

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政策研究事業

総括研究報告書

ワクチン等の品質確保を目的とした新たな国家検定システムの
構築のための研究

研究代表者 脇田 隆字 国立感染症研究所 所長

研究要旨：

国家検定は、ワクチン、血液製剤等の特に注意を要する医薬品に設けられている制度である。この制度は、WHOにおいても各国の規制当局が実施しなければならない必須要件と定めており、ワクチン、血液製剤等の品質確保において重要な役割を担っている。この一方で、ワクチン、血液製剤等の品質は向上しており、品質向上に合わせた柔軟な国家検定制度のあり方の検討は急務となってきた。本研究では、国家検定をより有効な制度に向上させるために必要な調査、研究を行うことを目的としており、1) ワクチンの国家検定においては、既に導入されている製造・試験記録等要約書 (SLP) 審査制度の血液製剤、抗毒素製剤等への拡大、2) 国家検定に用いられている動物実験について、試験精度、再現性等の改善及び動物愛護の観点からの 3Rs 対応、3) ワクチン等の品質に係るリスクを客観的に評価し、品質リスクに応じて試験頻度及び試験項目を変更可能な国家検定の仕組みの提案、を主として検討した。

- 1) 血液製剤については、SLP 審査制度の導入を目指し、ワクチン製剤とは別に血液製剤に特化した SLP 様式作成指針を作成し各品目の SLP 様式を作成することとし、今年度は各社各工場で定めた優先 7 品目のグロブリン製剤の様式通知を先行して行って試行を開始した。今後は順次、他の品目の様式作成と通知を行い、全品目同時に施行を開始する。問題点は試行の間に解決し、血液製剤の SLP 審査制度を滞りなく導入することができるよう進めている。蛇毒抗毒素製剤については、乾燥まむしウマ抗毒素について SLP 審査の試行を行い、その他の抗毒素製剤については試行を省略する形で進めることになった。
- 2) 試験方法の評価と改良に関して、異常毒性否定試験の今後のあり方について、ワクチン製剤も含め幅広く検証し、生物学的製剤基準への省略規定導入による試験の廃止を検討した。また、ヒトの血清中には、はぶ毒素 (出血 II) に対する十分な抗出血 II 価が含まれているという科学的根拠に基づき、生物学的製剤基準の改正案では、はぶ毒素 (出血 II) 関係の記載が削除された。動物実験については、人道的エンドポイントの新たな指標として体温に着目し、それを可能にする実行容易な体温測定方法について検討したところ、ヒト用赤外線体温計を用いてマウス体温測定を簡易に行うことができ、マウスの致死性動物試験において、体温に基づく人道的エンドポイント設定が可能と考えられた。また、狂犬病ワクチン、B 型肝炎ワクチン、4 種混合ワクチンに含まれるセービン株由来不活化ポリオワクチン、破傷風トキソイドの力価試験について、実験動物を用いて免疫原性を評価する *in vivo* 試験から抗原量を測定する *in vitro* 試験への移行のための検討を進めた。インフルエンザ HA ワクチンの力価試験については、現在実施されている SRD 試験の再現性について解析を行い、事前に十分な試験条件の検討や測定基準を確立することにより、全ロット検定試験から一部ロット検定試験の実施も可能と考えられた。
- 3) ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価 (試行) に対するアンケート調査を行った。その結果、これまでのリスク評価の試行では、製剤ごとの特性を考慮して各評価項目の重要度が設定できるよう、「各評価者が設定した重要度」を用いて主に総合的リスクスコアを算出してきたが、その

代わりに「共通の重要度」を用いることにより、評価者ごとのバラつきや偏りを避けることができると考えられた。さらに、リスク評価に基づいて国家検定における試験実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方等の草案を作成した。また、ワクチンの安定供給を確保するため並行検定の常時実施を導入した場合に生じ得る問題点を抽出し、その対策について検討したところ、並行検定の対象となる製剤や試験の選択を考慮するなど、制度上の工夫により克服できると考えられた。並行検定の常時実施は、国家検定の質的低下や信頼性の低下を招くことなく、医薬品の製造後、市場への出荷までの期間を短縮できることから、導入に向けて具体的に検討を進めるべき課題であると考えられた。

以上の結果は、平成30年度から進められている「ワクチン行政全般に関する官民対話」において抽出された諸課題の解決にも資することが期待される。

研究分担者

		林 昌宏	国立感染症研究所
浜口 功	国立感染症研究所		ウイルス第一部 室長
	血液・安全性研究部 部長	伊藤睦代	国立感染症研究所
西條政幸	国立感染症研究所		ウイルス第一部 室長
	ウイルス第一部 部長	河原円香	国立感染症研究所
高橋宜聖	国立感染症研究所		ウイルス第一部
	免疫部 部長	松村隆之	国立感染症研究所
長谷川秀樹	国立感染症研究所		免疫部 室長
	インフルエンザウイルス研究センター センター長	原田勇一	国立感染症研究所
石井孝司	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
	品質保証・管理部 部長	嶋崎典子	国立感染症研究所
花木賢一	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
	動物管理室 室長	佐藤佳代子	国立感染症研究所
染谷雄一	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
	ウイルス第二部 室長	落合雅樹	国立感染症研究所
森 茂太郎	国立感染症研究所		品質保証・管理部 室長
	細菌第二部 室長	内藤誠之郎	国立感染症研究所

