料として用いる細胞及び組織については、採取するために必要な衛生管理を行うのに十分な人員及び設備を有する施設で採取されたものでなければならない。

動物由来原料基準

(生物由来原料基準 第4「動物由来製品原料総則」の3)

- (1) 動物細胞組織製品の原材料以外の動物に由来する原料又は材料（細菌又はウイルスの感染リスクが否定されていることが科学的に公知のものとされるものを除く。以下動物由来原料基準において同じ。）の原材料は、薬事法に基づく製品の製造販売の承認の際に交付される承認書に別に記載されている場合を除き、健康な動物に由来するものでなければならない。健康な動物に由来することが確認できない場合にあつては、無菌性が担保されていること及びウイルス感染リスクの検証が行われていることを確認しなければならない。
- (2) 原材料について、動物の原産地、使用部位等を明らかにするとともに、細胞又は組織の入手方法について明らかにしなければならない。
- (3) 特性解析された動物（哺乳類、鳥類及び昆虫類）に由来するセル・バンクを出発基材とした細胞培養により生産される製品については、ヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のあるウイルスの存在の有無を確認するために、細胞株や培養終了後の細胞については、ウイルス試験を少なくとも一度は行わなければならない。さらに、未加工又は未精製バルクの段階において、適切にウイルス試験を実施しなければならない。ただし、工程をごく一部進めることによってウイルス試験がより高感度に行える場合にはこの限りではない。本試験において、外来性ウイルスが検出された場合には、原則として、製品を製造するために用いてはならない。
- (4) 生きた動物全体を出発基材として生産される製品については、(3)及び2 動物細胞組織製品原料基準 (2) の規定を準用する。
- (5) 細胞、組織又は体液から得られた原材料について、製造工程において、細菌、真菌、ウイルス等を不活化又は除去する処理を行わなければならない。
- (6) 原材料についての、品質及び安全性の確保上必要な情報が確認できるよう、次に掲げる事項が記録され、保存されていなければならない。
 - ア 原材料を作製した機関名
 - イ 原材料を作製した年月日
 - ウ 原材料の検査等の結果
 - エ 原材料を作製する作業の経過
 - オ 原材料のロットの番号
- (7) 生物由来製品に指定された製品以外の製品については、(2)から(5)までの規定を適用しないものとする。

医 薬 審 第 3 2 9 号
平成 1 2 年 2 月 2 2 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生省医薬安全局審査管理課長

「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス
安全性評価」について

近年、優れた新医薬品の地球的規模での研究開発の促進と、患者への迅速な提供を図るため、承認審査資料の国際的ハーモナイゼーション推進の必要性が指摘されている。

このような要請に応えるため、日・米・EU 三極医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議（ICH）が組織され、品質、安全性及び有効性の 3 分野でハーモナイゼーションの促進を図るための活動が行われている。

本ガイドラインは、ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価について、ICH における三極の合意事項に基づき、その標準的と思われる方法を示したものである。

貴管下関係業者に対し周知方よろしくご配慮願いたい。

ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価

目次

I. 緒言	1
II. ウイルス汚染の可能性	2
A. マスター・セル・バンク (MCB) にウイルスが存在する可能性	2
B. 医薬品製造過程で迷入する可能性	3
III. 細胞株適格性試験：ウイルス試験	3
A. マスター・セル・バンク (MCB) 、ワーキング・セル・バンク (WCB) 又は医薬品製造のために <i>in vitro</i> 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL) におけるウイルス試験	3
1. マスター・セル・バンク	3
2. ワーキング・セル・バンク	3
3. 医薬品製造のために <i>in vitro</i> 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL)	4
B. ウイルス検出及び確認のために推奨される試験	4
1. レトロウイルス試験	4
2. <i>In vitro</i> 試験	5
3. <i>In vivo</i> 試験	5
4. 抗体産生試験	5
C. ウイルスが検出された細胞株の使用について	5
IV. 未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験	5
V. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領	6
VI. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析	9
A. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択	10
1. 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」	10
2. その他の留意事項	11
B. ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実施要領	11
1. 施設とスタッフ	11

2. 製造システムのスケールダウン11
3. ウイルス不活化／除去に関する製造段階毎の解析12
4. 不活化と物理的除去の区別12
5. 不活化に関する事前評価13
6. カラムの機能と再利用13
7. 特別な留意事項13
C. ウイルスクリアランス試験の解釈14
D. ウイルスクリアランス試験の限界16
E. 統計17
F. ウイルスクリアランスの再評価が必要な場合17
VII. まとめ 17
用語解説 19

