

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

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

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 脇田 隆字

令和元(2020)年 3月

目 次

| | 頁 |
|---|----|
| I. 総括研究報告 | |
| 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 | 1 |
| II. 分担研究報告 | |
| 1. 血液製剤の国家検定の見直しについて | |
| 浜口 功 | 16 |
| 2. 日本脳炎・狂犬病ワクチン国家検定の見直し | |
| 西條 政幸 | 23 |
| 3. 蛇毒抗毒素製剤の国家検定の見直しに関する研究 | |
| 高橋 宜聖 | 29 |
| 4. インフルエンザワクチンの国家検定試験の精度維持に関する研究 | |
| 長谷川 秀樹 | 33 |
| 5. 国家検定制度及びワクチンのリスク評価に関する研究 | |
| 石井 孝司 | 40 |
| 6. 動物代替試験の検討に関する研究 | |
| 花木 賢一 | 51 |
| 7. セービン株由来不活化ポリオワクチンと肝炎ワクチンの in vitro 試験法に関する研究 | |
| 染谷 雄一 | 56 |
| 8. BCG 膀胱内用・ツベルクリン・抗毒素製剤の国家検定の見直しに関する研究 | |
| 森 茂太郎 | 60 |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表..... | 64 |

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ている。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 ベーリング株式会社、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°Cと比較して現行管理温度の 4°C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°C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に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

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

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

分担研究報告書

血液製剤の国家検定の見直しについて

| | | | |
|-------|-------|----------|-----------|
| 研究分担者 | 浜口 功 | 国立感染症研究所 | 血液・安全性研究部 |
| 研究協力者 | 野島 清子 | 国立感染症研究所 | 血液・安全性研究部 |
| | 大隈 和 | 国立感染症研究所 | 血液・安全性研究部 |
| | 松岡佐保子 | 国立感染症研究所 | 血液・安全性研究部 |
| | 水上 拓郎 | 国立感染症研究所 | 血液・安全性研究部 |
| | 石井 孝司 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 |
| | 落合 雅樹 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 |
| | 内藤誠之郎 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 |
| | 藤田賢太郎 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 |

研究要旨：国立感染症研究所では、年間約 500 ロットの血漿分画製剤（血液製剤）の国家検定を実施しており、本研究班の中で、血液製剤への製造・試験記録要約書（Summary lot protocol (SLP)）審査によるロットリリースを導入すべく検討を重ね、今年度 7 月より試行を開始し、試行期間は 1 年半である。

血漿分画製剤は 100 品目以上あり、その全てが複数の原料血漿プールから順次精製して連産されるなど製造が複雑である。そのため、原料、中間体の工場間および国間の移動があり、1 ロットに関連する原料プール数、原薬等登録原簿(MF)登録された中間体バッチ数が非常に多い。こうした状況に即して、ワクチン製剤とは別に血液製剤に特化した SLP 様式作成指針を別途作成し各品目の 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ているところであり、今後は順次、他の品目の様式作成と通知を目指し、全品目同時に施行を開始することとした。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出来るよう進めている。

また、血液製剤の SLP 導入に伴い、すでに国家検定項目からは廃止されている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。

A. 研究目的

欧米、アジア等の多くの国では、ロットリリースにおいて製造・試験記録要約書（Summary lot protocol (SLP)）の精査を実施しており、本研究班では、日本において

血漿分画製剤（血液製剤）のロットリリースへの SLP 審査制度導入を目指す。

先行しているワクチン製剤との相違を考慮し、分画製剤メーカーの協力を得ながら、血液製剤特有の連産状況を反映させた SLP

基本様式案を作成し、それに基づいて各社品目の SLP 様式案を作成する。我が国のロットリリースにおいて、これまで実施してきた安全性や有効性に関する各項目の国家検定検査の実施に加えて、各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する。

また、血液製剤への SLP の導入にあたり、すでに国家検定項目から削除されている異常毒性否定試験のあり方について、血液製剤にとどまらず、幅広くワクチン製剤も含め、今後のあり方について検討する。

B. 方法

1. 血液製剤メーカーとの協力体制の構築

血液製剤への SLP 審査制度導入に向けた感染研のワーキンググループは、血液・安全性研究部、品質保証・管理部、感染研業務管理課で構成される。

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 ベーリング株式会社、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。

2. 日本赤十字社との協力体制の構築

日本赤十字社は、血液製剤の原料となる分画用プラズマ(原薬等登録原簿(MF))の採血、検査、製造を行っている。SLP では、

国家検定申請される当該製剤ロットに関与する原血漿についての記載項目を設けており、生物由来原料基準で定められている感染症マーカーのスクリーニング結果や、試験法等を含めた情報がリアルタイムに日本赤十字社から血液製剤メーカーへ提供されることが必須となる。そこで、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。

3. 製造承認販売申請書写しの感染研への提出

厚労省から感染研宛に発出された事務連絡の内容を受けるかたちで、感染研所長名で各社社長宛の事務連絡を発出した。製造販売承認書の写しの提供についての協力依頼をすることにより承認書の写しが感染研へ提出された(原薬等登録原簿登録証の写しについては昨年度に提出されている)。

4. 共通の枠組みとなる SLP 基本様式案の作成

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)を作成した。また、必要に応じて複数回更新し、その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。

5. 血液製剤の SLP 作成指針の作成

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。ワクチン製剤との共通項目に加えて、血液製剤特有の連産状況が確認できるような内容が含まれている。各品目の SLP 様式案は、この作成指針に沿って作成することとした。

6. 原薬等登録原簿(MF)製造部分の SLP 様式案(別冊)の作成

血液製剤には5種類のMFが関与しており、そのうち4種類(脱クリオ分画用プラズマ、PⅡ+Ⅲペースト、PIV-1 ペースト、PIV-4 ペースト)は、日赤から提供される分画用プラズマから日本血液製剤機構千歳工場で中間体として製造され、これらの中間体MFは他の製造所に提供されて様々な製剤の原料として使用されている。この4種類のMFのSLPの作成、および検定申請時の効率の良い提出方法等について、製造所と感染研と厚生労働省監麻課とで検討した。

7. 導入スケジュールの検討

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。

8. SLP 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。よって、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、仕様定めた。

9. 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。

C. 研究結果

1. 血液製剤メーカーとの協力体制の構築および SLP 様式作成

昨年度に引き続き、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。

2. 試行の開始と導入スケジュールについて

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。本件については、メーカー、感染研、監麻課と三者会議を行い決定した。会合では、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（供給面、各社の様式通知状況等）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。

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。

3. MF 製造部分の SLP 様式案(別冊)の作成

血漿分画製剤には日本血液製剤機構(千歳工場)が製造する 4 種類の MF (脱クリオ分画用プラズマ、PⅡ+Ⅲペースト、PIV-1 ペースト、PIV-4 ペースト) が関与する。

MF 別冊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。実際には、SLP 要約書のカバーページに当該ロットに関与する MF 情報を記載する箇所を設け、それぞれの MF 別冊が当該ロットの申請書に添付されているか否かを記載し、すでに提出済である場合はその検定申請日、製剤名、製造番号等を記載することとした。

4. SLP 電子審査化の可能性について

約年間 500 ロットの SLP を当部で処理する必要がある、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、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、トレンドイ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考えられる。

5. 異常毒性否定試験の省略について

異常毒性否定試験は、製剤の特性に基づいて、その安全性とロットの均一性を検証する試験である。製剤の特性、あるいは安全性に関しては、承認前試験において、各種製剤接種後の体重や血液検査、必要に依

じ生化学や毒性病理解析等が実施される。承認前試験は当該試験が試験実施が可能かを検証する上で非常に重要な位置付けになっている。そこで得られた製剤接種後の背景データに基づき、製剤の均一性が確認されている。

どの程度、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。例えば、同じ10ロットでも実際の上原液は数ロットの場合もあれば、その間にシードの変更が多々ある製剤や、ほとんどない製剤もある。また一変等が頻繁にある場合や、大きな剤型変更や反応性に影響を与えかねない一変がある場合など、製造方法の違いや、製剤のヒストリー等によっても異なり、一律には適応できないのが難しい点である。これら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へた。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へている。また、インフルエンザHAワクチンの場合、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へられ、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へている。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へている。

D. 考察

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發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。

グロブリン製剤を先行する方針については、平成 27 年度には感染研 WG で、平成 28 年度には血漿分画製剤メーカーとの会合において、グロブリン製剤を全メーカーが製造している点、原料および中間体の製造所間や国間の移動などすべてのパターンを含む点、数が多い点、試行中に考え得る問題点が表面化出来る可能性が高い点、などを考慮して決定したが、試行前になり、グロブリンのみを限定して指定製剤とすることは出来ないとの理由により試行終了後は全製剤一斉に施行を開始することになった。

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。

異常毒性否定試験の今後のあり方

科学技術の進展は目覚ましく、新技術によりデザインされ、開発された製剤の安全性や均一性をどう担保していくかは、レギュラトリーサイエンスの重要な課題である。それぞれの技術の持つ利点と短所を理解した上で、最適な方法を開発し、安全性・均一性を検証することが常に求められている。

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。

E. 結論

本研究により、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。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。

また、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。

F. 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: 16249.

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 23 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

G. 知的財産権の出願・登録状況 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政策研究事業

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

分担研究報告書

日本脳炎・狂犬病ワクチン国家検定の見直し

研究分担者 西條 政幸 国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長
研究協力者 伊藤 睦代 国立感染症研究所 ウイルス第一部 室長
河原 円香 国立感染症研究所 ウイルス第一部 研究員
林 昌宏 国立感染症研究所 ウイルス第一部 室長

研究要旨：狂犬病は致死率 100%の恐ろしい人獣共通感染症であるが、ワクチンによって予防および防御可能である。狂犬病ワクチンの安全性を確認するうえで、不活化狂犬病ワクチンの残存ウイルスを検出する不活化試験は非常に重要である。本試験は通常多くの動物を使用するため、長い時間と多大な労力を要する。動物を使用しない代替法の開発および導入は、3R の視点からも求められている。我々はこれまでに哺乳マウスに替えて培養細胞を用いた *in vitro* アッセイについて報告してきたが、本研究ではこの改良に取り組んだ。培養を 96well プレートから 75cm² フラスコに変更することで、検出感度の向上と実験操作の簡便化を図った。また検出法を高額な機械と技術を必要とする Direct immunofluorescent assay (DIFA) から、簡便な Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) に変更した。その結果、以前報告した方法とほぼ同じ高い検出感度を得ることができたことから、高感度、簡便かつ安価な検出系を開発することができたと考える。

A. 研究目的

ヒト用狂犬病ワクチンは、培養細胞または鶏胚初代培養細胞を用いて培養した狂犬病ウイルスをβプロピオラクトン等で不活化することにより製造されている。WHO の推定では毎年 1500 万人が暴露後予防のため、狂犬病ワクチンを接種するとされており、ワクチンの評価を迅速かつ簡便、および安価に行うことは安定したワクチン供給の面から重要である。ワクチンを含む生物学的製剤はロットリリース前に安全性と有効性を担保するための試験を受ける。一

般的に狂犬病ワクチンでは、物理化学試験に加えて動物を使用した力価試験および不活化試験がおこなわれている。

不活化試験は、国際的または各地域のガイドラインに従って、ワクチン製剤に感染性ウイルスが残留していないことを確認するために実施されている。本試験は多くの場合、哺乳マウスや成熟マウスを使用しているが、動物試験の代替・改善・削減（3R）の観点からその代替法の開発が求められている。

我々の研究グループはこれまでに、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* アッセイを開発し、十分な感度と信頼性を持つ系であることを示した (引用文献)。しかし本法でウイルス抗原の検出に用いられている Direct immunofluorescent assay (DIFA) は高額である蛍光顕微鏡を使用する必要があり、またその観察は特異的蛍光と非特異的蛍光を見分けるための熟達した技術が必要とされる。そのため、一部の発展途上国では実施が難しいという問題があった。一方、抗原や抗体の検出に広く用いられている Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) に使用するプレートリーダーは蛍光顕微鏡を導入するよりも安価に入手できる。また、結果が数値として現れるため施行者による評価のばらつきが少ない。

そこで、本研究では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. 研究方法

DIFA

培養上清を除去し、80%Aceton 100 μ l/well を加え室温で 20 分間 UV 照射しながら放置して細胞を固定した。PBS で 500 倍希釈した FITC-Anti Rabies Monoclonal Globulin (FUJIREBIO) を、40 μ l/well 加え、37 $^{\circ}$ C で 40 分間反応させ、PBS で洗浄後蛍光顕微鏡でウイルス抗原陽性細胞を観察した。同じ培養液を接種して培養した 24well のうち 1well でも抗体反応

