

201328011A

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

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の

抜本的改正に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

平成26(2014)年 3月

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

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の
抜本的改正に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

平成26(2014)年 3月

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

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の 抜本的改正に関する研究

平成25年度 研究組織

研究代表者

渡邊治雄 国立感染症研究所 所長

研究分担者

倉根一郎	国立感染症研究所	副所長
脇田隆宇	国立感染症研究所	ウイルス第二部 部長
浜口 功	国立感染症研究所	血液・安全性研究部 部長
西條政幸	国立感染症研究所	ウイルス第一部 部長
竹田 誠	国立感染症研究所	ウイルス第三部 部長
柴山恵吾	国立感染症研究所	細菌第二部 部長
加藤 篤	国立感染症研究所	放射能管理室 室長 検定検査品質保証室 室長 (併)
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
多屋馨子	国立感染症研究所	感染症疫学センター 室長
柗元 巖	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター 室長
内藤誠之郎	国立感染症研究所	検定検査品質保証室 主任研究官

研究協力者

林 昌宏	国立感染症研究所	ウイルス第一部 室長
伊藤 (高山) 睦代	国立感染症研究所	ウイルス第一部 主任研究官
片山和彦	国立感染症研究所	ウイルス第二部 室長
戸高玲子	国立感染症研究所	ウイルス第二部
水上拓郎	国立感染症研究所	血液・安全性研究部 室長
駒瀬勝啓	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長
森 嘉生	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長

木所 稔	国立感染症研究所	ウイルス第三部 室長
蒲地一成	国立感染症研究所	細菌第二部 室長
久保田眞由美	国立感染症研究所	細菌第二部 主任研究官
落合雅樹	国立感染症研究所	検定検査品質保証室 主任研究官
藤田賢太郎	国立感染症研究所	検定検査品質保証室 主任研究官
近田俊文	国立感染症研究所	検定検査品質保証室
大石和徳	国立感染症研究所	感染症疫学センター センター長
新井 智	国立感染症研究所	感染症疫学センター 主任研究官
奥野英雄	国立感染症研究所	感染症疫学センター 研究員
佐藤 弘	国立感染症研究所	感染症疫学センター 研究員
花田賢太郎	国立感染症研究所	細胞化学部 部長
森川 茂	国立感染症研究所	獣医科学部 部長
櫻井信豪	独) 医薬品医療機器総合機構	品質管理部 部長
高橋元秀	独) 医薬品医療機器総合機構	品質管理部 GMP エキスパート

目 次

	頁
I. 総括研究報告	
ワクチンの品質確保のための国家検定制度の抜本的改正に関する研究 研究代表者 渡邊 治雄	1
II. 分担研究報告	
1. 組織培養不活化狂犬病ワクチン不活化試験法におけるマウス脳圧ペン 標本固定法の検討 倉根 一郎	17
2. 国家検定の意義－ロタリックス最終小分け製品に含まれる quasispecies－ 脇田 隆字	23
3. 血液製剤における SLP 導入に向けた国際調査結果 ドイツ Paul Ehrlich Institut (PEI) 調査報告 浜口 功	29
4. 狂犬病ワクチン国家検定制度における動物愛護および検定合理化の観 点からの試験方法の見直し 西條 政幸	33
5. 国家検定の見直し - ウイルス製剤の観点から 竹田 誠	39
6. 混合ワクチンにおける百日せきワクチンのマウスヒスタミン増感試験 の規格値についての検討 柴山 恵吾	49
7. 国家検定と承認制度の関係に関する研究 加藤 篤	53
8. 予防接種後副反応サーベイランス 多屋 馨子	105
9. 組換えヒトパピローマウイルスワクチンの SLP 様式の国際比較 終元 巖	115
10. 海外のロットリリース制度の状況－現地調査報告－ 板村 繁之、終元 巖、内藤 誠之郎...	119
11. 海外のロットリリース制度の状況－海外アンケート調査報告－ 内藤 誠之郎	175

III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	193
IV. 研究成果の刊行物・別刷.....	195