表 1 : 各細胞レベルで1度は実施すべきウイルス試験
表 2 : ウイルス試験に用いられるアッセイ法の例とその限界
表 3 : 抗体産生試験において検出されるウイルス
表 4 : ウイルスクリアランス工程評価と精製バルクにおけるウイルス試験に関する実施要領

付録 1 : 特性解析されたセル・バンクを <i>in vivo</i> で増殖することにより生産される製品
付録 2 : ウイルスクリアランス試験のためのウイルスの選択
表 A-1 : ウイルスクリアランス試験に用いられたことのあるウイルスの例
付録 3 : ウイルス力価測定における統計学とその留意点
低濃度ウイルス液の検出確率
付録 4 : ウイルスクリアランス試験でのクリアランス指数の計算方法
付録 5 : 投与量当たりの推定ウイルス粒子数の計算方法

ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価

I. 緒言

本文書は、ヒトや動物（ホ乳類、鳥類、昆虫類）由来の特性解析がなされた細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性にかかわる試験及び評価のあり方に関するものである。また、承認申請書に添付されるべきデータの概略を述べたものである。本文書において、ウイルスという用語には、ウシ海綿状脳症（BSE）やスクレーピーに関連する従来の範疇にはない伝播因子は含まないものとする。BSEに関しては申請者が規制当局に個別に相談すること。

本文書の適用範囲は、特性解析されたセル・バンクを出発基材とした細胞培養により生産された医薬品とする。適用対象には、インターフェロン、モノクローナル抗体、組換えサブユニットワクチンを含む組換え DNA 技術応用医薬品など、*in vitro* 細胞培養から得られた医薬品が含まれる。また、ハイブリドーマを *in vivo* で増殖し、腹水から得られた医薬品なども含まれる。後者の場合、特別な考慮が必要である。細胞を *in vivo* で増殖して得た製品について検討する際の必要な情報は付録 1 に追加記載されている。不活化ワクチンや自己複製因子を含むすべての生ワクチン、遺伝子工学によって作られた生きたベクターは本文書の適用範囲から除外する。

製品へのウイルス汚染の危険性は、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品すべてに共通するものである。そのようなウイルス汚染が発生すれば、臨床的使用において深刻な事態を招く可能性がある。製品のウイルス汚染は、医薬品生産基材としての細胞株自身のウイルス汚染、あるいは製造過程における外部からのウイルスの迷入によりもたらされる可能性があるが、今日まで、細胞株由来のバイオテクノロジー応用医薬品によりウイルス感染が発生したという事例はない。しかし、ウイルス汚染に関するこれらの製品の安全性は、しかるべき方策によって合理的に保証することが望まれる。その方策とは、以下に述べるように、適切なウイルス試験プログラムを適用すること、並びに製造工程におけるウイルス不活化及び除去に関する評価を行うことである。

バイオテクノロジー応用医薬品において発生する可能性があるウイルス汚染を防ぐためには、以下の 3 つの主要な相補的アプローチがある。

- a) ヒトに対して感染性や病原性を示す可能性のあるウイルスの存在を否定するために、細胞株、その他培地成分を含む原材料を選択し、試験すること。
- b) 製造工程の感染性ウイルス不活化／除去能力を評価すること。

c) 製造工程の適切な段階において、製品の感染性ウイルス否定試験を行うこと。

ウイルス試験には、統計的理由により低濃度のウイルスを検出するときの感度がサンプルサイズに依存するなど、定量性の面で固有の限界がある。したがって、それだけで医薬品の安全性を確立するのに十分というアプローチはない。最終製品に感染性ウイルスが存在しないという、より確実な保証は、多くの場合、製品を直接試験して否定することのみでは得られず、その精製法のウイルス不活化／除去能力を併せて示すことによって得られる。

製造の各段階でどのようなウイルス試験及びウイルスクリアランス試験をどの程度実施すべきかは様々な要素により異なるので、ケースバイケースかつステップバイステップの原則で考える必要がある。考慮すべき要素としては、①セル・バンクの特性解析と適格性確認の程度、②検出されたすべてのウイルスの種類・性質、③培地成分、④培養方法、⑤施設及び設備の仕様、⑥細胞培養後のウイルス試験の結果、⑦工程のウイルス不活化／除去能力、⑧製品のタイプや臨床上的使用目的・用法等が含まれる。

