

P5: 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。

P5: 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。

要点は、「レトロウイルス及び内在性ウイルス試験については、感染性試験、電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、その他細胞種特異ウイルス試験を MCB と CAL に対して行う。」「非内在性又は外来性ウイルス試験については、in vitro 試験、in vivo 試験を MCB と CAL に対して行い、抗体産生試験、その他細胞種特異ウイルス試験を MCB に対して行う」「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」である。

ICH Q5D には以下の通りに記載されている。

P9: 細胞基材のウイルス試験は、細胞株の培養歴を考慮し、汚染の可能性があるウイルスを検出するために、適切なスクリーニング法及び特異性の高い試験法を用いて、幅広い種類のウイルスを検出できるよう計画すべきである。

ICH Q6B には以下の通りに記載されている。

P22: 製造工程中で意図的に添加したウイルス、内在性のウイルス、及び製造工程に迷入する可能性のあるウイルスについては、製造工程のウイルス除去／不活化の能力を示す必要がある。

CBER Guidance for Industry には以下の通りに記載されている。

P4: Retroviruses may be either endogenous (i.e., encoded by the cell substrate genome) or exogenously acquired. Retrovirus testing should address the possibility that either type of retrovirus could contaminate a product.

P11: Tests that you might perform on your MCB include tests for bacteria, fungi, mycoplasma, and viruses (e.g., in vitro and in vivo testing, specific tests for retroviruses, and specific tests for viruses known to exist in the species of origin or that could be acquired during serial passage in cell culture).

P13: Because certain cell lines express endogenous viruses (e.g., retroviruses), tests capable of detecting such agents should be completed on cells grown under production conditions (See Section IV.A. Testing for Adventitious Agents).

P26: Retrovirus testing using reverse transcriptase (RT) assays should be performed on cell-free culture medium to detect retroviruses. RT assays can detect any retrovirus, as all retroviruses encode and contain RT. You should test cell substrates, viral seeds, and/or harvests of all viral vaccines produced in mammalian and insect cell substrates (or that use or include mammalian-derived materials) using a highly sensitive PCR-based RT (PBRT) assay. In certain situations, it may be appropriate to pre-treat the cells with chemical inducers of endogenous retroviruses.

P26: TEM can detect viral particles in a cell substrate, including those from endogenous retroviruses. Under some circumstances, it might be appropriate to pre-treat cells with chemical or inducing agents to activate production of endogenous or latent viruses (Ref. 14). While TEM is fairly insensitive, it is a test that can detect adventitious agents of many types.

P27: In cases where viruses cannot be readily grown in culture, PCR is an effective tool to assess a cell substrate for contamination with such viruses. Due to the specificity of PCR, you might need to perform multiple PCR assays in order to be able to detect the full range of viruses detectable in a single more general biological assay. You should consider the tissue source and medical history of the donor from which the cell line was

derived in determining what testing is appropriate. Specific PCR tests for human viruses that you should consider include assays for hepatitis A, B, and C viruses, enteroviruses, human HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, circoviruses, parvovirus B19, papillomaviruses, human polyomaviruses, human adenoviruses, Epstein-Barr virus, human cytomegalovirus, and human herpes viruses 6, 7, and 8. Specific tests for simian viruses that could potentially infect humans, including simian polyomaviruses (e.g., SV40), simian foamy virus (SFV), simian immunodeficiency virus (SIV), simian retrovirus (SRV), and simian T-cell lymphotropic virus (STLV), should also be considered. You also should consider using PCR assays that detect several agents using degenerate or consensus primers provided that the sensitivity of these assays is sufficient to improve assurance of product safety. PCR testing also can play an important role in qualification of insect cell substrates.

P27: Under some circumstances, for example when tumorigenic cell substrates are proposed for use, it might be appropriate for you to pre-treat cells with chemical agents known to induce reactivation or replication of endogenous or latent viruses (Ref. 14).