研究協力者

大西 真	国立感染症研究所	藤田賢太郎	国立感染症研究所
	副所長		品質保証・管理部
大隈 和	国立感染症研究所	板村 繁之	国立感染症研究所
	血液・安全性研究部 室長		品質保証・管理部
野島清子	国立感染症研究所	田原口元子	国立感染症研究所
	血液・安全性研究部		動物管理室
松岡佐保子	国立感染症研究所	清原知子	国立感染症研究所
	血液・安全性研究部 室長		ウイルス第二部
水上拓郎	国立感染症研究所	柴山恵吾	国立感染症研究所
	血液・安全性研究部 室長		細菌第二部 部長

加藤はる 国立感染症研究所
細菌第二部 室長
岩城正昭 国立感染症研究所
細菌第二部
阿戸 学 国立感染症研究所
感染制御部 部長
大槻紀之 国立感染症研究所
ウイルス第三部 室長
西塔 哲 国立感染症研究所
総務部業務管理課

A. 研究目的

国家検定制度は、製造販売承認制度、GMP調査制度、製造販売後調査制度等とともに、我が国に流通するワクチン、血液製剤等の生物学的製剤の品質確保において根幹を成す医薬品規制制度の一つである。近年、医薬品流通のグローバル化に伴い国家検定の国際標準化、医薬品の品質向上が図られているが、一方で企業におけるガバナンスやコンプライアンスのあり方等の課題が明らかとなって来ている。また、平成30年度から「ワクチン行政全般に関する官民対話」が進められているところであるが、動物試験の3Rs対応等国家検定に関連する課題については、本研究班でも検討することになった。本研究ではこうした内外の状況変化に対応すべく、国家検定をより有効な制度に向上させるために必要な調査、研究を行うことを目的としている。

ワクチンの国家検定においては、製造・試験記録等要約書（SLP）審査が導入され、ワクチンの品質保証体制が質的に向上し、国家検定制度（ロットリリース制度）の国際的な調和が図られることになったが、その他の国家検定対象製剤（血液製剤、抗毒素製剤等）については、未だSLP審査が導

入されておらず、国際標準に合わせるためにもSLP審査を導入すべき時期に来ている。一方、国家検定で実施する試験で不適合になる場合は極めて稀となり、ワクチン、血液製剤等の品質向上がうかがえる。本研究ではワクチン等の品質に係るリスクを客観的に評価し、品質リスクに応じて試験頻度及び試験項目を変更可能な国家検定の仕組みを提案し、国家検定試験に必要なリソースの有効活用を目指す。また、国家検定に用いられている動物実験に関しては、試験精度、再現性等の改善及び欧州を中心に進められている動物愛護の観点からの3Rs対応を検討する。さらに、WHOが主催する国際会議等に積極的に参加するなどして他国のロットリリース制度の状況を参考にしながら、我が国のワクチン、血液製剤等の国家検定制度の国際整合性の確保、並びに国家検定から得られる情報を適切に評価して検定試験を最適化すること、及び試験精度等の向上をめざした国家検定試験の見直しが必要であろうと考えている。これらは国家検定機関しかできないことである。

B. 研究方法

血液製剤等へのSLP導入

血液製剤メーカーおよび日本赤十字社との協力体制の構築

国内の血液製剤メーカー3社（日本血液製剤機構（京都工場、千歳工場）、日本製薬株式会社、KMバイオロジクスと、海外の血液製剤メーカー2社、CSLベアリング株式会社、シャイアー・ジャパン株式会社の担当者と感染研WGとで、必要に応じて複数回の会合を実施した。また、日本赤十字社、厚労省、感染研とで会合を持ち、血液製剤へのSLP審査制度導入の意図を説明し、協力体制を築いた。

血液製剤の SLP 基本様式案等の作成および導入スケジュールの検討

ワクチン製剤の SLP 様式及び SLP 様式作成指針を参考に、血液製剤の特徴を考慮して、血液製剤の様式案(SLP 基本様式案)を作成し、適宜各社へ情報提供した。各品目の SLP 様式案は、この基本様式案を基にして作成することとした。日赤で製造され、他の製造所に原料として提供されている中間体の原薬等登録原簿 (MF) についても、SLP の作成および検定申請時の提出方法について検討した。また、ワクチン製剤の SLP 様式作成指針を参考に、血液製剤の SLP 作成指針案を作成し、適宜更新して各社へ情報提供した。

血液製剤は 100 品目以上あり、そのうちグロブリン製剤が約 50 品目を占めている中、本年度グロブリン製剤の在庫状況が逼迫する事例があり、この状況下であっても効率よく SLP 審査制度が導入できるよう、試行のやり方について検討した。

SLP 電子審査化の可能性について

血液製剤は、約年間 500 ロット出検され、製剤の種類が多く、さらに増える可能性も高い。血液・安全性研究部がすべての血液製剤担当部であるため業務の集中が予想される。SLP 審査自体を電子化し、効率良く精査し、重要な項目（最終小分試験、工程管理試験成績、製造実績等の数値）はトレンド解析を行う必要があるため、最適なデータ提出の方法についても検討した。SLP 審査自体の電子化を目指し、メーカーから提出された電子媒体をそのまま読み込み、PC 上で審査判定可能なシステムの構築を目指し、仕様を定めた。

乾燥 BCG 膀胱内用、精製ツベルクリン、蛇毒抗毒素製剤への SLP 導入の検討

日本ビーシージー製造株式会社と製剤担当室が、乾燥 BCG 膀胱内用ならびに精製ツベルクリンへの SLP 導入について協議を行った。また、国内抗毒素製剤の製造所である KM バイオロジクス株式会社との間で、SLP 導入方法ならびに時期について検討を行った。また、乾燥まむしウマ抗毒素についての SLP 相当様式案を作成した。