が確認できた区画は陽性と判断した。

ELISA

ウイルス接種 2 日後に培養上清を除去し、ホルマリンを 100 μ l/well 分注し室温で 30 分間 UV 照射しながら放置して細胞を固定した。ホルマリンを除去し PBS で洗浄後、0.5% Triton-100 を 100 μ l 加え、10 分間室温で静置し透過処理をした。洗浄後 10%FBS-PBS を 100 μ l/well 分注し室温で 1 時間静置して blocking した。洗浄後 PBS で 1600 倍に希釈した anti-Rabies Virus Glycoprotein 1C5 (Abcam ab824609) を 40 μ l/well 加え 37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた。次に PBS で 400 倍に希釈した HRP-anti mouse IgG(H+L) (Thermo) 40 μ l/well を加え、37 $^{\circ}$ C で 1 時間反応させた。発色試薬を加えて室温で 20 分間遮光して静置し、停止液を加えてマイクロプレートリーダー (450nm) で吸光度を測定した。

C. 研究結果

Infection experiments

検出感度の測定のため、以下の実験を行った (Fig.1)。以前の論文では、ワクチンに含まれる残存ウイルス量を推定する目的で最初の培養を 96well plate で行っていたが、本研究では、作業の効率化と検出率の向上を狙って、初回の培養を扱いが簡便で培養面積の広い 75cm² フラスコで行うこととした。接種前日に N2a 細胞を 3x10⁶ cells/15ml になるように調整して 6 つの 75cm² フラスコに播種した。ウイルス原液を DMEM 培地により 1x10² ffu/ml になる

ように希釈した。それを更に 1.25, 0.3125, 0.0781, 0.0195, 0.049 ffu/flask となるようにワクチン溶液に加え接種液とした。N2a 細胞を単層培養した 75 cm² フラスコの上清を除き 2%FBS を含んだ DMEM 培地 13ml を入れ、先に準備した希釈ウイルス接種液 2ml をそれぞれ加えた。陰性対照としてワクチン溶液のみを 2ml 入れたフラスコを準備した。各フラスコを 33°C の CO₂ インキュベーターで 72 時間培養した。

狂犬病ワクチン溶液には添加剤や不活化ウイルス粒子が多く含まれ、残存しているウイルスの感染性に影響を与える可能性がある (引用文献)。そこで、以前と同様に残存ウイルスの検出感度を高めるため、継代培養を行った。75 cm² フラスコの培養上清を回収し、単層になるよう前日に 96well プレートに播種・培養しておいた N2a 細胞に 50µl/well ずつ接種した。この際、1 希釈ごとに 24well 分に接種し、同じセッティングのプレートを 2 枚ずつ作製した。33°C の CO₂ インキュベーターでさらに 2 日間培養し固定を行った。各 1 枚をそれぞれ DIFA と ELISA に使用した。なおこの感染実験は 5 人の実験者によって別々の機会に独立して計 10 回行なわれた。

DIFA および ELISA の比較

ELISA の測定値は、Blank 測定値の平均値 + 3SD (標準偏差) を基準に陽性と陰性を判定した。陽性区は黒字に白文字で示した (Table 1)。DIFA では 0.0195 ffu/assay で全て陽性、0.0049 ffu/assay では 10 回中 2 回が陽性となった (Table1)。一方、ELISA

では 0.0781 ffu/assay で全て陽性、0.0195 ffu/assay では 10 回中 6 回で陽性反応を示した (Table1)。

ELISA assay の検出限界

ELISA アッセイで得られた吸光度の測定値を用いて検出限界値を決定した。各試験の ELISA 陽性区について、ウイルススパイク量の少ない区から 2 点、Blank 測定値 1 点の計 3 点を用いて X 軸にウイルススパイク量 (ffu/frask 値)、Y 軸に吸光度測定値として回帰直線と傾き (slope) を計算した。検出限界値は VICH ガイドラインに従い「 $3.3 \times \text{Blank 平均標準偏差} \div \text{slope}$ 」の式に導入して試験ごとに算出した。その結果検出限界値は 0.015ffu/assay となった (Table 1)。

D. 考察

本研究で行った 10 回の感染実験において 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以前報告した *in vitro* アッセイ (DIFA を用いたもの) の検出感度 (0.023 ffu/assay) とほぼ同じ (0.0195 ffu/assay) 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。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 (Fig.1)、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。

E. 結論

本方法は狂犬病ワクチンの不活化試験において動物福祉の改善のみならず、作業工程の短縮による標準事務処理期間の短縮を可能にする。従来の *in vivo* 法より高感度、簡便かつ安価な方法であることから、試験導入のメリットは大きいと考える。また、ELISA は DIFA に比べ高額な機器や試薬を必要としないため、多くの国において実施が可能になると考えられる。

現在、ワクチンメーカーとワーキンググ

ループを立ち上げ、本法の国家検定および自家試験への導入を検討しているところである。

引用文献

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* 2014. 42: 42-7.

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

Fig.1 不活化狂犬病ワクチン中の残留ウイルスの検出のための ELISA 法

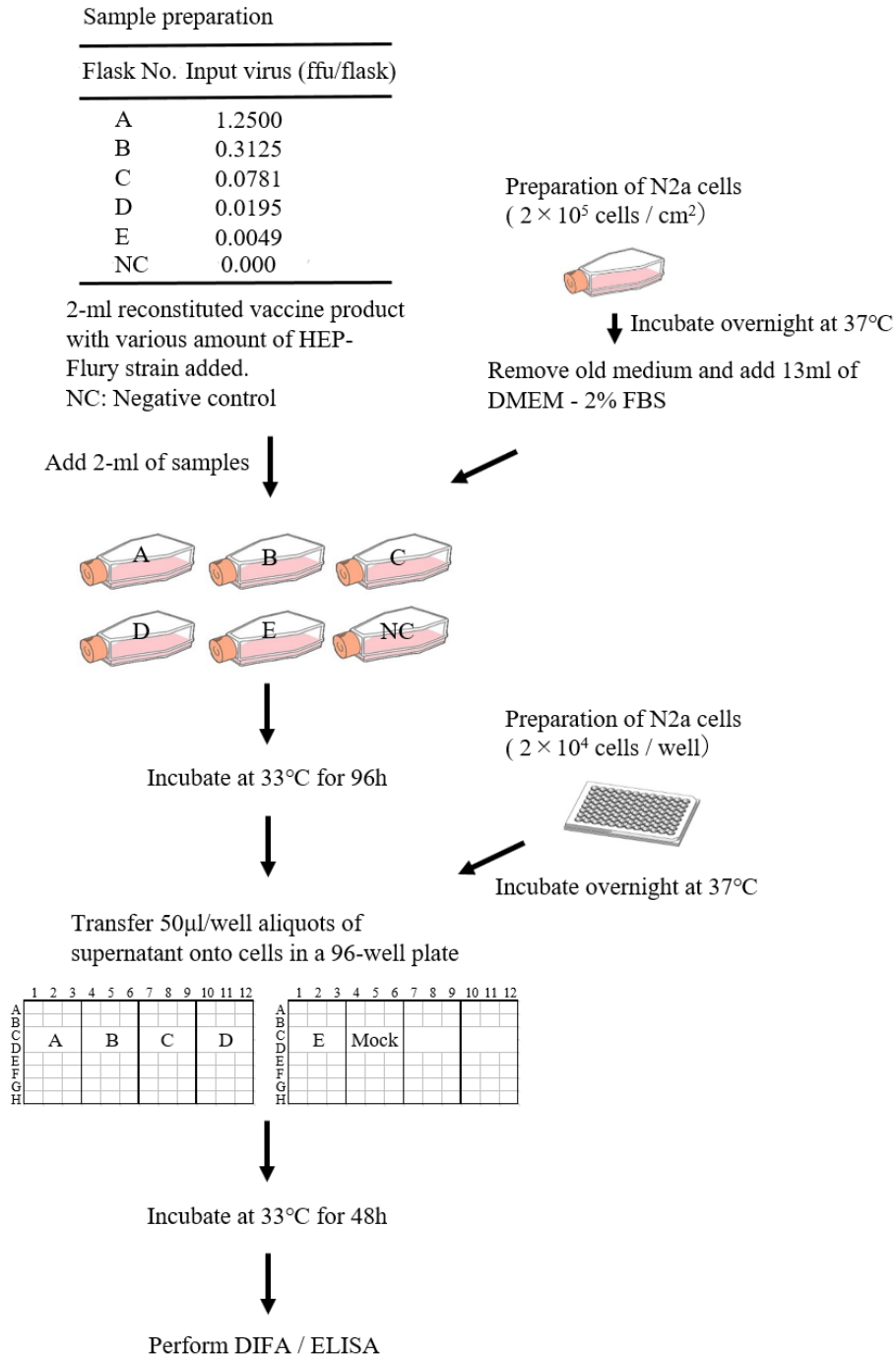


Table 1 DIFA および ELISA 法による残留ウイルスの検出結果と検出限界値

Table 1 Results of detection of residual virus by DIFA and ELISA methods

| Exp.No. | | Input virus (ffu/flask) | | | | | Blank | Blank SD | Slope | DL |
|---------|-------|-------------------------|--------------|--------------|--------------|--------|-------|----------|--------|-------|
| | | 1.2500 | 0.3125 | 0.0781 | 0.0195 | 0.0049 | | | | |
| 1 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.246 | 1.224 | 0.783 | 0.696 | 0.202 | 0.203 | 0.018 | 6.0556 | 0.010 |
| 2 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.492 | 1.158 | 1.261 | 0.646 | 0.322 | 0.309 | 0.030 | 11.786 | 0.008 |
| 3 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.491 | 1.096 | 1.118 | 0.841 | 0.308 | 0.299 | 0.030 | 9.1513 | 0.011 |
| 4 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.380 | 1.288 | 1.298 | 0.941 | 0.333 | 0.320 | 0.026 | 11.028 | 0.008 |
| 5 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.464 | 1.331 | 1.316 | 0.356 | 0.273 | 0.286 | 0.031 | 2.5866 | 0.039 |
| 6 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.237 | 0.929 | 0.527 | 0.251 | 0.226 | 0.213 | 0.011 | 4.1762 | 0.009 |
| 7 | DIFA | + | + | + | + | + | | | | |
| | ELISA | 1.248 | 0.911 | 0.811 | 0.232 | 0.260 | 0.231 | 0.013 | 1.7722 | 0.025 |
| 8 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.227 | 0.837 | 0.441 | 0.230 | 0.222 | 0.220 | 0.009 | 1.908 | 0.016 |
| 9 | DIFA | + | + | + | + | + | | | | |
| | ELISA | 1.157 | 1.047 | 0.583 | 0.220 | 0.237 | 0.207 | 0.013 | 2.5235 | 0.017 |
| 10 | DIFA | + | + | + | + | - | | | | |
| | ELISA | 1.172 | 1.093 | 1.006 | 0.461 | 0.375 | 0.383 | 0.024 | 8.2836 | 0.009 |
| Average | | | | | | | | 0.021 | 5.927 | 0.015 |

Detection Limit = 3.3 x standard deviation of the blank /the slope of the calibration curve

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

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

分担研究報告書

蛇毒抗毒素製剤の国家検定の見直しに関する研究

研究分担者 高橋 宜聖 国立感染症研究所 免疫部

研究協力者 松村 隆之 国立感染症研究所 免疫部

研究要旨：

乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素等の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するため、抗毒素製剤所（KM バイオロジクス株式会社）、細菌に関する抗毒素製剤担当室である国立感染症研究所細菌第二部第三室、免疫部第二室、および総務部業務管理課との間で協議を行なった。その結果、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。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が得られたため、はぶ毒素（出血 II）の生物学的製剤基準からの削除について検討を行った。まず、KM バイオロジクス株式会社と協議、次に、国立感染症研究所品質保証・管理部と協議、さらに厚生労働省医薬品審査管理課、総務部業務管理課、免疫部第二室との間での協議を行った。その結果、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 価に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。

A. 研究目的

我が国で承認されている蛇毒抗毒素製剤には、乾燥はぶウマ抗毒素（はぶ抗毒素）と乾燥まむしウマ抗毒素（まむし抗毒素）がある。抗毒素製剤には、SLP 審査が未だ導入されておらず、課題となっていたため、SLP 導入を検討することを目的とした。

また、WHO ガイドラインでは、地域標準品や自家標準物質の導入の検討、動物倫理における 3R の遵守・推進が勧奨されている。3R の推進・検定項目の削除検討のため、はぶ及びまむしの出血毒の評価にウサギが用いられているものについて、とくにはぶ毒素（出血 II）の生物学的製剤基準か