本文書の目的は、ウイルス試験及びウイルスクリアランスの評価に必要な試験並びにそれらをどのようにデザインすればよいかについての方策を関係付け、包括的に示すことである。用語解説を末尾に、関連事項を付録に記載した。

製造業者は、それぞれの製品や製造工程について、ウイルスに対する安全性を保証するための総合戦略の中で採用したアプローチを説明し、その妥当性を示す必要がある。その際、本文書で推奨されているアプローチを、合理性がある限り適用すべきである。承認審査を迅速に行うため、詳細なデータに加えて、ウイルス安全性評価に関する総括を記載すること。この総括には、本文書に記載されているようなウイルス汚染を防ぐための方策とウイルス安全性に関する試験すべてを網羅した見解を簡潔に記述する必要がある。

II. ウイルス汚染の可能性

バイオテクノロジー応用医薬品のウイルス汚染は、細胞株に起因するものと製造工程中におけるウイルスの迷入に起因するものがある。

A. マスター・セル・バンク (MCB) にウイルスが存在する可能性

細胞には、潜伏感染又は持続感染状態のウイルス（例えばヘルペスウイルス）、あるいは内在的なレトロウイルスが存在している可能性がある。これは、ウイルスゲノムが細胞内に持続的に保持されているためである。これらのウイルスは1つの細胞世代から次の世代に垂直伝播することができ、細胞内に構成的に発現している、あるいは感染性ウイルスとして予期せぬ発現をしているものと考えられる。

ウイルスは次のような経緯により MCB に混入してくる可能性がある。1) 感染した

動物からの細胞株の入手、2) 細胞株を樹立するためのウイルスの使用、3) 汚染された生物起源由来の試薬（例：動物血清成分）の使用、4) 細胞取扱い中における汚染。

B. 医薬品製造過程で迷入する可能性

外来性ウイルスは、次のような経路により最終製品に迷入する可能性がある（ただし、これに限定されるわけではない）。1) 培養等に使用する血清成分のような生物起源由来の試薬が汚染されている、2) 目的タンパク質をコードする特定の遺伝子の発現を誘導するためのウイルスの使用、3) 精製等に使用するモノクローナル抗体アフィニティークロマトグラフ用カラムのような試薬が汚染されている、4) 製剤化に使用する添加剤が汚染されている、5) 細胞及び培養液の取扱い中における汚染。なお、細胞培養パラメータをモニターすれば、外来性ウイルスの汚染の早期発見に役立つ。

III. 細胞株適格性試験：ウイルス試験

バイオテクノロジー応用医薬品の製造に用いる細胞株の適格性試験において、ウイルス試験は重要な項目の1つである。

A. マスター・セル・バンク (MCB)、ワーキング・セル・バンク (WCB) 又は医薬品製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL) におけるウイルス試験

表1に MCB、WCB 又は CAL の各細胞レベルで1度は実施すべきウイルス試験の例を示す。

1. マスター・セル・バンク

MCB においては、内在性及び非内在性のウイルスによる汚染の有無を徹底的に検討する必要がある。ヒト又はヒト以外の霊長類細胞に由来するウイルス汚染は特に安全性上問題となる可能性があるため、これらの細胞をパートナーとするヘテロな融合細胞株については、ヒトを含む霊長類に特有のウイルスを検出するための試験を実施すること。

非内在性ウイルスの存在の有無を検討するには、*in vitro* 試験、*in vivo* 試験、及びその他細胞種特異ウイルス試験（マウス抗体産生 (MAP) 試験のような種特異性試験を含む）が必要である。細胞種特異ウイルス試験とは、細胞株個々の継代経歴から混入が予測されるウイルスを検出するために適した試験である。

2. ワーキング・セル・バンク

医薬品製造のための出発細胞基材としての各 WCB については、それ自体を対象に、又は WCB を培養した CAL の段階で、外来性ウイルスに関する試験を実施すること。適切な非内在性ウイルスの試験が、WCB のもとである MCB で実施され、かつその WCB に由来する CAL において外来性ウイルスの試験が実施されている場合、同様の試験は当該 WCB では不要である。抗体産生試験は、通常、WCB では不要である。もう1つのア

アプローチとして、WCB について、MCB において必要とされるすべての試験を実施し、MCB における試験の代わりとしてもよい。

3. 医薬品製造のために *in vitro* 細胞齢の上限にまで培養された細胞 (CAL)