I. 総括研究報告

総括研究報告書

ワクチンの品質確保のための国家検定制度の抜本的改正に関する研究

研究代表者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長

研究要旨：薬事法第 43 条に基づき実施されている国家検定は、我が国のワクチンの品質を確保する上で根幹を成す制度の一つである。今般、製造・試験記録等要約書（SLP）を審査する制度が、国家検定に導入された。これを機に、さらなるワクチンの「安心、安全」の向上に資することを目的に、国家検定制度について、「GMP調査との連携のあり方」「製造販売後調査との連携のあり方」「製造販売承認制度との整合的運用」などの観点を含めて、網羅的かつ抜本的な調査研究を行った。海外のロットリリース制度の状況を調査する目的で、欧米及びアジアのロットリリース関連機関に対する現地調査並びにアンケート調査を実施した。調査したほとんどの国／地域において、SLP審査＋試験を実施しており、本邦においてSLP審査をワクチンの国家検定に導入したことは、国際調和の面から有意義であったことが確認された。欧州においては血液製剤についてもSLP審査を実施しており、ワクチンに加えて血液製剤にもSLP審査を導入するかどうかは、今後の検討課題である。また、本邦のSLP様式と欧米のSLP様式を、組換えヒトパピローマウイルスワクチンをモデルケースとして比較したところ、共通する部分が多いものの異なる部分もあった。今後は輸入ワクチンに関して、国際的に協調が取れた項目・内容を、我が国のSLP様式に取り入れることが必要かもしれない。ロットリリース試験の実施項目としては、力価試験など共通に実施されている項目もあったが、試験の種類及び項目数には、国／地域により違いが見られた。本邦としては、SLP審査が導入されたところで、あらためて各試験項目の必要性を検証することが必要と思われる。試験の実施頻度については、全ロット試験の国／地域と一部ロット試験の国／地域に分かれた。限られたリソースの有効活用という観点から、リスクベースでの一部ロット試験の導入は検討に値すると考えられた。新規ワクチンの試験法及び規格に関する製造所と公的医薬品試験所との協議等の開始時期については、承認申請前の段階からとする国／地域が多かった。また、承認審査とロットリリースは、同一の機関で実施されている国／地域が多かった。製造販売後調査との関係については、本邦においては平成 25 年 4 月以降医師に予防接種後副反応報告が義務化され、その情報は、現在、感染研にも提供されてロット毎のSLPや検定結果情報とも関連づけた解析の体制が整えられつつある。しかし、膨大なデータを的確に解析し、副反応の異常集積を迅速に探知するためには、コンピュータを利用した解析システムを導入することが不可欠である。こ

のように、ロットリリース制度と承認審査、GMP査察、製造販売後調査等の薬事規制間の連携については、今後の検討課題として重要と考えられた。具体的な試験法に関する検討として、狂犬病ワクチンに対する *in vitro* 不活化試験法、ロタウイルスワクチンに対する次世代シーケンサーを用いた *quasispecies* の検出法、及び沈降精製百日せき混合ワクチンに対するマウスヒスタミン増感試験の規格値に関する検討を行った。科学技術の進歩や国際調和、動物福祉などの社会情勢の変化に応じて、不断に試験法の検討を継続することの重要性が、あらためて認識された。以上のようにSLP審査導入後も、国家検定制度には様々な課題が残っている。課題の解決に向けてさらなる調査研究が必要である。

研究分担者

倉根一郎 国立感染症研究所
副所長

脇田隆宇 国立感染症研究所
ウイルス第二部 部長

浜口 功 国立感染症研究所
血液・安全性研究部 部長

西條政幸 国立感染症研究所
ウイルス第一部 部長

竹田 誠 国立感染症研究所
ウイルス第三部 部長

柴山恵吾 国立感染症研究所
細菌第二部 部長

加藤 篤 国立感染症研究所
放射能管理室 室長
検定検査品質保証室 室長(併任)

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

多屋馨子 国立感染症研究所
感染症疫学センター 室長

柊元 巖 国立感染症研究所
病原体ゲノム解析研究センター 室長

内藤誠之郎 国立感染症研究所
検定検査品質保証室 主任研究官

A. 研究目的

薬事法第 43 条に基づき実施されている

国家検定は、我が国のワクチンの品質を確保する上で根幹を成す制度の一つである。国家検定制度については、平成 24 年 10 月 1 日施行の薬事法施行規則の改正により、製造・試験記録等要約書 (Summary Lot Protocol; SLP) を審査する制度が、導入されるところである。戦後の薬事法制は、医薬品承認制度の導入、GMP制度の構築、市販後監視の拡充など、しばしば大きな改正が行われてきたところであるが、国家検定制度については、今般のSLP審査制度の導入は、制度開始以来の大きな改正であったと言える。

SLP審査制度が導入されたことにより、ワクチンの国家検定を担当している国立感染症研究所 (感染研) には、これまで以上に、ワクチンのロットごとの製造情報並びに試験情報が集積されることになった。これらの情報を適切に評価して、ワクチンの品質向上に生かすためには、承認審査、GMP調査並びに製造販売後調査からの関連情報が感染研に提供されることが重要である。また、逆に、感染研に集積されたSLPから得られた製剤各ロットの製造記録情報は、承認審査、GMP調査並びに製造販売後調査に対しても、有用な情報になり得ると期待される。世界保健機関

(WHO)においても、国家検定を担当する部門が、承認審査、GMP調査並びに製造販売後調査を担当する部門との情報共有を図ることを推奨している。これらの制度間の情報共有と連携を強化することは、我が国のワクチンのさらなる「安心、安全」の向上にとって有用と考える。

さらに、実際的な問題として、SLP審査制度が導入されたことにより、感染研においては、従来からのワクチンの全ロットの試験業務（一部の品目については中間製品に対する試験も実施されている）に加えて全ロットの最終製品に対するSLP審査業務が加わることになった。また、ワクチンギャップを解消するために、新規ワクチンの承認も相次いでおり、定期接種対象のワクチンも拡充されているところである。このような状況から、リソースの最適配分という観点からの検定業務の抜本的な見直しも急務となっている。

以上のような背景のもと、さらなるワクチンの「安心、安全」の向上に資することを目的に、「GMP調査との連携のあり方」「製造販売後調査との連携のあり方」「製造販売承認制度との整合的運用」などの観点を含めて、国家検定制度に関する網羅的かつ抜本的な調査研究を行った。

B. 研究方法

我が国の国家検定制度に関して、研究代表者を中心に研究分担者全員で取り組むことを基本に、必要に応じて厚生労働本省の政策担当者及び医薬品医療機器総合機構の専門家等からのご意見も伺いながら、3年計画で検討を行う。第2年度にあたる今年度は、具体的には、以下の方法で調査