らの削除を検討することを目的とした。

B. 研究方法

蛇毒抗毒素製剤への SLP 導入の検討

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国立感染症研究所の抗毒素製剤の製剤担当室である細菌第二部第三室、免疫部第二室、および総務部業務管理課が、SLP 導入に関するワーキンググループにおいて、SLP 導入方法ならびに時期について検討を行った。また、KM バイオロジクス株式会社と免疫部第二室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。

はぶ毒素（出血 II）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、国立感染症研究所品質保証・管理部と協議、さらに厚生労働省医薬品審査管理課、総務部業務管理課、免疫部第二室との間で協議を行い、はぶ毒素（出血 II）の生物学的製剤基準からの削除について検討を行った。

（倫理面への配慮）該当なし。

C. 研究結果

蛇毒抗毒素製剤への SLP 導入の検討

2021年1月以降にすべての抗毒素製剤が SLP 施行対象となる可能性が生じたことから、乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素等の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するため、抗毒素製剤所（KM バイオロジクス株式会社）、細菌に関する抗毒素製剤担当室である国立感染症研究所細菌第二部第三室、免疫部第二室、および総務部業務管理課との間で協議を行なった。その結果、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。

はぶ毒素（出血 II）の生物基からの削除検討

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が得られたので、はぶ毒素（出血 II）の生物学的製剤基準からの削除について検討を行った。まず、KM バイオロジクス株式会社と協議、次に、国立感染症研究所品質保証・管理部と協議、さらに厚生労働省医薬品審査管理課、総務部業務管理課、免疫部第二室との間での協議を行った。その結果、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 価に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。

D. 考察

蛇毒抗毒素製剤への SLP 導入の検討

2021年1月以降にすべての抗毒素製剤が SLP 施行対象となる可能性が生じたことから、乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素等の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、2020年3月出検予定の乾燥まむしウマ抗毒素について SLP 審査試行を行うこととなった。また、2020年12月までに出検予定のない乾燥はぶウマ抗毒素については乾燥まむしウマ抗毒素と製造方法が類似していることから、試行を省略する形で進めることとなった。今後、様式作成過程（承認書の入手、SLP 様式作成など）に十分な時間を確保し、将来の SLP 施行時に間に合うように準備を進める予定である。

はぶ毒素（出血 II）の生物基からの削除検討

ヒトの $\alpha 2$ マクログロブリンがはぶ毒素出血 II（HR2）を阻害することが国際英文雑誌に報告されている（Morine N et al. *Jpn J Infect Dis*, 2018;71(4):286-290.）。

0.18 mg の $\alpha 2$ マクログロブリンで 0.0035 mg の HR2 を完全に阻害することが示されており、前年度に免疫部第二室でも同様の実験結果を再現した。1 回のハブ咬傷での毒量は最大 22.5 mg であり、そのうち HR2 は 2 mg である。すなわち 103 mg の $\alpha 2$ マクログロブリンがあれば阻害できる HR2 量である。一般に血清 $\alpha 2$ マクログロブリン量は男性 1~2 mg/mL、女性 1.3~2.5 mg/mL であり、少なくとも血清 103 mL（ヒト体重 2.6 kg 分の血清量に相当）あれば阻害できると考えられる。小児の血清には成人より高濃度の $\alpha 2$ マクログロブリンが含まれ、成人でも年齢による差はほとんどない。

乾燥はぶ抗毒素の力価試験の 1 つとして、はぶ毒素（出血 II）の出血活性を阻害する力価試験（抗出血 II 価）が生物基に収載されている。しかしながら、はぶ毒素（出血 II）の出血活性は、前述のようにヒト血清中に既存のタンパク質で阻害されることが確認され、はぶ毒素（出血 II）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。実際、健康ヒト血清 1 リットルには、すでに乾燥はぶウマ抗毒素製剤 1 バイアル（6000 単位）の抗出血 II 価と同等の活性を有するタンパク質が、すで

に含まれていることも前年度に免疫部第二室において確認した。これらの科学的知見から、はぶ毒素（出血 II）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た。

2018 年 WHO ガイドラインでは、抗致死価を力価試験で必須な試験として位置づけ、抗出血価等は、抗致死活性が担保されていれば既存抗毒素の品質管理に必ずしも必須でないという考えを打ち出している。当該考え方は 2010 年 WHO ガイドラインから記述されていることが確認され、国際的なコンセンサスが得られているものと判断できる。なお、本ガイドラインでは致死率や咬傷例の頻度から、毒蛇をカテゴリー 1（医療上重要度の高いもの）とカテゴリー 2（重要度が劣るもの）に分類しているが、はぶをカテゴリー 1 に分類していることも、当該ガイドラインの適用範囲にはぶが含まれる根拠と考えられる。本考え方に基づけば、はぶ抗出血価 II（HR2）に限らず、はぶ抗出血価 I（HR1）ならびにまむし抗出血価に関しても削除検討項目になるが、今回は学術論文によって実施意義が不透明になった抗出血 II 価について検討を行った。

以上の内容を踏まえ、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 価に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。

E. 結論

乾燥はぶウマ抗毒素、乾燥まむしウマ抗毒素等の国家検定における SLP 審査試行について検討した結果、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 審査の試行を行い、乾燥はぶウマ抗毒素等、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。また、はぶ毒素（出血 II）の生物学的製剤基準からの削除を検討した結果、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 価に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。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 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政策研究事業

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

分担研究報告書

インフルエンザワクチンの国家検定試験の精度維持に関する研究 (インフルエザワクチン国家検定の見直し)

| | | | |
|-------|-------|----------|-------------------|
| 研究分担者 | 長谷川秀樹 | 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 |
| 研究協力者 | 嶋崎 典子 | 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 |
| | 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 |
| | 原田 勇一 | 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 |
| | 佐藤佳代子 | 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 |

研究要旨：近年、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運用され始め、ワクチン製造技術の向上や GMP に基づく品質管理能力の向上などから、国家検定試験の試験項目や国家検定として二重に品質管理試験を実施していく必要性についての見直しが検討されている。本研究では、インフルエンザ HA ワクチンの国家検定試験の中で最も重要である力価試験（一元放射免疫拡散試験[SRD 試験]）について、平成 29 年度～令和元年度までの 3 年間のワクチン製造所の自家試験成績と感染研の国家検定試験成績の一致度について解析を行った。その結果、SRD 試験は、毎年度、国家検定開始時期以前に製造所と感染研との間で標準化作業を行い、測定値の一致度を確保していることもあって、製造所の自家試験成績と感染研の国家検定試験成績は、基本的によく一致していた。従って、国家検定において、従来の全ロット試験から一部ロット試験に移行することの検討は可能と考えられた。なお、平成 30 年度のワクチンに含まれる一部のウイルス株において、試験成績の乖離が認められたため、原因を調査したところ、試験に用いる標準抗原の 4℃ 保存における安定性の不良が原因と考えられた。ウイルス株によっては標準抗原の力価を維持するために、保存方法を変更する必要がある、ワクチン株が変更された場合の保存条件、標準抗原の安定性に関する検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

ワクチンの国家レベルでの品質管理は、製造販売承認、GMP 調査、国家検定などの制度によって維持されている。2012 年には製造・試験記録等要約書（SLP）に対する審査が国家検定の一部として本格的に運用されるようになった。国家検定ではこれまで全ロットに対して検定試験を実施してきた。しかしながら、ワクチン製造技術の発

展による品質の向上、また GMP に基づく品質管理能力の向上があり、一方で人的、経済的資源の合理化が求められている状況を考慮すると、国家検定の試験項目や国家検定として二重に品質管理試験を実施していく必要性についても見直す時期と考えられる。

本研究では、国家検定試験の精度維持を図ること及び品質管理試験として二重に独

立して試験を実施する有益性の考察に資するため、継続して令和元年度のインフルエンザ HA ワクチンの国家検定試験である力価試験の再現性について解析を行った。また、昨年度、ワクチンに含まれる一部の株において、製造所と感染研との試験成績の乖離が認められたため、原因を調査した。

B. 研究方法

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。ワクチンは、デンカ生研株式会社、一般財団法人阪大微生物病研究会、第一三共ワクチン株式会社、KM バイオロジクス株式会社の 4 製造所で製造された。各年度のワクチンに含有されるワクチン製造株を表 1 に示した。平成 26 年度までは A/H1N1、A/H3N2 と B の 3 価ワクチンであったが、平成 27 年度以降は 4 価ワクチンとして系統の異なる B 型が 1 株増えて、山形系統 (Byam) とビクトリア系統 (Bvic) の両系統のウイルス株が含有されている。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。

(倫理面への配慮)

特になし

C. 研究結果

SRD 試験はワクチンの主要な有効成分であるヘマグルチニン (HA) たん白質の含有量を、アガロースゲル内に一定量の HA 特異的な抗血清を添加して、抗原抗体反応によって形成される沈降輪の面積を HA 含量既知の標準抗原と同時に測定することによって定量する試験法である。インフルエンザワクチンは毎年ワクチン製造株の見直しがなされワクチン株が変更になる特徴を有するワクチンであり、SRD 試験に使用する標準抗原や参照抗血清を毎年製造する必要がある (表 1)。

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 (図 1)。通常、SRD 試験では、異なる実験室での同一検体の測定値の比の対数分布は正規分布で近似され、対数で-0.1 から 0.1 の範囲にほぼ 99% が含まれるような再現性であることが分かっている。これらのデータについて、自家試験成績/感染研成績の対数値が、-0.1 から 0.1 の範囲に出現する頻度の積算値 (積算%) を求めたところ、平成 30 年度の A/H3N2 の 93.1%(54/58 ロット)、Byam の 94.8%(55/58 ロット)および令和元年度の Byam の 98.4%(63/64 ロット)について、乖離が認められるものがあつた。

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(8月から6ヶ月間)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(図2)。また、検定に用いなかったが候補品として作製したロットについても、経時安定性を調べたところ、同様な力価低下が見られ(データ示さず)、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。比較として調べたByamの標準抗原は、4℃保存で1年後では有意差が認められたが、6ヶ月、9ヶ月とともに大きな低下は認められなかった。また、Bvicの標準抗原は、4℃保存1年後でも有意な低下が認められなかった。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。なお、当該A/H3N2標準抗原は、-30℃保管であれば12ヶ月後も有意な力価低下は認められなかった。

D. 考察

標準抗原の安定性に問題のあったワクチン株(AH3N2)を除けば、国家検定開始時期以前にメーカーと感染研との間で標準化作業をすることによって、前年にワクチンに対する測定誤差が偶発的に大きく出現した株についても再現性が改善し、その他の株

については大きな乖離は認められず、全体としての試験精度は確保できていたと評価された。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、すなわち一致度は高いものであることがわかった。

このような高い試験成績の再現性を維持するために、毎年、検定開始までに試験条件や標準抗原のHA含量値付けの作業の際に、ワクチン製造所とも共同で試験検討を実施し、標準化を行っている。このようにSRD試験では試験精度、再現性の確保には十分な検討が必要であることから、検定によって独立して二重に確認することはワクチンの品質を確保するために有益と考えられる。一方で、質の良い標準抗原等を用いて一度試験条件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も、昨年度に引き続き本年度も確認できた。

現在、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。

なお、標準抗原の安定性が試験成績に大きな影響を与えることに留意すべきであることも分かった。ワクチン株によっては標準抗原の力価を維持するために、保存方法を変更する必要があるため、ワクチン株が変更された場合の保存条件や、標準抗原の安定性に関する検討が必要と考えられる。

E. 結論

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。試験精度の維持には、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ことが不可欠と考える。

F. 研究発表

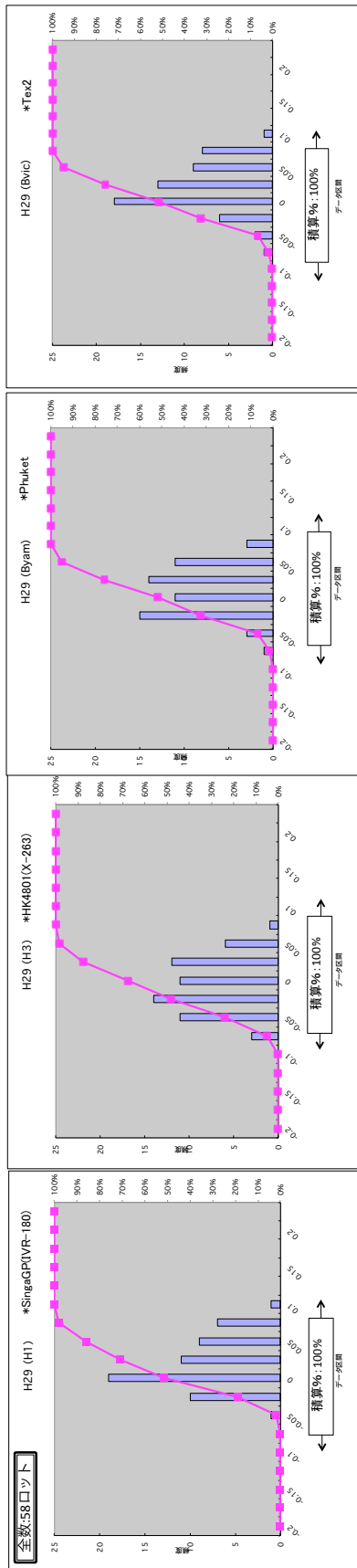
1. 論文発表 なし
2. 学会発表
- 1) Noriko Shimasaki, Shigeyuki Itamura. Development of an alternative potency assay to measure the HA content of two influenza B vaccine viruses included in quadrivalent influenza vaccine in Japan. Option X for the Control of Influenza, Singapore, 2019年9月.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