試験方法の評価と改良

異常毒性否定試験の省略について

異常毒性否定試験に関しては、過去のデータを精査し、国家検定の廃止、および生物学的製剤基準の改正の方法等について検討した製剤 (23 価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン、インフルエンザ HA ワクチン、乾燥ヘモフィルス b 型ワクチン (破傷風トキソイド結合体)、乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン) に関し、今後のあり方を検証した。また、その他の生ワクチンや抗毒素、すでに国家検定項目より削除されている各種血液製剤に関しても再検討した。

動物代替試験の検討

ヒト用赤外線体温計を用いてマウス体温測定が可能であるか否か、そのための条件について検討を行った。測定部位は小動物用電動バリカンで剃毛した背部皮膚、耳、尾の 3 ヶ所とし、日内変動、日間変動、エタノール誘発性低体温を調べるための温度測定を行った。

狂犬病ワクチン力価検定法の見直し

これまでに確立した、不活化狂犬病ワクチンの残存ウイルス検出のための高感度 *in vitro* アッセイ (Direct immunofluorescent

assay (DIFA)) と比べ、より簡便かつ低価格で行うことのできる *in vitro* アッセイ系の確立を目的として、ウイルス抗原の検出方法を DIFA から ELISA に変更するための検討を行った。

B 型肝炎ワクチン力価試験法の見直し

市販の組換え沈降 B 型肝炎ワクチンを試験対象とし、無処置ワクチンと加温変性させた劣化ワクチンを作製した。劣化ワクチンは、*in vitro* 試験で相対力価の低下を確認後、参照品、無処置ワクチン、劣化ワクチンについて *in vivo* 試験を行い、劣化ワクチンの *in vitro* 相対力価の低下が *in vivo* 相対力価の低下に反映されているかを確認した。

セービン株由来不活化ポリオワクチン力価試験法の見直し

市販の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（4 種混合ワクチン）（2 メーカー、各 1 ロット）を試験対象とした。*in vitro* 試験である D 抗原含量試験（D 抗原 ELISA）は日本ポリオ研究所（現 阪大微研会）が開発した方法を一部変更して感染研法とした。それぞれの 4 種混合ワクチン製剤を 37°C、50°C で処理し、D 抗原含量を *in vitro* 試験法で測定した。また、37°C、50°C で 1 週間加温処理したワクチンの免疫原性測定（*in vivo* 試験）は国家検定に準じてラットを用い、中和試験を実施した。いずれも、加温処理しない、4°C 保存の製剤の値と比較した。

更に、参照不活化ポリオワクチン（セービン株）についても 37°C で 1 週間処理し、D 抗原含量試験とラット免疫原性試験を実施し、加温未処理の -80°C 保存の国内参照品の値と比較した。

破傷風トキソイド力価試験法の代替法の開発

破傷風毒素は神経毒であり細胞毒性がないため、培養細胞の障害を指標とした中和抗体価定量試験は不可能である。一方、ELISA 法で結合抗体価を測定して力価を算出する試みについては、攻撃法で測定した力価と ELISA 抗体価の間に厳密な相関が得られないため、実用化は困難であった。そこで本研究では、ELISA 法を用いるが、あえて厳密な相関を求めることをせず、値の「レンジ」を用いることによって代替法を開発することをめざした。30 回の破傷風トキソイド力価試験におけるマウスの症状と死亡日を集計し、(1) 観察最終日まで無症状または軽症、(2) 重症を示した翌日以降も生残、(3) 重症を示した翌日に死亡、(4) 毒素攻撃翌日までに死亡、の 4 カテゴリーに分類し、(2) と (3) のカテゴリーに属する動物に対して人道的エンドポイントを適用した場合に、苦痛の程度を減らすことのできる動物の割合を算出した。また、デンカ生研（株）により試作された破傷風抗体測定キット（ヒト用）を利用して、二次抗体に標識抗ヒト IgG ではなく西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）標識抗マウス IgG 抗体を用いることで、マウス血清中の破傷風抗体価の測定系の構築を試みた。

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験

平成 29 年度から令和元年度までに本邦で販売されたインフルエンザ HA ワクチンの力価試験（一元放射免疫拡散試験 [SRD 試験]）の製造所での試験成績と感染研での検定成績について解析を行った。各ワクチンの力価（HA 含量）について各製造所での測定値と感染研での検定における測定値の比を求め、その対数について分布を解

析した。また、平成 30 年度のワクチンに含まれる一部の株の試験成績の乖離について原因を探索するため、標準抗原の力価について 4℃、-30℃、-80℃保存で 6 ヶ月、9 ヶ月、12 ヶ月での安定性を調べた。

はぶ毒素出血Ⅱ (HR2) の生物基からの削除検討

KM バイオロジクス株式会社と協議、その後所内および厚生労働省医薬品審査管理課と協議を行い、HR2 の生物学的製剤基準からの削除について検討を行った。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価

ワクチンのリスク評価

ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価（試行）に対するアンケート調査を行った。また、韓国で実施しているリスク評価に関する詳細な情報が得られたため、韓国の手法を参考にしつつ、リスク評価に基づいて国家検定における試験の実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方等について検討した。ワクチンに対するリスク評価の検討状況は、令和元年度研究会議において報告し、出席者からの意見等を収集した。

