

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
国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

令和5年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石井 孝司

令和6(2024)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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究	
研究代表者 石井 孝司	1
II. 分担研究報告	
1. 副反応等に係る情報の国家検定への活用に関する研究	
多屋 馨子	20
2. 血液製剤の国家検定の見直しに関する研究	
水上 拓郎	25
3. 蛇毒抗毒素製剤の国家検定の見直し	
高橋 宜聖	32
4. 動物試験に係る 3Rs の検討	
花木 賢一	35
5. 不活化ウイルスワクチンの国家検定の見直し	
伊藤 睦代	42
6. 細菌ワクチンの国家検定の見直し	
妹尾 充敏	47
7. 国家検定の試験頻度等の見直し及び試験検査機関の品質システム に関する検討	
落合 雅樹	50
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	63

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国家検定の最適化や
国際統合化を目指すための研究

研究代表者 石井 孝司 国立感染症研究所 品質保証・管理部 部長

研究要旨：

国家検定は、保健衛生上特別の注意を要する医薬品（特に高度な製造技術や試験技術を要するもの）について、製造販売業者等で実施する出荷判定に加えて、検定機関がロットリリースを行う制度であり、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いる。国家検定制度は、ワクチン、血液製剤、抗毒素等（ワクチン等）の品質確保において重要な役割を担っている一方で、近年の医薬品の製造及び品質管理技術の向上に伴い、国家検定制度のあり方については国際的にも検討が進められているところである。こうした背景を踏まえ、過去の厚生労働科学研究で得られた成果及び諸外国の国家検定制度の状況を参考にしながら、本邦の国家検定制度をより効果的かつ効率的な制度に向上させるため、生物学的製剤の品質管理試験法の評価と改良に関する検討、国家検定制度の最適化と強化に関する検討、を主として実施した。

- 1) 品質管理試験法の評価と改良に関しては、正規分布を仮定した評価法 (S_1) および矩形分布を仮定した評価法 (S_2) を独自に考案し、38 種の実試験結果について S_1 および S_2 による評価を行った。その結果、いずれの評価法においても客観的に評価可能であることが分かった。また基準値に近い値を含むデータ群では S_1 よりも S_2 において厳しい判定になることが分かり、 S_2 は異常値検知として有用である可能性が示唆された。一方、より一般的かつ多条件におけるデータ群を用いた検証もを行い、一定の規格幅において、サンプルサイズおよび標準偏差値の条件を変えた模擬試験を 70 グループ (100 試験/グループ) 作成し、各試験における不合格経験頻度と、算出された S_1 と S_2 の比較検証を行った。その結果、開発した評価法を用いることで、試験結果の安定性を客観的に評価可能であることが示唆された。動物実験については、複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの時間が異なる場合の体温の推移を nano tag で測定して、その情報から人道的エンドポイントの設定を試みた。毒素接種後、毒素濃度により死亡するまでの時間により体温低下の推移が異なったが、毒素接種 22 時間後までに死亡する群と 48 時間後までに死亡する群に分けることで各群の人道的エンドポイントを設定することが可能であった。また、複数回の体温測定により人道的エンドポイントをほぼ適切に適用できることが示唆された。体温を指標とした人道的エンドポイントの適用については、nano tag による測定温度は非接触赤外線体温計 (物体モード) と非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は非接触赤外線体温計の測定温度より 1°C 程度高いことが確認されたため、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合は、人道的エンドポイントの体温閾値を 1°C 下げる必要があると考えられた。狂犬病ワクチンの力価試験の改良に関しては、EDQM の国際共同研究に参加し試供された 10 種類の試験品において安定的な値を得ることができたため、今後は国内のワクチンについて、同方法で力価測定が可能か検証する。蛇毒抗毒素製剤については、発熱試験について国家検定成績と製造所の自家試験記録とを比較検討し、試験結果の再現性および安定性を確認できたこ

とから、蛇毒抗毒素製剤の国家検定における発熱試験の省略は可能であると考えられた。毒素定量法の検討については、培養細胞を用いた試験法の検討を開始した。無毒化試験で使用するために感度とアジュバントであるアルミニウムの影響を調べたところ、感度はウサギを用いた試験法のおよそ 10 倍、アルミニウムが培養細胞に大きな影響を及ぼすことはなく、判定においても一定の希釈で対応できることが明らかになった。現在、本法の生物学的製剤基準への収載を目指し、ワクチン製造所と共同研究契約を締結して本法の評価を行っている。ワクチン製造時のアクシデントを想定し、人為的にトキシソイド化が不完全なトキシソイド（毒性残存している検体）を調製し、本法で検出可能かを調べる予定にしている。

- 2) 国家検定が実施されているワクチンについて、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同部会）で審議された副反応疑い報告頻度について検討した。また、今年度は日本でも定期接種化が検討されているおたふくかぜワクチンに関連して、MMR ワクチンの安全性に関するレビュー論文について検討するとともに、予防接種後有害事象サーベイランスが充実しているオーストラリアの制度、欧州連合（EU）のワクチンバッチリリース制度について調査した。ワクチンの国家検定へのリスク評価に基づく一部ロット試験の導入に向けて、過去のリスク評価結果を考慮した上で直近の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目を選定した。また、リスク評価シートの見直しを検討した。国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入されることにより、製造技術や品質管理手法の向上、新規モダリティの製品の導入などに応じた国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。試験検査機関の品質システムについては、PIC/S や WHO において、ISO 17025 が試験検査機関の品質システムの実質的な国際標準となっており、多くの国の公的試験検査機関が認定を取得していることから、感染研としても認定を取得することが望ましいと考え、本年度に認定を取得することができた。認定を取得する過程で見いだされた課題等への取組みは、品質システムの強化と向上にも資することが期待できる。

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

多屋馨子 神奈川県衛生研究所
所長

水上拓郎 国立感染症研究所
次世代生物学的製剤研究センター
センター長

高橋宜聖 国立感染症研究所
治療薬・ワクチン開発研究センター
センター長

花木賢一 国立感染症研究所
安全実験管理部 部長

伊藤睦代 国立感染症研究所
ウイルス第一部 室長

妹尾充敏 国立感染症研究所
細菌第二部 室長

落合雅樹 国立感染症研究所
品質保証・管理部 室長

研究協力者

脇田隆宇 国立感染症研究所
所長

関戸晴子 神奈川県衛生研究所
企画情報部

最上恵美子 神奈川県衛生研究所
管理課

大崎芳彦 神奈川県衛生研究所

	管理課	原田勇一	国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長
倉光 球	国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 室長	嶋崎典子	国立感染症研究所 ウイルス第三部
谷生道一	国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター	佐藤佳代子	国立感染症研究所 ウイルス第三部
野島清子	国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター	小川道永	国立感染症研究所 細菌第一部 室長
松村隆之	国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター 室長	見理 剛	国立感染症研究所 細菌第二部 部長
森山彩野	国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター 室長	森 茂太郎	国立感染症研究所 細菌第二部 室長
滝本一広	国立感染症研究所 安全実験管理部 室長	阿戸 学	国立感染症研究所 ハンセン病研究センター 部長
田原口元子	国立感染症研究所 安全実験管理部	柊元 巖	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 室長
網 康至	国立感染症研究所 安全実験管理部	藤田賢太郎	国立感染症研究所 品質保証・管理部
岩城正昭	国立感染症研究所 安全実験管理部・細菌第二部	湯浅磨里	国立感染症研究所 品質保証・管理部
林 昌宏	国立感染症研究所 ウイルス第一部 室長	板村繁之	国立感染症研究所 品質保証・管理部
河原円香	国立感染症研究所 ウイルス第一部	木所 稔	国立感染症研究所 品質保証・管理部
仲山紀子	国立感染症研究所 ウイルス第一部	内藤誠之郎	国立感染症研究所 品質保証・管理部
染谷雄一	国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長	佐々木裕子	国立感染症研究所 品質保証・管理部
鈴木亮介	国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長	草柳秀雄	国立感染症研究所 総務部業務管理課
清原知子	国立感染症研究所 ウイルス第二部	高橋元秀	熊本保健科学大学 生物毒素・抗毒素共同研究講座
大槻紀之	国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長		

A. 研究目的

国家検定は、保健衛生上特別の注意を要する医薬品(特に高度な製造技術や試験技術を要するもの)について、製造販売業者等で実

施する出荷判定に加えて、検定機関がロットリリースを行う制度であり、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いる。国家検定制度は、ワクチン、血液製剤、抗毒素等（ワクチン等）の品質確保において重要な役割を担っている一方で、近年の医薬品の製造及び品質管理技術の向上に伴い、国家検定制度のあり方については国際的にも検討が進められているところである。こうした背景を踏まえ、過去の厚生労働科学研究で得られた成果及び諸外国の国家検定制度の状況を参考にしながら、本邦の国家検定制度をより効果的かつ効率的な制度に向上させるための調査及び研究を行う。

具体的には、これまでの国家検定の試験成績、製造・試験記録等要約書（SLP）の情報等を活用したワクチンの品質等のリスク評価結果等に応じて国家検定で実施する試験頻度等を見直す仕組みについて基本的な考え方を整理し、ワクチンのリスク評価結果等を国家検定で実施する試験頻度等に反映する制度のモデルを提案する。また、令和3年度にSLP審査が導入された血液製剤等に対するリスク評価方法等について検討を開始する。試験方法に関しては、動物を用いた品質管理試験の今後のあり方について国際的な動向等を踏まえながら幅広く検証し、代替試験法による生物学的製剤基準の改定や廃止等を検討する。また、国家検定等を担当する試験検査機関において国際標準となっている品質システムの要件等を整理し、国際的な認定資格の取得を検討する。さらに、研究期間を通してWHOが主催する国際会議等に積極的に参加し、国際的な整合性の確保を図りながら、本邦に適した国家検定制度を検討する。これらは検定機関しかできないことである。

B. 研究方法

試験方法の評価と改良

国家検定の見直しに用いる定量的試験結果の安定性および同等性の評価基準に関する研究

検定・検査に用いられる試験手法は多種多様であり、得られる結果のばらつき方も試験の性質によって異なる。品質管理の視点では、測定値が規格内に安定して収まっていることを確認することが必要であるが、試験結果の安定性および同等性の判定方法については統一的な見解はない。これらを踏まえ、令和3年度に正規分布仮定の試験データにおける標準偏差値（SD）の95%信頼区間を用いた評価法（S₁）、また令和4年度に測定値の分布範囲を矩形と仮定した標準偏差値を用いた評価法（S₂）を考案し、実際の国家検定試験38種について検証を行った。その結果、全ての試験において現場感覚と合致した評価結果が得られ、S₁およびS₂の両方の結果を検証することで、より客観的な安定性評価が可能であることが示唆された。本研究では、シミュレーションにより作成した多様な条件の試験データ群についてS₁およびS₂による安定性評価法の有用性について検証を行うことを目的とした。

<安定性判定基準式の定義>

評価に用いるS₁およびS₂は以下で定義する。安定性評価の基準は、それぞれ1以下とする。

$$S_1 = \frac{SD_{95L}}{\frac{|\text{Min}(L_{up} - AV, AV - L_{low})|}{3}}$$

$$S_2 = \frac{\frac{D_{max} - D_{min}}{\sqrt{3}}}{|\text{Min}(L_{up} - D_c, D_c - L_{low})|}$$