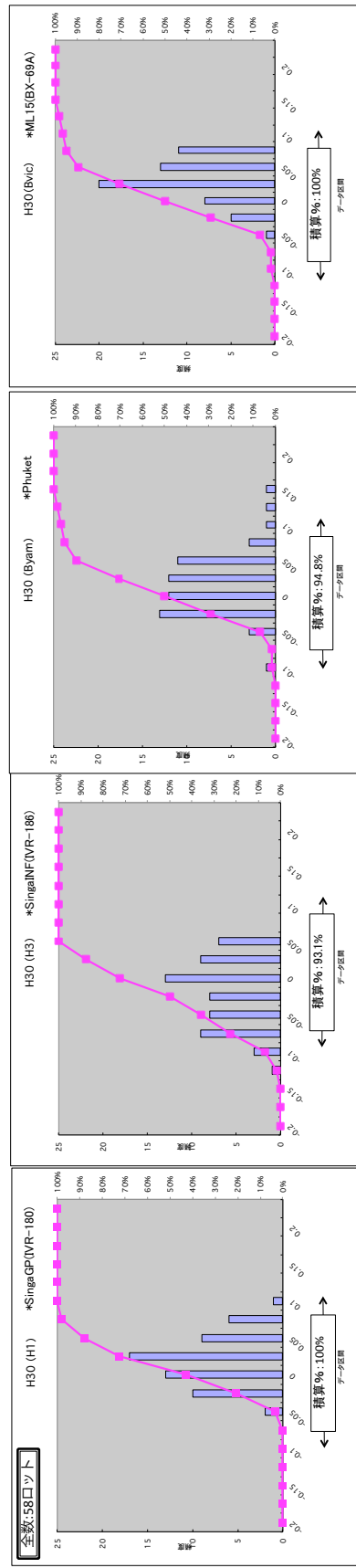
表1 わが国で使用されたインフルエンザワクチン製造株のリスト

| インフルエンザシーズン | ウイルスの型及び亜型 | ワクチン製造株 | 標準抗原ロット番号 | 参照抗血清ロット番号 |
|---------------------------|-------------|--|--------------------|------------|
| 平成29年度 2017/2018season | A/H1N1pdm09 | <i>A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)</i> | 2017AH1B | 2017AH1-1 |
| | A/H3N2 | <i>A/Hong Kong/4801/2014 (X-263)</i> | 2016AH3A | 2016AH3-1 |
| | B/Yam | <i>B/Phuket/3073/2013</i> | 2017BYA | 2017BY-1 |
| | B/Vic | <i>B/Texas/2/2013</i> | 2017BVA 2017BYA | 2017BV-1 |
| 平成30年度 2018/2019season | A/H1N1pdm09 | <i>A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180)</i> | 2017AH1B | 2017AH1-1 |
| | A/H3N2 | <i>A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 (IVR-186)</i> | 2018AH3B | 2016AH3-1 |
| | B/Yam | <i>B/Phuket/3073/2013</i> | 2018BYA | 2017BY-1 |
| | B/Vic | <i>B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)</i> | 2018BVA 2018BYA | 2018BV-1 |
| 令和元年度 2019/2020season | A/H1N1pdm09 | <i>A/Brisbane/02/2018 (IVR-190)</i> | 2019AH1B | 2017AH1-1 |
| | A/H3N2 | <i>A/Kansas/14/2017 (X-327)</i> | 2019AH3A | 2016AH3-1 |
| | B/Yam | <i>B/Phuket/3073/2013</i> | 2019BYB 2019BVB | 2017BY-1 |
| | B/Vic | <i>B/Maryland/15/2016 (NYMC BX-69A)</i> | 2019BVB 2019BYB | 2018BV-1 |

H29年



H30年



R1年

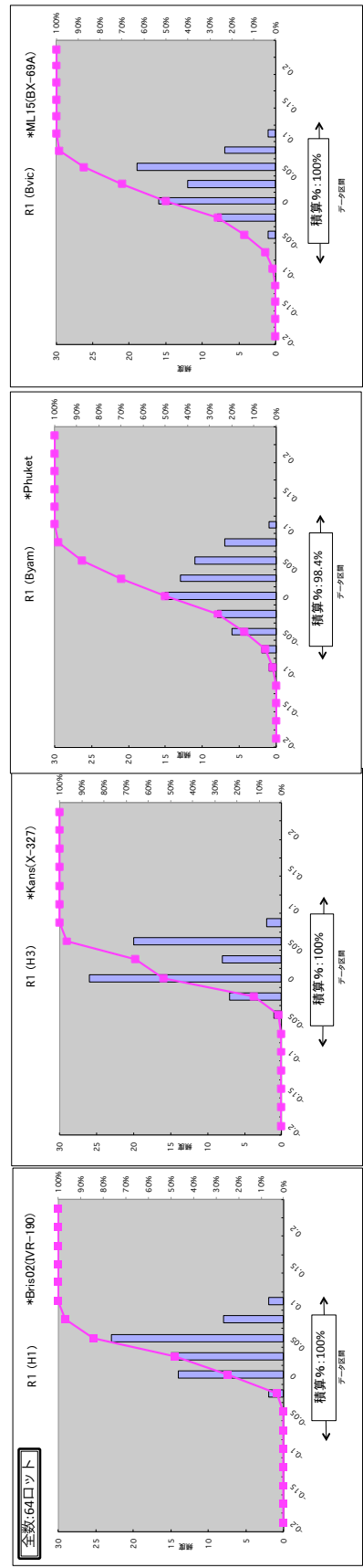


図1 力価試験（一元放射免疫拡散試験法）における再現性

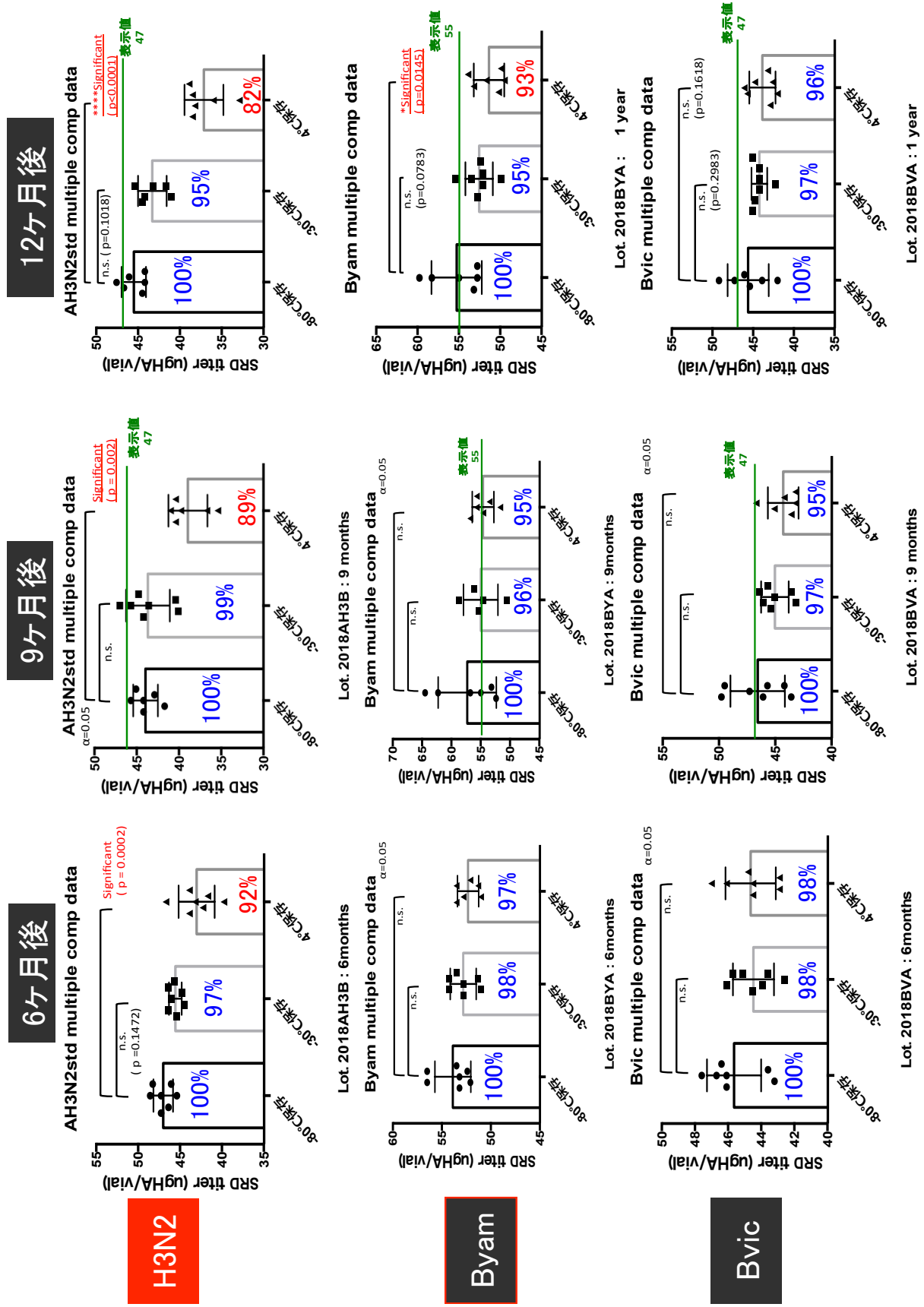


図2 力価試験に使用した標準抗原の経時的安定性評価 (-80°C, -30°C, 4°C保存)

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

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

分担研究報告書

国家検定制度及びワクチンのリスク評価に関する研究

| | | | | |
|-------|-------|----------|----------|-------|
| 研究分担者 | 石井 孝司 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 | 部長 |
| 研究協力者 | 落合 雅樹 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 | 室長 |
| | 内藤誠之郎 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 | 主任研究官 |
| | 藤田賢太郎 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 | 主任研究官 |
| | 板村 繁之 | 国立感染症研究所 | 品質保証・管理部 | 主任研究官 |

研究要旨：国家検定は、我が国に流通するワクチン、血液製剤、抗毒素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が、医薬品の製造技術の向上による品質の安定化により国家検定試験による不適合がほとんど見られなくなった。この一方で定期接種ワクチン品目の増加、多価ワクチンの導入、品質管理試験の高度化等に伴い、国家検定に必要なリソースが増大する傾向にある。また、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）の審査制度が導入されてから7年以上経過し、各ワクチンの品質の恒常性等に関する知見が蓄積してきている。国家検定を取り巻くこういった状況に鑑みると、すべてのワクチンの国家検定に対して均等にリソースを配分するのではなく、ワクチンの品質リスクに応じて国家検定で実施する試験頻度を設定するなど、国家検定に係るリソース配分を最適化する仕組みの構築を検討する必要がある。今年度は、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。また、客観的なリスク評価指標（重要度を含む）の設定を望む意見が複数あり、引き続き品質リスク評価手法の改善が必要であることがわかった。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（リスク評価の実施頻度、レベル分類、試験の実施頻度を全ロットから一部ロットに移行する際の必須要件、試験実施頻度の下限の考え方等）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。その結果、いずれの問題点も、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。

A. 研究目的

ワクチンや血液製剤、抗毒素製剤等の生物学的製剤（以下、ワクチン等）は、保健衛生上特別に注意を要する医薬品であり、製造販売承認を受けた後も製造ロットごとに検定機関である国立感染症研究所（以下、感染研）が実施する国家検定に合格しなければ市場に出荷することができない。国家検定は、製造販売承認、GMP 調査及び製造販売後調査等とともに、我が国に流通するワクチン等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。一方で、国家検定の実施には、時間、経費、人員、施設（以下、リソース）が必要であり、ワクチン等の市場に流通できる期間の減少、価格上昇、迅速供給の阻害等につながっていると指摘もある。我が国の国家検定では、検定機関において検定基準に定められたすべての試験をすべてのロットに対して実施しているが、米国、カナダ、中国、韓国等の諸外国においては、製品ごとの品質、安全性、有効性等（品質等）に係るリスク評価を一定期間ごとに行い、リスクが低いと認められた製品に対しては、国の試験検査機関で実施する試験頻度をすべてのロットから任意の頻度に減らす一部ロット試験方式や一部の試験項目を免除する方式を導入し、検定に必要なリソースを品質リスクに応じて配分するシステムを構築している。ワクチンにおいては製造・試験記録等要約書（以下、SLP）の審査が平成 24 年 10 月から導入されており、ワクチンの品質を確保する上で、書面から得られる情報の有用性が明らかになってきた。このような状況に鑑み、既に多くの国々で実施されている例を参考にワクチン製品ごとに品質等に係