要点は、「内在性レトロウイルス、外来性レトロウイルス、宿主細胞が感染しうるウイルスについて試験を行う」「生産条件で培養した細胞で試験をするべき」「高い感度を持つ PBRT 法で細胞、シードウイルス、ハーベストの試験を行う。内在性レトロウイルスの誘導剤を用いるのもよい」「TEM は、感度は低いが多種の迷入ウイルスを検出できる」「ヒトおよびサルウイルスの中で、特異的 PCR 試験の標的としては以下のものがある。hepatitis A, B, and C viruses, enteroviruses, human HIV-1, HIV-2, HTLV-1, HTLV-2, circoviruses, parvovirus B19, papillomaviruses, human polyomaviruses, human adenoviruses, Epstein-Barr virus, human cytomegalovirus, and human herpes viruses 6, 7, and 8, simian polyomaviruses (e.g., SV40), simian foamy virus (SFV), simian immunodeficiency virus (SIV), simian retrovirus (SRV), and simian T-cell lymphotropic virus (STLV)」である。

【ディスカッション】

ICH Q5Aには「レトロウイルス及び内在性ウイルス試験については、感染性試験、電子顕微鏡観察、逆転写酵素活性試験、その他細胞種特異ウイルス試験を MCBとCALに対して行う。」「非内在性又は外来性ウイルス試験については、in

in vitro 試験、in vivo 試験をMCBとCALに対して行い、抗体産生試験、その他細胞種特異ウイルス試験をMCBに対して行う」とあり、さらに血清やトリプシンについてはそれらが由来するウシ・ブタの感染性因子について注意が必要な旨が記載されている。ICH Q5Dには「細胞株の培養歴を考慮し、汚染の可能性があるウイルスを検出する」とある。また、CBER Guidance for Industryに「内在性レトロウイルス、外来性レトロウイルス、宿主細胞が感染しうるウイルスについて試験を行う」とある。

研究班としてもMCB、CALに対して、内在性レトロウイルス、外来性レトロウイルス、宿主細胞が感染しうるウイルスの試験を行うことは妥当であると考ええる。

WHO TRS 878、Proposed replacement of TRS 878, Annex 1, WHO/BS/10.2132, WHO ECBS 2010 には「特に潜伏感染するウイルスについては注意が必要」とあり、WHO TRS 745 には「最大倍加数を 10 以上超えて培養された細胞に対し、化学物質による誘導をかけた状態でレトロウイルス試験を行うのがよい」とある。一方、ICH Q5A には「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」とある。よってこれについては、レトロウイルスや他の潜伏感染するウイルスに注意する必要がある、可能であれば誘導をかけた状態での試験も考慮するほうが良いとのディスカッションがなされた。

試験方法については、WHO TRS 878、Proposed replacement of TRS 878, Annex 1, WHO/BS/10.2132, WHO ECBS 2010、CBER Guidance for Industry にも示されている通り、感染性試験、TEM、従来の RTase 試験、高い感度を持つ PBRT 法、感受性細胞を用いた in vitro 試験、乳飲みマウス・成熟マウス・発育鶏卵等を用いた in vivo 試験、抗体産生試験などがあり、これらによる試験は妥当であると考ええる。

以上を踏まえて、研究班としては以下のように考える。

安全性の観点から、MCB、EOPC に対して、内在性レトロウイルス、外来性レトロウイルス、宿主細胞が感染しうるウイルスの試験を行うことは妥当であると考ええる。その他試験方法については、感染性試験、TEM、従来の RTase 試験、

高い感度を持つ PCR-based RT 法、感受性細胞を用いた in vitro 試験、乳飲みマウス・成熟マウス・発育鶏卵等を用いた in vivo 試験、抗体産生試験などが妥当であると考え。試験実施に当たっては、試験方法の原理や感度等を考慮して、多面的な解析が必要であると考え。

5) 製造の過程で混入する可能性のある外来性ウイルスの試験の範囲について

【関連する既存のガイドライン等での規定】

WHO TRS 878 には以下の通りに記載されている。

P32: For virus-based products, control cell cultures are necessary when the product interferes with the test systems used to monitor the absence of adventitious agents. These control cell cultures shall be observed at the end of the production period for viral cytopathic effects and tested for haemadsorbing viruses.

P34: Evidence that the cell line is free from cultivable bacteria, mycoplasmas, fungi and infectious viruses, and where appropriate, potentially oncogenic adventitious agents should be provided. Special attention should be given to viruses that commonly contaminate the animal species from which the cell line is derived. Cell seed should preferably be free from all adventitious agents.