ここで、SD_{95L}は実データより算出されたSD値の95%信頼区間の下限値、AVは実データの平均値、L_{up}とL_{low}はそれぞれ試験規

格の上限値と下限値、 D_{max} 、 D_{min} および D_c はそれぞれ実データの最大値、最小値および中心値(最大値と最小値の平均値)である。尚、片側規格の場合は上式において $L_{up} = L_{low}$ と置き換える。

$S_1 \leq 1$ の場合、実データは規格範囲内に約 99.7%以上含まれる事が期待される。規格外(不合格)値を含む場合は、 $D_{max} \geq L_{up}$ または $D_{min} \leq L_{low}$ であるため、定義式より必ず $S_2 > 1$ となる。また $S_2 \leq 1$ の場合、

$$\frac{\text{規格幅}}{\text{実データ分布幅}} = \frac{L_{up} - L_{low}}{D_{max} - D_{min}} \geq \frac{2}{\sqrt{3}} = 1.15 \dots$$

であるため、実データ分布が 15%以上余裕を持って規格幅内に収まっていることが保証される。

< 模擬試験データ作成 >

定量的試験では目標値があり、測定値は目標値を中心としてばらつく状況が一般的であるため、本シミュレーションで作成する試験値は、正規分布を仮定した。

両側規格試験モデルとして、目標平均値 = 100、規格 = 100 ± 20 ($L_{up} = 120$ 、 $L_{low} = 80$) を設定した。SD 値は、規格幅 = 目標平均値 ± 2 SD、 ± 2.5 SD、 ± 3 SD、 ± 3.5 SD、 ± 4 SD、 ± 4.5 SD および ± 5 SD となる 7 条件を設定した ($\pm k$ SD の場合 SD 値 = $20/k$)。各試験のロット数(サンプルサイズ)は、5、10、15、20、25、30、50、100、250 および 500 の 10 条件を設定した。シミュレーションデータの作成および解析は、Microsoft Excel for Mac ver. 16 で行った。模擬測定値は乱数関数 $RAND()$ を確率変数として、 $NORM.INV(RAND(), 100, SD)$ により生成した。同一の SD 値およびロット数設定において 100 試験作成し、これを 1 グループとした(合計 70 グループ作成)。各試験における規格外(OOS)数、 S_1 および S_2 をそれぞれ算出し、各グループで $OOS \geq 1$ 、 $S_1 > 1$ および

$S_2 > 1$ となる試験数をそれぞれ集計した。本研究で用いた両側規格試験のシミュレーションデータ作成概要を図 1 に示す。

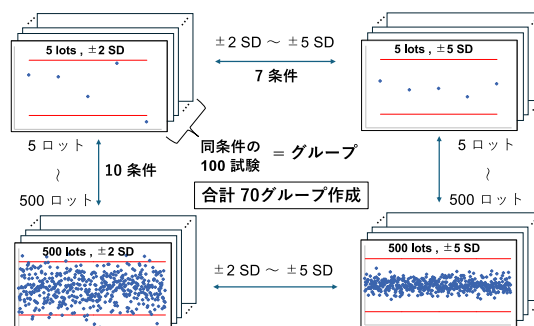


図 1. 両側規格模擬試験データ作成概要。偶発性を考慮し、同じ SD 値およびロット数の設定条件で 100 試験を作成し、これを 1 グループとした。

片側規格試験の場合でも、データが正規分布を仮定出来る場合は、本質的に両側規格試験と同様の結果が得られることが期待される。一方、含量の有無を確認する試験など、検出限界付近の値を含む場合は、試験値の正規分布仮定は不適切と考えられる。このような、検出限界付近の値を含む片側規格試験を想定し、片側上限規格値 = 100、目標平均値 = 0、検出限界値 ≤ 0 の条件によるシミュレーションを行った。検出限界値以下の測定値を 0 とするため、 $NORM.INV(RAND(), 0, SD)$ で模擬値を生成後、IFS (模擬値 > 0, 模擬値, 模擬値 $\leq 0, 0$) により変換した値を模擬測定値とした。SD 値およびロット数の設定は、両側規格と同様にそれぞれ 7 条件および 10 条件とした。尚、SD 値は、規格 = 0 ± 100 と置き換えて算出した値を用いた ($\pm k$ SD の場合 SD 値 = $100/k$)。

蛇毒抗毒素製剤の国家検定からの発熱試験の削除の検討

乾燥まむしウマ抗毒素および乾燥はぶウマ抗毒素の発熱試験の省略について、過去 17 年間(平成 18 年から令和 4 年)を対象期間

とし、この期間における発熱試験の検定および自家試験の結果の評価に基づいて検討した。

致死性動物試験の人的エンドポイントの検討

＜ボツリヌス毒素接種後の経時的な体温・運動量測定＞

ddY マウス（4 週齢, ♀, N=2）を用いて実験を行った。nano tag の背部皮下への埋め込みは、3 種混合麻酔薬（塩酸メデトミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトルファノールの混合液、1 匹あたり 0.1mL/体重 10 g、腹腔内投与）による麻酔下で行った。マウスの背面の皮膚を切開（1cm 程度）し、nano tag を皮下に埋め込んだのち、経時的な体温と運動量の記録を開始した。翌日、0.5LD₅₀、1 LD₅₀、2 LD₅₀、3 LD₅₀、4 LD₅₀ の 5 段階に希釈した A 型ボツリヌス毒素を腹腔内投与（0.5mL/マウス）し、死亡するまで、あるいは最大 2 日間観察を続けた。死亡に至るまでの症状の変化を記録し、体温の変化と照合することにより、体温低下と症状進行・死亡の関係を解析した。

＜各種条件下における nano tag、非接触赤外線体温計および直腸体温計による体温測定＞

ddY マウス（6 週齢, ♀, N=5）を用いて実験を行った。体温計はヒト用非接触赤外線体温計 DT-8806H（CEM）と小動物用直腸プローブを取り付けた環境ロガー AD-1687（A&D）を使用した。マウスの剃毛はせず、ヒト用非接触赤外線体温計（物体温度測定モード）により腹部皮膚の温度を、環境ロガーにより直腸の温度を 3 種（無処置、37°C 生理食塩水投与による加温、エタノール投与による低体温誘発）の条件下で測定した。nano tag は上記と同様に背部皮下に埋め込み、5 分間隔で継続的な温度測定を行った。

マウスの加温処置は 37°C に加温した生理

食塩水を腹腔内投与（0.75mL/30g 体重）することにより行い、低体温の誘発は 4g/kg の用量でエタノールを腹腔内投与（生理食塩水中 16%w/v、0.75mL/30g）することにより行った。各処置後 1 時間までは 10 分ごとに測定、以降は 2, 3, 4, 5, 7 時間ごとに測定した。

（倫理面への配慮）本実験は国立感染症研究所動物実験委員会による審査、所長の承認を得て行った（承認番号 122126, 122177）。ボツリヌス接種実験は人的エンドポイント設定のための知見を得る実験のため、あらかじめ人的エンドポイントを設定することはできなかった。

狂犬病ワクチン力価検定法の見直し

抗原 ELISA：EDQM により提供された BSP148 Phase 2 Study Protocol に従って行った。特に下記の点については、プロトコルに記載のない部分であったが、EDQM と議論して改善を行った。

1. 前希釈の希釈率の変更
2. 抗体の反応に用いるプレートシェーカーの変更
3. 使用するピペットの容量の変更
4. ELISA プレートや希釈に用いるチューブ、チップ等の変更
5. DPBS の変更
6. 試薬の管理方法の変更

試験結果の解析：試験結果の解析は EDQM が品質管理試験のために開発したソフトウェア Combi Stats を用いた。解析モデルを Sigmoid curves (In dose)、Transformation を 5-parameters (asymmetric) に設定した。

ジフテリア毒素無毒化試験の 3Rs に対応した検出法の開発

＜ジフテリアトキソイド無毒化試験＞

-ワクチン製造所との共同研究契約締結-

2022 年 9 月 8 日に国内でジフテリアトキソイドを製造しているメーカーと会議を開催

し、今後の品質管理における動物実験の3Rs対応について、また、Vero細胞を用いた無毒化試験のin vitro法について説明し、共同研究への参加の可否についてアンケート形式で回答を得た。2023年2月16日に再度会議を開催し、Vero細胞法の詳細説明、評価方法、トキシイド化が不完全なトキシイドの調製について説明し、共同研究の中で実施可能かについて回答を得た。

<ジフテリアトキシイド力価試験>

-Vero細胞生死判定法の比較-

生物学的製剤基準、ジフテリアトキシイド、3.2.5力価試験、マウスを用いる血中抗毒素価測定法に準じて行った。血中抗体価の測定には、培養細胞法を用いた。Vero細胞の生死判定には、現行法である顕微鏡での目視の他、3次元培養細胞イメージング装置Cell3iMager duos (SCREENホールディングス)、および細胞増殖/細胞毒性アッセイキットCell Counting Kit-8 (同仁科学研究所)を用いた。

国家検定制度の最適化と強化

副反応等に係る情報の国家検定への活用

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会(合同部会)の委員の一人として、副反応疑い報告として医薬品医療機器総合機構(PMDA)に届けられた医療機関からの重篤報告について検討した。

海外の予防接種後有害事象サーベイランス制度やバッチリリース制度について検討する目的で、オーストラリアニューサウスウェールズ州保健局の「Adverse event following immunisation control guideline」および欧州連合(EU)の「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳し検討した。また、わが国のおたふくかぜワクチンの定期接種

化を検討する中で、今後導入される可能性があるMMRワクチンの安全性について検討するために、わが国で使用されている星野株や、国内でも検討されているRIT株を含むMMRワクチンに関するレビュー論文「Shah N, et al. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. Hum Vaccin Immunother. 20(1):2302685, 2024.」を翻訳し検討した。

ワクチンのリスク評価

国家検定の試験成績、SLPの情報等を活用したワクチンのリスク評価に基づく一部ロット試験制度の実運用開始に向けて、令和5年10月に各ワクチンの製剤担当部署に令和5年9月末までを評価対象期間としてリスク評価シートへの単純リスクスコア等の記入を依頼し、リスクスコアの集計・解析を試行し、ワクチンのリスク区分(試験頻度の設定)及び試験頻度を減じる対象ワクチン(品目)について検討した。また、今回のリスク評価を踏まえて、リスク評価シート(評価項目及び指標等)の見直しを検討した。なお、リスク評価シートは、適用、本質、製造実績、試験実績、SLP審査を評価対象としている。

試験検査機関の品質システムに関する検討

公的試験検査機関の品質システムに求められる要件について、国内外の考え方を整理し、各国の試験検査機関の対応状況について調査した。さらに、試験・校正機関の品質システムの国際規格であるISO/IEC 17025:2017 (JIS Q 17025:2018)「試験及び校正を行う試験所の能力に関する一般要求事項」(以下、ISO 17025)について、(公財)日本適合性認定協会(以下、JAB)にエンドトキシン試験での認定を申請することとして準備を進め、第二段階審査を受けた。また、審査の過程において審査員から求められた是正処置への対応を行った。

(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、国立感染症研究所動物実験委員会による審査、所長の承認を得て行った。

C. 研究結果

試験方法の評価と改良

国家検定の見直しに用いる定量的試験結果の安定性および同等性の評価基準に関する研究

<両側規格試験>

シミュレーションで作成した両側規格試験の各グループ内において、 $OOS \geq 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定 SD 別にプロットしたグラフを図 2 に示す。