研究を進めた。

1. 海外の国家検定制度（ロットリリース制度）の調査

カナダ、欧州及びオーストラリアのロットリリース関連機関に研究分担者及び研究協力者を派遣し、それぞれの国／地域におけるロットリリース制度に関する聞き取り調査を実施した（板村、終元、内藤）。調査はワクチンのロットリリース制度を中心としたが、合わせて血液製剤のロットリリース制度についても調査した（浜口）。また、欧米及びアジアの各国／地域に対するメールベースでのアンケート調査も実施した（内藤）。

2. 国際シンポジウムの開催

SLP審査制度が導入されてから1年余を経過したところで、SLP審査制度についてより広く知ってもらうため、また、SLP審査がワクチンの国家検定業務に与えた影響、あるいは、SLP審査制度に係る今後の課題について検討するため「ワクチンの品質確保とこれからの国家検定制度」と題して国際シンポジウムを開催した（加藤）。

3. SLP様式の国際比較

世界のSLP審査制度の実態を調査することを目的に、先行してSLP審査制度が導入されている欧州および米国でのSLP様式と、日本のSLP様式との比較を行った。モデルケースとして、組換えヒトパピローマウイルスワクチンの日米欧のSLP様式を比較した（終元）。

4. 国家検定試験項目の見直し

限られたヒューマンリソース下においてSLP審査の導入を、真に品質管理の向上につなげるためには、国家検定の各試験の意義、重要性、必要性を再検証し、一部試験

項目の廃止やより信頼性の高い試験方法の開発など合理的且つ抜本的な試験項目の見直しが必要であると考えられる。そこでモデルケースとして、麻しん含有ワクチン製剤、風しん含有ワクチン製剤、ムンプス含有ワクチン製剤の国家検定試験に関して全ロット試験制度の見直しや、必須試験項目の再検討を行った（竹田）。

5. 予防接種後副反応サーベイランスと国家検定の連携

2013年3月の予防接種法の一部を改正する法律により、同年4月1日以降、医師に予防接種後副反応報告が義務化された。感染研では、感染症疫学センターと検定検査品質保証室が中心となって、副反応報告の検討を続け、これをワクチン製剤部と情報共有している。副反応についてより良い解析方法を見いだすことを目的として、医師から報告された予防接種後副反応報告について、ワクチン毎、同時接種の種類毎、報告月毎、ロット毎に集計を行い、副反応部会で検討されている集計方法と比較検討した（多屋）。

6. 試験法に関する検討

国家検定をワクチンの「安心」「安全」の確保に真に役立つものとするためには、科学技術の進歩、国際調和、動物福祉など科学的並びに社会的な情勢に応じて不断の見直しを図ってゆくことが重要である。このような観点から、本研究では、狂犬病ワクチンに対する不活化試験法におけるマウス脳庄ペン標本固定法（倉根）及び培養細胞を用いた*in vitro* 不活化試験法（西條）、ロタウイルスワクチンに対する次世代シーケンサーを用いたquasispeciesの検出法（脇田）、並びに沈降精製百日せき混

合ワクチンに対するマウスヒスタミン増感試験の規格値（柴山）に関する検討を行った。

（倫理面への配慮）

動物実験は、国立感染症研究所動物実験実施規程にしたがって、国立感染症研究所動物実験委員会の承認のもと、動物福祉に配慮して行った。

C. 結果及び考察

海外のロットリリース関連機関に対する現地調査並びにアンケート調査の結果では、ほとんどの国／地域において、SLP審査をワクチンのロットリリースの必須要件としており、それに加えていくつかの試験を実施している国／地域が多かった。本邦においてSLP審査をワクチンの国家検定に導入したことは、国際調和の面から有意義であったことが確認された。

欧州においては血液製剤についてもSLP審査を実施していた。血液製剤の国家検定にSLP審査を導入するかどうかは、今後の検討課題として重要である。

ロットリリースに際して実施する試験項目として、力価試験など多くの国／地域で共通している項目もあったが、試験の種類及び項目数には、国／地域により違いが見られた。本邦においては、SLP審査が導入されたところで、あらためて試験の必要性を検証し実施項目を見直すことが必要と考えられた。

試験の実施頻度については、本邦のようにすべてのロットについて試験を実施している国／地域がある一方で、製剤／製品のリスクを評価して、それに応じた頻度で試験を実施している国／地域があった。限ら

れたリソースを有効に活用して、よりよいワクチンの品質確保の体制を構築するという観点から、リスクベースでの一部ロット試験を導入することは、本邦においても検討する価値のある課題と考えられた。

新規ワクチンの試験法及び規格に関しての製造所と公的医薬品試験所との間での協議の開始時期については、臨床試験の実施の開始時から行うなど、承認申請前に開始する国／地域が多かった。また、承認審査とロットリリースを、同一の機関で実施している国／地域が多かった。ロットリリース制度と承認審査、GMP査察、製造販売後調査等の薬事規制間の連携や試験法導入時の検討体制については、改善の余地がある課題と思われる。

SLP審査導入後の国家検定の現状と今後の課題を探る目的で国際シンポジウムを開催した。シンポジウムにおける議論では、SLP審査と一変承認における規制当局間の連携、SLP審査の更なる効率化の検討、SLP審査によって得られた製品品質に関する理解を検定試験項目の必要性の検討に繋げる道筋、さらには、全ロット試験の必要性に係る調査が今後の方向性として示された。