るリスクを評価し、リスクに応じて国家検定で実施する試験頻度あるいは試験項目を定めていくことが、科学的な合理性が高く、限られたリソースを効果的に活用できる仕組みと考えられた。平成 29 年度までに実施した研究（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 ワクチンの品質確保のための国家検定に関する研究（H27-医薬A-一般-004））に引き続き、ワクチンの品質等のリスク評価手法の検討を行った。また、ワクチンの安定供給を確保する観点から、国家検定の期間短縮に向けた見直しが求められている。国家検定には、試験の実施などに一定の期間（標準的事務処理期間：最大 130 日）を要することから、医薬品の製造後、市場への出荷が可能になるまでには一定程度のタイムラグが生じている。そこで製造後、市場への出荷までの期間を短縮する方法として並行検定の導入について検討した。

B. 研究方法

1. ワクチンのリスク評価について

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（資料 1）。

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、令和元年度研究班会議（令和 2 年 1 月

28日開催)において報告し、出席者からの意見等を収集した。

2. 並行検定の導入について

昨年度(平成30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(図1)。そこで今年度(令和元年度)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)

本研究では、倫理面への配慮が必要となる事項はない。

C. 研究結果

1. ワクチンのリスク評価について

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の結果(回答数:23名)の概要を以下に示す。

設問1)各評価項目に対する「重要度」は、「評価者別」(各評価者が設定した重要度)又は「共通」(全ワクチン用に設定した共通の重要度)のどちらを用いるのがよいか?

評価者別、共通、その他の回答比率は、それぞれ17%、74%、9%となり、「共通」

の重要度を用いるのがよい」の回答が多くを占めた。ただし、「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意見が複数寄せられた。

設問2)平成29年度のリスク評価の試行データを用いて各製品のリスクスコアを算出した集計結果のうち、担当している製品のリスクレベルがイメージに近い集計結果の番号はどれか?

① 各評価項目の「重み付リスク」を加算して「リスクスコア」を算出

② ①の大項目「試験実績」と「その他(SLP審査での不合格の発生状況)」のスコアを2倍にして加算

③ 「重要度」として乗じる係数を、「1,2,3,4,5」→「1,2,4,8,16」に変更

④ ③の大項目「試験実績」と「その他(SLP審査での不合格の発生状況)」のスコアを2倍にして加算

⑤ いずれの集計結果もイメージと異なる

⑥ その他

その他の回答は、担当製剤がない等の理由であったため、集計から除外した。それぞれの回答比率は、①20%、②25%、③5%、④35%、⑤15%であった。

設問3)平成29年度のリスク評価の試行データを用いて各製品のリスクスコアを算出した集計結果のうち、担当している製品に限らず、全体的な製品のリスクスコア分布がイメージに近い集計結果の番号はどれか?(選択肢は、設問2と同じであるため省略)

その他の回答は、担当製剤がない、他の製剤の状況が不明等の理由であったため、

集計から除外した。それぞれの回答比率は、①14%、②22%、③14%、④29%、⑤21%であった。

設問2) 担当している製品、設問3) 担当している製品に限らず全体的な製品のリスクレベルがイメージに近い結果として、特に回答が集中した選択肢はなかったが、「重要度」として乗じる係数を、「1,2,3,4,5」→「1,2,4,8,16」にし、大項目「試験実績」と「その他（SLP 審査での不合格の発生状況）」のスコアを2倍にして、加算した結果がイメージに近い」の回答が多い傾向であった。一方で、「いずれの集計結果もイメージと異なる」の回答が15～20%程度あった。

設問4) ワクチンの品質リスク評価に関する意見、コメント(改善点)等はあるか？(自由記載)

10名の回答者(43%)から意見、コメント等が寄せられ、客観的なリスク評価指標(重要度を含む)の設定を望む意見が複数あった。

諸外国における運用等も参考にしながら、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の草案を作成し、検討を行った。草案の骨子は以下のとおり。

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。

2. 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。動物を用いた試験を実施していた場合は、動物福祉の観点からも問題が生じる。製造所にとっても、検定手数料が無駄になるリスクがある。自家試験で不適となる可能性がどの程度あるのかを製品ごとに調査し、リスクの高い製品については並行検定の対象から外すなどの対策が考えられる。

②国家検定の試験によっては、自家試験の結果を参照して試験条件(検体の希釈率など)を決めているものがある。この場合は、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。予備試験の実施や試験条件を幅広く設定するなどすれば試験の並行実施が可能なケースもあるが、その場合には、業務量、試験費用、試験に要する期間などが増加することになる。

③並行検定が国家検定の判定時期を早める効果は、並行実施する試験が長期間を要するものほど大きくなる。逆に、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。長期間を要する試験が規定されている製剤では、それに合わせて、標準的事務処理期間も長めに設定されている。標準的事務処理期間が長めに設定されている製剤ほど、並行検定を導入する意義が大きいと考えられる。

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ない、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。したがって、並行実施する試験対象をあまり広げずに、前項の観点からは、短期間で終了する試験は対象外にして、長期間を要する試験のみに限定するなどして、並行検定の対象となる試験を1～数試験に絞ることが、費用対効果の面からは望ましいと考えられる。

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る。並行検定により国家検定合格日が早まれば、製造日を起算日としている製品は、それだけ市場に流通できる期間が延びることになる。これにより流通在庫を増やすことも可能になり、安定供給にも資すると期待できる。一方、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。このように、製造日を有効期間の起算日としている製剤の方が、並行検定を導入する効果は大きいと考えられる。

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(通知^{1,2}により「試験実施中」と記載するように指示されている。)。これは一面、

書類に不備があるとも言えるので、完全なSLP 又は自家試験成績書が提出されるまでの期間は国家検定の事務処理期間に含めない(この期間はタイムクロックが停止する、又は総事務処理期間から減算される。)と解釈できるように思われたが、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。また、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。これを避けるためには、SLP 又は自家試験成績書を差し換える時期について、一定のルールを設けることが必要と考えられた。また、SLP 又は自家試験成績書の差換えは、それに対応するための業務を増やすことになる。この業務増が無視できない程度であれば、それに応じて標準的事務処理期間を延ばす必要があるかもしれない。

D. 考察

1. ワクチンのリスク評価について

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の結果から、各評価項目に設定する重要度は、「共通」(全ワクチン用に設定した共通の重要度)を用いるのがよいとの回答が圧倒的に多かった。

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ため「評価者別」(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、「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。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複数寄せられた。また、リスク評価の試行で得られた各製品のリスクスコアについてイメージに近い集計結果を調査したところ、「重要度」として乗じる係数を、「1,2,3,4,5」→「1,2,4,8,16」にし、大項目「試験実績」と「その他（SLP 審査での不合格の発生状況）」のスコアを2倍にして加算した結果がイメージに近いとの回答が多い傾向であった。この結果から、本リスク評価では試験実績とSLP 審査での不合格の発生状況は重要な項目と考え、その重み付けを高くすることが妥当と考えられた。また、各評価項目の重要度を反映した重み付けをする際は、相加的な係数「1,2,3,4,5」を乗じる重み付けより、相乗的「1,2,4,8,16」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回答が得られる傾向であり、これは重要度が高いと考えられた評価項目がリスクスコアにより反映されるようになったためと考えられた。しかし、「いずれの集計結果もイメージと異なる」の回答が15～20%程度あり、原因の1つとして重要度が評価者別に設定された結果であるため、評価者の考え方によるバラつきや偏りがリスクスコアに反映している可能性が考えられた。また、意見、コメント（改善点）として、客観的なリスク評価指標（重要度を含む）の設定を望む意見が複数あった。以上のアンケート調査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。これまでは、品質保証・管理部の分担研究者及び研究協力者でリスク評価項目等を検討し、リスク評価シート（試行版）を作成、製剤担当部署の協力を得てリスク評価の試行を行ってきたが、上記課題を検討するためには、不活化ワクチン、生ワクチン、細菌ワクチン、ウイルスワクチン等の担当者（専門家）を含めたワーキンググループなどを構成して、検討を進めていくことが適切であると考えられた。

これまでのリスク評価の試行では、感染研が国家検定等を通して入手可能な情報に基づき評価を実施してきたが、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」等を評価に組み入れることが妥当である。GMP 調査では製造所の製造設備や製造管理手法がGMPに適合し、適切な品質の医薬品等が製造される体制であるかどうか調査されており、品質等に係るリスク評価において極めて重要な評価項目と考えられる。現在、厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課とGMP 調査状況に関する情報提供のあり方等について検討している。市販後の安全性状況についても、ワクチンの安全性に係るリスクとして重要な評価項目と考えられる。予防接種後副反応疑い報告等の情報は、厚生労働省、PMDA及び感染研の間で共有されていることから、こうした情報をリスク評価に活用できるか引き続き検討が必要である。このように、国家検定では入手できない情報の評価など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。

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として、以下の草案を作成した。試験の実施頻度は、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、全ロット(100%)、一部ロット(10~50%)、試験なし(0%)のレベル分類を行い、試験実施頻度を低くする場合、原則として1段階ずつ低くする(100%→50%→25%→10%→0%等)。ただし、「国家検定における試験項目の廃止に関する考え方」に基づき国家検定の試験項目を廃止する場合は、対象としない。試験実施頻度の下限は、「試験実施頻度の下限の考え方」を原則とする。試験実施頻度の下限の考え方として、試験なしと分類された場合を除き、年1ロット以上の試験を実施する(例えば、試験実施頻度50%、25%、10%では、それぞれ出検頻度が年2ロット、4ロット、10ロット以上の製品が対象となる)ことなどが考えられる。年1ロット以上の試験を実施し、メーカーが実施する自家試験成績と検定機関である感染研が実施する検定試験成績の一致度に変化がないか定期的にモニタリングすることで、メーカーの自家試験成績の信頼性が担保されていることを確認できるため有用と考えた。また、試験実施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として、新規承認後の実績、国家検定での不合格状況、国家

検定の対象となる試験項目の本質的な変更、GMP調査の状況等に係る要件を定める。必須要件に極めて重大な評価項目を定めることで、総合的なリスクスコアに反映することが難しい場合においても、こうした特定の評価項目のリスクをダイレクトにレベル分類に反映することが可能になる。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。今後は、上記の本研究で作成した基本方針(草案)に対する意見、コメント等を本研究班の関係者、必要に応じて検定検査担当者から収集し、適切な内容に整理していきたい。上述したワーキンググループなどが構成できれば、そちらで本検討を進めることも考えられる。

2. 並行検定の導入について

並行検定では、感染研による実地の試験やSLP審査又は自家試験成績書の精査が通常の状態と同様に実施され、実施期間そのものを短縮するわけではない。したがって、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することが期待できる。例えば、*in vivo*試験から*in vitro*試験への代替が行われた場合は、試験に要する期間が短縮されて、同様に市場への出荷までの期間が短縮されることになるが、これはその*in vitro*試験法が導入された製剤に限られる。一方、並行検定は、広く導入することが可能であり、導入した製剤では一定の効果を期待できる。並行検定は、通知により、長時間を要する試験については

「試験実施中」と記載した SLP 又は自家試験成績書を提出することができることされており、現行の法令下でも実施できる。実際に、短期間に大量のワクチンを市場に供給しなければならないインフルエンザ HA ワクチンや市場での逼迫が予想されるワクチン等については、行政施策上の必要性により厚生労働省からの依頼に基づいて並行検定が実施されている。すなわち並行検定は、法令を改正しなくても運用のレベルで適用が可能であり、この点では導入のハードルが低い。国際的には、WHO の規制当局によるワクチンのロットリリースに関するガイドライン³では、必要に応じて並行検定が許容されている。EU では、ガイドライン⁴で並行検定について言及しており、実際にはほとんどのロットが並行検定で処理されている⁵。また、韓国やタイでも並行検定が導入されている。以上のように、並行検定は、多くの製剤に広く一定の効果が期待できる一方、制度的な導入のハードルは比較的に低く、国際的にも導入している国が多いことから、我が国においても導入を早急に検討すべき課題であると考えられる。