医薬品製造に用いる際の細胞の *in vitro* 細胞齢の上限は、医薬品製造のために提案された *in vitro* 細胞齢又はそれを超えて、パイロットプラントスケール又は実生産スケールの条件で培養された製造細胞のデータに基づいて設定すること。この場合、製造細胞は WCB から調製されるのが一般的であるが、MCB から調製してもよい。

内在性ウイルスについては、MCB、WCB で検出されないものもありうるので、CAL で必ず 1 度は、その存在の有無について試験を実施し、評価する必要がある。

なお、CAL について、適切なウイルス試験（例えば *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験）を少なくとも 1 度は実施することによって、製造工程が外来性ウイルスに汚染されていないことがより一層確実になる。この段階で外来性ウイルスが認められた場合、原因を明らかにするため製造工程を厳密に調査し、対応策を講ずること。場合によっては工程を根本的に設計しなおす必要がある。

B. ウイルス検出及び確認のために推奨される試験

内在性ウイルスや外来性ウイルスを検出するための試験には様々なものがある。代表的な試験の例を表 2 に示す。これらは現時点において推奨される方法ではあるが、必ずしもすべての試験法が網羅されているわけではない。また、これらを用いなければならぬと定めたものでもない。最も適切な技術は科学の進歩とともに変わると考えられるので、適切な資料が提出されれば記載されたもの以外でもよい。製造業者は新たに提案する技術について、当局と協議することを勧める。

表 2 に示された試験以外の特殊な試験が必要なケースもある。

試験を実施する際には十分な感度と特異性を確認するための適切なコントロールを置く必要がある。

細胞基材の由来からみて、当該種に特異的に存在する可能性が高い特定のウイルスが予想される場合は、それに対応する試験及びアプローチが必要であろう。製造に用いられる細胞がヒト又はヒト以外の霊長類由来である場合、妥当な理由がない限り、免疫不全症や肝炎などの疾病を引き起こす可能性のあるヒトウイルスに関する試験を追加実施すべきである。NAT 法（核酸増幅法）は、これらのヒトウイルスやその他のウイルスの存在の有無を塩基配列の面から検出するのに適切な方法である。以下には、製造業者が試験の実施計画を立案し、あるいは実施した試験を評価する際、その妥当性を総括し、また、理論的根拠を示す上で参考になる事項を概説する。

1. レトロウイルス試験

MCB と CAL については、感受性細胞を用いた感染性試験と電子顕微鏡観察を含むレトロウイルス試験を行うこと。感染性が認められず、レトロウイルス又はレトロウイルス様粒子が電顕で認められない場合、非感染性のレトロウイルスの有無について検討するため、逆転写酵素活性の試験を含む適切な試験を実施すること。なお、レトロウイルスを試験するための誘導試験 (induction) は、有用な方法ではないことが明らかになっ

てきている。

2. *In vitro* 試験

In vitro 試験は、広範囲のヒトウイルスやある種の動物ウイルスを検出することができる感受性を有する各種指示細胞に、被検試料を接種することにより実施する。本試験に使用する細胞の種類は試験対象となるセル・バンクがどのような種由来であるかによって左右されるが、ヒトウイルスに感受性のあるヒト及びヒト以外の霊長類に由来する細胞を含むべきである。どのような試験方法及び被検試料で試験を実施するかは、細胞基材の由来やその調製過程からみて混入の可能性が考えられるウイルスの種類に応じて決定すること。細胞変性及び血球凝集を判定法とするウイルス検査を実施すること。

3. *In vivo* 試験

被検試料（表2）を乳飲みマウス、成熟マウスを含む動物、及び発育鶏卵に接種することにより、細胞培養（*in vitro* 試験）では増殖できないウイルスを検出するための試験である。細胞基材の特性や由来によっては、動物種を追加して試験を実施する場合もありうる。被検動物の健康状態を観察し、異常が認められた場合は、その病因を調査すること。

4. 抗体産生試験

げっ歯類由来細胞株中に存在する可能性がある種特異的ウイルスについては、被検試料（表2）をウイルスフリーの動物に接種し、一定期間後、被検動物血清中の抗体レベルあるいは酵素活性を測定することにより検出できる。例としてマウス抗体産生（MAP）試験、ラット抗体産生（RAP）試験、ハムスター抗体産生（HAP）試験がある。現在、これら抗体産生試験によりスクリーニングされているウイルスを表3に示す。