世界のSLP審査制度の実態を調査することを目的に、先行してSLP審査制度が導入されている欧州および米国でのSLP様式と、日本のSLP様式との比較を行った。モデルケースとして、組換えヒトパピローウイルスワクチンの日米欧のSLP様式を比較した結果、三者の様式は共通する項目が大部分を占めているものの、日本版の様式がワーキングシードやセルバンクの情報および工程内管理試験の項目を含む、最も詳細な様式であると考えられた。今後は輸入ワク

チンに関して、国際的に協調が取れた項目・内容を、我が国のSLP様式に取り入れることが必要かもしれない。

2013年3月の予防接種法の一部を改正する法律により、同年4月1日以降、医師に予防接種後副反応報告が義務化された。感染研では、感染症疫学センターと検定検査品質保証室が中心となって、副反応報告の検討を続けている。膨大なデータを的確に解析し、副反応の異常集積と、そこに使用されているワクチンのロットの国家検定情報とを迅速に分析し、お互いの関連性の発見とタイムリーな警告に結びつけることができるシステムの導入が望まれる。

具体的な試験法に関する検討として、狂犬病ワクチンに対する不活化試験法におけるマウス脳圧ペン標本固定法及び培養細胞を用いた*in vitro* 不活化試験法の検討、ロタウイルスワクチンに対する次世代シーケンサーを用いたquasispeciesの検出法の検討、並びに沈降精製百日せき混合ワクチンに対するマウスヒスタミン増感試験の規格値に関する検討を行った。科学技術の進歩や国際調和、動物福祉などの社会情勢の変化に応じて、不断に試験法の検討を継続することの重要性が、あらためて認識された。

以下に各研究分担者が実施した研究の結果及び考察の概要を示す。

倉根研究分担者：ワクチンの国家検定は我が国に流通するワクチンの品質確保において重要である。現在も狂犬病は世界150カ国以上の国と地域で年間55,000例以上発生している。我が国では狂犬病ワクチンは流行地域への渡航者用曝露前ワクチン、あ

るいは狂犬病ウイルス暴露者の狂犬病発症抑制のための曝露後ワクチンとして重要である。現在我が国では乳飲みマウスを用いた狂犬病ワクチンの不活化試験が全ロットに対して実施されている。不活化試験法では死亡マウス脳における狂犬病ウイルス抗原の存在の検討をマウス脳の圧ぺん標本を用いて行うことがあるが、圧ぺん標本の作製においては実験従事者の安全性の確保が重要である。

ところで一般的にアセトン固定にはタンパク質変性が伴わないため、狂犬病ウイルス抗原を検出する場合はその抗原性の維持を目的として低温下でアセトン固定を行う。しかしながら低温下のアセトン固定では未固定のウイルスが残余する可能性が CVS 株を用いた試験でこれまでに文献学的に報告されており、安全性に問題がある。そこで本研究ではタンパク質変性の伴うアセトン・メタノール固定および紫外線照射による圧ぺん標本中の狂犬病ウイルス固定法の検討を行った。その結果、より厳しい固定条件であるアセトン・メタノール処理（室温下 20 分）に加えて紫外線照射（2 時間）を実施した固定サンプルにおいても目的ウイルス抗原が蛍光抗体法により特異的に検出された。以上のことにより狂犬病発症マウス脳の圧ぺん標本の固定法としてアセトン固定より厳しい固定条件であるアセトン・メタノール・紫外線照射処理を行ってもウイルスの抗原性を失わずにウイルスの不活化が行えることが示唆された。

本研究においては乾組狂犬ワクチン不活化試験を例にとり、現行の検定作業法の改善について検討した。その結果狂犬病ワクチンの不活化試験における圧ぺん標本を用

いたウイルス抗原の検出法においては現行法よりも安全性の高い条件で固定標本作製できることが示された。

脇田研究分担者：経口弱毒生単価ロタウイルスワクチン（製品名：ロタリックス）の品質は、国家検定において最終小分け製品に含まれる感染性ウイルスの感染力価を MA104 細胞によって測定することで確認している。生ワクチンは、ワクチン生産工程における細胞を用いた増殖工程において、quasispeciesが発生し、品質の変化が起きる可能性がある。しかし、ロタリックスの品質管理試験、国家検定においては、11 セグメントのゲノムに点在するポイントミューテーションの確認は行われていない。本研究では、次世代シーケンサー（NGS）を用いて最終小分け製品のゲノム全長塩基配列解析を行い、quasispeciesの検出を試みた。ロタリックスを用いて、超遠心によりロタウイルスワクチン株を沈降させて得たペレットより、RNAを抽出精製した。精製したRNAは、NEB Next UltraによってcDNAライブラリーを調製し、メーカーのプロトコールに従って次世代シーケンサー（NGS）用サンプル調製を行った。イルミナ社MiSeqのシーケンスキット version 2 300cyclesを用いて片側 150 サイクルの双方向シーケンスを行った。MiSeqから出力されたデータは、CLC 社 Genomics Workbenchにて解析した。ロタリックスワクチン株のスタンダード配列は、データベース上に公開されていない。そこで、基準配列には典型的なG1P[8]遺伝子型であるWa株を用いた。MiSeqのリードは、Wa株のVP1, 2, 3, 4, 6, 7, NSP1, 2, 3, 4, 5(6)の基準配列にMappingした。Mapping dataより、