並行検定の導入について

昨年度の研究により、国家検定の実施に要する期間を短縮することは簡単ではないが、製造所の試験と国家検定試験を同時並行に進めること（並行検定）により、国家検定の判定の時期を前倒しすることが可能であり、これにより医薬品の製造後、市場への出荷が可能になるまでの期間を短縮できる可能性が示された。そこで今年度は、感染研の国家検定担当者、厚生労働省医

薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課の担当官、及びワクチン製造所から広く意見を聴取し、特段の理由が無くとも通常から並行検定を受け付けること（並行検定の常時実施）を多くの製剤に導入した場合に生じ得る問題点を抽出し、その対策について検討した。

（倫理面への配慮）

動物実験は、「動物の愛護および管理に関する法律」「実験動物の使用および保管等に関する基準」に基づき、国立感染症研究所の動物実験委員会の審査・承認のもと行った。

C. 研究結果

血液製剤等への SLP 導入

血液製剤メーカーとの協体制の構築および SLP 様式作成、試行の開始

本年度は各社から提出された様式案と製造販売承認書写しの内容を精査し、感染研と各社で確認後、複数回に渡り照会回答を繰り返して最終案を定め、国立感染症研究所から SLP 様式の通知を順次行っているところである。当初はグロブリン製剤の SLP 導入を先行する予定であったが、法令上グロブリンに限定して指定製剤とすることが困難であるとの理由より、血液製剤全品目同時に施行を開始する方針に変更された。試行開始から 1 年経過した段階で各社の状況を判断し、正当な理由があれば試行を延長することが可能とした上で、試行期間を 2019 年 7 月 1 日から 2020 年 12 月 31 日までの 1 年半とすることとした。

MF 別冊に関しては、最終小分製品の国家検定出検時に製造販売業者（製販）が製販の責任で提出すべき書類である点、製販の製造計画は MF 製造者には公開できない点、

MF の製造内容は製販に公開出来ない点、同じ MF バッチから複数製剤が製造されるため複数回 MF 別冊が感染研に提出される可能性がある点などを考慮し、同じ MF 別冊を複数回の提出することを避ける方針とした。

試行開始後直ぐに、一部のグロブリン製剤の在庫状況が逼迫する事例があり、逼迫製剤代替製剤が定められ、グロブリン製剤の全体のロットリリースが通常よりも短縮せざるを得ない状況となった。SLP の試行と逼迫状況を考慮した安定供給の双方を実現できる方法として、「検定に紐付かない製造・試験記録等相当要約書確認願」により SLP 記載内容を確認し照会回答を繰り返し替えて試行を行うこととした。

SLP 電子審査化の可能性について

約年間 500 ロットの SLP を処理する必要があるため、SLP 審査自体を電子化し、効率良く精査し、重要な項目はトレンド解析を行う必要があるため、同一列に重要項目を配置するよう工夫し様式を作成した。

メーカーから提出された電子媒体をそのまま PC に取り込み、トレンドニングに必要な項目を自動でピックアップしつつ、SLP 審査自体を PC 上で行い自動で審査判定可能なシステムの構築を目指し、仕様を定めた。電子審査が可能となれば、SLP 審査が迅速化され、ロットリリースの迅速化につながると思われる。

乾燥 BCG 膀胱内用、精製ツベルクリン、蛇毒抗毒素製剤への SLP 導入の検討

本年度は引き続き、各製剤の SLP 様式案を作成するとともに、SLP 試行などの今後の予定について検討を行った。国内抗毒素製剤の製造所である KM バイオロジクス株

式会社と協議を行い、2020 年 3 月に出検予定の乾燥まむしウマ抗毒素について SLP 審査試行を行い、その他の抗毒素製剤については省略する形で進めることになった。本件は厚生労働省監視指導・麻薬対策課からの合意も得られた。また、KM バイオロジクス株式会社と免疫部とで乾燥まむしウマ抗毒素についての SLP 相当様式案を作成した。

試験方法の評価と改良

異常毒性否定試験の省略について

異常毒性否定試験について、どの程度のロットの均一性を検証が必要かについては、統計学的な必要数を算出した上で、同様に製剤の特性を考慮する必要がある。ワクチンの性質に係る種々の情報を総合的に検討し、例えば、一般的な不活化ワクチン製剤に関しては、50 ロット程度が適当であると考えた。組換えタンパク質製剤の場合、その精製度や均一性がより高いことが想定され、現在では 20 ロット程度が適当であると考えている。また、インフルエンザ HA ワクチンの場合は、そもそもの製造株が毎年変わり、株による反応性の変化が認められる可能性を否定できないことから、毎年事前に確認を行い、問題ないことを確認した上で試験を省略できるスキームを構築中である。ただし、我々が検証した期間においては株による反応性の違いが認められた例はない。

一方、生ワクチンに関しては、生物学的製剤基準が策定された時点で検定項目に当該試験は入っておらず、不活化ワクチンのような製造所と感染研の一致度の検証等、データ比較等はできない。しかし、自家試験においては、同種製剤母集団に基づく品質の均一性が確認されており、同様な精査

を経て試験省略が可能と考えられ、今後の検証課題となっている。

また、抗毒素製剤に関しては、そもそも出検数が極めて少なく、不活化ワクチンの様に何十ロットも均一性を検証することが不可能である。今後のあり方について検討が必要である。