C. ウイルスが検出された細胞株の使用について

医薬品の製造に用いる細胞株には、内在性のレトロウイルス、その他のウイルス、あるいはウイルス由来の塩基配列を含むことが知られているものがある。そのような場合に製造業者が行うべき対応策が本文書の第V章に記載されている。内在性のレトロウイルス以外のウイルスが存在する細胞株の使用の可否は、ケースバイケースで規制当局が考慮することになるが、その際、製品のベネフィットや予定される臨床上的用途、混入するウイルスの種類・性質、ヒトへの感染性又は病原性、製品の精製工程（ウイルスクリアランスに関する評価データ等）、及び精製バルクにおいてどの程度のウイルス試験を実施したかなどに基づくリスク／ベネフィットのバランスを勘案し、判断することになる。

IV. 未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験

未加工／未精製バルクは、培養後にハーベストされた細胞及び培養液の単一又は複数のプールからなる。未加工／未精製バルクが必ずしも細胞を含まず培養液からなる場合もあ

る。すなわち、中空糸又は類似のシステムなどの例では、細胞がハーベストとして採取されにくい場合もある。

未加工／未精製バルクとして典型的なサンプルは、培養槽から取り出されたのち処理を行っていないものである。これは、外来性ウイルス汚染の可能性を高確率で検出するのに最も効果的な段階の 1 つである。ウイルス試験はこの未加工／未精製バルクの段階で適切に実施されるべきである。ただし、ごく一部工程を進めることによってウイルス試験がより高感度に行える場合には、この限りではない（例：未加工／未精製バルクがウイルス試験に用いる培養細胞に毒性を示すが、部分的に処理したバルクにおいては毒性を示さないようなケース）。培養槽から取り出されたそのままの細胞、破碎細胞及び培養上清からなる混合物を、処理を施すことなく試験することが、より適切な場合もある。

承認申請時には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールから得た未加工／未精製バルクの少なくとも 3 ロットのデータを申請資料の一部として提出する必要がある。

なお、以降の各製造バッチ中の外来性ウイルスについても、製造業者が引き続き評価するための計画を作成することが望まれる。この未加工／未精製バルクにおけるウイルス試験の範囲、程度及び頻度を決定するにあたっては、以下のような諸点を考慮する必要がある。例えば、目的産物を生産するために用いられる細胞株の種類・性質、細胞株の適格性試験のため実施されたウイルス試験の程度と試験結果、培養方法、原材料の起源とウイルスクリアランス試験の結果などである。未加工／未精製バルクにおける試験として一般に用いられているのは、1 種又は数種の細胞株を用いる *in vitro* スクリーニング試験である。なお、適宜、NAT 法その他の適切な試験法を用いるとよい。

一般に、外来性ウイルスが検出されたハーベストは、医薬品等を製造するために用いるべきではない。もしこの段階で何らかの外来性ウイルスが検出されたならば、その汚染の原因を突きとめるために製造工程を注意深く点検し、適切な対応をとるべきである。

V. ウイルスクリアランス試験と精製バルクにおけるウイルス試験の意義、考え方及び実施要領

MCB から医薬品製造の様々な段階を経て最終製品に至る間において、それぞれに最も適切で合理的なウイルス試験、及び未加工／未精製バルクからのウイルスクリアランスの評価試験・特性解析試験を実施するためのプロトコールを設定することは重要である。

このうち、ウイルスクリアランス評価試験と特性解析試験は、特に中心的な役割を果たす。プロトコールの設定にあたっては、製品がウイルスに汚染されていないことを最も確実に、かつ合理的に保証することを目標とするべきである。

クリアランス試験に用いるウイルスを選定するにあたって、存在することが知られているウイルスを除去する能力について製造工程を評価する必要がある場合と、「非特異的モデルウイルス」（後述）を用い製造工程のウイルスクリアランスに関する特性を解析する

ことにより工程のもつクリアランス能力 (robustness) を評価したい場合とを区別して考えた方がよい。「関連 (relevant) ウイルス」、「特異的 (specific) モデルウイルス」及び「非特異的 (non-specific) モデルウイルス」の定義については、用語解説を参照のこと。ウイルスクリアランスの工程評価にあたっては、①未加工／未精製バルク等の製造工程中にウイルスがどれだけの量存在するか、②製造工程でウイルスがどの程度不活化／除去され、生産物の安全性を評価できるか、に関する知見が必要である。不活化工程の効果を保証するために、不活化の時間依存性を調べることは有用である。存在することが知られているウイルスのクリアランスを評価する場合には、不活化の時間依存性に関する詳細な検討、不活化／除去の再現性の実証、及びプロセスパラメータの評価が必要である。「非特異的モデルウイルス」を用いて製造工程のもつクリアランス能力の特性を解析する場合には、試験デザインの際に、非エンベロープ型ウイルスの使用を考慮することが必要である。ウイルスクリアランス工程特性解析試験をどの程度まで行うかは、細胞株及び未加工／未精製バルクに関するウイルス試験結果により判断されなければならない。これらの試験は後述 (第VI章) のごとく実施されるべきである。