probabilistic Variant detectionによって遺伝子座位あたり変異を算出した。

総リード数は全ゲノムセグメントに対し、100万リード以上であった(quality 90%以上)。遺伝子セグメント別の結果は以下のようであった。

VP1: Variantを認めなかった。

VP2: 2659ntにC to Tの同義置換が53.9%

VP3: 324nt(C-T)0.22%,
942nt(T-C)0.12%,
1843nt(C-T)0.36%の非同義置換

VP4: 1103nt(A-G)54.93%,
1153nt(T-G)15.65%の非同義置換、
1515(C-T)0.30%の同義置換

VP6: Variantを認めなかった。

VP7: 620nt(T-C)0.19%の非同義置換

NSP1: 17nt(A-G)1.91%の同義置換

NSP2: Variantを認めなかった。

NSP3: Variantを認めなかった。

NSP4: Variantを認めなかった。

NSP5(6): 278nt(G-T)0.08%の非同義置換
VP4 蛋白質コード領域に

1103nt(A-G)54.93%, 1153nt(T-G) 15.65%の非同義置換が認められたことは、興味深い結果である。今後、幾つかの市販ロットを購入し、NGSを用いたディープシーケンスによって調べることで、最終製品の品質の安定性をモニターすることが可能となるかもしれない。

浜口研究分担者: 生物学的製剤のロットリリースに関しては、指定された検定機関(感染研)において検定基準に従って国家検定がなされた後、ロットリリースされることが薬事法第43条で規定されている。ワクチンの国家検定においてはSLP審査制度が導

入されたが、血液製剤は、その対象とはなっていない。そこで、本研究課題では、欧州、特にドイツのPaul Ehrlich Institut (PEI)における血液製剤のSLP審査について調査し、ドイツにおける血液製剤の安全性確保に関するシステムを比較し、日本の取るべき道について考察することを目的とした。

調査の結果、欧州において実施されている血液製剤のSLP審査はOCABR (Official Control Authority Batch Release) のGuidelineに記載されている程度で非常に簡略に作成されており、本邦においても十分に運用可能なレベルであると考えられた。試験結果に関しても、本邦では試験条件や材料などの詳細な記載を求めているが、欧州では試験結果の可否のみのもも少なく、簡素化されている。

ただし、ドイツではSLP審査は2014年1月より完全電子申請・判定に移行するというようになっており、事務作業の軽減・簡易ミス軽減も含めて、SLP審査と検定試験に集中できる環境が整っている事は注目に値する。本邦においてSLPを導入する場合も、出来るだけシステム化し、製造販売業者・国家検定機関の単純な事務作業が増えないような努力をするべきであると考えられる。

西條研究分担者: 私たちはこれまで乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの安全性を確認するための不活化試験において、動物を使用しない*in vitro*試験法を開発してきた。この方法は動物愛護および検定合理化の両方の観点から従来法に勝ると期待される。そこで、今回私たちが開発した*in vitro*試験法についてその検出限界と実施コストにつ

いて解析した。確立済みの*in vitro*試験法の手技に従い低用量領域における5段階のウイルス濃度について各10回の試験を行った。検出限界をバリデーション指針に基づき算出した。また、従来法と*in vitro*試験法の実施コストについて試算し、比較した。*in vitro*試験法の検出限界は平均0.02 ffu/0.02 mlであり、小分け製品1本に1 ffu以上の感染性ウイルス粒子が含まれていれば検出可能であることが分かった。実施コストについては、初期費用は従来法に劣るものの、ランニングコストおよび人的コストでは*in vitro*試験法が有利であることが明らかにされた。ワクチンの品質、有効性および安全性を確保する上で国家検定試験は必要不可欠である。しかしながら、近年世界的に動物愛護の観点から動物を使用した試験は見直しが求められている。また、SLP導入に伴い、国家検定の合理化が検討されている。本法では動物を用いる必要がないこと及び検出感度がより高いことから、動物愛護の点からは理想的な試験法である。また、試験にかかるコストも従来法に比べ低く、試験期間も短い。諸外国に比べ長いと指摘される国家検定の標準事務処理期間の短縮にも寄与できる可能性もある。狂犬病ワクチンの*in vitro*不活化試験法についての詳細な報告はこれまでになく、この方法が各国で取り入れられることも期待される。今後さらに実用化に向けた取り組みを進める必要がある。

竹田研究分担者：平成24年10月1日からSLPを審査する制度が、わが国のワクチン製剤の国家検定制度に導入された。従来の全ロットに対する国家検定試験に加えて、本SLP審査制度が導入されたことによって、

ワクチン製剤の品質がより一層保証されるものと考えられる。また、近年、新規ワクチンの承認が進んでおり、限られたヒューマンリソース下においてSLP審査の導入を、真に品質管理の向上につなげるためには、国家検定の各試験の意義、重要性、必要性を再検証し、一部試験項目の廃止やより信頼性の高い試験方法の開発など合理的且つ抜本的な試験項目の見直しが必要であると考えられた。また、市販後調査と国家検定の試験成績とを繋げた解析が重要である。本分担研究では、麻しん含有ワクチン製剤、風しん含有ワクチン製剤、ムンプス含有ワクチン製剤の国家検定試験に関して全ロット試験制度の見直しや、必須試験項目の再検討を行った。