すでに国家検定項目より削除されている血液製剤に関しては、検定項目から削除が検討された段階で、製剤の均一性は確認されている。削除当時は、生物基への省略規定の導入を伴う改正という手段は想定されていなかったが、不活化ワクチン同様に50ロット程度で省略可能と考えている。いずれにしても、SLPが導入され、製造記録の確認が進めば、近い将来に改正を進めていきたいと考えている。

人道的エンドポイントの検討

体温は、直腸温度を基準として体表各部の温度をヒト用赤外線体温計で測定した。1日7回、20日間、計140回の測定を行ったところ、赤外線体温計による各部位の測定結果はほぼ一致し、直腸温度に近似した値を示したのは背部皮膚温度であった。また、保定の有無による背部皮膚温度に顕著な差は認めなかった。体温の日内変動と日間変動は、尾部を除く測定部位によって顕著な変動は見られなかった。また、マウスの感染実験による低体温は34°C未満になることが報告されており、34°C未満の温度を測定できるようにする必要があるが、ヒト用赤外線体温計は34°Cを測定下限としているため、34°C未満のマウス体温の正確な測定が困難であった。検討の結果、物体温度測定モードを用いることによって測定が可能になることが判明した。

ワクチンの動物を用いた力価試験代替法

・狂犬病ワクチンのウイルス抗原検出法について、ELISA法の検出感度の測定、添加物や残存不活化ウイルス粒子の感染性への影響について調べ、これまでに確立したDIFAとの比較を行ったところ、二つの検出方法による感度はDIFAの方が若干高かったものの、以前報告した*in vitro*アッセイ(DIFAを用いたもの)の検出感度とほぼ同じであった。

・B型肝炎ワクチンの力価試験について、現在日本で使用されている2社のワクチンを加温して劣化させ、動物試験とELISA試験の相関を検討したところ、1社では力価の低下に相関が見られたが、もう1社では*in vitro*力価の低下に相当するような*in vivo*力価の低下は見られなかった。

・参照不活化ポリオワクチン(セービン株)について、37°Cで1週間処理して劣化させた後にD抗原含量試験とラット免疫原性試験を実施したところ、加温処理することにより、すべての血清型でD抗原含量の低下が認められるものの、製剤により、また、抗原の血清型により異なっていた。しかしながら、ワクチンの劣化を検出するという観点においては、D抗原量を測定する方がより鋭敏であることが明らかとなった。

・破傷風トキソイド力価試験法に関しては、ELISA法を用いるが、あえて厳密な相関を求めることをせず、値の「レンジ」を用いることによる代替法を検討した。マウスが呈する症状を4つのカテゴリーに分類したところ、人道的エンドポイント(重症を示した日に安楽殺)適用の対象となりうるカテゴリーに属するマウスの数は全体の14.5%であったのに対して、攻撃翌日に死亡したマウスの数は全体の38.6%であった。従って、人道的エンドポイントを適用する

には、攻撃当日と翌日の間という短期間に症状の見極めと安楽殺を行う必要が生じるため、適用は事実上不可能であることが判明した。一方、ヒト用破傷風抗体価測定キットを用いたところ、抗体陽性および陰性マウス血清は正しい発色パターンを示し、ヒト用キットを用いてマウス破傷風抗体価測定系が構築できる可能性が示された。

はぶ毒素出血II (HR2) の生物基からの削除検討

ヒト血清中には、HR2 を阻害することが示されている $\alpha 2$ マクログロブリンが十分量存在することが明らかとなり、HR2 が健康人に健康被害を引き起こすリスクは極めて低いことが判明した。これらの科学的知見から、HR2 ならびに本毒素を用いた力価試験を生物学的製剤基準より削除することが妥当ではないかと考えられ、関係各署との協議の結果、現在パブリックコメント中の生物学的製剤基準の改正案では、「乾燥はぶウマ抗毒素」の各条からの抗出血 II 価の関する記載ならびに「はぶ試験毒素 (出血 II)」の記載が削除された。

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験である SRD 試験の再現性を検証するために、同一ロットのワクチンの力価について、製造所での測定値と感染研での測定値の比を計算し、その対数値の分布を解析したところ、平成 30 年度の A/H3N2 の 93.1%、Byam の 94.8%および令和元年度の Byam の 98.4%について、乖離が認められるものがあった。Byam については、平成 30 年度と令和元年度とで株変更はなく、再現精度が 94.8%から 98.4%に向上した。これは、平成 30 年度時点での原因調査で、ワクチンに対

する測定誤差が偶発的に大きく出現したと考えられたため、再現性良く試験実施するために試験者の習熟度を向上させる標準化作業を行った改善効果と考えられる。A/H3N2 については、平成 30 年度時点で、標準抗原自体の力価低下が懸念されたため、引き続き安定性を保存温度毎に調べたところ、A/H3N2 は-80℃と比較して現行管理温度の 4℃保存で 92%、9 ヶ月後には 89%、12 ヶ月後には 82%と、有意な力価低下が経時的に進むことがわかった。また、この現象は標準抗原のロットに限らず、当該 A/H3N2 ワクチン株に生じる現象であることが示唆された。従って、検定における自家試験成績と感染研成績の測定乖離は、A/H3N2 では、現行の 4℃保管における標準抗原の経時的な不安定性さに起因すると推定され、標準抗原の保存条件を見直す必要性が示唆された。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価 ワクチンのリスク評価について