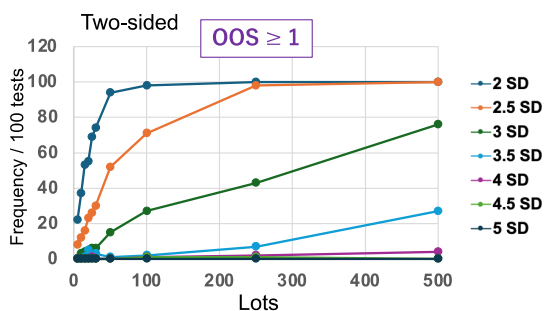


図 2. 同一 SD 条件グループ内において不合格を経験 ($OOS \geq 1$) した試験数のロット数に対する変化 (両側規格)

図 2 より、規格内 (100 ± 20) に $\pm 2 SD \sim \pm 3.5 SD$ と設定した場合、ロット数増加に伴い、 $OOS \geq 1$ 、即ち不合格値を 1 回以上出した試験数は増加することが分かった。一方、 $\pm 4 SD$ 以上を設定した場合、ロット数が増えても不合格を経験する試験はほとんど無かった。実際の試験では、 OOS が出た場合、再試制度があると考えられるため、 $\pm 4 SD$ 以上の試験では不合格はほとんど発生しないと期待される。尚、 $\pm 5 SD$ 設定において $OOS \geq 1$ となる試験数は 0 であった。

図 3 に、各グループにおいて $S_1 > 1$ または

$S_2 > 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定 SD 別にプロットしたグラフを示す。

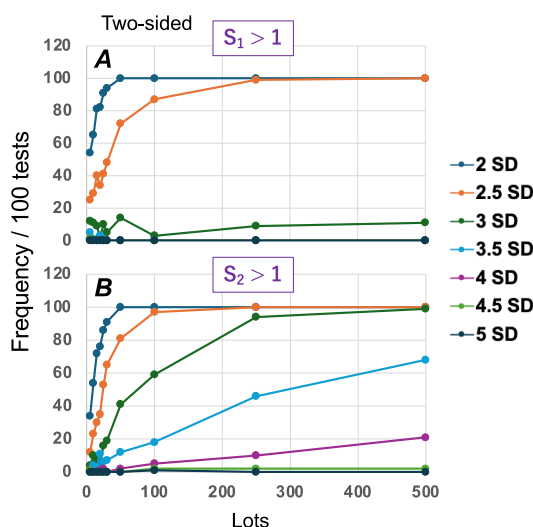


図 3. 同一 SD 条件グループの $S_1 > 1$ (A) および $S_2 > 1$ (B) となった試験数のロット数に対する変化 (両側規格)

図 2 と図 3A の比較から、 $\pm 2 SD \sim \pm 2.5 SD$ の場合、ロット数増加に伴い $S_1 > 1$ となる試験数が増加し、同じ SD 設定条件において $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ となることが分かった。一方、 $\pm 3 SD \sim \pm 5 SD$ では、 $S_1 > 1$ となる試験数が低下し、 $OOS \geq 1$ でも $S_1 < 1$ となる試験があった。 S_2 については、同じ SD 条件下において、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ であった (図 2、3B)。 S_2 の定義上、 $OOS \geq 1$ の条件では、必ず $S_2 > 1$ であるため、 $OOS \geq 1$ かつ $S_2 \leq 1$ となる試験は存在しない。

<検出限界値を含む片側規格試験>

シミュレーションで作成した、検出限界値を含む片側規格試験の合計 70 グループについて、各グループ内において $OOS \geq 1$ 、 $S_1 > 1$ および $S_2 > 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定 SD 別にプロットした各グラフを図 4 に示す。

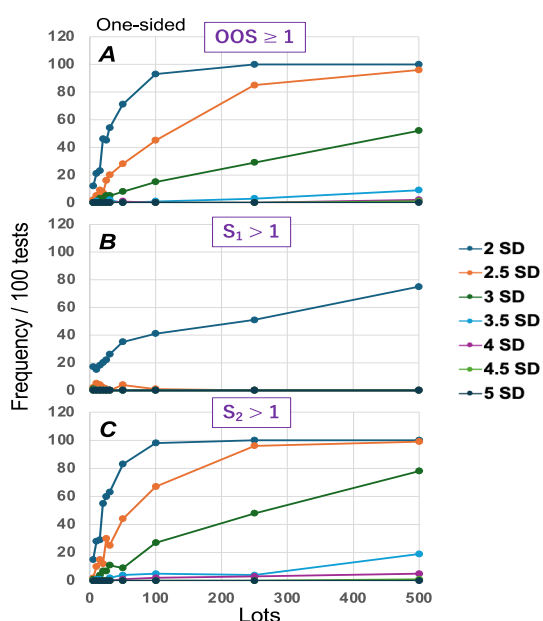


図 4. 同一 SD 条件グループの $OOS \geq 1$ (A)、 $S_1 > 1$ (B) および $S_2 > 1$ (C) となった試験数のロット数に対する変化 (片側規格)

図 4A より、片側規格においても規格内 (0 ± 100) に $\pm 2 SD \sim \pm 3.5 SD$ となるように SD 値を設定した場合、ロット数増加に伴って不合格を経験した試験数が増加した。但し、両側規格 (図 2) に比べ、片側規格では、1 試験あたりの OOS 数は約半分になると期待されるため、 $OOS \geq 1$ となる試験数の増加勾配は緩やかになったと考えられる。同様に、両側規格 (図 3B) に比べ、片側規格の S_2 においても $S_2 \geq 1$ となる試験数の増加勾配は緩やかになったが (図 4C)、両側規格試験の場合と同様に、同じ SD 条件下において、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ であった (図 4A、4C)。

一方、 $\pm 2 SD$ の場合を除いて、 $S_1 > 1$ となる試験はほとんど無く (図 4B)、 $\pm 2 SD$ の場合でも、 $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ となった (図 4A、4B)。

蛇毒抗毒素製剤の国家検定から発熱試験の削除の検討

過去 17 年間 (平成 18 年から令和 4 年) の発熱試験について、国家検定成績と製造所の自家試験成績とを比較した。両成績は良く一

致し、再現性・安定性の観点からも当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。また、「国家検定から試験項目の廃止を考慮する状況」と「国家検定における試験項目の廃止に関する考え方」(第 3 版)に基づいて検討したところ、当該試験を国家検定試験項目から削除することは可能と考えられた。

人道的エンドポイントの検討

<ボツリヌス接種試験における動物の体温推移>

毒素接種後のマウスの運動量と体温の変化を計測したところ、マウスは活発な運動と休息を周期的に繰り返し、そのパターンは接種した毒素量と関係なくどのマウスでもほぼ類似していた。毒素接種 22 時間後の観察時には $2 \sim 4 LD_{50}$ の毒素を接種したマウスおよび $1 LD_{50}$ の毒素を接種したマウスのうちの 1 匹の計 7 匹が死亡していた。これらのマウスは接種後約 11-17 時間で死亡したと考えられた。死亡に先立ち、接種 5~6 時間後から著しい運動量の減少が認められた。ボツリヌス毒素による弛緩性の麻痺が運動量の計測値に反映されたと考えられる。運動量の低下とともに接種後 10 時間後までに平均 $5^{\circ}C$ 程度の体温低下が観察された。毒素接種 48 時間後の観察時には $0.5 LD_{50}$ の毒素を接種したマウスおよび $1 LD_{50}$ の毒素を接種したマウスのうちの 1 匹の計 3 匹が死亡していた。これらのマウスでは、接種 7 時間後頃から緩やかな体温および運動量の低下が認められ、23~40 時間後に死亡したと推測された。また、接種 22 時間後の観察時には中~強程度の症状が認められた。

<平均体温の推移に基づく人道的エンドポイント設定の試み>

今回得られたマウスの体温推移の結果から人道的エンドポイントの設定を試みた。まず接種 22 時間後に死亡していたマウスを「前

期死亡群」、接種 48 時間後に死亡していたマウスを「後期死亡群」として各群の平均体温の推移から体温の閾値(人道的エンドポイントの体温)を推測した。両群において、平均体温が 35°C以下になると、その後も下がり続ける傾向が認められたが、34.5°C以下になるとその傾向がより強くなったことから 35°Cあるいは 34.5°Cを体温の閾値として設定可能と推測された。

体温閾値以下になるタイミング(接種後の時間)が両群で異なっていたため、体温が閾値以下になる各群の匹数を接種後の時間ごとにカウントし、体温を測定するタイミングを検討した。その際、前期死亡群では接種後 11 時間後までに死亡したマウスがいたため、前期死亡群の測定時間は接種後 11 時間以内に設定する必要があることを考慮した。体温閾値を 35°Cに設定した場合、前期死亡群は接種後 8 時間以降では全マウスが閾値以下であったが、後期死亡群でも 11 時間後まででは 1~2 匹が該当し、対象外の多くのマウスを処分してしまうリスクがあると考えられた。体温閾値を 34.5°Cに設定した場合、前期死亡群は接種後 8 時間以降では全マウスが閾値以下であったが、後期死亡群でも 11 時間後まででは 1 匹が該当し、対象外のマウスを処分する可能性は残された。体温閾値を 34°Cに設定した場合、前期死亡群は接種後時間以降ではほぼすべてのマウスが閾値以下(8, 9 時間後に各 1 匹が閾値以上)であり、後期死亡群は接種後 10 時間までであれば閾値以下に体温が下がることはほぼなかった。

<nano tag、非接触赤外線体温計および直腸体温計による測定温度の比較>

各体温計で測定した温度はいずれの条件下でも同様のパターンで推移し、直腸温度、nano tag、非接触体温計の順に温度が高いことが確認された。

無処置および加温生理食塩水投与後の温度では、nano tag の温度は非接触体温計の温度

より 1°C程度高かった。また、非接触赤外線体温計の温度は、直腸の測定温度より 2 度程度低かった。エタノール誘発低体温では、nano tag 温度は、それぞれ直腸温度 ($R^2=0.94$) にも非接触体温計による腹部皮膚温度の物体モード ($R^2=0.90$) にも高い相関を認めた。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

プロトコルの改善前(NIID2021)では、試験品 E を除き、Pre-Dilution の希釈率が 80-100 倍と高い試験品 G,H 及び K において特に試験間での値のばらつきが大きくなっていった。一方、改善後(NIID2023)では各試験間のばらつきが少なくなっていた。実際、標準偏差(SD: Standard Deviation)は試験品 E, F, G, H 及びにおいて約 3~30 倍の改善が見られた。平均値については改善前、改善後ともに EDQM の平均値と大きな相違はなかった。また、OD 値の容量反応曲線は高希釈及び低希釈帯での OD 値がプラトーに達しないサンプルがあるものの、5-parameter ロジスティック回帰で標準品およびサンプルの測定値をプロットしたところ、逆シグモイド曲線が得られた。

ジフテリア毒素無毒化試験の 3Rs に対応した検出法の開発

<ジフテリアトキソイド無毒化試験>

共同研究を行うに際し、ワクチン製造所の意向を確認するため、アンケートでは、参加の可否に加え、トキソイド化が不完全なトキソイドの調製や Vero 細胞を用いた試験の実施の可否などについても実施可能との回答を得た。また、その後の会議において、トキソイド化が不完全なトキソイドの調製方法などについて詳細に議論した。