乾燥弱毒生麻しん、風しん、おたふくかぜの各ワクチン中間原液に対する同定試験、並びに動物接種試験（成熟マウス、乳飲みマウス、モルモット接種試験）については、国家検定の試験項目からの削除が妥当と考えられた。また、同じく各ワクチン中間原液に対するニワトリ胚初代培養細胞接種試験、風しんワクチン中間原液に対するマーカー試験、筋注用製剤を除くヒト免疫グロブリン製剤に対する麻疹抗体価試験についても国家検定の試験項目からの削除が妥当である可能性があり、検討を開始することとした。さらに、今後、SLP審査の効果を十分に評価し、加えて、麻しん含有ワクチン製剤、風しん含有ワクチン製剤、ムンプス含有ワクチン製剤が、適切なシードロットシステムで管理された種ウイルスによって製造されていると評価できるのであれば、製剤の中間段階に対する試験そのものを削除することも検討可能であると考えられた。

自家試験ならびにSLPの精査で十分に品質が保証されると考えられ、科学的にも実績的にも国家検定によるダブルチェックの必要性が極めて低いと考えられる試験項目について積極的に削減を行うことは、十分な時間をかけて慎重且つ徹底的に検討しなければならないが、重要度の特に高い検討事項の評価にリソースを向けることでより評価の向上につながり、結果、品質管理の質を高めると考えられた。

柴山研究分担者：百日せきワクチンの安全性試験として、百日咳毒素の無毒化を確認するマウスヒスタミン増感試験が実施されている。生物学的製剤基準の規格値は非加温DPT、加温DPTともに0.4 HSU/mL以下とされてきた。2012年に4種混合ワクチン「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）混合ワクチン（DPT-IPV）」が承認されたが、承認前検査におけるマウスヒスタミン増感試験では、DPT-IPVの加温検体が現行のDPTに比較して高い値を示す傾向が認められた。製造所の試験成績も含めて検討が行われ、生物基において非加温検体及び加温検体いずれも規格値を0.8 HSU/mL以下と設定された。ワクチンのより適切な規格値設定には、承認後であっても科学的な検証を行い、必要に応じて規格値の改訂が柔軟に実施されるべきであるとの考え方から、規格値の上限を引き上げるかたちとなったマウスヒスタミン増感活性値0.8 HSU/mLについて、科学的な見地に基つきその妥当性について検討を行った。

阪大微研と化血研より、IPV、DPTそれぞれの原液を供給してもらい、単味、または混合したときのマウスヒスタミン増感試

験の結果を比較し、IPVとDPTの混合により結果の値が相乗効果的に高くなるかどうかを確認した。測定は、検体を加温した場合と、非加温の場合について行った。IPVについては濃度の違いによる影響も調べた。

当初マウスヒスタミン増感活性を押し上げる要因と考えられたIPV [不活化ポリオ（セービン株）]について、マウスヒスタミン増感試験への影響を確認したが、阪大微研と化血研のIPVにおいてマウスヒスタミン増感活性への影響は認められなかった。しかし、DPT-IPVではわずかにマウスヒスタミン増感活性の上昇が認められた。

IPVにはマウスヒスタミン増感活性は認められず、更にマウスヒスタミン増感活性の用量依存性も認められなかった。従って、DPT-IPVにおけるマウスヒスタミン増感活性の上昇要因は、IPVの体温下降作用によるマウスヒスタミン増感活性の上昇とは考えられず、DPT-IPVの製造工程あるいはDPT製剤との僅かな組成の違いがマウスヒスタミン増感活性の上昇に影響を与えているのかもしれない。DPT-IPV製剤ではマウスヒスタミン増感活性の規格値が0.8HSU/mLに引き上げられたが、IPVにはマウスヒスタミン増感活性が認められなかったことより、ワクチン成分以外でマウスヒスタミン増感活性に影響を与える要因を明らかにすることが規格値の設定には重要と思われる。

加藤研究分担者：わが国の生物学的製剤の多くは薬事法により特別に定められた医薬品として検定に合格しなければ市場に出すこと（ロットリリース）ができない。ワクチンは生物学的製剤の一つである。WHOがワクチンのSLP審査の実施を推奨しているのを

受けて、わが国も薬事法施行規則を一部改正し、平成24年10月より国家試験に加えSLP審査を検定に取り入れた。導入後1年余を経過してSLP審査制度をより広く知ってもらうため、また、SLP審査がワクチンのロットリリース作業に与えた影響、あるいは、SLP審査制度に係る今後の課題について検討するため「ワクチンの品質確保とこれからの国家検定制度」と題する国際シンポジウムを企画・開催した。

シンポジウムには業界と規制当局、それ以外の興味を持つ多くの方々が参加され、業界、規制側、海外それぞれの立場から議論を行った。このような関係者が集まったシンポジウムの開催に対する評価は非常に高く、継続を望む声も聞かれた。その一方で、表面的な議論に終わらないで具体的な展望にまで踏み込んで欲しかったとの声が聞かれた。シンポジウムの議論を踏まえ、今後SLP審査と一変承認における規制当局間の連携、SLP審査の更なる効率化の検討、SLP審査によって得られた製品品質に関する理解を検定試験項目の必要性の検討に繋げる道筋、さらには、全ロット試験の必要性に係る調査が今後の方向性として示された。