表4は、細胞及び未加工／未精製バルクについてのウイルス試験の結果に対応したウイルスクリアランス工程評価試験、ウイルスクリアランス工程特性解析試験及び精製バルクにおけるウイルス試験に関する実施要領を示している。様々なケースが想定されるが、以下のすべてのケース (A、B、C、D、E) において、「非特異的モデルウイルス」を用いたクリアランスの特性解析を実施するべきである。最も一般的なケースは、ケースAとケースBである。げっ歯類のレトロウイルス以外のウイルスに汚染されたケースは、通常、医薬品の製造方法としては使用しない。ケースC、D又はEにあたる細胞株を用いて医薬品製造を行おうとする場合で、その必要性が認められ、かつ理由を十分に説明できるという場合は、その使用について規制当局と協議すべきである。ケースC、D及びEの場合、当該ウイルスを有効に不活化／除去することが検証された工程を、製造工程中に有していることが重要である。

ケースA：細胞又は未加工／未精製バルク中にウイルス、ウイルス様粒子又はレトロウイルス様粒子のいずれの存在も認められないケースである。本ケースでは前述のごとく、ウイルスの不活化／除去の検討は「非特異的モデルウイルス」を用いて実施すること。

ケースB：げっ歯動物のレトロウイルス (又は、げっ歯動物のA型粒子及びR型粒子のような非病原性であるとされているレトロウイルス様粒子) のみが細胞又は未加工／未精製バルク中に存在するケースである。本ケースでは、マウス白血病ウイルス (Murine Leukemia Virus) 等の「特異的モデルウイルス」を用いた工程評価試験が実施されるべきである。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用いて試験すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。CHO、C127、BHK等の細胞株、及びネズミのハイブリドーマ細胞株は医薬品製造にしばしば用いられているが、ウイルス汚染に起因する安全上の問題は報告

されていない。これらの細胞株の内在性レトロウイルス様粒子は十分に解析されており、クリアランスも示されていることから、精製バルクでの内在性レトロウイルス様粒子に関する試験は、通常、不要である。ケースAに述べたような「非特異的モデルウイルス」を用いた検討は、実施する必要がある。

ケースC：細胞又は未加工／未精製バルク中に、げっ歯類のレトロウイルス以外のウイルスが存在しているが、ヒトへの感染性は知られていないケースである（表3、脚注2で特定されているもの等で、げっ歯動物のレトロウイルス（ケースB）以外のもの）。本ケースでウイルスの不活化／除去の工程評価試験を行う際には、存在しているウイルスそのものを用いること。そのウイルスを用いることが不可能な場合、「関連ウイルス」又は「特異的モデルウイルス」を使用し、クリアランスの程度が受け入れられるに足るものであることを示すこと。工程評価試験には、これらのウイルスの不活化試験が含まれるべきであり、そのうちの特に重要な不活化工程においては、同定されたウイルス（又は「関連／特異的モデルウイルス」）の不活化の時間依存性に関してデータを得ること。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を用いた試験を実施すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。

ケースD：ヒトへの病原性が知られているウイルス（表3、脚注1などに示されたもの）が細胞又は未加工／未精製バルク中に検出され、同定されたケースである。本ケースからの製品は、例外的な場合のみ認められることになる。この場合、検出されたウイルスそのものをウイルス不活化／除去の評価試験に用いること、及び当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する検出方法を用いることを推奨する。検出されたウイルスそのものを使用することができない場合は、「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を使用すること。精製工程及び不活化工程において当該ウイルスが不活化／除去されることを証明すること。工程評価試験には当該ウイルスの不活化工程を含み、そのうちの特に重要な不活化工程においては、不活化の時間依存性に関してデータを得ること。

精製バルクについては、当該ウイルスに対する高い特異性と感度を有する適切な検出方法を用いた試験を実施すること。承認申請の際には、パイロットプラントスケール又は実生産スケールで製造された少なくとも3ロットの精製バルクに関するウイルス試験データを提出すること。