<ジフテリアトキソイド力価試験>

血中抗体価の算出に用いる Vero 細胞の生死判定について、現行法である顕微鏡での目視、イメージング装置 Cell3iMager duos、細

胞毒性アッセイキット Cell Counting Kit-8 の 3 種類の方法を用いて実施し、結果を比較した。まず、標準沈降ジフテリアトキソイドを用いて、各希釈濃度について、値を比較したところ、目視とイメージング装置の結果はほぼ同一であったのに対し、細胞毒性アッセイキットでは、高希釈倍率では他の 2 法と変わらない値であったが、低希釈倍率では、差が明確であった。

次に、実際の製剤である 2 種混合トキソイド (DT) と 4 種混合ワクチン (DPT-IPV) を購入し、3 種類の方法を用いて力価算出し、比較した。その結果、いずれの製剤においても、3 種類の方法全てで有意差はないことが示された。

国家検定制度の最適化と強化

副反応等に係る情報の国家検定への活用

< 予防接種後副反応疑い報告 >

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同部会) での検討から、医療機関から重篤として報告された頻度についてワクチン毎に検討した。最新の情報として 2024 年 1 月 26 日に開催された第 100 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、令和 5 年度第 15 回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同開催)、ならびに、2023 年 7 月 28 日に開催された第 94 回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、令和 5 年度第 5 回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同開催) を用いた。

< 世界標準のワクチン安全性サーベイランスについて >

オーストラリアニューサウスウェールズ州保健局が発行している「Adverse event following immunisation control guideline」(別

添)、および欧州連合 (EU) が発行している「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳した。

日本でも定期接種化が検討されているおたふくかぜワクチンについて、MMR ワクチンの有効性・安全性に関するレビューが報告され、この中には日本で使われている星野株、日本でも検討されている RIT 株を含む MMR ワクチンが紹介されていた「Shah N, et al. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. Hum Vaccin Immunother. 20(1):2302685, 2024.」本レビュー論文について検討した。

ワクチンのリスク評価について

1) リスクスコアの集計・解析及び評価

リスク評価に基づく一部ロット試験導入に向けて、令和 5 年 10 月に各ワクチンの製剤担当部署に令和 5 年 9 月末までを評価対象期間としてリスク評価シートへの単純リスクスコア等の記入を依頼し、リスクスコアの集計・解析結果に基づき国家検定の試験頻度を減じる対象ワクチン (品目) 等について検討した。

今回のリスク評価では、過去 3 回分のリスク評価結果等を比較検討に加え評価を実施した。リスク評価項目の単純リスクスコア及び重要度に基づいて、各製剤の全体リスクスコア (各評価項目の単純リスクスコアを重要度に基づき重み付けしたリスクスコアを合計したスコア) を計算した。また評価項目の内容に従って「製剤固有部分」と「製造及び試験実績部分」のリスクスコアに分けて、各製剤の特性を考慮してリスク評価を実施した。各ワクチンの「製剤固有部分」と「製造及び試験実績部分」のリスクスコアを等価に評価するために、試験頻度を減じる対象として全体リスクスコアが低いワクチンを選択する際に、これらの品目がグラフの左下 (低リスク側) に来るように基準線を設定した。

評価対象期間における各ワクチンのリスクスコアの集計結果を評価し、試験頻度を減じる対象として全体リスクスコアの低いものから15ワクチンを候補として選定した。ただし、すでに供給停止となっている1ワクチン、すでに試験項目がすべて削除されている1ワクチン、新規承認後の経過年数が3年未満かつ出検ロット数が20ロット未満であり、評価データが十分に蓄積していない3ワクチン、標準対象期間に国家検定で実施する試験方法の本質的な変更があった1ワクチンは、試験頻度を減じる対象から除外し、残りの9ワクチンについて、過去のリスク評価結果に基づき検証を行った。これらのワクチンのうち7ワクチンは、過去のリスク評価においても常に全体リスクスコアが低く、試験頻度を減じる対象として選定された実績があるワクチンであった。2ワクチンは、今回の評価により初めて試験頻度を減じる対象として選定されたが、過去のリスク評価において、常に全体リスクスコアが上位15以内であり安定して低リスクと評価されてきたことを確認した。

以上により、試験頻度を減じることが可能なワクチンとして、9ワクチンを選定し、試験頻度を50%とすることが可能と評価した。なお、国家検定の試験頻度を減じる対象は最終段階のみとし、出検数が少ない品目については最低でも年間1ロット(出検数が0ロットの場合を除く)の試験を実施する必要があると考えた。

2) リスク評価シートの見直し

今年度もリスク評価の信頼性を高めるため、リスク評価シートの見直しを検討した。見直し内容を以下に示す。カバーページに評価の対象となったロット数の記載欄を設ける。令和4年度と令和5年度の評価対象期間は、厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課(監麻課)が作成していた「ワクチンのリスク評価に基づく国家検定の一部ロット試験方式の運用について」(運用通知)案に従い、9月末

までとしていたが、12月末まで(年区切り)あるいは3月末まで(年度区切り)にするのがよいか、実導入に向けて監麻課と協議が必要と考えられた。また、対象期間を現在の受付日ベースから判定日ベースに変更することについて検討したが、前述した評価対象期間と合わせて引き続き検討することとした。製造実績の平均ロット数の小数点以下の扱いを注記に追加する。試験実績の再試験と試験不成立が重複してカウントされないよう試験不成立は再試験の項目では対象としないことを注記に追加するとともに、再試験の発生状況と試験不成立の発生状況を算出する方法を注記に追加する。加えて、これらの評価項目の指標(配点区分)を変更する(以上/超、以下/未満の変更のみで指標値の変更はない)。直近1年間の評価項目について、直近1年間の出件数が「0」の場合の扱いを注記に追加する。本質の添加物については、添加物の一覧を作成し、指標の見直しを検討する。

試験検査機関の品質システムに関する検討

ISO 17025の認定を取得するためには、認定機関の審査を受ける必要がある。そこで国内の認定機関であり、生物系の試験の認定に実績のあるJABに認定のための審査を依頼することとした。認定後には、毎年サーベイランスと原則として4年ごとの再審査を受ける必要がある。認定取得の過程では専門家の審査を受け、その指摘事項に対応して是正処置を講じることにより、品質システムの強化と向上に資することが期待できる。認定は試験法ごとに与えられるが、審査の過程で技能試験(proficiency testing)の結果を提示する必要があり、どの試験法で認定を取得するか検討した結果、治療薬・ワクチン開発研究センターが試験担当となっているエンドキシン試験で認定を申請した。第一段階審査の結果、以下の2点について是正処置が求められた。

- ・ 不確かさの評価について
- ・ リスク及び機会への取組みについて

また、proficiency test（技能試験）は第一段階審査時にはまだ受けていなかったため、第二段階審査は技能試験終了後に行うとされた。これらの点については是正処置計画を12月21日に提出して受理された。技能試験はCharles River SingaporeのLAL Proficiency Test Programで実施し、2023年4月18日にPassとの評価を得た。

第二段階審査は、2023年6月6日（村山庁舎）と8日（戸山庁舎）に行われた。その結果、以下の3点については是正処置が求められた。

- ・ JIS Q 17025:2018 に関する内部監査員の教育・訓練について
- ・ エンドトキシン試験の測定不確かさの評価について
- ・ JAB の適用基準等の外部文書の最新版の管理について

すべての指摘に対して是正処置を行った結果、2023年9月19日にJIS Q 17025:2018の基準に適合していることが認められ、認定番号RTL05120として試験所認定証が交付された。有効期限は2027年9月30日までであり、その間1年に1回のサーベイランスが行われる。

D. 考察

試験方法の評価と改良

国家検定の見直しに用いる定量的試験結果の安定性および同等性の評価基準に関する研究

<両側規格試験>

今回検証した両側規格試験では、全ての条件において $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ となっており、 S_2 は不合格 ($OOS \geq 1$) のリスク検出に有用であることが分かった。これは定義上、 $S_2 \leq 1$ が、 $[\text{規格幅}]/[\text{実データ$

分布幅] $\geq \sim 1.15$ と等価である、即ち規格幅の方が実データ分布幅よりも常に15%以上高いことを評価基準としているため妥当と考えられた。これらの結果は、 $S_2 \leq 1$ であることをもって、試験成績は余裕をもって規格に適合していると結論可能であることを示している。一方、 $\pm 4 \text{ SD}$ 、 $\pm 4.5 \text{ SD}$ および $\pm 5 \text{ SD}$ の設定で、 $OOS = 0$ かつ $S_2 > 1$ となった試験が、それぞれ33、4および1件検出された。一般的に規格幅内に $\pm 4 \text{ SD}$ 以上の精度で実施されている試験は、安定した試験であると判断されるため、 $\pm 4 \text{ SD}$ 以上の試験で $S_2 > 1$ となる結果は、偶発的に発生した外れ値に起因したものと予想される。これは、 $S_2 > 1$ であることのみで試験結果が不安定と評価するのは不適切であることを示している。

S_1 については、 $\pm 2 \text{ SD}$ および $\pm 2.5 \text{ SD}$ 設定で、 $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ となったが、 $\pm 3 \text{ SD}$ 以上の設定では、ほとんどの試験で $S_1 \leq 1$ となった。 S_1 の定義では、規格範囲内に平均値 $\pm 3 \text{ SD}$ が収まることを評価基準にしていることから、 $\pm 3 \text{ SD}$ 以上の設定で $S_1 > 1$ となる試験数が低下することは妥当と考えられた。これらの結果は、 $S_1 > 1$ であることをもって、試験成績は不安定であると結論可能であることを示している。一方、 $\pm 3.5 \text{ SD}$ 、 $\pm 4 \text{ SD}$ および $\pm 4.5 \text{ SD}$ の設定で、 $OOS \geq 1$ かつ $S_1 \leq 1$ となった試験が、それぞれ45、8および2件検出された。 $S_1 \leq 1$ の場合、実データの99.7%程度以上が規格範囲内に含まれることが期待されるため、 $S_1 \leq 1$ かつ $OOS \geq 1$ の試験では、偶発的に発生した外れ値が OOS となったと考えられる。同様に、 $S_1 \leq 1$ かつ $S_2 > 1$ の場合も、偶発的に発生した外れ値が含まれていると考えられるため、「 $S_1 \leq 1$ かつ $S_2 > 1$ 」の条件が、外れ値検出に有用であると考えられる。

<検出限界値を含む片側規格試験>

検出限界値を含む片側試験のシミュレーション

オン結果においても、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ となったことから、両側試験の場合と同様、 S_2 は不合格のリスク検出に有用であることが分かった。一方、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] > [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ であったことから、 S_1 は検出限界値を含む試験の評価には不適であることが分かった。この結果は、 S_1 が正規分布仮定の基で定義されていることから、妥当であると考えられる。一方、 S_2 は、データ分布の最小値と最大値を使って定義されているため、ばらつきの少ない試験では適切な評価を与えると期待されるが、1 ロットでも外れ値が含まれると S_2 値は大きくなるため、検出限界値を含む試験では、外れ値の評価法について別途検討が必要である。

蛇毒抗毒素製剤の国家検定からの発熱試験の削除の検討

乾燥ウマ抗毒素製剤の年間ロット数は少ないが、今回記録を入手したロット全てが合格であることや、3R の観点、発熱試験の結果の再現性・安定性の観点から、当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。また、現在は製造所において GMP や包括的な品質管理の技術が十分に整っていると考えられ、さらに SLP 審査の導入によって製造所で実施される品質管理試験について詳細な検証ができるようになっており、当該試験の自家試験成績を確認することで十分に当該製剤の品質を確保できると考えられた。

人道的エンドポイントの検討

本研究では、ボツリヌス毒素による致死試験における人道的エンドポイントの設定について検討した。これまでに、「日単位」「時間単位」での死亡予測を検討したが、より正確な死亡予測のためには時間間隔をおいた定点での体温測定では情報が不十分なため、nano tag をマウスの背部皮下に埋め込

み、毒素接種後の体温および運動量の推移について継続的に測定し、体温推移から人道的エンドポイントの設定を試みた。0.5LD₅₀、1 LD₅₀、2 LD₅₀、3 LD₅₀、4 LD₅₀ の毒素を接種したマウスにおいて、接種後 22 時間までに死亡するマウス（前期死亡群）と接種後 48 時間後までに死亡するマウス（後期死亡群）の 2 パターンが認められたため、各群における人道的エンドポイントの設定を試みた。前期死亡群では「接種 8～9.5 時間後の体温が 34℃以下」または「接種 8～9.5 時間後の体温が 34.5℃以下」と設定し、後期死亡群では「接種 11 時間以降の体温が 35℃以下」と設定することができた。しかし、前期死亡群においては人道的エンドポイントの対象とすべきマウスの見落としや対象外のマウスに対する人道的エンドポイントの誤適用というリスクが残された。今後、更にサンプル数を増やしてこのようなリスクを軽減できれば、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能と思われる。また、毒素接種後、死亡するまでの時間により体温低下の推移パターンが異なる場合でも、複数回の体温測定を行うことでほぼ適切に人道的エンドポイントを適用できると考えられた。ただし、今回設定した人道的エンドポイントはあくまでも今回得られた体温推移のパターンに限られるものであり、ボツリヌス毒素の種類や濃度によっては今回のパターンに当てはまらない可能性が十分考えられるので、異なる体温推移のパターンについて検証する必要があると思われた。

nano tag による測定温度が直腸温を反映しているのか確認したところ、非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は直腸温より 1℃程度低いことが確認された。また、nano tag による測定温度は非接触赤外線体温計（物体モード）とも非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は 1℃程度高いことが確認された。体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線

体温計を用いて実施することが想定される。そのため、nano tag とヒト用非接触赤外線体温計による測定温度に相関性が認められたことは有益な情報であり、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合でも、体温閾値を1℃下げることによって nano tag による測定温度に基づいて設定した人道的エンドポイントを適用できると考えられた。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

今回抗原 ELISA によって安定的な力価の値を得ることが出来たことから、今後国内で使用されているワクチンを用いて本方法のバリデーションを行い、力価試験法を変更する道筋が出来たと考えている。現在日本で承認を受けている狂犬病ワクチンは、KM バイオロジクス (KMB) 社製の国産品と 2019 年から輸入が開始されたグラクソスミスクライン (GSK) 社製のラビピュールの2つである。しかし、2018 年から KMB のワクチンの製造は停止しており、今後再開の見込みは立っていないことから、ラビピュールについての検討を行う予定である。

ジフテリア毒素無毒化試験の 3Rs に対応した検出法の開発

ワクチン製造所との共同研究を行うため、契約書案の検討から締結まで 1 年という長時間を要したが、少なくとも共同研究が開始できる状態になり、次の段階に進むことが可能となった。

ジフテリアトキソイド力価試験では、Vero 細胞の生存率を用いて免疫したマウスの血中抗体価を算出している。本法は数十年前に方法が確立されているため、今でも当時の方法が用いられていることが多く、本試験においても Vero 細胞の生死判定は、顕微鏡を用いた目視で行っている。様々な方法が開発されている現在の状況において、目視で判定するという主観性の高い方法を継続すること

は好ましいとは言えないため、客観性の高い方法と比較したところ、現行法から客観性の高い方法へ移行することは可能であることが示された。

国家検定制度の最適化と強化

副反応等に係る情報の国家検定への活用

予防接種法に基づく予防接種後副反応疑い報告制度は、2013 年の予防接種法改正により始まった制度である。厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同部会) で定期的に安全性サーベイランスが実施され、予防接種法に基づく予防接種健康被害救済制度で幅広い救済が実施され、審議結果は厚生労働省のホームページに公表されている。2024 年 1 月 (インフルエンザ以外)、2023 年 7 月 (インフルエンザ) に開催された上記部会で報告された予防接種後副反応疑い報告について、医療機関から重篤として報告された頻度をワクチン毎に検討した。HPV ワクチンに関しては、積極的勧奨の差し控え前に報告された数が多く、ワクチンの中では頻度として最多であった。最近接種が可能になった組換え沈降 9 価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン (酵母由来) については、推定 10 万接種あたり 0.6 でその他のワクチンと同様の頻度であった。新型コロナワクチンに関しても、その他のワクチンと同程度の頻度で特に高い報告頻度ではなかった。

また、今年には予防接種後有害事象サーベイランスについて先進的な国とされているオーストラリアの制度を知るために、ニューサウスウェールズ州保健局のガイドラインを翻訳し検討した。オーストラリアでは、「報告された発生頻度が高い、及び／又は予防接種との因果関係がある可能性が低い (低レベル)」、「発生頻度は低く重篤であり、最近の予防接種と関連している可能性がある (高レベル)」、「発生頻度は低く予防接種と因果関

係がある可能性が高い重要（高レベルの重要性）な事象である」、又は「最近の予防接種との関連性に関してメディア又は地域社会に重大な懸念が生じる可能性がある」にわけて検討し、このカテゴリー分けによって、低レベルの AEFI には、届出後 7 営業日以内に対応する。高レベルの AEFI が疑われる場合又は特に注目すべき有害事象 (AESI) については、3 日以内に対応する、重要な高レベルの AEFI が疑われる場合は 1 日以内に対応するとしてワクチンの管理を行う部署 (TGA) への報告頻度を変えており、必要に応じて、疑い症例の追跡調査を行うとしていた。また、ワクチン効果不全やワクチン接種過誤についても届出制度が確立されていた。

ワクチンの安全性についての検討から、欧州連合 (EU) のバッチリリースシステムについて知る目的で、「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳した。このガイドラインは、EU を含む欧州諸国での Official Control Authority Batch Release (OCABR) の管理手順の概要を示したもので、EU 当局による OCABR 試験に適合しないバッチについて、すべての所轄官庁及び関係する医薬品販売承認取得者の間で情報を交換するためのシステムの概要が示されていた。付録として多数の報告書ひな型が提示されており、これらの共通の書式を使って、情報が共有されていることが推察された。さらに、今後おたふくかぜワクチンの定期接種化に際して、MMR ワクチンの安全性についても検討される可能性を考え、最近報告されたレビュー論文を選択して検討した。この論文では、日本で使われている星野株を含む MMR ワクチン、今後国内導入が検討されている RIT 株についても言及されており、安全性についての懸念は示されていない。

ワクチンのリスク評価について

国家検定におけるワクチンのリスク評価に

基づく一部ロット試験導入の実運用開始に向けて、直近（令和 5 年 9 月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目として 9 ワクチンを選定し、試験頻度を 50% とすることが可能と評価した。

リスク評価シートについては以下の見直しを行うことで、集計作業時の確認を容易にすること、担当者（製剤）間の解釈にばらつきが生じることを防ぐこと、直近 1 年間の出検数が「0」の場合にリスクスコアが過小評価される可能性を改善することが期待できる。

- ・カバーページに評価の対象となったロット数の記載欄を設ける。
- ・製造実績の平均ロット数の小数点以下の扱いを注記に追加する。
- ・試験実績の試験不成立と再試験が重複してカウントされないように注記を追加する。
- ・再試験の発生状況と試験不成立の発生状況を算出する方法を注記に追加する。加えて、これらの評価項目の指標（配点区分）を変更する。
- ・直近 1 年間の出件数が「0」の場合の扱いを注記に追加する。

以下の見直し事項については、引き続き検討することになった。

- ・評価対象期間の区切り（12 月末まで（年区切り）あるいは 3 月末まで（年度区切り）にすること（現在は 9 月末まで）
- ・対象期間を現在の受付日ベースから判定日ベースに変更すること
- ・本質の添加物について、添加物の一覧を作成し、指標を見直すこと

本研究では、SLP 審査実績が十分に蓄積されたワクチンを対象にリスク評価を検討したが、令和 3 年 7 月に新たに SLP 審査が開始されたワクチン以外の製剤（血液製剤、抗毒素製剤、BCG 膀胱内用、精製ツベルクリ

ン、水痘抗原)のうち、BCG膀胱内用はBCGワクチンと同様に製造されているため、概ねワクチンのリスク評価シートを使用することができると考えられた。ただし、ワクチンのリスク評価シートには治療薬を想定していない評価項目があるため、治療薬用に評価項目を一部見直すことで試行的な評価ができると考えられた。他の製剤へのリスク評価の導入については、各製剤の担当者の意見や今後の検定実績も踏まえて検討を進めることが望ましいと考えられた。また、製品回収の発生状況について、リスク評価へ反映する必要性等を検討するため、次回以降のリスク評価においては製品回収の発生状況を把握することとした。

ワクチンの国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入された後は、低リスクと認められるワクチン(品目)を段階的に拡げていくこと、またリスクが低いと評価された品目については次回以降のリスク評価で再度リスクが低いと評価されれば試験頻度を更に低くすることで、国家検定の最適化を進められることが期待できる。一方で、承認書等の製造方法と異なる製品の製造、虚偽の製造指図記録・試験記録の作成、不適切な試験の実施といった違反のほか、適切な変更管理、バリデーション、逸脱処理の未実施、安定性モニタリングにおける不適切な処理といった違反が相次ぎ、多くの製造業者が行政処分を受ける状況が続いている。こうした処分を受け、製品の出荷停止や出荷調整が広範に実施され、医薬品の供給不足が生じている。このような状況に鑑みると、国家検定による規制を一律に緩和するのではなく、リスクを評価した上で、リスクが低いと評価された製品は国家検定の試験頻度を減じることができ一方で、リスクが高いと評価された製品あるいは違反等が発覚し行政処分を受けた業者の製品に対しては国家検定で実施する試験頻度を全ロットにするなど、リスクに応じて国家検定を厳格に実施できる柔軟な制

度に見直すことが不可欠である。

試験検査機関の品質システムに関する検討

PIC/S や WHO では、いずれもガイドライン等により公的試験検査機関において適切な品質システムを運用することを求めており、ISO の認定取得を要件とはしていないが、ISO 17025 を国際的な標準規格として例示している。また欧州においては ISO 17025 基準に基づく OMCL ネットワークが構築され、ロットリリースにおける試験結果の相互利用が行われている。国家検定 (NRA Lot Release) において試験を実施している各国の NCL の多くが、すでに ISO 17025 の認定を取得済みであることが明らかとなり、国家検定の分野でも、ISO 17025 が実質的な国際標準として広く受け入れられている状況が明確となった。認定を取得していないことは、将来的に、公的試験検査機関としての国際的な評価にとってマイナスとなることが懸念されること、国家検定の信頼性を確保するためには品質システムを運用することが必須であり、ISO 17025 の認定を取得する過程では、品質システムの強化と向上が図られる効果も期待できることから、感染研としても ISO 17025 の認定を取得することが望ましいと考え、取得のための作業を開始した。JAB による書類審査、第一段階審査、第二段階審査の過程で、マネジメントシステム及び試験実施のそれぞれにおいて是正処置が必要と指摘された点の改善を行い、2023 年 9 月に JIS Q 17025:2018 の基準に適合していることが認められ、認定番号 RTL05120 として試験所認定証が交付された。

E. 結論

試験方法の評価と改良

両側規格試験において、 $S_1 > 1$ の場合、試験成績は不安定であり、 $S_2 \leq 1$ の場合、試験成績は安定して規格に適合していると結論可能であると考えられた。また「 $S_1 \leq 1$ かつ

$S_2 > 1$ 」の場合は外れ値を含む可能性が示唆された。一方、検出限界値を含む試験では正規分布仮定が成立しないため、 S_1 による評価は不適當であるが、 S_2 による評価は可能であることが分かった。但し、 S_2 は外れ値の影響を受けるため、検出限界値を含むと予想されるデータでは外れ値を別途評価する必要があると考えられた。

蛇毒抗毒素製剤の発熱試験について、国家検定成績と製造所の自家試験記録とを比較検討し、試験結果の再現性および安定性を確認した。以上の結果から、蛇毒抗毒素製剤の国家検定における発熱試験の省略は可能であると考えられた。

複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの時間が異なる場合の体温の推移を nano tag で測定して、その情報から人道的エンドポイントの設定を試みた。毒素接種後、毒素濃度により死亡するまでの時間により体温低下の推移が異なったが、毒素接種 22 時間後までに死亡する群と 48 時間後までに死亡する群に分けることで各群の人道的エンドポイントを設定することが可能であった。また、複数回の体温測定により人道的エンドポイントをほぼ適切に適用できることが示唆された。ただし、人道的エンドポイントの対象とすべきマウスの見落としや対象外のマウスに対する人道的エンドポイントの誤適用というリスクがあるため、更にサンプル数を増やしてこのようなリスクを軽減できれば、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能と思われた。

体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線体温計を用いて実施することが想定されるが、nano tag による測定温度は非接触赤外線体温計(物体モード)と非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は非接触赤外線体温計の測定温度より 1°C程度高いことが確認されたため、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合は、人道的エンドポイントの体温閾値を 1°C下

げる必要があると考えられた。

動物を用いない狂犬病ワクチンの力価試験法である抗原 ELISA について、EDQM との共同研究により試供された 10 種類の試験品において、安定的な値を得ることが出来た。今後国内流通品において本方法を実装可能かについての検討を行う予定である。

ジフテリアトキソイド無毒化試験の in vitro 法の開発について、共同研究を開始できる環境になったため、今後さらなる展開を望むことができる。ジフテリアトキソイド力価試験について、現行法は主観性が高く、それゆえ、手技の習得に時間を要していたが、客観性の高い方法へ移行することが可能であることが示されたため、今後、これらの方法を国家検定などで使用できる環境を整える予定である。

国家検定制度の最適化と強化

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会(合同部会)で公表された予防接種後副反応疑い報告の結果について検討した。また、オーストラリアの予防接種後有害事象サーベイランスの制度を知ること、EU のバッチリリースのシステムを知ること、新しい MMR ワクチンの安全性について知ること目的に海外論文を翻訳し検討した。

ワクチンのリスク評価について、過去のリスク評価結果を考慮した上で直近(令和 5 年 9 月末まで)の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目を選定した。また、リスク評価シートの見直しを検討した。ワクチンの国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入されることで、国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。

試験検査機関の品質システムに関して、PIC/S や WHO において、ISO 17025 が試験検査機関の品質システムの実質的な国際標準となっており、多くの国の公的試験検査機

関が認定を取得していることから、感染研としても認定を取得することが望ましいと考え、本年度に認定を取得することができた。認定を取得する過程で見いだされた課題等への取組みは、品質システムの強化と向上にも資することが期待できる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shim SB, Choi CW, Shin JH, Kim JW, Schepelmann S, Jung JH, Chander H, Pujilestari R, Kuramitsu M, Ochiai M, Qi NY, Dimapilis GN, Dung LT, Moon HS, Shin IS. Report on the seventh meeting of national control laboratories for vaccines and biologicals of the WHO Western Pacific and South-East Asia member states. *Biologicals*. 84: 101712, 2023 doi:10.1016/j.biologicals.2023.101712
- 2) Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T, Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS. Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network

meeting in 2023: Self-sufficiency strategy of plasma-derived medicinal products and regulatory harmonisation. *Biologicals*. 85: 101754, 2024 doi:10.1016/j.biologicals.2024.101754

- 3) Kanda T, Sasaki-Tanaka R, Ishii K, Suzuki R, Inoue J, Tsuchiya A, Nakamoto S, Abe R, Fujiwara K, Yokosuka O, Li T.-C, Kunita S, Yotsuyanagi H, Okamoto H. and The AMED HAV and HEV Study Group. Recent advances in hepatitis A virus research and clinical practice guidelines for hepatitis A virus infection in Japan. *Hepatology Research* 54: 4-23 (2024) doi:10.1111/hepr.13983

2. 学会発表

- 1) 多屋馨子：感染症・予防接種に関する最近の話題. 第137回日本小児科学会福島地方会. 2023年6月4日(福島県福島市)
- 2) 多屋馨子：我が国のおたふくかぜ対策の過去、現在、未来. 第55回日本小児感染症学会総会・学術集会(愛知県名古屋市)

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

副反応等に係る情報の国家検定への活用に関する研究

研究分担者 多屋 馨子 神奈川県衛生研究所
研究協力者 関戸 晴子 神奈川県衛生研究所 企画情報部
研究協力者 最上恵美子 神奈川県衛生研究所 管理課
研究協力者 大崎 芳彦 神奈川県衛生研究所 管理課

研究要旨：国家検定が実施されているワクチンについて、厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同部会）で審議された副反応疑い報告頻度について検討した。また、今年度は日本でも定期接種化が検討されているおたふくかぜワクチンに関連して、MMR ワクチンの安全性に関するレビュー論文について検討するとともに、予防接種後有害事象サーベイランスが充実しているオーストラリアの制度、欧州連合（EU）のワクチンバッチリリース制度について調査した。

A. 研究目的

予防接種後に認められた副反応疑い報告を集計・解析することで、国家検定が実施されているワクチンの安全性について評価し、世界的な標準手法とあわせて検討することで、国民の安心・安全につなげることを目的とした。また、海外の様々な予防接種後有害事象に関連した情報を収集することで、国内制度への参考資料とした。

B. 研究方法

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同部会）の委員の一人として、副反応疑い報告として医薬品医療機器総合機構

（PMDA）に届けられた医療機関からの重篤報告について検討した。

海外の予防接種後有害事象サーベイランス制度やバッチリリース制度について検討する目的で、オーストラリアニューサウスウェールズ州保健局の「Adverse event following immunisation control guideline」および欧州連合（EU）の「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳し検討した。また、わが国のおたふくかぜワクチンの定期接種化を検討する中で、今後導入される可能性があるMMR ワクチンの安全性について検討するために、わが国で使用されている星野株や、国内でも検討されている RIT 株を含む

MMR ワクチンに関するレビュー論文「Shah N, et al. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. Hum Vaccin Immunother. 20(1):2302685, 2024.」を翻訳し検討した。

(倫理面への配慮)

本研究では、取り扱う情報の中に個人が特定されるような情報はない。

C. 研究結果

1. 予防接種後副反応疑い報告について

1) 日本で接種可能なワクチンの種類 (2024年3月現在)

日本で接種可能なワクチンの種類 (2024年3月現在)	
定期/臨時接種 (21種類)	任意接種 (11種類)
生 7種類	生 4種類
BCG (結核)	流行性耳下腺炎 (M.S.S.44型)
MR (麻疹/麻疹混合)	黄熱
麻腮	水痘 (帯状疱疹予防)
水痘	麻疹 (21歳未満の子供)
DTP (4,2,1歳)	百日咳/キタチ
DTP (4,2,1歳)	子宮頸がん
破傷風	狂犬病
DT (ジフテリア/破傷風混合) 二種混合	髄膜炎 (4歳未満)
DPT (ジフテリア/破傷風/百日咳混合) 三種混合	脊髄髄膜炎
IPV (不活化ポリオ)	肺炎球菌 (15歳未満)
DTP+IPV (ジフテリア/破傷風/百日咳/ポリオ) 四種混合	RSウイルス (66歳以上)
不活化 13種類	定期接種を定められた年齢以外で受ける場合
日本脳炎 (標準接種)	※国内でも製造販売承認され、現時点では、販売準備中
インフルエンザ	○ RSウイルスワクチン (妊婦用)
肺炎球菌 (13価標準)	○ DPT-IPV+Hib (五種混合) ワクチン
MR (21歳以上)	○ 経鼻生インフルエンザワクチン
HPV (11/16型)	
HPV (11/16型)	※新型コロナワクチン (錠剤・吸入薬) は、令和5年12月25日にて接種終了
HPV (11/16型)	※成人用ジフテリアキットは、最終有効期限令和5年12月16日の製品を最後として販売中止
mRNA	

2) 予防接種後副反応疑い報告

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同部会) での検討から、医療機関から重篤として報告された頻度についてワクチン毎に検討した (表)。

最新の情報として2024年1月26日に開催された第100回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、令和5年度第15回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同開

催) 、
https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi2/0000208910_00072.html (インフルエンザ以外) ならびに、2023年7月28日に開催された第94回厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、令和5年度第5回薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会 (合同開催)
<https://www.mhlw.go.jp/content/10601000/001126218.pdf> (インフルエンザ) を用いた。

2. 世界標準のワクチン安全性サーベイランスについて

オーストラリアニューサウスウェールズ州保健局が発行している「Adverse event following immunisation control guideline」(別添)、および欧州連合 (EU) が発行している「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳した (別添)。

日本でも定期接種化が検討されているおたふくかぜワクチンについて、MMR ワクチンの有効性・安全性に関するレビューが報告され、この中には日本で使われている星野株、日本でも検討されている RIT 株を含む MMR ワクチンが紹介されていた「Shah N, et al. A review of safety and immunogenicity of a novel measles, mumps, rubella (MMR) vaccine. Hum Vaccin Immunother. 20(1):2302685, 2024.」本レビュー論文について検討した。

D. 考察

予防接種法に基づく予防接種後副反応疑い報告制度は、2013年の予防接種法改正に

より始まった制度である。厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同部会）で定期的に安全性サーベイランスが実施され、予防接種法に基づく予防接種健康被害救済制度で幅広い救済が実施され、審議結果は厚生労働省のホームページに公表されている。

2024年1月（インフルエンザ以外）、2023年7月（インフルエンザ）に開催された上記部会で報告された予防接種後副反応疑い報告について、医療機関から重篤として報告された頻度をワクチン毎に検討した。HPV ワクチンに関しては、積極的勧奨の差し控え前に報告された数が多く、ワクチンの中では頻度として最多であった。最近接種が可能になった組換え沈降9価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）については、推定10万接種あたり0.6でその他のワクチンと同様の頻度であった。新型コロナワクチンについても、その他のワクチンと同程度の頻度で特に高い報告頻度ではなかった。

また、今年には予防接種後有害事象サーベイランスについて先進的な国とされているオーストラリアの制度を知るために、ニューサウスウェールズ州保健局のガイドラインを翻訳し検討した。オーストラリアでは、「報告された発生頻度が高い、及び／又は予防接種との因果関係がある可能性が低い（低レベル）」、「発生頻度は低く重篤であり、最近の予防接種と関連している可能性がある（高レベル）」、「発生頻度は低く予防接種と因果関係がある可能性が高い重要（高レベルの重要性）な事象である」、又は「最近の予防接種との関連性に関してメディア又は地域社会に重大な懸念が生じる可能性がある」にわけ

て検討し、このカテゴリー分けによって、低レベルのAEFIには、届出後7営業日以内に対応する。高レベルのAEFIが疑われる場合又は特に注目すべき有害事象（AESI）については、3日以内に対応する、重要な高レベルのAEFIが疑われる場合は1日以内に対応するとしてワクチンの管理を行う部署（TGA）への報告頻度を変えており、必要に応じて、疑い症例の追跡調査を行うとしていた。また、ワクチン効果不全やワクチン接種過誤についても届出制度が確立されていた。

ワクチンの安全性についての検討から、欧州連合（EU）のバッチリリースシステムについて知る目的で、「EU Official Control Authority Batch Release Human Vaccine and Blood Derived Medicinal Products」を翻訳した。このガイドラインは、EUを含む欧州諸国での Official Control Authority Batch Release (OCABR) の管理手順の概要を示したもので、EU当局によるOCABR試験に適合しないバッチについて、すべての所轄官庁及び関係する医薬品販売承認取得者の間で情報を交換するためのシステムの概要が示されていた。付録として多数の報告書ひな型が提示されており、これらの共通の書式を使って、情報が共有されていることが推察された。

さらに、今後おたふくかぜワクチンの定期接種化に際して、MMR ワクチンの安全性についても検討される可能性を考え、最近報告されたレビュー論文を選択して検討した。この論文では、日本で使われている星野株を含むMMR ワクチン、今後国内導入が検討されているRIT株についても言及されており、安全性についての懸念は示されていなかった。

E. 結論

厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会副反応検討部会、薬事・食品衛生審議会薬事分科会医薬品等安全対策部会安全対策調査会（合同部会）で公表された予防接種後副反応疑い報告の結果について検討した。

オーストラリアの予防接種後有害事象サーベイランスの制度を知ること、EUのバッチリリースのシステムを知ること、新しいMMR ワクチンの安全性について知ること目的に海外論文を翻訳し検討した。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
 - 1) 多屋馨子：感染症・予防接種に関する最近の話題. 第137回日本小児科学会福島地方会. 2023年6月4日(福島県福島市)
 - 2) 多屋馨子：我が国のおたふくかぜ対策の過去、現在、未来. 第55回日本小児感染症学会総会・学術集会(愛知県名古屋市)

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表 予防接種後副反応疑い報告（医療機関から重篤と報告された症例の頻度（分母：接種者数/接種可能なべ人数）：～令和5年9月30日

ワクチン名	頻度%	推定10万接種あたりの頻度	
コロナウイルス（SARS-CoV-2）RNAワクチン	ファイザー株式会社 12歳以上用	0.0001	0.1
	同 5～11歳用	0.0000	0
	同 6か月～4歳用	0.0000	0
	モデルナ・ジャパン株式会社	0.0004	0.4
組換えコロナウイルス（SARS-CoV-2）ワクチン	武田薬品工業株式会社	0.0035	3.5
ジフテリアトキソイド		0.0000	0
沈降15価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）		0.0000	0
インフルエンザHAワクチン		0.00007	0.07
沈降破傷風トキソイド		0.0001	0.1
沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド		0.0002	0.2
乾燥弱毒生麻しんワクチン		0.0005	0.5
乾燥弱毒生風しんワクチン		0.0006	0.6
乾燥組換え帯状疱疹ワクチン（チャイニーズハムスター卵巣細胞由来）		0.0006	0.6
組換え沈降9価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）		0.0006	0.6
乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン		0.0007	0.7
組換え沈降B型肝炎ワクチン（酵母由来）		0.0008	0.8
乾燥弱毒生麻しん風しん混合ワクチン		0.0010	1.0
乾燥弱毒生水痘ワクチン		0.0010	1.0
不活化ポリオワクチン		0.0010	1.0
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		0.0012	1.2
沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン		0.0017	1.7
乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン		0.0018	1.8
肺炎球菌ワクチン		0.0018	1.8
沈降13価肺炎球菌結合型ワクチン（無毒性変異ジフテリア毒素結合体）		0.0019	1.9
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）		0.0019	1.9
5価経口弱毒生ロタウイルスワクチン		0.0021	2.1
乾燥BCGワクチン		0.0028	2.8
経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン		0.003	3
組換え沈降4価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（酵母由来）		0.0054	5.4
組換え沈降2価ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン（イラクサギンウワバ細胞由来）		0.0079	7.9

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

血液製剤の国家検定の見直しに関する研究

-国家検定見直しに用いる定量的試験結果の安定性評価法の開発-

研究分担者 水上 拓郎 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター

研究協力者 谷生 道一 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター

研究要旨：国家検定における試験結果の安定性評価法および自家試験値との同等性評価法の開発を目指し、昨年度までの分担研究において正規分布を仮定した評価法（ S_1 ）および矩形分布を仮定した評価法（ S_2 ）を独自に考案し、38種の実試験結果について S_1 および S_2 による評価を行った。その結果、いずれの評価法においても客観的に評価可能であることが分かった。また基準値に近い値を含むデータ群では S_1 よりも S_2 において厳しい判定になることが分かり、 S_2 は異常値検知として有用である可能性が示唆された。一方、検証可能な実試験数には限りがあるため、より一般的かつ多条件におけるデータ群を用いた検証が必要と考えられた。そこで本年度は、一定の規格幅において、サンプルサイズおよび標準偏差値の条件を変えた模擬試験を70グループ（100試験/グループ）作成し、各試験における不合格経験頻度と、算出された S_1 と S_2 の比較検証を行った。その結果、開発した評価法を用いることで、試験結果の安定性を客観的に評価可能であることが示唆された。

A. 研究目的

検定・検査で実施されている試験では数値で結果が得られる定量的試験が多く、得られた試験値が規格を満たすかどうかで合否判定をおこなっている。測定値には、試験方法等に由来するばらつきが含まれ、ばらつき方も試験の性質によって異なる。通常、定量的試験では、試験の目的と測定値のばらつきを考慮した上で、上限値または下限値、あるいはその両方により規格が定められていると考えられる。品質管理の視点では、測定値が規格内に安定して収まっていることを確認することが必要であるが、試験結果の安定性

について、統一的な評価基準はない。これらを踏まえ、令和3年度に正規分布仮定の試験データにおける標準偏差値（SD）の95%信頼区間を用いた評価法（ S_1 ）、また令和4年度に測定値の分布範囲を矩形と仮定した標準偏差値を用いた評価法（ S_2 ）を考案し、実際の国家検定試験38種について検証を行った。その結果、全ての試験において現場感覚と合致した評価結果が得られ、 S_1 および S_2 の両方の結果を検証することで、より客観的な安定性評価が可能であることが示唆された。本研究では、シミュレーションにより作成した多様な条件の試験データ群について

S₁およびS₂による安定性評価法の有用性について検証を行うことを目的とした。

B. 研究方法

<安定性判定基準式の定義>

評価に用いる S₁ および S₂ は以下で定義する。安定性評価の基準は、それぞれ 1 以下とする。各式の詳細は令和 3 年度および令和 4 年度の報告書で説明している。

$$S_1 = \frac{SD_{95L}}{\frac{|\text{Min}(L_{up} - AV, AV - L_{low})|}{3}}$$

$$S_2 = \frac{\frac{D_{max} - D_{min}}{\sqrt{3}}}{|\text{Min}(L_{up} - D_c, D_c - L_{low})|}$$

ここで、SD_{95L} は実データより算出された SD 値の 95%信頼区間の下限値、AV は実データの平均値、L_{up} と L_{low} はそれぞれ試験規格の上限値と下限値、D_{max}、D_{min} および D_c はそれぞれ実データの最大値、最小値および中心値（最大値と最小値の平均値）である。尚、片側規格の場合は上式において L_{up} = L_{low} と置き換える。

S₁ ≤ 1 の場合、実データは規格範囲内に約 99.7%以上含まれる事が期待される。規格外（不合格）値を含む場合は、D_{max} ≥ L_{up} または D_{min} ≤ L_{low} であるため、定義式より必ず S₂ > 1 となる。また S₂ ≤ 1 の場合、

$$\frac{\text{規格幅}}{\text{実データ分布幅}} = \frac{L_{up} - L_{low}}{D_{max} - D_{min}} \geq \frac{2}{\sqrt{3}} = 1.15 \dots$$

であるため、実データ分布が 15%以上余裕を持って規格幅内に収まっていることが保証される。

<模擬試験データ作成>

定量的試験では目標値があり、測定値は目標値を中心としてばらつく状況が一般的であるため、本シミュレーションで作成する試験値は、正規分布を仮定した。

両側規格試験モデルとして、目標平均値 = 100、規格 = 100 ± 20 (L_{up} = 120、L_{low} = 80) を設定した。SD 値は、規格幅 = 目標平均値 ± 2 SD、± 2.5 SD、± 3 SD、± 3.5 SD、± 4 SD、± 4.5 SD および ± 5 SD とする 7 条件を設定した (± k SD の場合 SD 値 = 20/k)。各試験のロット数 (サンプルサイズ) は、5、10、15、20、25、30、50、100、250 および 500 の 10 条件を設定した。シミュレーションデータの作成および解析は、Microsoft Excel for Mac ver. 16 で行った。模擬測定値は乱数関数 RAND() を確率変数として、NORM.INV(RAND(), 100, SD) により生成した。同一の SD 値およびロット数設定において 100 試験作成し、これを 1 グループとした (合計 70 グループ作成)。各試験における規格外 (OOS) 数、S₁ および S₂ をそれぞれ算出し、各グループで OOS ≥ 1、S₁ > 1 および S₂ > 1 となる試験数をそれぞれ集計した。本研究で用いた両側規格試験のシミュレーションデータ作成概要を図 1 に示す。

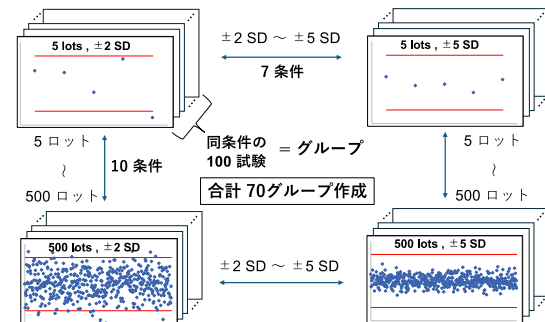


図 1. 両側規格模擬試験データ作成概要。偶発性を考慮し、同じ SD 値およびロット数の設定条件で 100 試験を作成し、これを 1 グループとした。

片側規格試験の場合でも、データが正規分布を仮定出来る場合は、本質的に両側規格試験と同様の結果が得られることが期待される。一方、含量の有無を確認する試験など、検出限界付近の値を含む場合は、試験値の正規分布仮定は不適切と考えられる。このような、検出限界付近の値を含む片側規格試験を想定し、片側上限規格値=100、目標平均値=0、検出限界値 ≤ 0 の条件によるシミュレーションを行った。検出限界値以下の測定値を0とするため、 $NORM.INV(RAND(), 0, SD)$ で模擬値を生成後、IFS(模擬値>0, 模擬値, 模擬値<=0,0)により変換した値を模擬測定値とした。SD値およびロット数の設定は、両側規格と同様にそれぞれ7条件および10条件とした。尚、SD値は、規格= 0 ± 100 と置き換えて算出した値を用いた ($\pm k$ SDの場合 $SD = 100/k$)。