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

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. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato A, Fujita K, Ochiai M, Naito S, Konda T. Study on Procedure for Lot Release of Vaccines in Japan. Jpn J Infect Dis. 72(3): 133–141, 2019

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

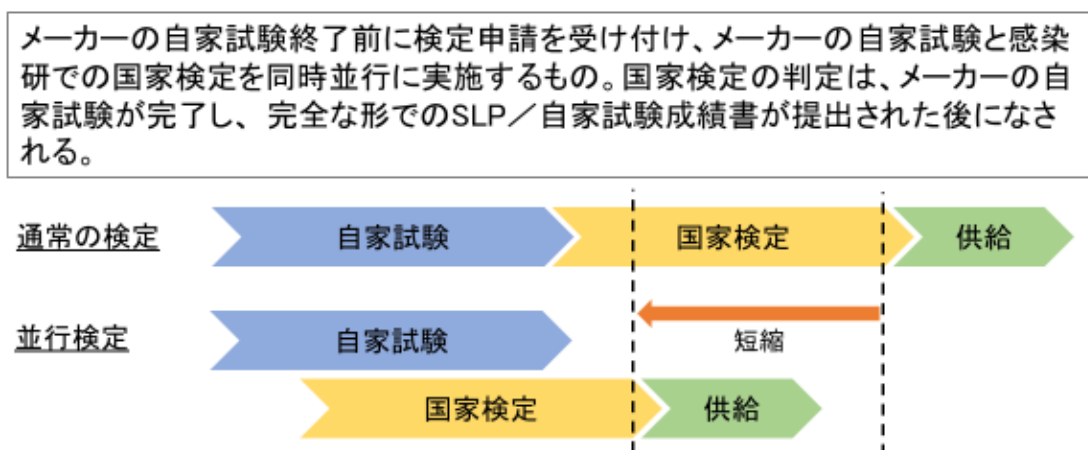
参考資料

1. 指定製剤に関する取扱い等について（平成25年6月11日 薬食監麻発0611第7号）
2. 生物学的製剤の検定実施等に伴う取扱いについて（昭和41年6月30日 薬菌34号）
3. World Health Organization,

Guidelines for independent lot release of vaccines by regulatory authorities, Technical Report Series 978, Annex 2 (http://www.who.int/biologicals/areas/vaccines/lot_release_of_vaccines/en/)

4. European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, EU Administrative Procedure for Official Control Authority Batch Release (<https://www.edqm.eu/en/human-ocabr-guidelines>)
5. European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, Questions and answers on OCABR (<https://www.edqm.eu/en/omcls-questions-and-answers-ocabr>)

図1. 並行検定



【並行検定のメリット】

- ・製造後、出荷までの期間を短縮できる(実質的な有効期間が延びる場合がある)

【並行検定のデメリット】

- ・メーカーの自家試験で不適になる可能性がある
- ・SLP／自家試験成績書の差換えが発生する

ワクチンの製品別品質リスク評価に対する調査票

| | | | |
|-----|--|----|--|
| ご所属 | | 氏名 | |
|-----|--|----|--|

設問 1. 各評価項目に対する「重要度」は、「評価者別」（各評価者が設定した重要度）又は「共通」（全ワクチン用に設定した共通の重要度）のどちらを用いるのがよいと思いますか？（○又は□で囲んでください）

評価者別 ・ 共通 ・ その他（内容を自由記載欄にご記入ください）

<参考>

各評価項目のリスクスコア（重み付リスク）は、「重要度」と「単純リスク（指標に基づき配点）」を乗じて算出します。（別添 1：リスク評価シート）

<自由記載欄：理由、その他、コメント等>

設問 2. 平成 29 年度にご協力いただいたリスク評価の試行データを用いて各製品のリスクスコアを算出しました。別添 2（各製品のリスクスコアと全体のスコア分布）に示す集計結果をご覧ください、担当している製品のリスクレベルがイメージと一致しているかご確認ください。下記の中から最もイメージに近い集計結果の番号を右欄に記入してください。

※ 複数の製品を担当していて、製品によって回答が異なる場合などは、自由記載欄に回答をご記入ください。

- ① 各評価項目の「重み付リスク」を加算して「リスクスコア」を算出
- ② ①の大項目「試験実績」と「その他（SLP 審査での不合格の発生状況）」のスコアを 2 倍にして、加算しています
- ③ 「重要度」として乗じる係数を、「1, 2, 3, 4, 5」→「1, 2, 4, 8, 16」にしています
- ④ ③の大項目「試験実績」と「その他（SLP 審査での不合格の発生状況）」のスコアを 2 倍にして、加算しています
- ⑤ いずれの集計結果もイメージと異なる
- ⑥ その他（内容を自由記載欄にご記入ください）

<自由記載欄：理由、その他、コメント等>

設問 3. 平成 29 年度にご協力いただいたリスク評価の試行データを用いて各製品のリスクスコアを算出しました。別添 2 (各製品のリスクスコアと全体のスコア分布) に示す集計結果をご覧ください、担当している製品に限らず、全体的な製品のリスクスコア分布がイメージと一致しているかご確認ください。
下記の中から最もイメージに近い集計結果の番号を右欄に記入してください。

- ① 各評価項目の「重み付リスク」を加算して「リスクスコア」を算出
- ② ①の大項目「試験実績」と「その他 (SLP 審査での不合格の発生状況)」のスコアを 2 倍にして、加算しています
- ③ 「重要度」として乗じる係数を、「1, 2, 3, 4, 5」→「1, 2, 4, 8, 16」にしています
- ④ ③の大項目「試験実績」と「その他 (SLP 審査での不合格の発生状況)」のスコアを 2 倍にして、加算しています
- ⑤ いずれの集計結果もイメージと異なる
- ⑥ その他 (内容を自由記載欄にご記入ください)

<自由記載欄：理由、その他、コメント等>

設問 4. ワクチンの品質リスク評価について、ご意見、コメント (改善点) などがございましたらご記入ください。

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
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

分担研究報告書

動物代替試験の検討に関する研究

研究分担者 花木 賢一 国立感染症研究所 動物管理室

研究協力者 田原口元子 国立感染症研究所 動物管理室

研究要旨：破傷風トキソイドの力価試験のような致死性の動物試験では、国際的動物実験の倫理原則の一つ **Refinement** の観点から動物を苦痛から早期に解放する人道的エンドポイントを設定している。しかし、設定した人道的エンドポイントが有効に機能しない場合がある。本研究で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。そして、ヒト用赤外線体温計はマウス背部皮膚を剃毛して皮膚を露出させることで、直腸体温計と同様の体温測定が可能なこと。体温測定モードの測温下限は 34℃であるが、測温範囲の広い物体温度測定モードで測温すると、体温が 34℃未満であっても推定可能であることが明らかになった。以上のことから、ヒト用赤外線体温計を用いてマウス体温測定が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。

A. 研究目的

動物実験における国際的倫理原則「3R」の内、代替法の利用 (**Replacement**) と使用動物数の削減 (**Reduction**) は「動物の愛護及び管理に関する法律」第 41 条において配慮事項としている。一方、動物実験技術の洗練・苦痛の軽減 (**Refinement**) は義務事項としている。そのため、破傷風トキソイドの力価試験のような致死性の動物試験では、必ず **Refinement** の観点から動物を苦痛から早期に解放する人道的エンドポイントを設定している。一般的な人道的エンドポイントとしては、対照群と比較して 20%以上の低体重が認められた場合、持続的な横たわりやうずくまりがみられた場合、予め特定の臨床症状を規定してその症状が認められた場合、が挙げられる (中井伸子、

LABIO 21. 26-31, 2007)。しかし、これらの人道的エンドポイントがすべての致死性動物実験に適用できるものではなく、その結果、動物が病死するまでに不要な苦痛を強いることがある。その他の人道的エンドポイントとしては体温が知られており、緑膿菌または黄色ブドウ球菌を感染させたマウスでは 34℃、インフルエンザウイルスを感染させたマウスでは 32℃未満の体温が人道的エンドポイントになることが例示されている (Olfert and Godson. ILAR J. 41:99-104, 2000)。しかし、マウスの体温測定は直腸で行う必要があり、国家検定の動物試験のように多数のマウスを使用する場合には、体温を指標に人道的エンドポイントを設定することは実用的でなかった。

近年、ヒト用赤外線体温計が普及し、身

体に触れることなく、1 秒未満で体温を高精度に測定できるようになった。そこで、本研究では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。

B. 研究方法

使用した体温計はヒト用非接触赤外線体温計 FS-700 (HuBDIC)、ヒト用皮膚赤外線体温計 MT-500 (日本精密測器)、小動物用直腸プローブを取り付けた環境ローガ AD-1687 (A&D) である。マウスは国家検定の動物試験で用いられる ddY (4-7 週齢 ♀ ; N=6) を使用し、戸山庁舎動物管理区の飼育環境下(温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 5\%$)、TPX 製ケージで飼育した。実験方法は先行論文 (Saegusa and Tabata. J Vet Med Sci. 65:1365-1367, 2003) を参考にし、測定部位は小動物用電動バリカンで剃毛した背部皮膚 (図 1)、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。各体温測定はマウスをケージから取り出してワイヤー蓋上で保定して行った (図 2)。また、背部皮膚温度測定はケージ内の無保定状態でも行った (図 3)。対照となる直腸温度測定は、用手保定により行った (図 4)。

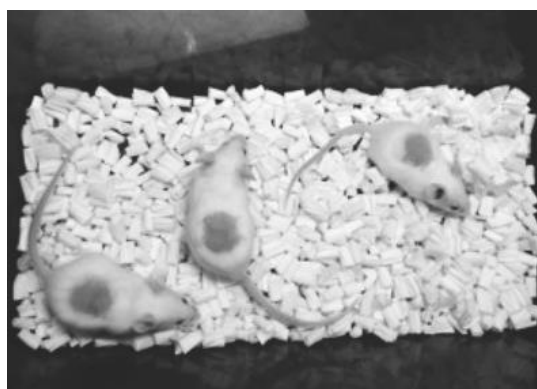
(倫理面への配慮)

本動物実験は国立感染症研究所動物実験委員会の審査を経て、所長の承認が得られた後に実施した (承認番号 : 119115)。

C. 研究結果

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。実験当初、背部皮膚温度は剃毛せずに測定を行ったが、温度が安定しなかった (データ未掲載)。そこで、図 1-3 のように剃毛して皮膚を露出されて測定を行うと、測定値は安定した。



[図 1 背部の毛を剃毛したマウス]

次に、赤外線体温計の特徴について検討した。FS-700 は仕様書では測定部位から 2-3cm の距離で測定することになっているが、5cm 以上離れた距離でも測定結果は変わらず、測定開始 0.5 秒未満で結果が液晶に表示された (図 2)。



[図 2 ケージトップで牽引保定による背部皮膚温度測定 (FS-700)]

一方、MT-500 は測定部位にセンサー部を接近させていくと測定が開始され、2-3 秒で結果が液晶に表示された (図 3)。



[図 3 ケージ内無保定による背部皮膚温度測定 (MT-500)]

そのため、使用感では FS-700 が優れていた。なお、AD-1687 は直腸プローブを肛門に挿入後、約 30 秒で測定温度が一定となり、その結果を記録した (図 4)。



[図 4 用手保定による直腸温度測定 (AD-1687)]

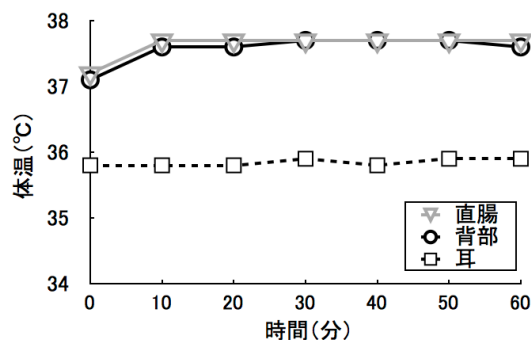
それぞれの温度計で 1 日 7 回、20 日間、計 140 回の測定結果の平均値とその標準偏差を表 1 に示す。赤外線体温計による各部位

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。なお、尾部では FS-700 が測定不能 (34℃を表示)、MT-500 もまた測定範囲外の値を示した。

| 測定部位 | 温度 (°C) | |
|----------|--------------------|----------|
| | FS-700 | MT-500 |
| 背部 (無保定) | 36.9±0.1 | 36.9±0.1 |
| 背部 (保定) | 37.1±0.1 | 37.1±0.1 |
| 尾 (保定) | 測定不能 | 32.4±0.2 |
| 耳 (保定) | 35.9±0.1 | 35.6±0.1 |
| 直腸 | 37.2±0.1 (AD-1687) | |