ケースE：現在適用可能な方法によっては分類することができないウイルスが細胞又は未加工／未精製バルクに検出された場合、そのウイルスに関して病原性が示されることもありうるので、その生産物は、通常、認められないと考えられる。極めて希なケースとして、そのような細胞株を用いた医薬品製造を行おうとする場合で、その必要性が認められ、かつ理由を十分に説明できるという場合であっても、開発を進める前に規制当局と協議するべきである。

VI. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析

ウイルス不活化や除去に関する工程評価と工程特性解析は、バイオテクノロジー応用医薬品の安全性を確立するために重要である。過去におけるウイルス汚染の事例の多くは、存在が知られていない、あるいは予測だにされていなかったウイルスにより引き起こされている。こうした過去の事例は、様々な起源に由来する生物起源由来製品で起こったことであって、十分に特性解析された細胞株での例ではない。しかし、十分に特性解析された細胞株由来の製品においても、ウイルスクリアランスに関する評価を行っておくことは、未知の、あるいは不測の有害ウイルスを除去できることへの一定限の保証になる。ウイルスクリアランス試験の実施にあたっては、試験の計画、経過、結果及び評価を文書化するとともに、試験の管理を十分に行う必要がある。

ウイルスクリアランス試験の目的は、ウイルス不活化や除去に有効であると考えられる工程について評価すること、及びそれらの各工程を併せて、全体としてウイルスがどの程度減少したかを定量的に評価することにある。この目的を達成するには、未加工/未精製バルクや製造工程における様々な段階に、しかるべき量のウイルスを意図的に添加（スパイク）し、以降のそれぞれの工程を経る間に、添加されたウイルスがどの程度除去又は不活化されるかを示す必要がある。もし、いくつかのステップにより十分なクリアランスが示されるのであれば、必ずしも製造工程のすべての工程について工程評価又は工程特性解析する必要はない。しかし、評価対象以外のステップが、ウイルスの不活化/除去に関する結果に、間接的に影響を与える可能性についても留意しておくべきである。製造業者は、ウイルスクリアランス試験に用いたアプローチについて説明し、その妥当性を明らかにする必要がある。

ウイルス量（ウイルス感染性）は、ウイルス粒子の除去又はウイルス感染性の不活化により減少する。ウイルスクリアランスに関して評価の対象とした各製造工程については、ウイルス量減少のメカニズムが不活化によるのか除去によるのかに関して推定し、記載すること。不活化を評価しようとする工程における試験に際しては、時間を変えて検体をサンプリングし、不活化曲線が描けるように計画すべきである（第VI章、B.5参照）。

ウイルスクリアランス工程評価試験は、MCBに存在することが知られているウイルスのクリアランスを証明するために実施される。これに加えて、検出を免れた外来性ウイルス、又は製造工程中に迷入する可能性がある外来性ウイルスのクリアランスに関しても、ある程度の保証を与えるために実施される。減少度は、通常、対数で表わされる。したがって、残存ウイルス量がゼロにまで減少することはない一方で、残存ウイルス量が数学的にみると大きめに減少することもありうる。

上記のような、細胞などに存在が知られたウイルスを対象とするウイルスクリアランス工程評価試験に加えて、それ以外のウイルスを不活化/除去する能力に関する工程の特性を評価する試験を行うべきである。この工程特性解析試験では、細胞などに存在が知られていないか又は存在が予測されていないウイルスで、かつ広範な生化学的・生物物理的性

質を有するウイルスを用いる。その目的は、特定のウイルスの不活化／除去を達成するという目的のものとは異なり、対象とする工程のもつクリアランス能力の特性を解析することにある。どの製造工程がどの程度のウイルス不活化／除去能力を有するのかを明らかにすることが望ましい（第VI章、C参照）。これらの試験は、特定のウイルスによるリスクに対する安全性を評価するために行うわけではない。したがって、クリアランスに関して特定の数値目標が達成される必要はない。

A. ウイルスクリアランスの工程評価及び工程特性解析のためのウイルスの選択

クリアランス工程評価及び工程特性解析に使用されるウイルスとしては、製品を汚染する可能性のあるウイルスと同様とみなされるウイルス、及び一般的にウイルスを排除するためのシステムの能力をテストする目的に適う物理的・化学的に広範な特性を持ったウイルスを選択すべきである。製造業者は、工程評価試験及び工程特性解析試験の目的並びに本ガイドラインに示されたガイダンスに従って、ウイルスの選択の妥当性を説明する必要がある。