平成 30 年度に感染研内で実施したリスク評価に対するアンケート調査の結果では、重要度は全ワクチン共通のものを使用することが望ましいが、生ワクチンや不活化ワクチンなど、グループ分類してグループごとの共通の重要度を設定するのがよいとの意見が多かった。また、リスク評価の各評価項目については、重要度として乗じる係数は指数的な重み付けが望ましいとの意見が多かった。

リスク評価に基づいて国家検定における試験の実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方等については、以下のような草案を作成し検討を行った。

①リスク評価に基づいて SLP 審査 (全ロット) + 試験 (全ロット)、SLP 審査 (全ロ

ット) + 試験 (10~50%の一部ロット)、SLP 審査のみ (全ロット) のレベル分類を行う。

②試験頻度を全ロットから一部ロットに移行するための必須要件を定める。

③リスク評価の実施頻度は、新規承認時、その後は原則として年 1 回行う。ただし、全ロット試験に該当する事由が生じた場合 (前述の必須要件を満たさなくなった場合) は、直ちにレベル変更を行う。

④出検頻度を考慮し、試験実施頻度 (SLP 審査+一部ロット試験の場合) の下限を設定する。

並行検定の導入について

並行検定の常時実施を多くの製剤に導入した場合にどのような問題が生じ得るかについて検討した結果、以下のような課題が抽出された。

①製造所の自家試験で不適となった場合には、並行して実施している国家検定が無駄になる。

②自家試験の結果を参照して試験条件を決めている場合は、自家試験の結果が感染研に報告されてからでなければ試験を始めることができず、並行検定による短縮効果は限定的になる。

③短期間 (数日程度) で終了する試験については、並行検定の効果が小さい。

④並行検定では、製造所による自家試験が終了した時点で、SLP 又は自家試験成績書を差し換えなければならず、業務が煩雑になる。複数の試験を並行して実施する場合は、その試験数に応じて業務負担も増加する。

⑤生物学的製剤には、有効期間の起算日を製造日に置いているものと、国家検定合格日に置いているものがあり、国家検定合格

日を起算日としている場合は、市場に流通できる期間は変わらない。

⑥並行検定では、検定申請時に添付される SLP 又は自家試験成績書に未記載の部分があるが、行政手続き上は、未記載の部分がある書類の提出を容認している以上、事務処理期間の始期は検定申請を受け付けた時点であることが確認された。SLP 又は自家試験成績書の精査には一定の期間を要することから、並行検定において SLP 又は自家試験成績書の完全版への差換えが標準的事務処理期限の直前に行われると、標準的事務処理期限を超過してしまうおそれがある。

D. 考察

血液製剤等への SLP 導入

欧米、アジア等の多くの国では、ロットリリースにおいて SLP 精査を実施しており、我が国は遅れを取っている状況ではあるが、本年度は SLP 審査制度の施行を開始し、SLP 審査により総合判定の実施を行った。WHO Blood Regulators Network (BRN) は、2011 年に各国の行政機関に対してアセスメントクライテリアを発出し血液製剤のロットリリースにおいて SLP 審査の実施を求めているところであり、我が国において順次全製剤について試行を実施し、SLP 審査制度を導入する意向である。製剤数が多く、一箇所の変更が五月雨式に全製剤に波及する状況下で、多くの課題をクリアして行かなくてはならない難しさが存在するが、問題点は試行の期間に解決し、血液製剤の SLP 審査制度を滞りなく導入することを目指している。

今後、血液法が改正となり、余剰の中間体の国内外を含めたメーカー間での有効利用が増えてくる可能性があり、MF 登録される中間体の種類やその使用製剤が増えてく

ると予想され、中間体の SLP 別冊の精査の意義が注視される可能性もあり、今後の状況に応じて慎重に議論しながら進めて行く必要があると考えられる。

我が国のロットリリースにおいて、安全性や有効性に関する項目の試験の実施に加えて、製剤が承認書通りに製造されているかについても精査し、工程管理試験の結果データ等についても確認することにより、製造と品質の紐付けを可能にし、血液製剤の安全性確保と安定供給に貢献できると考えられる。

蛇毒抗毒素製剤については、出検数が非常に少なく、2021 年 1 月の SLP 導入までに審査の試行をすることが困難なため、2020 年 3 月に検出予定の乾燥まむしウマ抗毒素について SLP 審査試行を行い、その他の抗毒素製剤については省略する形で進めることで厚労省とも合意を得ている。

試験方法の評価と改良

本邦において改良された異常毒性否定試験法は、欧米の試験法とは異なり、製剤の特性を鑑みた品質の均一性を確認する試験として一定の役割を果たしていると考えている。既存の製剤に関しては引き続き異常毒性否定試験によりこれらを検証すると共に、新しい技術に基づく試験法の開発も同時に進めていく必要がある。

人道的エンドポイントの新たな指標として体温に注目し、その簡便な測定方法としてヒト用赤外線体温計のマウス体温測定への応用について検討した結果、背部皮膚温度より直腸温度を推定できると考えた。一方、尾部と耳の温度は直腸温度と乖離しており、体温測定部位としては適さないと判断した。

狂犬病ワクチンのウイルス抗原量測定に

おいて、DIFA と ELISA の二つの検出方法による感度は、DIFA の方が若干高かったもののほぼ同等であった。以前の *in vitro* アッセイは哺乳マウスを用いた *in vivo* アッセイと比較して約 5 倍の感度であることから、今回の ELISA による *in vitro* アッセイは十分な検出感度を持つことが示された。不活化試験を細胞を用いた方法に変更することは、3R の観点から大きな意義を持つと考えられる。