要点は、「迷入ウイルスについて調べるには、コントロール培養が有用」「細胞株は、細菌、マイコプラズマ、真菌、ウイルス、がん原性を持つものなどが無いことを示す必要がある。細胞株が由来する動物種に感染するウイルスについては特に配慮が必要である」である。

ICH Q5A には以下の通りに記載されている。

P2: 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の使用目的・用法等が含まれる。

P3: 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。

P6: 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。

P7: 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。

P9: 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。

P9: 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。

P10: 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。

P11: 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。物理的处理や化学的处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。

付録2: 「非特異的モデルウイルス」: 物理的・化学的構造の異なる様々なウイルスの代表例

SV40(Polyomavirus maccacae 1)、ヒトポリオウイルス Sabin 1 型(Human Polio Virus 1 (Sabin))、動物パルボウイルス、その他の小型・非エンベロープ型ウイルス

パラインフルエンザウイルス(Parainfluenza Virus)、インフルエンザウイルス(Influenza Virus)、シンドビスウイルス(Sindbis Virus)、その他の中~大型・エンベロープ型・RNA ウイルス

ヘルペスウイルス(例:HSV-1、仮性狂犬病ウイルス(Pseudorabies Virus))、その他の中~大型・DNA ウイルス

P12: ウイルスクリアランス試験を行う際、2つ以上の製造工程について、それらがどのようなウイルス不活化/除去能力を有するかを評価することが望ましい。

ウイルスを不活化/除去することが予想される工程について、その能力を個々に評価し、それぞれが不活化工程なのか、除去工程なのか、あるいは不活化/除去いずれにも関与しているのかを慎重に検討・考察する必要がある。

要点は、「非特異的モデルウイルスをスパイクし、製造工程のもつクリアランス能力の特性を解析する。非特異的モデルウイルスの選定に関しては、複数ウイルス種を用いた広範な検討が必要であり、特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試験を行う際、2つ以上の製造工程について、それらがどのようなウイルス不活化/除去能力を有するかを評価することが望ましい」「ウイルスクリアランスに関する評価を行うておくことは、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」である。

CBER Guidance for Industry には以下の通りに記載されている。

P3: For inactivated vaccines, the concern is that the process used to inactivate the vaccine virus may not inactivate all adventitious agents potentially present (as occurred with early inactivated poliovirus vaccines [Ref. 4]). Therefore, you should validate your process for inactivation of adventitious agents using different model viruses (Ref. 2).

P4: You should also consider the species of origin of your cell substrates, viral seeds, and other biological starting materials in selecting your tests to ensure the absence of contaminants. Furthermore, you should consider any infectious viruses (including those that infect nonhuman species) as potential contaminants if there is the possibility of contact with your product or cell substrate at any time during development or production.

要点は、「ワクチンウイルスを不活化する工程では、存在しうる全ての迷入病原体を不活化することができない可能性がある。したがって、他のモデルウイルスを使って不活化工程の評価を行うべきである」「迷入病原体が存在しないことを確認するための方法を選択する際、細胞の由来、ウイルスシードの由来、材料の由来を考慮すべきである。また、製品や細胞と接触の可能性がある限りは、ヒト以外の種類も含めて、いかなるウイルスも潜在的混入ウイルスと考えるべきである」である。

EMA/CHMP/BWP/368186/2011 には以下の通りに記載されている。

P4: It should be noted that some cell lines, e.g. Vero cells, are able to propagate a wide range of (human) viruses and there is an increased risk of isolating a co-infecting human virus from a clinical specimen in addition to an influenza virus (where such co-infections exist).

要点は、「細胞株はインフルエンザウイルスだけではなく他のウイルスも増殖する危険性があることに注意すべき」である。

Proposed replacement of TRS 878, Annex 1, WHO/BS/10.2132, WHO ECBS 2010 には以下の通りに記載されている。

P12: Cells of various species used in the in vitro adventitious agent test that are intended to amplify adventitious viruses to promote their detection. Generally, this would include a human diploid cell line, such as MRC-5, a monkey kidney cell line, such as Vero cells, and a cell line of the same species and tissue as the cell bank. The purpose of these cell lines is to indicate a viral infection of the cell bank either through observation of cytopathic effect during and after an appropriate observation period or by hemadsorption and/or hemagglutination at the end of the observation period.