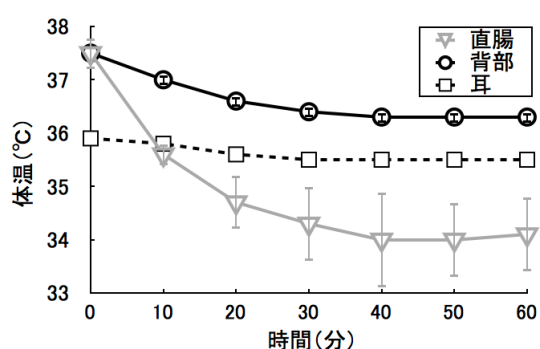
[表 1 マウス各部の温度測定結果]

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 (データ未収載)。そこで、37℃に加温した生理食塩水 (0.75ml/30 g 体重) を腹腔に投与し、10 分ごとにマウスを保定して FS-700 で背部皮膚と耳、AD-1687 で直腸

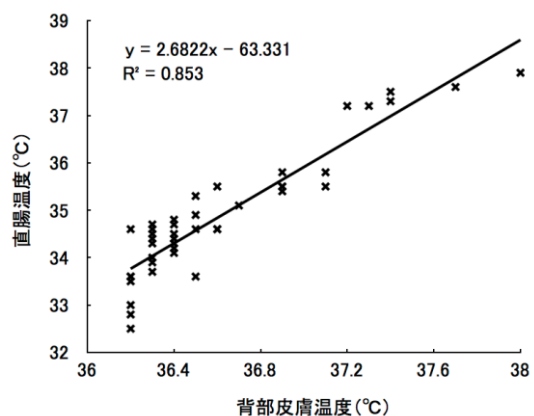


[図 5 生理食塩水腹腔投与後のマウス体温推移 (N=4)]

の温度推移を 60 分間測定した (図 5)。生理食塩水を腹腔投与後 10 分で直腸温度と背部皮膚温度は 0.5℃上昇し、その上昇した体温は投与後 60 分まで維持された。一方、耳温度は生理食塩水投与前後で温度変化は見られなかった。次に、4g/kg のエタノール (20w/v%エタノールを 0.75ml/30g 体重) を腹腔投与して同様の実験を行った (図 6)。



[図 6 エタノール腹腔投与後のマウス体温推移 (N=6)]



[図 7 エタノール腹腔投与後のマウス背部皮膚温度と直腸温度の相関性 (測定点=42)]

直腸温度は投与後 60 分で平均 3.3℃低下したが、背部皮膚温度は平均 1.3℃、耳温度は

平均 0.4℃の低下に止まった。ただし、背部皮膚温度は直腸温度と高い相関 ($R^2=0.85$) を示した (図 7)。

直腸体温計が 34℃より低い温度を測定できるのに対して、ヒト用赤外線体温計は 34℃を測定下限としている。しかし、FS-700 の物体温度 (以下「物温」と略す) 測定モードの測定域は 15-60℃であることから、34℃未満のマウス体温を物温測定モードにより測定できるのではないかと考えた。この検討は動物を用いない代替法として、100ml ポリプロピレンチューブに温水を入れ、温水温度を棒状温度計、チューブ壁温度を FS-700 で測定してその相関性を解析した (表 2)。その結果、棒状温度計の測定結果と FS-700 の物温測定モードの測

| 温度計 (°C) | 物温測定 (°C) |
|----------|-----------|
| 39.0 | 39.8 |
| 38.0 | 39.0 |
| 37.5 | 38.7 |
| 37.0 | 38.3 |
| 36.0 | 36.9 |
| 35.0 | 36.3 |
| 34.0 | 35.9 |
| 33.0 | 34.8 |
| 32.0 | 33.3 |
| 31.0 | 32.6 |
| 30.0 | 31.1 |

[表 2 物温測定モードによる水温測定]

定結果には高い相関 ($y=0.941x+3.351$, $R^2=0.99$) を認めた。

D. 考察

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。測定部位は先行文献に倣って、直腸温度を基準として背部皮膚、尾、耳で温度測定を行った結果、背部皮膚温度が直腸温度に近い値を示し、生理食塩水 (37°C) の腹腔内投与後の温度もほぼ同じ推移を示した。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。エタノール誘導低体温では、直腸温度は 34°C 未満 (最低温度=32.5°C) に達したが、背部皮膚温度は最低でも 36.2°C に止まった。体内温度の急激な低下に体表温度の変化が追従できていないと思われるが、高い相関性 ($R^2=0.85$) があることが確認された。そのため、背部皮膚温度より直腸温度を推定できると考えた。

ヒト用赤外線体温計 (FS-700) はその測定対象から温度測定範囲を 34-42.5°C (最大許容誤差 $\pm 0.3^\circ\text{C}$) に限定している。しかし、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った。ヒト用赤外線体温計の中には物温測定機能を搭載しているものがあり、FS-700 の物温測定範囲は 15-60°C (最大許容誤差 $\pm 1^\circ\text{C}$) で、その内、22-42.5°C では最大許容誤差が $\pm 0.3^\circ\text{C}$ であった。表 2 で示したように、物温測定モードによる外

表面温度測定結果と温度計による容器内水温測定結果の相関係数 (R^2) はほぼ 1 であり、30-40°C の直腸温度は物温測定モードにより得られた背部皮膚温度から推定できると考えられた。なお、背部皮膚を測定部位とする場合には剃毛が必要であり、国家検定の動物試験のように多数のマウスを同時に使用する際には多大な労力となる。そのため、剃毛不要で直腸に近い尾根部や肛門もまた体温測定の好適部位になることが期待される。

E. 結論

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と、直腸温度に近似した測定値が得られ、且つ、高い相関性 ($R^2=0.85$) もあることが明らかになった。また、ヒト用赤外線体温計の物温測定モードにより得られた背部皮膚温度から 30-40°C の直腸温度も推定可能になると考えられた。そのため、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。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 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政策研究事業
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

分担研究報告書

セービン株由来不活化ポリオワクチンと肝炎ワクチンの
in vitro 試験法に関する研究
(肝炎・ポリオワクチン国家検定の見直し)

研究分担者 染谷 雄一 国立感染症研究所 ウイルス第二部

研究協力者 清原 知子 国立感染症研究所 ウイルス第二部

研究要旨：

セービン株由来不活化ポリオワクチンを含む4種混合ワクチン、および、参照不活化ポリオワクチン（セービン株）（いわゆる、国内参照品）を試験材料とし、D抗原量と免疫原性に対する加温処理の効果に関する一連の実験データを精査、解析し、D抗原量測定試験がワクチンの劣化をより鋭敏に測定できると判断した。これらの成果は原著論文にまとめ、Vaccine誌に掲載が受理された。これにより、実験動物を用いた免疫原性試験（in vivo試験）に基づく現行の力価試験を、近い将来D抗原量を測定するin vitro試験に移行する科学的根拠が得られたものと期待する。一方、A型およびB型肝炎ワクチンに関しても加温劣化の効果を検証するため、ワクチン製剤の劣化条件を検討している。

A. 研究目的

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、A型肝炎ワクチン、および、B型肝炎ワクチンの国家検定では、その力価測定に小動物（ラット、あるいは、マウス）を用いたin vivo試験が行われている。動物実験に関する3R（Replacement, Reduction, Refinement）の観点から、将来的に抗原量を測定するin vitro試験の導入が必須である。日本国内で実用化されているワクチン製剤について、in vitro試験法の確立を目指すと共に、in vivo試験成績とin vitro試験成績との相関、関連性について検討した。

B. 研究方法

① セービン株由来不活化ポリオワクチンについて

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℃、50℃で処理し、D抗原含量をin vitro試験法で測定した。また、37℃、50℃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

(Slc:Wistar、メス、接種時8週齢)を用い、中和試験を実施した。いずれも、加温処理しない、4℃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)(以下、国内参照品)についても37℃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℃保存の国内参照品の値と比較した。

② B型肝炎ワクチンについて

市販の組換え沈降B型肝炎ワクチン(2メーカー、各製剤2ロット)を試験対象とした。それぞれの製剤において、加温変性させた劣化ワクチンを作製し、*in vitro*試験で相対力価の低下を確認した。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。*in vitro*試験は既報の通り、*in-house* ELISAを実施した。*in vivo*試験は国家検定試験法に準じて行った。

③ A型肝炎ワクチンについて

海外で導入されているA型肝炎ワクチン製剤を購入し、その免疫原性を日本国内で導入されているA型肝炎ワクチン製剤と比較した。試験は国家検定試験法に準じて行った。

(倫理面への配慮)

動物を用いる実験は、国立感染症研究所が定める動物実験計画書を実験動物委員会に提出し、承認を受けた後実施する。

C. 研究結果

① セービン株由来不活化ポリオワクチン

について

昨年度までに得た実験結果を精査、解析した。2種の4種混合ワクチン製剤(AおよびB)について、表1と表2に概略を示す。

(表1. 4混製剤Aの加温に伴うD抗原含量と免疫原性の変化：残存D抗原含量は加温未処理(4℃保存)のD抗原含量に対する相対値として示した。中和抗体価(log2)はそれぞれの条件で処理した製剤を接種したラット10匹の血清抗体価の平均値を示した)

| 血清型 | 残存 D抗原量 | 中和抗体価 (log2) | | |
|-----|------------|-----------------|-----|-------|
| | 37℃ | 4℃ | 37℃ | p |
| 1型 | 42% | 7.0 | 4.3 | 0.002 |
| 2型 | 35% | 6.6 | 6.6 | 0.9 |
| 3型 | 49% | 3.0 | 2.1 | 0.3 |

(表2. 4混製剤Bの加温に伴うD抗原含量と免疫原性の変化)

| 血清型 | 残存 D抗原量 | 中和抗体価 (log2) | | |
|-----|------------|-----------------|-----|-------|
| | 37℃ | 4℃ | 37℃ | p |
| 1型 | 32% | 7.2 | 6.8 | 0.6 |
| 2型 | 13% | 6.5 | 4.8 | 0.006 |
| 3型 | 16% | 1.8 | 0.8 | 0.04 |

また、国内参照品 Lot 12A (-80℃保管)を37℃で1週間処理後、D抗原含量試験とラット免疫原性試験を実施した。表3に残存D抗原量(相対値)と残存免疫原性力価(相対値)を示す。

(表3. 37℃で1週間処理した国内参照品 Lot 12Aの残存D抗原含量と残存免疫原性

力価：残存 D 抗原含量は融解直後に測定された D 抗原含量に対する相対値として、残存免疫原性力価は加温未処理の免疫原性力価に対する相対値として示した)

| 血清型 | 残存 D 抗原量 | 残存免疫原性 相対力価 |
|-----|----------|----------------|
| 1 型 | 43% | 0.52 |
| 2 型 | 72% | 1.16 |
| 3 型 | 78% | 0.45 |

② B 型肝炎ワクチンについて

メーカーA の製剤（冷蔵）の *in vivo* 相対力価、*in vitro* 相対力価はそれぞれ 2.88 単位、0.97 単位であるのに対し、劣化ワクチンは 2.93 単位、0.41 単位であった。加温変性によって *in vitro* 相対力価が 0.97 単位から 0.41 単位に低下 (-57.7%) するが、*in vivo* 相対力価は 2.88 単位と 2.93 単位で有意な変化は認められなかった。

一方、メーカーB の製剤（冷蔵）の *in vivo* 相対力価、*in vitro* 相対力価はそれぞれ 3.09 単位、0.57 単位であるのに対し、劣化ワクチンは 1.28 単位、0.14 単位であった。加温変性によって *in vitro* 相対力価が 0.57 単位から 0.14 単位に低下 (-75.4%) し、*in vivo* 相対力価も 3.09 単位から 1.28 単位に低下した。

③ A 型肝炎ワクチンについて

国内では導入されていない、海外製の A 型肝炎ワクチン製剤のマウスでの免疫原性を評価したところ、国内で導入されている製剤に比べ、力価が低い傾向が認められた。

D. 考察

① セービン株由来不活化ポリオワクチンについて

D 抗原量、免疫原性に対する加温劣化の効果は、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。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。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は明らかである。

② B 型肝炎ワクチンについて

同様に、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。

③ A 型肝炎ワクチンについて

海外製剤と国内製剤の抗原量が異なるため、1 ドーズあたりの抗原量が同等か、今後検証する必要がある。また、前者にはアルミニウムアジュバントが含まれており、その効果についても検討する必要がある。

E. 結論

① セービン株由来不活化ポリオワクチンについて

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) に反映される。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る。すなわち、製剤の D 抗原含量の測定に問題がなければ、その免疫原性は確保できると結論でき、今後、試験法の移行が推進されるものと期待する。

② B 型肝炎ワクチン、および、A 型肝炎ワクチンについて

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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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*, 38:3295-3299,2020.