B 型肝炎ワクチンについては、抗原量と免疫原性に対する加温の効果は、製剤により異なるが、抗原量測定がより鋭敏にワクチンの劣化を検出できることが判明した。

セービン株由来不活化ポリオワクチンについては、D 抗原含量、免疫原性に対する加温処理の効果は、製剤により、また、抗原の血清型により異なり、概ね D 抗原量の低下が免疫原性の低下に反映されるものの、それぞれの低下の度合いが必ずしも相関しないことが明らかとなった。D 抗原量はスカラー量であるのに対し、免疫原性は生体応答を含む複雑な反応の結果であることが大きな要因と考えられるが、ワクチンの劣化を検出するという観点においては、D 抗原量を測定する方がより鋭敏であることが明らかとなった。

破傷風トキソイド力価試験については、今回の集計により、攻撃されたマウスに人道的エンドポイントを適用しようとする、攻撃当日と翌日の間の短い期間に症状の見極めと安楽殺を行う必要が生じるため、エンドポイントの適用は事実上不可能であることが判明し、破傷風トキソイドの力価試験において、人道的エンドポイントの適用による動物福祉への効果は限定的であると考えられた。代替法の開発では、ELISA キットを用いて高感度のマウス破傷風抗体価

測定系が構築できる可能性が示された。今後はこの測定系を用いて、プール血清ではなく個々のマウスの抗体価の測定を試みることによって試験系への応用を目指す。

インフルエンザワクチンに関しては、ワクチン株が毎年のように更新され、試験に使用する標準抗原等もロット変更があるにもかかわらず、全般的に SRD 試験の実験室間再現性は高いものであることがわかった。年間 60 から 80 ロット程度が国家検定に提出されているが、変動要因の多い SRD 試験においても最初の数ロットについて試験をすれば試験成績の傾向について評価できるため、全ロットについて試験を実施しなくてもワクチンの品質を確保できる可能性は高く、全ロット検定から一部ロット検定の実施も充分検討に値すると考えられる。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価

感染研におけるアンケート結果から、リスク評価手法の改善を図るためには、ワクチンのグループ分類に応じて重要度を設定する必要性、各評価項目に対する客観的な重要度の設定等について検討する必要があることが明らかとなった。ただし、製剤ごとの特性を反映するため、「生ワクチン」、「不活化ワクチン」といったグループ分類ごとに共通の重要度を設定するのがよいのではないかとの意見があった。各評価項目の重要度を反映した重み付けをする際は、相乗的な係数を乗じる重み付けをした結果がリスクレベルのイメージに合うとの意見が多いことも判明した。また、総合的にワクチンのリスクを評価するためには、「GMP 調査の状況」や「市販後の安全性状況」等も評価に組み入れることが妥当であると考えられた。このような国家検定では入手できない情報の評価などは、厚生労働省等と

の連携が必要であるため、品質リスク評価を実施する組織は、感染研に加えて、厚生労働省や PMDA に参加していただくのがよいか検討が必要である。

試験の実施頻度に関しては、製品のリスク評価及び各試験項目に対する「国家検定における試験項目の廃止に関する考え方」（感染研内で国家検定における試験項目の廃止を検討する際に使用されるガイドライン的な所内文書）に基づき草案を作成した。草案の骨子は、リスク評価に基づき試験頻度をレベル分類（全ロット試験から一部ロット試験、SLP 審査のみまで、数段階）し、原則として年に 1 回リスク評価を実施して試験頻度のレベルの変更を行う点である。本草案に対する意見、コメント等を関係各所から収集し、さらに適切な内容に整理していく予定である。

並行検定を導入するにあたっては、幾つかの実際的な問題点があることが明らかになった。これらの問題点は、いずれも並行検定を導入する製剤と試験法について、制度的な工夫を施すことによって解消又は軽減できると考えられた。また、並行検定を導入する効果は、製剤や試験法により異なると考えられた。このことから、費用対効果の観点から、並行検定を導入する製剤の優先度を順位づけることができると考えられる。以上のことから、優先度が高く問題点が少ない製剤から並行検定を導入して、効果と問題点を検証しながら、対象製剤を広げていくのが現実的と考えられた。対象製剤を選択する目安としては、以下のようなことが考えられる。

- ①製造所の自家試験で不適となる確率が低い製品。
- ②国家検定の試験を実施するのに、自家試験の結果を参照する必要のない試験及びそ

の製剤。

③実施するのに長期間を要する試験及びその製剤。標準的事務処理期間が長い製剤。

④有効期間の起算日を製造日に置いている製品。

⑤安定供給が求められる定期接種対象製剤。

⑥導入の全体へのインパクトを考慮すれば、製造ロット数の多い製剤。

E. 結論

血液製剤へのSLP導入に関しては、血漿分画製剤メーカーと感染研とが協力体制を築きながら、全製剤についてSLP審査制度を導入すべく現在試行を行っている。令和2年末の試行終了後は、全製剤について一斉に施行する予定である。蛇毒抗毒素製剤の国家検定におけるSLP審査試行について検討した結果、乾燥まむしウマ抗毒素についてのみSLP審査の試行を行い、その他の抗毒素製剤については省略する形で進めることになった。