終元研究分担者：世界のSLP審査制度の実態を調査することを目的に、先行してSLP審査制度が導入されている欧州および米国でのSLP様式と、日本のSLP様式との比較を行った。モデルケースとして、組換えヒトパピローマウイルスワクチンの日米欧のSLP様式を比較した。その結果、三者の様式は共通する項目が大部分を占めているものの、様式に含まれる項目やその詳細度（製造工程に関する情報、試験データ）に幾つ

かの違いが認められた。全体として日本版の様式は、ワーキングシードやセルバンクの情報および工程内管理試験の項目を含む最も詳細な様式であり、WHOのSLP様式ガイドラインに最も忠実に従っているものと考えられた。一方で本ワクチンは、日米欧で共通の製造方法および規格の製品が販売されていることから、SLP様式に記載される内容を、世界で共通化することが可能とも考えられた。SLP審査によって品質および製造の一貫性を確認するために必要な内容を考慮した上で、国際的に協調が取れた項目・内容を、我が国のSLP様式に取り入れることが必要かもしれない。なお本比較は、輸入ワクチン1製品に限定されたものであり、他の輸入ワクチンで日本と海外でのSLP様式にどの程度の違いがあるのかを、今後幅広く検討する必要がある。

多屋研究分担者：2013年3月の予防接種法の一部を改正する法律により、同年4月1日以降、医師に予防接種後副反応報告が義務化された。感染研では、感染症疫学センターと検定検査品質保証室が中心となって、副反応報告の検討を続けている。これをワクチン製剤部と情報共有しているが、副反応についてより良い解析方法を見いだすことを目的として検討を行った。

医師から報告された予防接種後副反応報告について、ワクチン毎、同時接種の種類毎、報告月毎、ロット毎に集計を行い、副反応部会で検討されている集計方法と比較検討した。

2013年4月1日から2013年12月31日までに1,126人から副反応が報告された。インフルエンザが最も多く、次いでHPV2価、HPV4価、PCV7、Hib、BCGが続いた。

乳幼児は同時接種で接種されている場合が多かった。HPVワクチンについては、持続的な痛みを中心とした副反応が多数報告され、2013年6月14日に積極的勧奨が差し控えられた後に、報告数が急増した。積極的勧奨が差し控えられた後の2013年7月～9月の3か月間に報告されたHPVワクチンの副反応報告を接種月で見ると、HPV2価については平成22年、HPV4価については平成23年に接種された者も含めて幅広い期間で報告されていた。

法律に基づいて予防接種後副反応報告（Vaccine Adverse Events Reporting System: VAERS）が始まり、定期接種・任意接種に関係なく、同じ様式で報告されるようになったことは高く評価できる。2013年4月1日から、感染研は、厚労省と協力・連携しながら、PMDAとともに、副反応サーベイランスに関与することとなったが、近年、乳幼児期のワクチンは同時接種で実施されていることが多いことから、まとめ方に工夫が必要と考えられた。

板村・柗元・内藤研究分担者：海外のワクチン等に対するロットリリース制度の状況を調査するために、カナダ、欧州及びオーストラリアのロットリリース機関への訪問調査を実施した。調査を実施したいずれの国／地域においても、規制当局によるワクチンのロットリリースを実施しており、SLP審査により承認事項に合致していることを確認することがロットリリースの必須要件となっていた。ロットリリースにともなう公的医薬品試験所による試験については、欧州ではすべてのロットに対して実施していたが、カナダ及びオーストラリアにおいては個別の製剤／製品ごとのリスク評

価にもとづいて試験の実施頻度を決めていた。新規に承認されるワクチンに対する試験法及び規格について、欧州及びカナダにおいては、承認申請の早い段階（臨床試験の実施時期等）から製造所と公的医薬品試験所との協議が開始されていた。カナダ、欧州（ドイツ）及びオーストラリアのいずれにおいても、ロットリリースを実施している機関と承認審査を実施している機関が同一であり、両者の情報共有が容易な組織体制になっていた。GMP査察を担当する機関及び市販後調査を担当する機関は、ロットリリースを担当する機関と同一の国と異なる国があったが、定期的に情報共有の機会を設ける等、各薬事規制間の連携が図られていた。

内藤分担研究者：海外のワクチン等に対するロットリリース制度の状況を調査する目的で海外のロットリリース関連機関に対するアンケート調査を実施した。回答を得たのは、カナダ、欧州、中国、韓国、台湾など7カ国／地域の機関からである。回答内容として、ワクチンと血漿分画製剤をロットリリースの主要な対象製剤としていることや、SLP審査+試験をロットリリースの基本的要件としていること等、日本を含む多くの国／地域で一致している項目がある一方、国／地域により対応が異なっている項目も散見された。新規ワクチンの試験法に関する製造所と公的医薬品試験所との協議等については、承認申請前の段階から開始すると回答した国／地域が多かった。ロットリリース試験の判定基準としては、公定書の基準に加えて承認書の規格を適用していると回答した国／地域が多かった。ロットリリース試験のサンプルについては、

参考品として一定期間、保存していると回答した国／地域が多かった。ロットリリース試験の実施頻度に関しては、本邦と同様に全ロットに対して試験を実施している国／地域と、製剤やケース等により異なる頻度で試験を実施している国／地域に回答が分かれた。今後、海外の制度も参考にしつつ、本邦の状況に即した国家検定制度を検討してゆくことが重要と考えられた。

D. 結論

海外のロットリリース制度の調査、国際シンポジウムにおける議論、SLP様式の国際比較、国家検定試験項目の見直し、予防接種後副反応サーベイランスと国家検定の連携の検討、並びに個別の試験法に関する検討等を行い、以下の結論を得た。

- 1) 調査したほとんどの国／地域において、SLP審査＋試験を実施しており、本邦においてSLP審査をワクチンの国家検定に導入したことは、国際調和の面から有意義であったことが確認された。
- 2) 欧州においては血液製剤についてもSLP審査を実施しており。血液製剤に対するSLP審査を導入は今後の検討課題である。
- 3) 本邦のSLP様式と欧米のSLP様式を、組換えヒトパピローマウイルスワクチンをモデルケースとして比較したところ、共通する部分が多いものの異なる部分もあった。
- 4) ロットリリース試験の実施項目としては、力価試験など共通な項目もあつが、試験の種類及び項目数には、国／地域により違いが見られた。
- 5) 試験の実施頻度については、全ロット試験の国／地域と一部ロット試験の国／地域に分かれた。限られたリソースの有効活

用という観点から、リスクベースでの一部ロット試験の導入は検討に値する。

6) 新規ワクチンの試験法及び規格に関する製造所と公的医薬品試験所との協議等の開始時期については、承認申請前の段階からとする国／地域が多かった。

7) 承認審査とロットリリースは、同一の機関で実施されている国／地域が多かった。

8) 予防接種後副反応報告のデータを検定情報とも関連づけて解析し、副反応の異常集積等を迅速に探知するためには、膨大なデータを迅速・的確に分析するために、コンピュータを利用した解析システムを導入することが不可欠である。

9) いくつかの具体的な試験法に関する検討を実施し、科学技術の進歩や国際調和、動物福祉などの社会情勢の変化に応じて、不断に試験法の検討を継続することの重要性を確認した。

以上のようにSLP審査導入後にも、国家検定制度には様々な課題が残っている。課題の解決に向けてさらに調査研究を進める必要がある。

E. 健康危害情報

全世界で毎年 15,000,000 人以上が狂犬病の発症予防のために狂犬病ワクチンの曝露後免疫を受けており、このことにより毎年数十万人の狂犬病による死者を防いでいると推定されている。

台湾は 1961 年に狂犬病の制圧に成功したが、2013 年 7 月に 52 年ぶりにイタチアナグマにおいて狂犬病が再興したと発表した。その後イタチアナグマの狂犬病の報告数は増え続け、2014 年 2 月 26 日現在台中、台東、台南において 330 頭のイタチアナグ

マの狂犬病が報告された（国際獣疫事務局：OIE）。また回顧的調査により少なくとも 2010 年から狂犬病がイタチアナグマにおいて流行していたことが示唆された。イヌ 1 頭、ヤチネズミ 1 匹からも狂犬病が検出された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takayama-Ito M, Nakamichi K, Kinoshita H, Kakiuchi S, Kurane I, Saijo M, Lim CK. A sensitive in vitro assay for the detection of residual viable rabies virus in inactivated rabies vaccines. *Biologicals* 42:42-7, 2014
- 2) Takizawa K*, Nakashima T*, Mizukami T*, Kuramitsu M, Endoh D, Kawauchi S, Sasaki K, Momose H, Kiba Y, Mizutani T, Furuta RA, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Degenerate polymerase chain reaction strategy with DNA microarray for detection of multiple and various subtypes of virus during blood screening. *Transfusion*. 2013; 53: 2545-55. *Equally contributed
- 3) Odaka C, Kato H, Otsubo H, Takamoto S, Okada Y, Taneichi M, Okuma K, Sagawa K, Hoshi Y, Tasaki T, Fujii Y, Yonemura Y, Iwao N, Tanaka A, Okazaki H, Momose SY, Kitazawa J, Mori H, Matsushita A, Nomura H, Yasoshima H, Ohkusa Y, Yamaguchi K, Hamaguchi I. Online reporting system for transfusion-related adverse events to enhance recipient haemovigilance in Japan: a pilot study. *Transfus Apher Sci.* 2013; 48: 95-102.
- 4) Krayukhina E, Uchiyama S, Nojima K, Okada Y, Hamaguchi I, Fukui K. Aggregation analysis of pharmaceutical human immunoglobulin preparations using size-exclusion chromatography and analytical ultracentrifugation sedimentation velocity. *J Biosci Bioeng.* 2013;115:104-10.
- 5) Okajima K, Iseki K, Koyano S, Kato A, Azuma H. Virological Analysis of a Regional Mumps Outbreak in the Northern Island of Japan—Mumps Virus Genotyping and Clinical Description. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66(6):561-563 (2013)
- 6) Abe M, Tahara M, Sakai K, Yamaguchi H, Kanou K, Shirato K, Kawase M, Noda M, Kimura H, Matsuyama S, Fukuhara H, Mizuta K, Maenaka K, Ami Y, Esumi M, Kato A, Takeda M. TMPRSS2 is an activating protease for respiratory parainfluenza viruses. *J Virol.* , 87:11930-11935, 2013
- 7) Nagata S, Maedera T, Nagata N, Kidokoro M, Takeuchi K, Kuranaga M, Takeda M and Kato A. Comparison of the live attenuated mumps vaccine (Miyahara strain) with its preattenuated parental strain. *J Vaccines Immun.* 1: 13-21 (2013)
- 8) Wood D, Elmgren L, Li S, Wilson C,