1. 「関連ウイルス」と「モデルウイルス」

ウイルススクリアランス試験を実施する上での重要な点は、どのようなウイルスを使用するか決定することである。使用するウイルスは「関連ウイルス」、「特異的モデルウイルス」及び「非特異的モデルウイルス」の3つのカテゴリーに分けられる。

「関連ウイルス」とは、製造工程で使用される細胞基材、その他の試薬類や各種物質に混在することが知られているか、あるいは存在の可能性があるウイルス類と同一又は同種のウイルスで、ウイルススクリアランスに関する工程評価試験に用いられるものである。精製工程や不活化工程がこれら「関連ウイルス」を不活化／除去する能力があることを示す必要がある。この「関連ウイルス」の入手が困難であったり、ウイルススクリアランスに関する工程評価試験にうまく適用できない（例えば、*in vitro* で十分に高力価になるまで培養できない）場合には、代替として「特異的モデルウイルス」を用いることになる。適切な「特異的モデルウイルス」とは、存在が知られている、あるいは存在が疑われるウイルスに密接に関連しているウイルス、すなわち同一の属もしくは科のもので、検出されたウイルスあるいは存在が疑われるウイルスと類似した物理的・化学的性質を有するものである。

げっ歯類由来の細胞株には、通常、内在性レトロウイルス粒子又はレトロウイルス様粒子が存在しており、それらには感染性のもの（C型粒子）又は非感染性のもの（細胞質A型又はR型粒子）がある。それらの細胞由来の生産物については、その製造工程がげっ歯類レトロウイルスを不活化／除去する能力を有していることを明らかにしておく必要がある。このためには、ネズミ由来の細胞の場合、マウス白血病ウイルス（Murine Leukemia Virus）を「特異的モデルウイルス」として用いるとよい。エプスタイン・バーウイルス（Epstein-Barr Virus、EBV）によりBリンパ球を不死化することで得られたモノクローナル抗体を分泌するヒト細胞株の場合は、その製造工程が（何らかの）ヘルペスウイルスを不活化／除去する能力を有していることを明らかにしておくべきである。仮性

狂犬病ウイルス（Pseudorabies Virus）も「特異的モデルウイルス」として使用できる。

ある工程がウイルスの除去や不活化に関して一般にどの程度の能力を有するかを解析することが目的である場合、すなわち当該工程が確実にウイルスクリアランス能力を発揮するという面での特性（robustness）を解析することが目的である場合に実施するウイルスクリアランス特性解析試験では、異なる性質を持つ様々な「非特異的モデルウイルス」を用いる必要がある。

「関連ウイルス」や「特異的モデルウイルス」を用いた試験により得られたデータが、こうした面での評価資料として利用できる場合もある。ウイルスタイプのすべてにわたって試験する必要はない。物理的処理や化学的処理に対して特に抵抗性を示すウイルスを優先して選択するべきである。それらのウイルスにより得られた結果は、製造工程のウイルス不活化／除去能力に関する一般的で有益な情報となる。どのようなウイルスを何種類選択するかは、細胞株の品質とこれをどう解析したかやどのような製造工程であるかに依存する。

広範囲な物理的・化学的構造を示す有用なモデルウイルスの例、及び過去にウイルスクリアランス試験に使用された実績のあるウイルスの例を付録2と表A-1に示す。

2. その他の留意事項

その他の留意点は以下のとおりである。

- a) 高力価の材料が調製できるウイルスが望ましい。ただし、これがいつも可能であるとは限らない。
- b) 使用するそれぞれのウイルスの検出に関して、試験対象の各製造工程において、効果的で信頼性の高いアッセイ法が確立されている必要がある。
- c) ウイルスの選択にあたっては、クリアランス試験従事者に健康被害をもたらす可能性を考慮するべきである。

B. ウイルスクリアランスの工程評価試験及び工程特性解析試験のデザインと実施要領

1. 施設とスタッフ

製造施設にウイルスを持ち込むことは、GMP上からみて適切ではない。したがって、ウイルスクリアランス試験は、ウイルスを取り扱う上で適切な設備を備えた別の実験施設で行われるべきである。また、精製工程のスケールダウンを設計し、準備に関与した製造担当者とウイルスの専門知識を有する者が共同して試験を実施するべきである。

2. 製造システムのスケールダウン

スケールダウンの妥当性を明らかにすること。スケールダウンした精製工程の各要素は、実際の製造工程をできるかぎり反映したものとすべきである。クロマトグラフ装置については、カラムベッド高、線流速、ベッド容量に対する流速の比率（すなわち接触