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 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政策研究事業

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

分担研究報告書

BCG 膀胱内用・ツベルクリン・抗毒素製剤の国家検定の見直しに関する研究

研究分担者 森 茂太郎 国立感染症研究所 細菌第二部 室長
研究協力者 柴山 恵吾 国立感染症研究所 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 主任研究官

研究要旨：本研究では、細菌製剤ならびに抗毒素製剤への製造試験記録等要約書（SLP）審査導入についての検討を継続して行なっている。本年度は、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。細菌製剤や抗毒素製剤にも SLP 審査が導入されることによって、これらの製剤の品質がより確保され、国民の健康や福祉に貢献することが期待される。また、破傷風トキソイドの力価試験においては、3R 対応の観点から動物の苦痛軽減に関する検討を進めた。その結果、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。一方で、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。

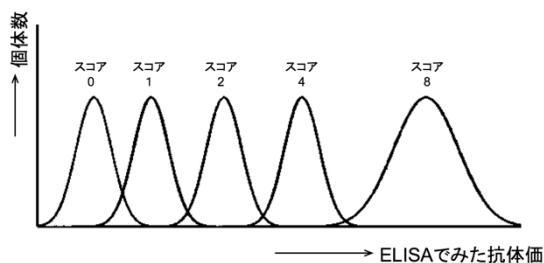
A. 研究目的

ワクチンのロットリリースにおける「製造試験記録等要約書（SLP）」の審査制度が平成 24 年 10 月 1 日から施行されたが、細菌第二部が製剤担当となっている生物学的製剤のうち、予防ワクチン以外の細菌製剤（乾燥 BCG 膀胱内用ならびに精製ツベルクリン）や抗毒素製剤〔乾燥ジフテリアウマ抗毒素、乾燥ガスエソウマ毒素、および乾燥ボツリヌスウマ抗毒素（多価、E 型）〕には SLP 審査制度は導入されてこなかった。そこで本研究では、ワクチンにおける SLP 審査制度を踏まえて、細菌第二部が担当としているこれらの細菌製剤ならびに抗毒素製剤への SLP 審査の導入を検討することを目的とした。

一方、破傷風トキソイドワクチンの品質管理において力価試験は重要な試験であり、市販されるすべてのロットについてメーカー（自家試験）と感染研（国家検定）で力価試験の実施が義務づけられている。力価試験においては、実験動物にワクチンを接種して付与された免疫の程度を定量化することでワクチンの力価を算出している。この試験では、免疫した動物（通常はマウス）を破傷風毒素で攻撃し生死と症状を観察することで *in vivo* での中和能を見積り、力価を算出する。毒素攻撃により発症した動物に非常な苦痛を強いるため、3R 対応の観点から試験法の改良が急務となっている。そこで本研究では、人道的エンドポイント（毒素攻撃により重症となったマウスを安

楽死させる)の設定による苦痛軽減が可能かどうかについて検討を行なった。また、代替法の開発についても検討を開始した。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も繰り返し行われてきたが、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。現行の毒素攻撃法では、症状の重篤さを「レンジ分け」してスコアに換算し力価を算出している。そこで症状の「レンジ」と ELISA 抗体価の「レンジ」の対応を探り (図 1)、適切な換算法を設定することによって、ELISA 法でも毒素攻撃と同等の情報を得ることができる系を構築することを目的とした。

・攻撃の数日前にマウスから部分採血してELISAで抗体価測定
 ・抗体価測定後のマウスを攻撃し、生死と症状からスコアを付与、抗体価と比較
 →下図のようになれば代替法として成立する可能性



(図 1)

B. 研究方法

1. 細菌製剤・抗毒素製剤への SLP 導入

細菌製剤 (乾燥 BCG 膀胱内用ならびに精製ツベルクリン) については製剤メーカーが 1 社 (日本ビーシー製造株式会社) のみであることから、日本ビーシー製造株式会社と製剤担当室 (細菌第二部第四室) が SLP 導入について協議を行った。抗毒素製剤については、製剤メーカーが 1 社 (KM バイオロジクス株式会社: KMB) のみであり、またヘビ毒の抗毒素製剤 (乾燥まむしウマ抗毒素ならびに乾燥はぶウマ抗毒素) も KMB が製造していることから、ヘビ毒の抗毒素製剤と合わせて KMB と製剤担当室 (細菌第二部第三室ならびに免疫部第二室) が SLP 導入について協議を行った。

2. 破傷風トキソイド力価試験法の代替法の開発

a. 人道的エンドポイントの設定による苦痛軽減

30 回の破傷風トキソイド力価試験におけるマウス (2748 匹) 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 (重症を示した日に安楽殺) した場合に、苦痛の程度を減らすことができる動物の割合を算出した。

b. 代替法の開発

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。マウス血清は H30 年度にマウスを標準破傷風抗毒素で免疫し、毒素攻撃により症状を示さなかった (高い抗体価を保持していた) マウスのうち 6 匹分の血清をプールしたものをを用いた。血清を 2 倍階段希釈し、キットの添付文書に従って反応、発色を行った。

(倫理面への配慮)

動物実験については、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針」を遵守して行った。本研究は、動物に苦痛を与える現行の試験法を動物福祉にかなう試験法へと改良することを目指した研究であるため、現行試験法によるデータを用いることは避けられない。現行試験法は国立感染症研究所動物実験委員会の承認を得た試験法である。

C. 研究結果

1. 細菌製剤・抗毒素製剤への SLP 導入

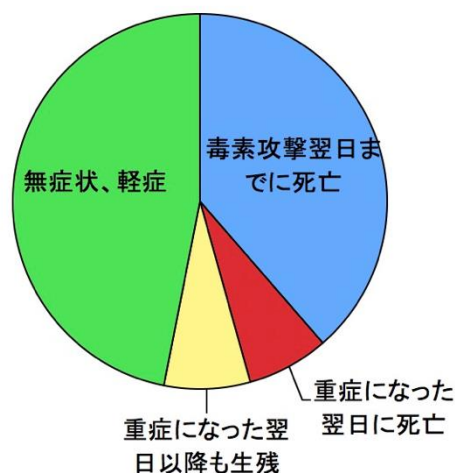
本年度は引き続き、各製剤の SLP 様式案を作成するとともに、SLP 試行などの今後の予定について検討を行った。

2. 破傷風トキソイド力価試験法の代替法の開発

a. 人道的エンドポイントの設定による苦痛軽減

30 回 (マウス数 2748 匹) 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たものを図 2 に示す。

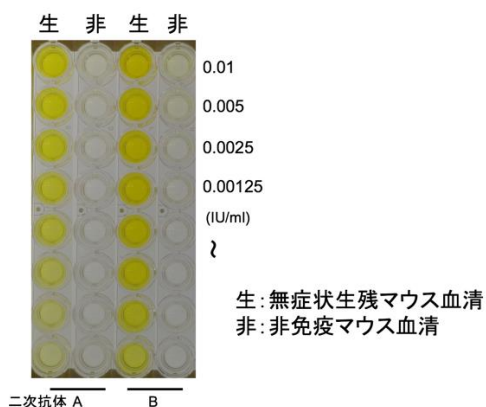


(図 2)

(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 カテゴリーのうち、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 (2) と (3) のカテゴリーに属するマウスの数は全体の 14.5% であった。それに対して、攻撃翌日に死亡したマウスの数は全体の 38.6% であった。

b. 代替法の開発

破傷風抗体価測定キットを用いて得られた抗体陽性および陰性 (非免疫) マウス血清の発色パターン (定性的) を図 3 に示す。陽性血清においては 0.001IU 以下まで十分に発色が見られた一方、陰性 (非免疫) マウス血清では発色がみられなかった。



(図3)

D. 考察

細菌製剤や抗毒素製剤における SLP 審査の導入を進めた。今後、細菌製剤や抗毒素製剤にも SLP 審査が導入されることによって、これらの製剤の品質がより確保され、国民の健康や福祉に貢献することが期待される。

今回の集計により、破傷風トキソイド力価試験において人道的エンドポイント適用可能なマウスの割合は全体の 14.5%であることが判明した。一方で、攻撃翌日に死亡したマウス (38.6%) は死亡したマウスの大部分を占めるが、これらの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た。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。さらに、複数の試験間の結果の整合性を担保するため、この測定系の定量的標準化に用いる参照血清を調製する予定である。

E. 結論

細菌製剤や抗毒素製剤における SLP 審査の導入をすすめた。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た。動物福祉のためには、毒素攻撃法に対する代替法を開発してゆくことがより効果的と考えられた。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

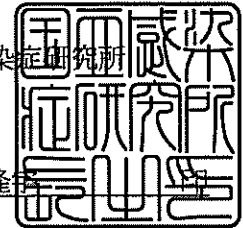
Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|-------------------|--------|-------------------|------|
| Sasaki E, Kusunoki H, Momose H, Furuhata 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. | 9(1) | 16249 | 2019 |
| Kato A, Fujita K, Ochiai M, Naito S, Konda T. | Study on Procedure for Lot Release of Vaccines in Japan. | Jpn J Infect Dis. | 72(3) | 133 - 141 | 2019 |
| 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 | 38(17) | 3295 - 3299 | 2020 |

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所
 所属研究機関長 職名 所長
 氏名 脇田 隆宇



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 所長
 (氏名・フリガナ) 脇田 隆宇 (ワキタ タカジ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

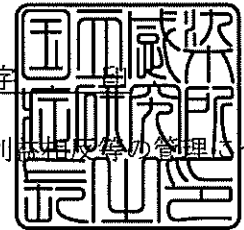
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
 ・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年4月17日

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆宇



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 血液・安全性研究部 部長
(氏名・フリガナ) 脇田 隆宇

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

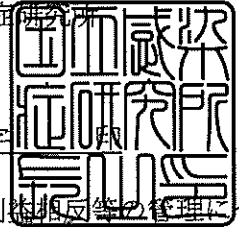
令和2年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) ウイルス第一部・部長
(氏名・フリガナ) 西條 政幸 ・ サイジョウ マサユキ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | 国立感染症研究所 | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

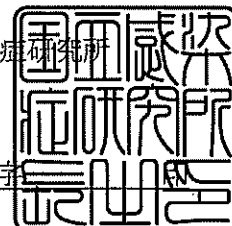
62

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆宇



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 免疫部・部長
(氏名・フリガナ) 高橋 宜聖 ・ タカハシ ヨシマサ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|----------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 国立感染症研究所 | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | 国立感染症研究所 | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆幸



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) インフルエンザウイルス研究センター・センター長
(氏名・フリガナ) 長谷川 秀樹 (ハセガワ ヒデキ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

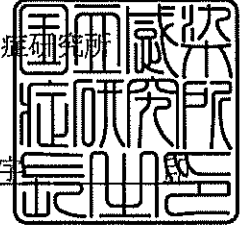
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆吉



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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

2. 研究課題名 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

3. 研究者名 (所属部局・職名) 品質保証・管理部・部長

(氏名・フリガナ) 石井 孝司 (イシイ コウジ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

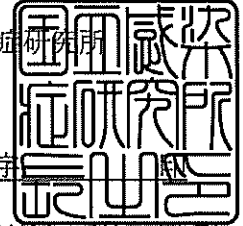
令和2年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆守



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 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
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 動物管理室・室長
(氏名・フリガナ) 花木 賢一・ハナキ ケンイチ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

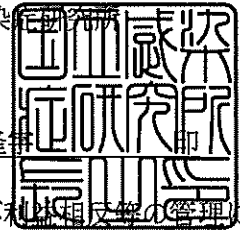
令和2年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 レギュラトリーサイエンス政策研究事業
- 2. 研究課題名 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
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) ウイルス第二部・室長
(氏名・フリガナ) 染谷 雄一 (ソメヤ ユウイチ)

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

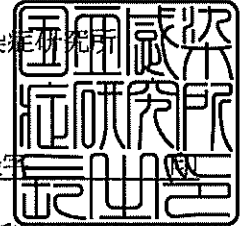
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆生



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 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
2. 研究課題名 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
3. 研究者名 (所属部局・職名) 細菌第二部・室長
(氏名・フリガナ) 森 茂太郎・モリ シゲタロウ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 遺伝子治療等臨床研究に関する指針 | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |
| 厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針 | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | 国立感染症研究所 | <input type="checkbox"/> |
| その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:) | <input type="checkbox"/> | <input checked="" type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | | <input type="checkbox"/> |

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

| | |
|-------------|---|
| 研究倫理教育の受講状況 | 受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/> |
|-------------|---|

6. 利益相反の管理

| | |
|--------------------------|---|
| 当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究機関におけるCOI委員会設置の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:) |
| 当研究に係るCOIについての報告・審査の有無 | 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:) |
| 当研究に係るCOIについての指導・管理の有無 | 有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:) |

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。