P38: Evidence should be provided for any animal-cell line proposed for use as a substrate for the manufacture of a biological product demonstrating that it is free from cultivable bacteria, mycoplasmas, fungi, and infectious viruses, including potentially oncogenic agents to the limits of the assay's detection capabilities. Special attention should be given to viruses that commonly contaminate the animal species from which the cell line is derived, and to cell-culture reagents of biological origin.

要点は、「迷入ウイルスについて調べるには、コントロール培養が有用」である。

「細胞株は、細菌、マイコプラズマ、真菌、ウイルス、がん原性を持つものなどがいないことを示す必要がある。細胞株が由来する動物種に感染するウイルスについては特に配慮が必要である」である。

【ディスカッション】

どのようなウイルスが混入してくるかが分からないので、モデルウイルスをスパイクし、そのクリアランスを見るという試験が重要であろう。

ICH Q5A には「非特異的モデルウイルスをスパイクし、製造工程のもつクリア

ランス能力の特性を解析する。非特異的モデルウイルスの選定に関しては、複数ウイルス種を用いた広範な検討が必要であり、特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試験を行う際、2 つ以上の製造工程について、それらがどのようなウイルス不活化/除去能力を有するかを評価することが望ましい」「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」とあり、CBER Guidance for Industry には、「ワクチンウイルスを不活化する工程では、存在しうる全ての迷入病原体を不活化することができない可能性がある。したがって、他のモデルウイルスを使って不活化工程の評価を行うべきである」とある。

非特異的モデルウイルスの選定に関しては、複数ウイルス種を用いた広範な検討が必要であるが、非エンベロープ型ウイルスは不活化工程に対する抵抗性が高いことから、これを非特異的モデルウイルスに含めてウイルスクリアランスに関する評価を行うことは妥当であると研究班としても考える。

また、WHO TRS 878, Proposed replacement of TRS 878, Annex 1, WHO/BS/10.2132, WHO ECBS 2010 には「細胞株が由来する動物種に感染するウイルスについては特に配慮が必要である」とあり、CBER Guidance for Industry には「迷入病原体が存在しないことを確認するための方法を選択する際、細胞の由来、ウイルスシードの由来、材料の由来を考慮すべきである」とある。病原体の種類としては、ヒト由来だけでなく、細胞株の動物種由来のものにも注意を払う必要があるだろう。

以上を踏まえて、研究班としては以下のように考える。

安全性を確保する観点から、非特異的モデルウイルスをスパイクし、製造工程のもつクリアランス能力の特性を解析する必要がある。非特異的モデルウイルスに関しては、非エンベロープ型ウイルスも含めた広範囲な物理的・化学的構造を示すモデルウイルスの使用を考慮すべきである。ウイルスクリアランス試験を行う際には、2 つ以上の製造工程について、それらがどのようなウイルス不活化/除去能力を有するかを評価することが望ましい。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と考える。また、外来性ウイルスとして

は、ヒト由来だけでなく、細胞株の動物種由来のものや、血清、トリプシン等の動物由来原材料に混入するもの、ウイルスシード中に混入し得るものにも注意を払う必要があるだろう。

6) HA 量を定量するための方法について

【関連する既存のガイドライン等での規定】

EMEA/CPMP/VEG/4717/03-Rev.1 には以下のように記載されている。

P6: The haemagglutinin and neuraminidase antigens of each seed lot are identified as originating from the correct strain of influenza by suitable methods. Usually, specific antisera obtained from a WHO Collaborating Centre for Influenza are used for determination of HA and NA identity. It is possible that reagents may not be available for the chosen mock-up vaccine, so alternative tests to identify the seed virus (e.g. PCR) should be developed for the mock-up vaccine.