試験方法の評価と改良に関して、異常毒性否定試験に関し、不活化ワクチン製剤に関しては、50ロット程度の均一性の確認により省略が可能となった。今後、血液製剤も含め、その他の製剤に関しても検証し、随時導入していきたいと考えている。人道的エンドポイントの新たな指標として体温に注目し、その簡便な測定方法としてヒト用赤外線体温計のマウス体温測定への応用について検討した。その結果、背部を剃毛して皮膚を露出させて温度を測定する手法により、体温を指標とする人道的エンドポイント設定は実現可能であることが期待された。狂犬病ワクチンのウイルス抗原検出法に関しては、今回のELISAによる*in vitro*アッセイは十分な検出感度を持つことが示された。細胞を用いた方法に

変更することは、3Rの観点から大きな意義を持つと考えられる。また哺乳マウスに接種する方法は14-21日の日数が必要であることと比較して、今回の方法ではワクチン接種後6日間で結果を得ることが出来るという利点があり、本方法を採用することで検定作業の工程を大幅に短縮することが可能になる。B型肝炎ワクチンの力価試験の*in vitro*試験への変更については、引き続き、加温劣化の効果を慎重に精査し、より適切な劣化条件を設定し、*in vivo*試験成績と*in vitro*試験成績を比較する必要がある。不活化ポリオワクチンに関しては、4種混合ワクチンの加温処理に伴うD抗原量の低下(*in vitro*試験の結果)は概ね免疫原性の低下(*in vivo*試験の結果)に反映された。また、全体的に、D抗原含量の低下の度合いに比べて、免疫原性の低下の度合いは小さく、ワクチンの劣化を検出するには、*in vivo*試験よりもむしろ、*in vitro*試験を実施するほうがより鋭敏で感度が高いと言え、*in vitro*試験法への移行は可能であると結論された。破傷風トキソイド力価試験においては、毒素攻撃法に人道的エンドポイントを適用することの効果が限定的であることが判明し、動物福祉のためには、毒素攻撃法に対する代替法を開発することがより効果的と考えられた。一方で、ヒト用ELISAキットを用いることによって、高感度なマウス破傷風抗体価測定系が構築できる可能性が示された。インフルエンザHAワクチンの力価試験として実施されているSRD試験では、標準抗原の品質を高め、事前に十分な試験条件の検討や測定基準を確立すると、かなり再現性の良い試験法であることが確認された。従って、全ロット検定試験から一部ロット検定試験の実施も充分検討に値すると考えられる。

ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価（試行）に対するアンケート調査を行った結果、重要度の設定を見直す等の改善点があることがわかった。また、リスク評価に基づいて国家検定における試験実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方等の草案を作成した。

並行検定の常時実施について幾つかの問題点が抽出されたが、いずれも対象となる製剤や試験の選択を考慮するなど、制度上の工夫により克服できると考えられた。並行検定の常時実施は、国家検定の質的低下や信頼性の低下を招くことなく、医薬品の製造後、市場への出荷までの期間を短縮できることから、導入に向けて具体的に検討を進めるべき課題である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sasaki E, Kusunoki H, Momose H, Furuhashi K, Hosoda K, Wakamatsu K, Mizukami T, Hamaguchi I. Changes of urine metabolite profiles are induced by inactivated influenza vaccine inoculations in mice. *Sci Rep*. 2019; 9(1): 16249
- 2) Kato A, Fujita K, Ochiai M, Naito S, Konda T. Study on Procedure for Lot Release of Vaccines in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2019; 72(3): 133–141
- 3) Murakami K, Fujii Y, Someya Y. Effects of the thermal denaturation of Sabin-derived inactivated polio vaccines on the D-antigenicity and the immunogenicity in rats. *Vaccine*. 2020; 38(17): 3295-3299

2. 学会発表

- 1) 水上 拓郎、百瀬 暖佳、佐々木 永太、平舘 裕希、古畑 啓子、佐藤 結子、楠 英樹、浅沼 秀樹、濱口 功. ワクチン及びアジュバントの安全性に関する *in vitro* 代替試験法の開発. 第46回 日本毒性学会, 毒性発現機構・代替法セッション5, 6月28日, 徳島
- 2) 佐々木 永太、浅沼 秀樹、百瀬 暖佳、古畑 啓子、水上 拓郎、濱口 功. 遺伝子発現プロファイルを応用したワクチン・アジュバントの安全性・有効性予測システムの構築. 第26回 日本免疫毒性学会, 北九州, 9月9日
- 3) 佐々木永太、浅沼秀樹、百瀬暖佳、古畑啓子、水上拓郎、濱口功. アジュバント開発を目指したゲノミクス技術によるワクチン・アジュバントの 有効性・安全性プロファイル予測評価システムの開発, 第回日本ワクチン学会, 11月30日, 東京. 学術集会若手奨励賞受賞
- 4) Takuo Mizukami. Application of Systems Vaccinology for Evaluating the Safety of Vaccines and Adjuvants in Preclinical and Lot Release Tests. 4th Symposium on Research and Quality Control of Vaccines (NIFDS-NIFDC-NIID), South Korea, Seoul, 18-20 September, 2019
- 5) Haruka Momose, Eita Sasaki, Yuki Hiradate, Isao Hamaguchi, Takuo Mizukami. An approach to establish an *in vitro* evaluation assay for the safety control of influenza vaccines for batch release in Japan. International Society of Vaccine meeting 2019, Ghent, Belgium, October 27-29, 2019
- 6) Noriko Shimasaki, Shigeyuki Itamura.

Development of an alternative potency assay to measure the HA content of two influenza B vaccine viruses included in quadrivalent influenza vaccine in Japan. Option X for the Control of Influenza,

Singapore, 2019年9月.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし