

Products (VICH) のガイドラインに従い、下記の様に検出限界を算出した。各試験について回帰直線の y 切片 (y-intercept) と傾きを計算し、10 回の試験の y 切片の標準偏差を求めた。各試験の検出限界は  $3.3 \times y$  切片の標準偏差を回帰直線の傾きで割ることで算出した。

6) 試験にかかるコストの試算 : *in vitro* 試験および哺乳マウス接種試験について、その初期費用と 1 回の試験にかかる費用を試算し、比較した。

### C. 研究結果

10 回の試験の結果を表 1 に示した。0.008 ffu/ml のウイルスをスパイクした場合には 10 回中 1 回の試験で 1well のみ陽性 well が検出された。0.016 ffu/well の場合、10 回中 8 回の試験で 1 または 2 個の陽性 well が検出された。各試験の結果を基に検出限界を算出したところ、0.012~0.032 ffu/well であり平均は 0.02 ffu/well となった。1well 当たりのワクチン量は 0.02 ml であり、狂犬病ワクチンの小分け製品は 1 本 1 ml であるので、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明らかにされた。

次に、各試験にかかる費用について表 2 に示した。初期費用については *in vitro* 試験の方が CO<sub>2</sub> インキュベーターの費用等がかかるため劣るが、1 回の試験にかかる費用はマウス購入の必要がないため、*in vitro* 試験法の方が有利となった。また、人的コストについては *in vitro* 試験法が勝っていた。哺乳マウス接種法では 3 週間の観察および脳内接種に時間がかかる上、

マウスに異常があった場合には蛍光抗体法および RT-PCR 法を実施して確認する必要がある。一方、*in vitro* 試験法では培養細胞の準備とワクチンの細胞への接種、および蛍光抗体法のみとなり、試験期間も 6 日であるため、人的コストは低かった。

### D. 考察

SLP 審査制度が平成 24 年 10 月 1 日から施行され、今後段階的に検定試験項目の削減および全ロット検定の廃止等が行われる可能性がある。しかしながら、現実的には米国等一部の国を除くと、ほとんどの国では全ロット検定が行われており、完全に検定を廃止することは難しいと考えられる。

これらのことから、現行の検定と同等に安全性および有効性を評価することが出来、さらに動物愛護にも配慮した試験法の開発が求められている。今回の結果から *in vitro* 試験法の検出限界は非常に低く、ワクチンの安全性を評価するに十分な感度を持っていることが明らかとなった。また、これまでに報告のあった *in vitro* 試験法と比較しても検出限界は 10 倍低い値であることが分かった。本法は動物を全く用いないことから動物愛護の点からは理想的な試験法であると考えられる。

また、リソースの有効活用の観点から国家検定の合理化が検討されているが、本法は試験にかかるコストも従来法に比べ低い。さらに、試験期間が従来法の 21 日から 6 日に短縮できることから、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

能性がある。また、脳内接種のような高度な手技も必要としないことから導入しやすいと考えられる。

#### E. 結論

動物愛護、検定試験効率化の両方の観点から *in vitro* 試験法は非常に有用と考えられる。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。

#### 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) 学会等

1. 伊藤（高山）睦代：狂犬病ワクチン検定における試験管内不活化試験法の開発. 第23回感染研シンポジウム, 2013年5月

#### G. 知的財産権の出願状況

##### 1)特許取得

なし

##### 2)実用新案登録

なし

表 1. 低用量領域での陽性 well 数(96 well 中)

Exp.No.	Input virus (ffu/well)					y-intercept <sup>a</sup>	Slope <sup>b</sup>	DL <sup>c</sup>
	0.008	0.016	0.031	0.063	0.125			
1	0	2	2	4	9	-0.04	71	0.029
2	0	2	6	11	21	-0.50	175	0.012
3	0	2	5	9	9	1.46	73	0.028
4	0	1	4	6	8	0.63	66	0.031
5	1	2	6	11	16	0.96	129	0.016
6	0	0	3	5	10	-0.58	86	0.024
7	0	2	4	9	14	0.13	117	0.017
8	0	2	5	5	12	0.33	92	0.022
9	0	1	3	9	12	0.29	89	0.023
10	0	0	3	7	7	0.29	64	0.032
Average	0.1	1.4	4.1	7.6	11.8	0.30	96	0.023

<sup>a</sup> y-intercept of the linear regression

<sup>b</sup> Slope of the linear regression

表 2. 各試験にかかる費用の試算

	<i>In vitro</i> 試験法		哺乳マウス試験法	
	品目名等	金額 (千円)	品目名等	金額 (千円)
初期費用	蛍光顕微鏡	2,000~4,000	蛍光顕微鏡	2,000~4,000
	安全キャビネット	1,200~2,000	安全キャビネット	1,200~2,000
	薬用保冷庫	300~400	薬用保冷庫	300~400
	CO2 インキュベーター	600~900	サーマルサイクラー	400~600
	細胞保存容器	150~300	電気泳動関連	200~300
試験費用	培養細胞維持	50	マウス購入	200
	消耗品 (プラスチックウェア、培養液、固定液、 標識抗体、バッファー等)	5~10	消耗品 (プラスチックウェア、注射器、固定液、 標識抗体、バッファー、PCR 酵素等、飼育費)	5~20
人的コスト*	6 時間		16~33 時間	

\*作業時間

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」

分担研究報告書

国家検定の見直し - ウイルス製剤の観点から

研究分担者	竹田 誠	国立感染症研究所 ウイルス第三部
研究協力者	駒瀬勝啓 森 嘉生 木所 稔	国立感染症研究所 ウイルス第三部 国立感染症研究所 ウイルス第三部 国立感染症研究所 ウイルス第三部

研究要旨 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。(1)乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間原液)の同定試験、(2)ならびに動物接種試験(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、(1)乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間原液)におけるニワトリ胚初代培養細胞接種試験、(2)乾燥弱毒生風しんワクチン、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチンの風しん中間原液のマーカータ試験、(3)筋注用製剤を除くヒト免疫グロブリン製剤の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ことが考えられ、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重要度の特に高い検討事項の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。

## A. 研究目的

国家検定は、薬事法第43条に基づき実施され、わが国のワクチン製剤の品質を管理する上で、極めて重要な制度のひとつである。平成23年7月4日薬事法施行規則改正等が公布され(平成24年10月1日施行)、国際的には広く実施されているSummary Lot Protocol (以下、SLP)(製造・試験記録等要約書)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。各ワクチン製剤の製造承認書とともに、各ロットの原材料や製造工程に関する詳細な情報、ならびに製造試験記録の情報が、National Control Laboratory (医薬品の規制に関わる試験等を行う国立の又はそれに相当する機関)としての機能を持つ国立感染症研究所(以下、感染研)に集積されることになった。従来全ロットに対する国家検定試験の実施に加えて、SLP審査制度が導入されることによって、わが国の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、わが国は現在、欧米先進国と比べて、定期接種とされたワクチンが少ないというワクチンギャップを抱えている。この問題の解消に向けて、近年、新規ワクチンの承認が進んでいる。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、SLP審査導入下における、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見直しが必要であると考えられる。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、生ワクチン製剤である、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の現状を分析し、これらワクチン製剤が開発された数十年前より画一的に実施されてきた全製剤・全ロット試験の制度の見直しや、必須試験項目の再検討を行う。

## B. 研究方法

### 1. 必須国家検定試験項目の再検討(試験項目削減の検討)

SLPレビュー導入による国家検定試験のあり方についての諮問委員会(品質保証運営委員会、検定検査品質保証室)ならびに「国家検定試験項目の廃止に関する考え方」作成委員会で検討され、平成23年9月30日の生物製剤試験研究センター業務運営委員会にて承認された「国家検定試験項目の廃止に関する考え方」を十分に考慮した上で、現在、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に実施されている試験項目の削除の妥当性について検討する。特に動物を用いる試験においては、自家試験で充分であると考えられる場合には、国家検定の試験項目から削減することが、国際的な動物愛護の観点からも重要であると考えられる。

### 2. 全ロットに対する国家検定試験の実施見直しに関する検討

SLP 審査の導入による製造過程や自家試験成績の精査が可能となったこと、ならびに各製剤のこれまでの国家検定試験成

績の検討に基づき、リスク評価を行い、全ロットに対して試験を実施するのではなく、一定の頻度、あるいは、一定の基準をもとに試験頻度を設定することは、合理的であると考えられる。SLP 審査を実施することにより、ロットの品質が担保され、全ロット試験ではなく、一定の頻度での国家検定試験の実施が適当と考えられる試験項目について検討する。

### C. 研究結果

1. 乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間段階)の同定試験の国家検定からの削除について

「同定試験」は「試料を適当な培養細胞を用いて増殖させたとき、その増殖は、抗麻しんウイルス免疫血清によって中和されなければならぬ」等と生物学的製剤基準に記載され、原液に含まれるワクチン成分が、名称と同種のウイルスであることを確認するために行われる。

下記の(1)～(5)の理由で、「同定試験」を国家検定で2重チェックしなくともその製品の品質を担保することができると考えた。

(1) 記録が残るすべてのワクチンにおいて当該試験で不合格になったことがない。  
(2) ワクチンを中和して実施する試験項目(外来性ウイルス否定試験: ヒト培養細胞接種試験、ニワトリ胚初代培養細胞接種試験、ニワトリ腎初代培養細胞接種試験、卵接種試験、小動物接種試験等)が複数の製造工程(個別別ウイルス浮遊液、原液)

ならびに国家検定(中間段階)にある(資料1、2)。

(3) 製造所において製品のラベル表示とワクチン成分が同種のウイルスであることを示す表示確認試験が最終製品で行われる(資料2)。

(4) 製造所の試験において安定した結果が得られている。

(5) 近年、製造所におけるGMPの向上から、ワクチン製造用株を他のワクチン製造用株と取り違える可能性は極めて低いと考えられる。

「国家検定試験項目の廃止に関する考え方」への適合性については、資料3にまとめた。

2. 乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間段階)の動物接種試験(成熟マウス、乳飲みマウス、モルモット接種試験)の国家検定からの削除について

「動物接種試験」は「主にワクチン原液中の不特定のウイルスを検出する」ことを目的として実施されているが(資料4、5、6)、下記の(1)～(4)の事項を検討した結果、国家検定項目から「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」を削除しても製品の品質への影響はないと考えた。

(1) 過去の成績

記録が残るすべてのワクチンにおいて当該試験の自家試験並びに国家検定で不合格になったことがない。

## (2) 海外の状況 (資料7)

### 1. WHOでは1987年TRS No.760

Requirements for mumps vaccine (Live) において、原液での当該試験を削除（製造用種ウイルスの試験として残す）し、1994年のWHO TRS No.840 Requirements for measles, mumps and rubella vaccine and combined vaccine (live) からは製造用種ウイルスの試験からも削除している。

2. 欧州局方では製造用種ウイルスの試験として実施を求めているが、製造工程の試験としては求めている。また検定項目にない。

## (3) 日本の製造の環境

1. 製造所が使用する製造用種ウイルスは当該試験に適合している(資料5)。

2. 原液の試験として当該試験が実施されている(資料5)。

3. 製造用細胞はSPF動物から作製されている(資料5)。

4. げっ歯類由来の生物由来原料は使用されていない。

5. GMPの導入によりこれらが開発された1970-90年と比べ製造環境が改善されている。

## (4) 試験法の評価

1. 試験の目的が不特定のウイルスの検出であることから、試験の検出感度を評価すること、ならびに自家試験と国家検定の結果を定量的に比較することは困難である。

2. 原液(最終バルク濃度相当)の製造量と比較して、試験に使用される検体量は少

なく(数万分の1から数十万分の1)、試験の有効性が限定的である。(資料6)

3. 乳のみマウス接種試験において、添加剤であるグルタミン酸ナトリウムの濃度が高い製剤においては、添加剤そのものによる影響が強く出るため試験の有効性の判断そのものが難しい場合がある。また、動物愛護の観点から動物を用いた試験を減少させることが国際的に求められている。

「国家検定試験項目の廃止に関する考え方」への適合性については、資料8にまとめた。

3. それ以外に削除について検討すべきと考えた試験項目

(1) 乾燥弱毒生麻しん、乾燥弱毒生風しん、乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン(中間段階)におけるニワトリ胚初代培養細胞接種試験、(2) 乾燥弱毒生風しんワクチン、乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチンの風しん中間段階のマーカータ試験、(3) 筋注用製剤を除くヒト免疫グロブリン製剤の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、検討を開始した。また、今後、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によって管理された製造用株によって製造されていると評価できるのであれば、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。

4. SLP 審査の実施下においては、試験の性質上、国家検定試験によるダブルチェック

クが不要と考えられる試験項目、ならびに全ロット検定ではなく、一定頻度の国家検定試験の実施で、十分に品質が保証できると考えられる試験項目

製剤に含まれるワクチン株の性質を確認する試験においては、とくに性質の明確なものにおいては、繰り返し試験の必要性は非常に低いと考えられ、SLP 審査によって自家試験成績を精査することで十分に品質を保証できると考えられる。

今後、生物学的製剤基準が改訂され、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によって管理された製造用株によって製造されていると評価できるのであれば、ムンプスワクチンの「マーカ試験(ブラックサイズが参照ウイルスと同程度)」は、全ロットに国家検定試験を実施する必要性はなく、SLP の精査に加えて、同じワーキングシードに由来する製剤においては、ある一定頻度で実施すれば十分に製剤の品質を保証できると考えている。

#### D、E. 考察と結論

「国家検定試験項目の廃止に関する考え方」の「5. 試験項目の廃止を検討するときに考慮すべき点」を厳重に適応する場合、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においては、多くの試験項目において検定試験を廃止することは難しいと考えられる。ただし、「4. 試験項目を設定した後に、原材料の安全性の確保やシードの適正な管理の基に製造され、かつ当該試験において長期間、多くのロットで規格に常に適合し

ている場合」国家検定から試験項目の廃止を考慮する状況であるとされており、平成 24 年 10 月 1 日から施行された SLP 審査の効果を十分に評価した上で、積極的に試験項目の削除を検討すべきである。さらに今後、生物学的製剤基準の改訂、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製造が、シードロットシステム化などが実施された場合には、国家検定からの試験項目のさらなる削減を検討すべきであるとする。特に、限られたヒューマンリソース下での国家検定の実施においては、自家試験ならびに SLP の精査で十分に品質が保証されたと考えられ、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は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重要度の特に高い検討事項の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。

#### F. 研究発表

論文発表

- なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特許取得

特記事項なし

実用新案登録

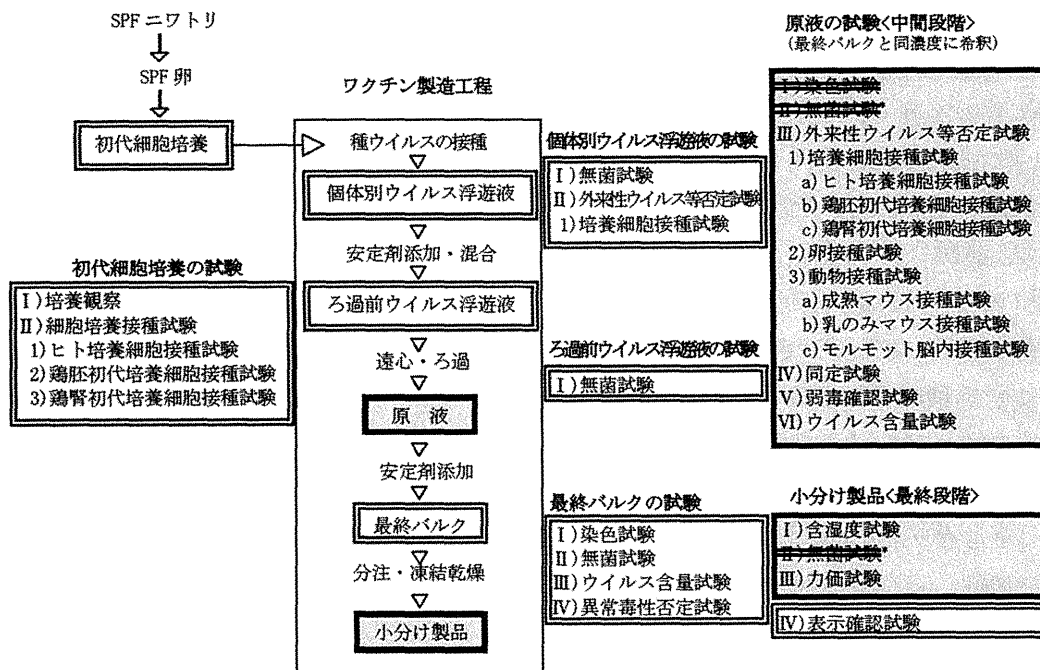
特記事項なし

その他

特記事項なし



## 生ウイルスワクチン(麻疹)の製造工程と品質管理試験



検定・検査業務必携より抜粋

## ウイルス中和工程のある国家検定項目 (中間段階)

		麻疹	風疹	ムンプス
卵接種試験		○	×	○
小動物接種	成熟マウス	○(3社中2社)	×	○
	乳飲みマウス	○(3社中2社)	×	○
	モルモット	○(3社中2社)	×	○
	ウサギ	/	×	/
細胞接種	ヒト細胞	○	○	○
	ニワトリ胚細胞	○	○	○
	ニワトリ腎細胞	○	○	○
	ウサギ腎細胞	/	○	/
	ウズラ細胞	/	○	/

○ 中和工程あり × 中和工程なし

検定廃止の考え方における留意点との比較(同定試験)

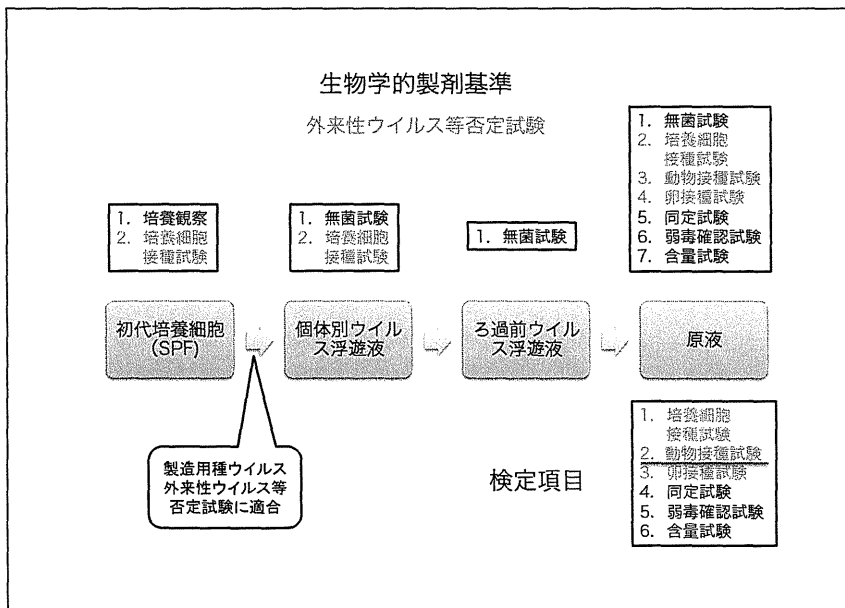
資料3

		項 目	弱毒生ウイルス ワクチン
4. 状況		適正な製造、かつ長期間、多くのロットで常に適合	○
		、成績が安定、かつ規格値に対し余裕を持って適合	△
		有効成分の同定、純度が高い	△
		長期間、安定した成績	○
5. 考慮すべき点	試験結果の再現性	自家試験との高い相関性	○
		高い試験合格率、低い再試率	○
		連続した合格	○
	試験結果の安定性	ばらつきが小さい	○
		シード更新前後での試験成績が同等	○
	製剤の性質	有効成分の同定、不純物の同定	△
		未知の物質混入の可能性が低い	△
		シードの更新による品質の影響が小	○
		製剤が病原体そのもの、または由来したものではない	×
	他製剤	他製剤との整合性	○
	海外	海外の検定状況	○

資料4 外来性ウイルス等否定試験

ワクチン 試験		麻疹	ムンプス	風疹	
		ニワトリ	ニワトリ	ウズラ	ウサギ
培養細胞接種試験	ヒト細胞	○	○	○	○
	ニワトリ胚細胞	○	○	○	/
	ニワトリ腎細胞	○	○	○	/
	ウズラ胚細胞	/	/	○	/
	ウサギ腎細胞	/	/	/	○
動物接種試験	成熟マウス	○	○	○	○
	乳飲みマウス	○	○	○	○
	モルモット	○	○	○	○
	ウサギ	/	/	/	○
卵接種試験		○	○	○	/

資料5 製造工程における外来性ウイルス等否定試験



資料 6 動物接種試験

試験 (動物の規格)	接種部位・量		匹数	観察 期間	規格
	脳	腹腔			
成熟マウス (4~5 週齢)	0.03mL	0.5mL	10 匹 以上	21 日間	いずれの動物も外来性の病原体による感染を示してはならず、またその 80%以上は生き残らなければならない。ただし乳のみマウス試験は注射後 1 日以内に死亡したマウスを判定から除外する。
乳のみマウス (24 時間以内)	0.01mL	0.1mL	20 匹 以上	14 日間	
モルモット (300-400g)	0.1ml		5 匹 以上	14 日間	

資料7 海外の状況

工程	動物接種試験	WHO/TRS	EP/OCABR	USP/FDA	承認書,生物基、検定基準
種ウイルスの試験	成熟マウス	×	○	?	○
	乳飲みマウス	×	○	?	○
	モルモット	×	○	?	○
製造工程(原液)	成熟マウス	×	×	○	○
	乳飲みマウス	×	×	○	○
	モルモット	×	×	×	○
検定	成熟マウス	×	×	?	○
	乳飲みマウス	×	×	?	○
	モルモット	×	×	?	○

資料8 検定項目廃止の考え方による評価(動物接種試験)

	項目	MMR ワクチン	備考
状況	適正な製造、かつ長期間多くのロットで合格	適合	
	成績が安定、規格値に余裕をもって合格	適合	定性試験
	有効成分の同定、純度が高い	該当しない	生ワクチン
	長期間安定した成績	適合	
試験結果の再現性	自家試験と高い相関性	適合	定性試験
	高い試験合格率、低い再試験率	△	再試ある(試験未成立)
	連続した合格	適合	
結果の安定性	ばらつきが小さい	適合	定性試験
	シード更新前後での試験成績の同等性	適合	
製剤の性質	有効成分の同定、不純物の同定	該当しない	生ワクチン
	未知の物質の混入の可能性	該当しない	生ワクチン
	シードの更新による品質の影響が小さい	適合	
	製剤が病原体そのもの、または由来しない	該当しない	生ワクチン
他製剤	他製剤との整合性	適合	生ポリオのみ
海外	海外の検定状況	適合	資料5

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」

分担研究報告書

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

研究分担者 柴山 恵吾 (国立感染症研究所・細菌第二部・部長)  
研究協力者 久保田眞由美 (国立感染症研究所・細菌第二部・主任研究官)  
研究協力者 蒲地 一成 (国立感染症研究所・細菌第二部・室長)

研究要旨. 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、科学的な見地にに基づきその妥当性について検討を行った。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ことから、DPT-IPV 製剤では IPV 以外によるマウスヒスタミン増感活性を上昇させる要因が示唆された。

## A. 研究目的

DPT-IPV (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）)の承認前検査で、マウスヒスタミン増感試験の結果が従来 DPT 製剤に比べて高い傾向にあった。この研究では、マウスヒスタミン増感活性を上昇させる要因を探るとともに、DPT-IPV で設定された規格値 0.8HSU/mL の妥当性を検討することを目的とした。阪大微研及び化血研からのワクチン原材料を用い、DPT および IPV を調製した後マウスヒスタミン増感試験を行い、IPV 単独および混合による試験結果への影響について調べた。

## B. 研究方法

マウスヒスタミン増感試験に用いた DPT-IPV の原液：

阪大微生物病研究会（阪大微研）

- ▶濃厚沈降精製百日せきワクチン原液 (P)
- ▶濃厚沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド原液 (DT)
- ▶濃厚沈降不活化ポリオワクチン原液 (IPV)

## 化学及血清療法研究所（化血研）

- ▶精製百日せきワクチン原液 (P)
- ▶沈降ジフテリアトキソイド単味原液 (D)
- ▶沈降破傷風トキソイド単味原液 (T)
- ▶3 価混合不活化ポリオワクチン原液 (IPV)

### 1. マウスヒスタミン増感試験

検定検査試験手順書(SOP)に従って実施した。即ち、マウス 1 群 10 匹を用い、検体接種 4 日後にヒスタミンを接種、ヒスタミンによる下降体温を測定した。参照百日せきワクチンの下降体温との比較から、平行線定量法にて検体におけるマウスヒスタミン増感活性 (HSU/mL) を求めた。

### 2. IPV 混合による影響

ワクチン原液を組み合わせることで小分け製品と同濃度の IPV、DPT (3 種混合)、DPT-IPV (4 種混合) を調製した。加温検体の場合、ワクチン原液各々を 37°C、4 週間加温した後、小分け製品と同濃度の IPV、DPT (3 種混合)、DPT-IPV

(4種混合)を調製しマウスヒスタミン増感試験に用いた。

### 3. IPV 用量依存性の試験

IPV 液は、小分け製品濃度 (R1)、小分け製品の4倍希釈濃度 (R4) の2濃度について、化血研の非加温、加温検体についてマウスヒスタミン増感試験を行った。

### 倫理面への配慮

動物実験は、国立感染症研究所実験動物実施規定に従って、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. 研究結果

実施したマウスヒスタミン増感試験で得られた結果を表1-3に示した。

- 阪大微研の検体は、加温 IPV、加温 DPT、加温 DPT-IPV についてのみ実施した。
- 化血研の検体は、非加温と加温の IPV、非加温と加温の DPT、非加温と加温の DPT-IPV に加え、非加温と加温の4倍希釈 IPV について実施した。

表1 阪大微研 (加温)

	加温力価	95%信頼 下限	95%信頼 上限
無処理	0.069	0.024	0.160
IPV	0.090	0.032	0.206
DPT	0.111	0.041	0.252
DPT-IPV	0.182	0.073	0.408

(HSU/mL)

表2 化血研 (非加温)

	非加温 力価	95%信頼 下限	95%信頼 上限
無処理	0.076	0.027	0.174
IPV (R1)	0.087	0.031	0.197
IPV (R4)	0.087	0.032	0.198
DPT	0.168	0.067	0.371
DPT-IPV	0.107	0.040	0.241

(HSU/mL)

表3 化血研 (加温)

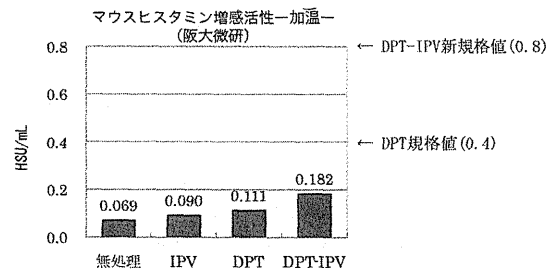
	加温力価	95%信頼 下限	95%信頼 上限
無処理	0.076	0.024	0.189
IPV (R1)	0.047	0.013	0.121
IPV (R4)	0.111	0.037	0.271
DPT	0.245	0.093	0.590
DPT-IPV	0.204	0.075	0.489

(HSU/mL)

## 1. IPV 混合による影響

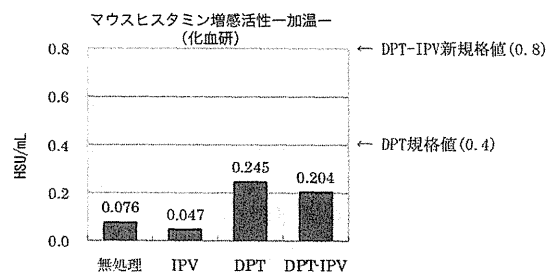
IPV を混合することによるマウスヒスタミン増感活性への影響を調べるため、加温 IPV、加温 DPT、加温 DPT-IPV のマウスヒスタミン増感活性を求めた (図1、2、表1、3)。

阪大微研の無処理、IPV、DPT、DPT-IPV のマウスヒスタミン増感活性はそれぞれ、0.069、0.090、0.111、0.182HSU/mL であった。DPT-IPV のみが無処理の95%信頼上限値 (0.160HSU/mL) を僅かに超え、マウスヒスタミン増感活性が上昇する傾向が認められた (図1)。



(図1)

化血研の無処理、IPV、DPT、DPT-IPV のマウスヒスタミン増感活性はそれぞれ、0.076、0.047、0.245、0.204HSU/mL であった。DPT と DPT-IPV が無処理の95%信頼上限値 (0.189HSU/mL) を僅かに超えマウスヒスタミン増感活性が上昇する傾向にあった。



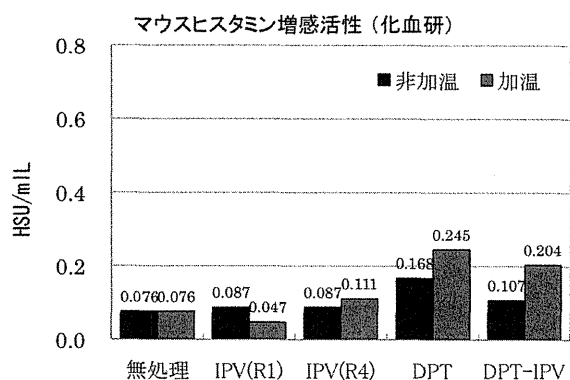
(図2)

加温 IPV 単独でのマウスヒスタミン増感活性は、阪大微研が 0.090 HSU/mL、化血研が 0.047 HSU/mL で、ともに無処理と同程度の値を示していたことから、両製造所が使用している不活化ポリオ (セービン株) にマウスヒスタミン増感活性は認められなかった (表1、表3)。

## 2. IPV 用量依存性の試験

化血研の非加温 IPV と加温 IPV について、小分け製品濃度 (R1) とその4倍希釈濃度 (R4) についてマウスヒスタミン増感活性を求めた。

非加温 IPV (R1) と非加温 IPV (R4) のマウスヒスタミン増感活性は、ともに 0.087HSU/mL で差はなかった。加温 IPV (R1) と加温 IPV (R4) のマウスヒスタミン増感活性は、それぞれ 0.047 HSU/mL、0.11HSU/mL であった。これより、非加温、加温の両方において、IPV に用量依存的なマウスヒスタミン増感増感活性は認められなかった (図3、表2、3)。



(図3)

化血研の DPT と DPT-IPV の比較において、非加温 DPT の 0.168 HSU/mL が加温 DPT で 0.245 HSU/mL へ、非加温 DPT-IPV の 0.107 HSU/mL が加温 DPT-IPV で 0.204 HSU/mL となり、DPT、DPT-IPV ともに加温によりマウスヒスタミン増感活性が上昇していた。これらの値は無処理マウスにおける 95%信頼上限値 (0.189 HSU/mL) を超えており、僅かであるが加温によるマウスヒスタミン増感活性の上昇傾向が認められた (図3)。

## D. 考察

本研究では、マウスヒスタミン増感活性を上昇させる要因を探ること、DPT-IPV で新たに設定された規格値 0.8HSU/mL の妥当性を検討することを目的とし実験を行った。

DPT-IPV 製剤は、DPT に IPV が加わった製剤であり、承認前検査の加温 DPT-IPV では DPT の基準値 0.4 HSU/mL を超えるマウスヒスタミン増感活性の上昇が認められたことから、IPV がマウスヒスタミン増感活性を上昇させる要因であるか否かに焦点を当てマウスヒスタミン増感活性の試験を行った。その結果、阪大微研、化血研からの 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。

## E. 結論

- 1) 阪大微研の加温 DPT-IPV において、マウスヒスタミン増感活性は僅かに上昇した。
- 2) 化血研の加温 DPT、加温 DPT-IPV において、マウスヒスタミン増感活性が僅かに上昇した。
- 3) IPV におけるマウスヒスタミン増感活性は認められなかった。
- 4) IPV に用量依存的なマウスヒスタミン増感活性は認められなかった。

## 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

(予定も含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし



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」

分担研究報告書

国家検定と承認制度の関係に関する研究

研究分担者:加藤 篤 (国立感染症研究所、放射能管理室・検定検査品質保証室<併任>)

研究協力者:内藤誠之郎、落合雅樹、藤田賢太郎、近田俊文(同、検定検査品質保証室)

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 がワクチンのロットリリースに製造・試験記録等要約書(サマリーロットプロトコール: SLP)の書類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、その結果を総括した。

A. 研究目的

生物学的製剤の多く(ワクチン、抗毒素、血液製剤等)は薬事法の第 43 条の規定により“厚労大臣により「高度の製造技術や試験法を必要とする」医薬品”と指定され、国家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。生物学的製剤の品質は、薬事法により国家検定が定められた当時と比べて GMP(医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準)の導入によって、製造環境の基準、機器の精度管理、操作手順のマニュアル化、作業員の教育等が行われた結果、大幅に設備と製造手順が改善され、製品の品質差が出難く(均質性が高)くなった。実際、GMP 整備が始まった 1980 年以降、国家検定での不

合格は皆無ではないものの、極めてまれな事になった。

従来、わが国は「高度の製造技術や試験法を必要とする」という理由により、製造販売業者の自家試験記録は参考に留め、国による試験を主体にした国家検定制度を採用していた。一方、WHO はロットリリースの際には製造と試験記録の要約(サマリーロットプロトコール: SLP)を申請者に提出させ、製造者が承認書通りに製造、試験し、当該ロットが規格を満たしているかを書類で審査する方式を各国に求めている。これは、WHO がいろいろな技術レベルにある世界の国々を鑑みてワクチンのロットリリース手順の国際化、証明制度の共通化を推進しようとしているためと理解される。

薬事法施行規則の一部改正により平成24年10月より正式に国家検定にSLP審査が加わり1年余が経過した。そこで、SLP審査制度をより理解してもらうことに加えて、SLP審査がロットリリース作業に与えた影響、あるいはSLP審査を巡る問題点を整理し、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開催し、SLP審査制度の成り立ちを紹介するとともに、業界と規制当局、海外と日本といった立場の違いを明らかにし、それらを踏まえた今後の方向性について討議を行った。本研究報告書は、シンポジウム開催までの過程とその結果を総括したものである。

## B. 材料と方法

### 国家検定に係るシンポジウム検討班の組織

国家検定制度の在り方を検討するために業界関係団体と感染研品質保証室との間で懇談会を持ち、シンポジウムの形態、方向性、開催方法について議論を重ねた。関係団体として日本ワクチン産業協会、日本製薬工業協会、EFPIA JAPAN、PhRMAのご協力をいただいた。

### シンポジウム開催

感染研ホームページへの掲載ならびに、業界団体の協力を得て薬業4団体が共同運営する情報発信サービスPRAISE-NET (<http://www.praise-net.jp>)、日本薬学会のホームページへの掲載、あるいはメール連絡を通して電子的に関係者に周知した。シンポジウムは感染研の共用第一会議室を使い、事前登録制とした。業界団体の協力を得てシンポジウムは日・英同時通訳付きとし、要旨、ハンドアウトは日・英両版

を用意して正確な議論ができるように配慮した。

### シンポジウム開催後の内容評価(参加者アンケートの実施)

シンポジウム開催後にSLP審査制度に関する発表と議論が適切に行われたかどうかを知るため参加者にアンケートを実施し、シンポジウムの内容を評価した。

## C. 研究結果

### 国家検定に係るシンポジウム検討班

従来、製造販売業者が作成する自家試験記録は国家検定の際の参考と扱われてきたが、平成24年10月から正式に「製造・試験記録等要約書(SLP)」の審査が国家検定の一部として開始された。これにより試験の実施に加えてSLPの記載事項が製造販売承認書の内容に適合しているか否かが総合的に判定されることになった。シンポジウム検討班では、シンポジウムを第1部と第2部に分けて、第1部では主に講演を中心にSLP審査の今までの流れと問題点をまとめ、第2部ではSLP審査の現在の問題点、今後の国家検定の在り方等を討論中心に進めることにした。

第1部ではSLP審査導入の経緯を広く理解してもらうことが重要と考え、WHOが作成したロットリリースガイドラインの概要をWHO関係者により説明していただき、そのうえで厚生労働省監視指導・麻薬対策課に日本導入までの流れを概説してもらうことにした。加えて国立試験機関(感染研)から見たSLP審査制度の現状と問題点、製造販売業者から見た問題点、SLP審査先進国であるEUから見た現状について講演していただくことにした(シンポジウム資料参照)。

第2部では、第1部の講演者に感染研所長、PMDA 品質管理部長を加えた方々を討論者として迎え、進行役を中心に主に二つの点について議論を行う事にした。1点目は国際協調の必要性について、2点目は国家検定制度の改善についてである。2点目はさらに二つに分けて、ひとつは現実的な問題として SLP 様式の製造販売承認事項の一部変更承認(一変)時期と SLP 審査時期の時間的に注意しなければならない問題点についてとした。この点に関しては、申請者、感染研、PMDA、厚生労働省審査管理課、監視指導麻薬対策課の情報共有の必要性を議論する予定とした。もうひとつは将来的な国家検定の中身(たとえば試験項目の削減に至る道筋)、あるいは国家検定の在り方(たとえば試験の頻度変更に至る道筋)についてとした。この点に関しては、各立場の方の間に議論を行う予定した。第2部では、登壇者と進行役の間での議論だけでなく、広く会場の参加者からも意見を聞くスタイルとした(シンポジウム資料参照)。

#### 国家検定に係るシンポジウムの実施

シンポジウムの申し込み開始後、わずか2週間で定員(150名)となり申し込みを中止した。締め切り時の申し込みは154名で、その内訳はワクチン製造販売業者80名、ワクチン以外の医薬品製造販売業者35名、規制当局24名、その他15名であった。申し込み者中、当日の参加された方は143名であった。シンポジウムはWHOからの講演予定者が都合により参加できずに発表原稿を代理発表する事になった他、厚生労働省からの講演者の交代という当日変更があった。それらを除いては予定通り進行した。

#### シンポジウムの評価(アンケート結果)

シンポジウムの内容を評価するために終了後にアンケート用紙を送り調査を実施した(図1)。参加者143名に対して有効数は75とほぼ半数からの回答があった。その所属別数はワクチン製造販売業者52、ワクチン以外の医薬品販売業者6、規制当局12、その他5であり、参加人数に比して回答者の所属が特別偏っていることはなかった(表1)。

第1部の「SLP 審査制度」に興味を持ってシンポジウムに参加されたのは72/75(96.0%)であった。第1部の内容に概ね満足されたのは61/72(84.7%)と高い割合を示した。少数ではあるが満足できなかった方の理由の半分はWHOからの講師が代理発表になってしまったことを挙げており、シンポジウム第1部の講演内容、講演時間に対する不満は少なかった(表1)。

第2部の「これからの国家検定」に興味を持ってシンポジウムに参加されたのは69/75(92.0%)であり、第1部と同様大多数の方が興味を持って参加されることが示された。参加して内容に概ね満足されたのは55/69(79.7%)と高い割合ではあるが、やや不満がある数字となった。不満の理由は、議論の進行が早い3/69(4.3%)、議論の内容が期待と異なる3/69(4.3%)、その他8/69(11.6%)となった(表2)。その理由として、「表面的な議論」、「何をいつまでにどう改善するのか不明」、「結論があいまい」、「登壇者に審査管理課も加えたほうがよかった」が挙げられ、導入説明、議論点の設定に不満があるのではなく、議論の煮詰め方に不満があることが判った(表3)。

シンポジウムの討論内容を踏まえ

て以下のように国家検定と承認制度について検討した。

### SLP 審査と国際的品質保証制度に関する検討

SLP 審査は WHO が推奨するロットリリースに必要な判定作業である。WHO の意図するところはワクチンのロットリリース手順の国際化、証明制度の共通化の推進である。SLP 審査は、ヨーロッパ連合(EU)、米国、カナダで全ロットに対して行われており、EU 域内では相互承認制度がすでに確立されている。

海外のワクチン製造販売業者から SLP の記載を英語から日本語への転記ミスを防ぐ意味で、英語版での提出を可能にして欲しいとの要望があり、すでに英語版での提出は多くの国では認められているとの理由が添えられていた。しかし、アジアでは韓国、中国、北米ではメキシコが母国語での SLP 記入を求めており必ずしも日本が例外ではないことが判った。

これに加えて SLP 様式の共通化についても将来展望として議論された。しかしながら、そもそも SLP は製造と試験記録の要約書であり、製造販売業者のノウハウの詰まったものであるため、その製造工程を示した SLP 様式はどこの国でも公開しておらず、国際的な様式の比較は難しい。つまり、A 国の SLP 様式と B 国の SLP 様式が同じとは限らないので、SLP 審査の中味が同等であるという相互承認の前提に立てない。シンポジウムでは、EU の立場を紹介くださった GSK の講演者が、各国向けの SLP についても説明され、内容的に大差は無いが、内容の見せ方に日本独自の部分があると紹介された。こういった表示上の問題に限ったことであれば、将来的に統一方

向に向かうことは可能であると考えられる。

統一が難しいかもしれないと思われる点は、SLP 様式は承認書を基に作成されている点である。承認書の記載内容は日米 EU 医薬品規制調和国際会議(ICH)で大まかな枠組みが決められているだけで承認書の内容は一致していない。したがって相互承認の議論をするには、承認書の中味、少なくとも SLP 様式が相互承認を行う国間で満足のいくものであるかの確認が必要である。

### SLP 審査導入後の国家検定に関する検討

現在、日本、EU ではすべてのロットに対して試験を含む検定を行っている。一方、米国はすべてのロットではなく、製品の安定性にもとづく独自判断により非公開の頻度で試験を行っている。SLP 審査がわが国でも開始された事により、検定実施側(感染研)は今までの自家試験記録では知り得なかった製造記録の要約が見られる様になり、製造段階の工程の安定性、製剤品質の均一性を確認できるようになった。製品の信頼性に対する検定実施側の理解が深まると予想される。今後、SLP 審査により製品の均質性、安定性が優れており製造販売側と国家検定実施側で二重に試験を行う必要が無いと感染研が判断するに至った場合には、検定項目から特定の試験を削除する手順を整える必要がある。

現在、日本はすべてのロットの試験を行っているが、これを一歩進めて、全ロット試験の原則を見直し、SLP 審査は全ロットで行うが、試験は製品の安定性に依じて任意頻度で行うといった形にかえることも検討に値する。実際、カナダはそれを実行しており、