(Core pandemic dossier の項にある、Vaccine seed lots の項から引用)

P7: Normally, influenza vaccine HA content is measured by the immunochemical single radial immunodiffusion (SRD) assay. It is possible that SRD reagents may not be available for the pandemic vaccine, so alternative tests to standardise the vaccine (e.g. protein content, immunogenicity studies in small animals) should be developed and their use validated for the mock-up vaccine. In any case, special emphasis should be placed on accurate determination of low quantities of HA.

(Core pandemic dossier の項にある、Vaccine Production の項から引用)

P8: Alternative tests to identify the seed virus (e.g. PCR), developed for the mock-up vaccine, shall be used as long as specific antisera obtained from a WHO Collaborating Centre for Influenza, are not available. When such reagents become available, SRD tests should be used for identity testing.

(Pandemic variation の項にある、Vaccine seed lots の項から引用)

P9: The alternative tests for vaccine potency, validated for the mock up vaccine, should

be used as long as SRD reagents are not available. When SRD reagents become available, they shall be used for potency testing.

(Pandemic variation の項にある、Vaccine Production の項から引用)

要点は、「パンデミックワクチンのコア部分及びパンデミックワクチンバリエーションにおける、シードロット及びワクチン製剤に対する試験については、HA の量は SRD 試験によって測定する。SRD 試薬が入手できるまでは別の方法で HA 量を測定しても良い。SRD 試薬入手後は、SRD 試験を行う」である。

European Pharmacopoeia 6.4 には以下のように記載されている。

The hemagglutinin and neuraminidase antigens of each master and working seed lot are identified as originating from the correct strain of influenza virus by suitable methods.

要点は、「マスターシードとワーキングシードの HA 抗原と NA 抗原が正しい株由来であることを適切な方法で確認する」である。

【ディスカッション】

今後 SRD 試験に変わる方法が導入される可能性もあるが、今のところ SRD 試験は外せない状況である。新規法を導入するにしても、従来行われてきた SRD 試験との相関を見る必要があるため、やはり SRD 試験は必須である。緊急時対応として代替法による定量を行った場合でも、後から SRD 試験は必要と考える。

よって研究班としては以下のように考える。

ワクチン承認にあたり、現段階では HA の量は SRD 試験によって測定する。緊急的な承認を必要とし、SRD 法に必要な標準抗原または参照抗血清が入手出来ない場合には、代替法で HA 量を測定しても良いが、代替法を利用する場合でも、標準抗原および参照抗血清が得られた後には SRD 試験を行う必要がある。

付録2 参照したガイドライン等のリスト

WHO TRS 927

WHO TRS 878

Proposed replacement of TRS 878, Annex 1, WHO/BS/10.2132, WHO ECBS 2010

WHO TRS 745

ICH Q5A

ICH Q5B

ICH Q5C

ICH Q5D

ICH Q5E

ICH Q6A

ICH Q6B

ICH S6

ICH S1A

ICH S1B

CBER Guidance for Industry

EMA/CPMP/VEG/17/03/2004v5

EMA/CPMP/SWP/465/95

EMA/CPMP/VEG/4717/03-Rev.1

EMA/CHMP/VEG/134716/2004

EMA/CHMP/BWP/368186/2011

本資料は、2001年に厚生科学研究費補助金による医薬安全総合研究事業として作成された「医薬品製造におけるバイオセーフティ対策－インフルエンザワクチン製造を例に－」を基にし、新型インフルエンザウイルス流行時の感染対策としての、2011年時点での細胞培養法による新型インフルエンザワクチン製造施設のバイオセーフティ対策に関して検討を加えたものである。変更、追記部分にはアンダーラインを付した。

細胞培養法による新型インフルエンザワクチン製造 におけるバイオセーフティ対策

特定非営利活動法人 バイオメディカルサイエンス研究会

新型インフルエンザワクチン短期製造装置等の確立に関する調査研究班

新型インフルエンザワクチン短期製造装置等の確立に関する調査研究班

[委員]

事業責任者：

小松俊彦 (バイオメディカルサイエンス研究会)

研究班代表：

田代真人 (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)

委員：

山口照英 (国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部)

佐藤征也 (新潟バイオリサーチパーク株式会社)

北里英郎 (北里大学 医療衛生学部)

矢野一好 (北里環境科学センター 微生物部)

山本典生 (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第5室)

[協力研究員]

村上聖 (株式会社日立プラントテクノロジー)

高橋稔 (株式会社日立プラントテクノロジー)

東尾邦彦 (株式会社日立プラントテクノロジー)

[事務局]

渋谷啓介 (株式会社日立製作所)

木ノ本雅通 (バイオメディカルサイエンス研究会)

高橋昌樹 (バイオメディカルサイエンス研究会)

目次

1. はじめに	4
2. 日本及びWHOのバイオセーフティに関するガイドライン	6
3. 新型インフルエンザワクチン製造のバイオセーフティ対策	13
4. 新型インフルエンザワクチンの細胞培養法 GMP 設備におけるバイオセーフティ	18
5. まとめ	19
参考文献	20

添付資料

図1 人の動線例	22
図2 物の動線例	23
図3 更衣室の構成例	24
表1 病原体等と疾患等の対照表（感染症法関係）	26
表2 施設の位置、構造及び設備の技術上の基準（感染症法関係）	27
表3 保管等の基準（感染症法関係）	28
表4 質疑応答集（検討用文案作成時実施）	29

細胞培養法による新型インフルエンザワクチン製造 におけるバイオセーフティ対策

1. はじめに

生物学的製剤等の製造所における構造設備及び管理運営に関する日本の基準は、それぞれ、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理規則」¹⁾及び「薬局等構造設備規則」²⁾により定められ、当該基準のうち、バイオセーフティに係わる基準の取扱いについては、World Health Organization（以下、WHO という）のガイドライン³⁾を踏まえ、「生物学的製剤等の製造所におけるバイオセーフティに関する指針」⁴⁾が通知されていた。

このような国内外の規制動向の下で、インフルエンザワクチン向けのガイダンスとしては、平成13（2001）年に厚生科学研究費補助金による医薬安全総合研究事業として「医薬品製造におけるバイオセーフティ対策－インフルエンザワクチン製造を例に－」⁵⁾が発行された。これには、鶏卵法をモデルとしたバイオセーフティ対策が、実際の設備計画に役立つようにまとめられ、活用されている。

近年、新型インフルエンザの大流行への備えが強く指摘されるようになった。2009年にはA/H1N1型インフルエンザの国際的流行が発生し、結局季節性に統合されたが、各国が一時は新型インフルエンザとしての最大限の対応を余儀なくされた。⁶⁾ また、その際にわが国の関係省庁により作成され2011年に改定された「新型インフルエンザ行動計画」⁷⁾では、新型インフルエンザのパンデミックワクチンが接種可能となり次第使用することとなっている。

このようなワクチンは、新型インフルエンザの海外発生期にワクチン製造株が開発、確保され次第、できるだけ短期間に、大量に製造することが必要である。このためのワクチンの短期大量製造の方法としては、細胞培養法の適用が不可欠と考えられる。

また、「WHO biosafety risk assessment and guidelines for the production and quality control of human influenza pandemic vaccines」⁸⁾が新型インフルエンザワクチンへの新たな指針として発行されたこともあり、より時代に即した対応が要請されている。そこで、前述の「医薬品製造におけるバイオセーフティ対策－インフルエンザワクチン製造を例に－」を基にして、新型インフルエンザウイルス流行時の感染対策としての、細胞培養法による新型インフルエンザワクチン製造施設のバイオセーフティ対策に関して今回検討を加えた。

1.1 用語の定義

このガイドラインにおける用語の定義は以下とする。

- (1) 新型インフルエンザウイルス： 新型インフルエンザ対策ガイドライン－フェーズ4以降－⁹⁾の用語の解説には、「過去数十年間にヒトが経験したことがないHAまたはNA亜型（ウイルスの表面にある赤血球凝集素HAとノイラミニダーゼNAという、2つの糖蛋白の抗原性の違いにより分類されるサブタイプ）のウイルスが、ヒトの間で効率的で持続的なヒト－ヒト感染により伝播してインフルエンザの流行を起こした時にこの言葉を用いる。」と定義されており、広い意味では過去に流行して現在消えたウイルスの再登場も新型ウイルスの範疇に入る。

- (2) BSL： バイオセーフティーレベル (Biosafety level)。病原体を取り扱う実験室・施設の、生物学的な危険度に応じた格付け及び微生物の病原性の強さの区分。
- (3) WHO BSL2 Enhanced (pandemic influenza vaccine)： 新型インフルエンザウイルスのパンデミックワクチンに関して、2007年に発行された「WHO biosafety risk assessment and guidelines for the production and quality control of human influenza pandemic vaccines」⁸⁾にて新たに定義された、BSL2 (WHO実験室バイオセーフティ指針¹⁰⁾) がより強化されたBSL。
- (4) WHO BSL3 Enhanced (pandemic influenza vaccine)： 前項(3)と同様に定義された、BSL3 (WHO実験室バイオセーフティ指針¹⁰⁾) がより強化されたBSL。
- (5) 管理区域： BSLに応じて微生物を安全に管理する区域。
- (6) 製造室： 管理区域内にあり、BSL対象の微生物を用いてワクチン等の医薬品の製造を行う作業室。
- (7) 実験室： 管理区域内にあり、BSL対象の微生物が関与するワクチン品質検査等の試験検査を行う作業室。
- (8) パンデミック： 感染症の世界的な大流行。
- (9) パンデミックワクチン： 新型インフルエンザが発生した段階で、出現した新型インフルエンザウイルス又はこれと同じ抗原性をもつウイルスを基に製造されるワクチン。
- (10) 滅菌： 物理的あるいは化学的手段によってすべての微生物を殺滅又は除去すること。
- (11) 消毒： 物理的あるいは化学的手段によって病原性のある微生物の感染性を失わせること。
- (12) 殺菌： 物理的あるいは化学的手段によって細菌の感染性を失わせること。
- (13) 不活化： 物理的あるいは化学的手段によってウイルスの感染性を失わせること。
- (14) HEPAフィルター： 高性能粒子吸着空気フィルター (high efficiency particulate air filter) 。
JIS Z 8122 規格の定義では、定格流量で粒径が0.3 μ mの粒子に対して99.97%以上の粒子捕捉率をもち、かつ初期圧力損失245Pa以下の性能をもつエアフィルター。
- (15) GMP： 医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準 (good manufacturing practice) 。

2. 日本及びWHOのバイオセーフティに関するガイドライン

医薬品の製造所で新型インフルエンザウイルス等の病原体を取り扱うには、各国あるいはWHO等組織のバイオセーフティに関するガイドラインを遵守する必要がある。

なお、遺伝子組換えウイルスもしくは細胞を使用する場合には、さらに、国際的な種の保存に関するカルタヘナ条約の関連法令、すなわち厚生労働省の通知「遺伝子組換え微生物の使用等による医薬品等の製造における拡散防止措置等について」等^{11) 12)}にも従う必要がある。

本書では以下、細胞、ウイルス共に遺伝子組換え体を使用しない場合について述べる。

2.1 微生物の分類

2.1.1 日本のバイオセーフティガイドライン

微生物の分類に関しては、当該医薬品の製造所において取り扱う微生物について、当該医薬品の開発又は承認申請段階で収集した知見及び最新の科学的知見を踏まえ、WHOガイドライン等の"Risk Group"の考え方に従い、取り扱う微生物のBSLを予め分類する。なお、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（以下、感染症法という）に基く規制^{13) 14)}及び国立感染症研究所の「病原体等安全管理規程」¹⁵⁾による微生物の分類を参考にすることができる。

2.1.2 WHOのバイオセーフティガイドライン

Risk Group 1・・・個体及び地域社会へのリスクは無い、ないし低い

Risk Group 2・・・個体へのリスクが中等度、地域社会へのリスクは低い

Risk Group 3・・・個体へのリスクが高い、地域社会へのリスクは低い

Risk Group 4・・・個体及び地域社会へのリスクが高い

2.1.3 ワクチンの製造に係わる微生物の分類（感染症法に基く規制及び国立感染症研究所の病原体等安全管理規程による）

BSL1・・・弱毒麻疹ウイルス、弱毒風疹ウイルス、弱毒おたふくかぜウイルス

弱毒水痘ウイルス、弱毒ポリオウイルス、BCG

BSL2・・・百日せき菌、ジフテリア菌、破傷風菌、コレラ菌、日本脳炎ウイルス

インフルエンザウイルス（毒性の強い新型インフルエンザウイルス及び、弱毒株除く鳥インフルエンザウイルスはBSL3）

2.2 適用範囲及び管理区域

2.2.1 日本のガイドライン

- 1) 適用範囲は、BSL1からBSL3までに分類される微生物を取り扱う製造工程について適用する。但し、当該微生物の殺菌又は不活化後の工程については適用しない。
- 2) BSLに応じて微生物を安全に管理する区域（以下「管理区域」という）を設置し、当該管理区域の出入り口にその旨標識を附す。
- 3) 従来のバイオセーフティ対策は、厚生省通知¹¹⁾で示されるような病原体等からの安全対策が主体であった。しかし近年、2001年に米国で炭疽菌テロが発生したことをきっかけに、バイオテロに対応するための法整備が進んだ。日本では2006年改正の感染症法¹³⁾において病原体の所持等を規制す

る制度が創設され、バイオセキュリティに対応する設備基準¹⁴⁾が定められた。また、WHOからはそれに先立つ2004年に、バイオセキュリティを加味した「実験室バイオセーフティ指針」第3版¹⁰⁾が発行された。

このようにバイオセーフティ対策は、現在ではバイオセキュリティをも含んだものに拡張されている。本書では厚生省通知¹¹⁾と併せ、感染症法施行規則¹⁴⁾のBSL設備基準を考慮する。

4) 感染症法¹³⁾の規制対象のインフルエンザウイルス（新型インフルエンザウイルス含む）は、たとえ同時に「家畜伝染病予防法」（以下、家伝法という）¹⁷⁾の対象に該当する場合があっても、通常は、家伝法の適用は除外される。

但し例外として、鶏での高病原性又はその可能性を有する鳥インフルエンザウイルス、低病原性鳥インフルエンザウイルス及び馬インフルエンザウイルスには家伝法適用除外とならないものがある。^{17) 18)} その場合、BSL設備基準に関して一部の規制事項の追加が生じる^{4) 14)}

^{15) 18)} (2.4.3項参照)。

2.2.2 WHOのガイドライン

各Risk Group に属する微生物を使用する製造施設に適用する。

特に新型インフルエンザウイルスのパンデミックワクチンに関しては、2007年に発行された「WHO biosafety risk assessment and guidelines for the production and quality control of human influenza pandemic vaccines」⁸⁾にて、通常のBSL対応がより強化されたBSL2及び3 Enhanced (pandemic influenza vaccine) が設定された。（以下、末尾の「(pandemic influenza vaccine)」は省略する。）

H5及びH7の強毒性の野生型ウイルスについては、鶏卵法は推奨されず、細胞培養法においてBSL3 Enhancedが適用される。その他のウイルスについては、細胞培養法・鶏卵法いずれにおいてもBSL2 Enhancedが適用される。

2.3 製造に係わるバイオセーフティの構造設備ガイドライン

以下に日本およびWHOの、製造に係わるバイオセーフティの基本的な構造設備要件を示す。

日本のガイドラインは、厚生省通知「生物学的製剤等の製造所におけるバイオセーフティの取扱いについて」<2000年>⁴⁾、厚生労働省令「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律施行規則」¹⁴⁾、農林水産省令「家畜伝染病予防法施行規則」¹⁸⁾ならびに、国立感染症研究所の「病原体等安全管理規程」<2010年>¹⁵⁾を基にした。また、WHOのガイドラインは「Biosafety Guidelines for Personnel Engaged in the Production of Vaccines and Biological Products for Medical Use」<1995年>³⁾、「実験室バイオセーフティ指針」第3版<2004年>¹⁰⁾ならびに、「Enhanced」の指針の設定がある。「WHO biosafety risk assessment and guidelines for the production and quality control of human influenza pandemic vaccines」<2007年>⁸⁾を基にした。

本2.3節の以下の各表の「日本」の列で添字「¹⁵⁾」を付したものの以外は、法規制^{4) 14) 18)}での要件となる。

なお、医薬品製造設備としては、バイオセーフティのみでなくGMPを別途考慮する必要がある。（4章参照）