(倫理面への配慮) 該当しない

C. 研究結果

<両側規格試験>

シミュレーションで作成した両側規格試験の各グループ内において、 $OOS \geq 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定SD別にプロットしたグラフを図2に示す。

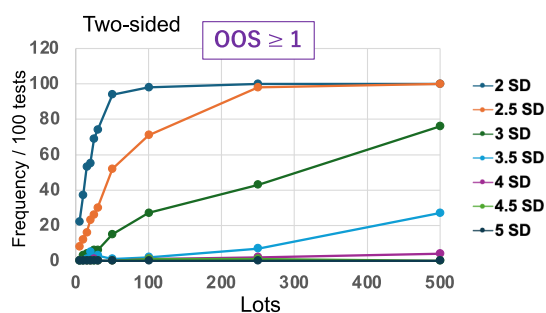


図2. 同一SD条件グループ内において不合格を経験($OOS \geq 1$)した試験数のロット数に対する変化(両側規格)

図2より、規格内 (100 ± 20) に $\pm 2 SD \sim \pm 3.5 SD$ と設定した場合、ロット数増加に伴い、 $OOS \geq 1$ 、即ち不合格値を1回以上出した試験数は増加することが分かった。一方、 $\pm 4 SD$ 以上を設定した場合、ロット数が増えても不合格を経験する試験はほとんど無かった。実際の試験では、 OOS が出た場合、再試制度があると考えられるため、 $\pm 4 SD$ 以上の試験では不合格はほとんど発生しないと期待される。尚、 $\pm 5 SD$ 設定において $OOS \geq 1$ となる試験数は0であった。

図3に、各グループにおいて $S_1 > 1$ または $S_2 > 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定SD別にプロットしたグラフを示す。

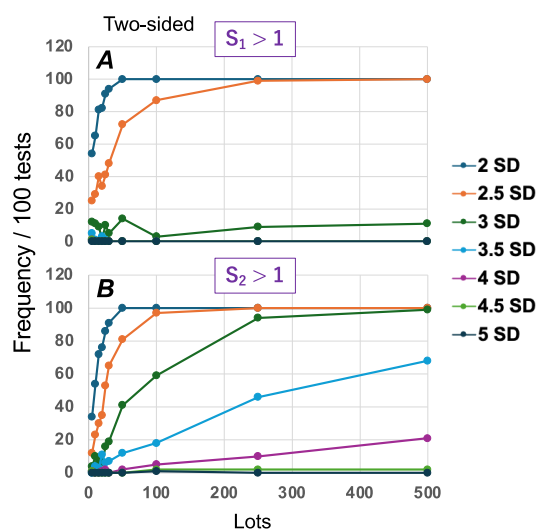


図3. 同一SD条件グループの $S_1 > 1$ (A)および $S_2 > 1$ (B)となった試験数のロット数に対する変化(両側規格)

図2と図3Aの比較から、 $\pm 2 SD \sim \pm 2.5 SD$ の場合、ロット数増加に伴い $S_1 > 1$ となる試験数が増加し、同じSD設定条件において $[OOS \geq 1 \text{の試験数}] < [S_1 > 1 \text{の試験数}]$ となることが分かった。一方、 $\pm 3 SD \sim \pm 5 SD$ では、 $S_1 > 1$ となる試験数が低下し、 $OOS \geq 1$ でも $S_1 < 1$ となる試験があった。 S_2 に

については、同じ SD 条件下において、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ であった (図 2、3B)。設定 SD 別の各判定結果を表 1 に示す。 S_2 の定義上、 $OOS \geq 1$ の条件では、必ず $S_2 > 1$ であるため、 $OOS \geq 1$ かつ $S_2 \leq 1$ となる試験は存在しない (表 1; 検出失敗および S_2 未検出)。

< 検出限界値を含む片側規格試験 >

シミュレーションで作成した、検出限界値を含む片側規格試験の合計 70 グループについて、各グループ内において $OOS \geq 1$ 、 $S_1 > 1$ および $S_2 > 1$ となった試験数を、ロット数に対して設定 SD 別にプロットした各グラフを図 4 に示す。

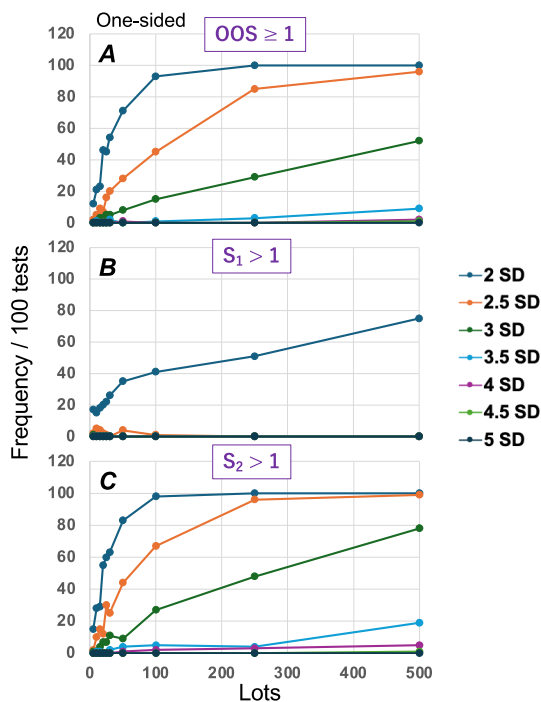


図 4. 同一 SD 条件グループの $OOS \geq 1$ (A)、 $S_1 > 1$ (B) および $S_2 > 1$ (C) となった試験数のロット数に対する変化 (片側規格)

図 4A より、片側規格においても規格内 (0 ± 100) に ± 2 SD ~ ± 3.5 SD となるように SD 値を設定した場合、ロット数増加に伴っ

て不合格を経験した試験数が増加した。但し、両側規格 (図 2) に比べ、片側規格では、1 試験あたりの OOS 数は約半分になると期待されるため、 $OOS \geq 1$ となる試験数の増加勾配は緩やかになったと考えられる。同様に、両側規格 (図 3B) に比べ、片側規格の S_2 においても $S_2 \geq 1$ となる試験数の増加勾配は緩やかになったが (図 4C)、両側規格試験の場合と同様に、同じ SD 条件下において、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ であった (図 4A、4C)。

一方、 ± 2 SD の場合を除いて、 $S_1 > 1$ となる試験はほとんど無く (図 4B)、 ± 2 SD の場合でも、 $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ となった (図 4A、4B)。

D. 考察

< 両側規格試験 >

今回検証した両側規格試験では、全ての条件において $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ となっており、 S_2 は不合格 ($OOS \geq 1$) のリスク検出に有用であることが分かった。これは定義上、 $S_2 \leq 1$ が、 $[\text{規格幅}]/[\text{実データ分布幅}] \geq \sim 1.15$ と等価である、即ち規格幅の方が実データ分布幅よりも常に 15% 以上高いことを評価基準としているため妥当と考えられた。これらの結果は、 $S_2 \leq 1$ であることをもって、試験成績は余裕をもって規格に適合していると結論可能であることを示している。一方、 ± 4 SD、 ± 4.5 SD および ± 5 SD の設定で、 $OOS = 0$ かつ $S_2 > 1$ となった試験が、それぞれ 33、4 および 1 件検出された (表 1; 注意 S_2)。一般的に規格幅内に ± 4 SD 以上の精度で実施されている試験は、安定した試験であると判断されるため、 ± 4 SD 以上の試験で $S_2 > 1$ となる結

果は、偶発的に発生した外れ値に起因したものと予想される。これは、 $S_2 > 1$ であることのみで試験結果が不安定と評価するのは不適切であることを示している。

S_1 については、 $\pm 2 SD$ および $\pm 2.5 SD$ 設定で、 $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ となったが、 $\pm 3 SD$ 以上の設定では、ほとんどの試験で $S_1 \leq 1$ となった。 S_1 の定義では、規格範囲内に平均値 $\pm 3 SD$ が収まることを評価基準にしていることから、 $\pm 3 SD$ 以上の設定で $S_1 > 1$ となる試験数が低下することは妥当と考えられた。これらの結果は、 $S_1 > 1$ であることをもって、試験成績は不安定であると結論可能であることを示している。一方、 $\pm 3.5 SD$ 、 $\pm 4 SD$ および $\pm 4.5 SD$ の設定で、 $OOS \geq 1$ かつ $S_1 \leq 1$ となった試験が、それぞれ 45、8 および 2 件検出された (表 1 ; S_1 未検出)。 $S_1 \leq 1$ の場合、実データの 99.7%程度以上が規格範囲内に含まれることが期待されるため、 $S_1 \leq 1$ かつ $OOS \geq 1$ の試験では、偶発的に発生した外れ値が OOS となったと考えられる。同様に、 $S_1 \leq 1$ かつ $S_2 > 1$ の場合も、偶発的に発生した外れ値が含まれていると考えられるため、「 $S_1 \leq 1$ かつ $S_2 > 1$ 」(表 1 ; 注意 S_2) の条件が、外れ値検出に有用であると考えられる。

<検出限界値を含む片側規格試験>

検出限界値を含む片側試験のシミュレーション結果においても、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] < [S_2 > 1 \text{ の試験数}]$ となったことから、両側試験の場合と同様、 S_2 は不合格のリスク検出に有用であることが分かった。一方、常に $[OOS \geq 1 \text{ の試験数}] > [S_1 > 1 \text{ の試験数}]$ であったことから、 S_1 は検出限界値を含む試験の評価には不適であることが分かった。

この結果は、 S_1 が正規分布仮定の基で定義されていることから、妥当であると考えられる。一方、 S_2 は、データ分布の最小値と最大値を使って定義されているため、ばらつきの少ない試験では適切な評価を与えると期待されるが、1 ロットでも外れ値が含まれると S_2 値は大きくなるため、検出限界値を含む試験では、外れ値の評価法について別途検討が必要である。

E. 結論

本研究結果により、両側規格試験において、 $S_1 > 1$ の場合、試験成績は不安定であり、 $S_2 \leq 1$ の場合、試験成績は安定して規格に適合していると結論可能であると考えられた。また「 $S_1 \leq 1$ かつ $S_2 > 1$ 」の場合は外れ値を含む可能性が示唆された。一方、検出限界値を含む試験では正規分布仮定が成立しないため、 S_1 による評価は不适当であるが、 S_2 による評価は可能であることが分かった。但し、 S_2 は外れ値の影響を受けるため、検出限界値を含むと予想されるデータでは外れ値を別途評価する必要があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T, Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS. Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2023: Self-sufficiency strategy of plasma-derived medicinal products and regulatory harmonisation. *Biologicals*.

2024; 85; 101754.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

2. 学会発表 なし

表 1. 両側規格 7000 試験 (70 グループ) における判定結果まとめ

判定	正常	検出失敗	S ₁ 未検出	S ₂ 未検出	注意 S ₁	注意 S ₂	警告	異常
S ₁	≤ 1	≤ 1	≤ 1	> 1	> 1	≤ 1	> 1	> 1
S ₂	≤ 1	≤ 1	> 1	≤ 1	≤ 1	> 1	> 1	> 1
OOS	0	≥ 1	≥ 1	≥ 1	0	0	0	≥ 1
± 2 SD	111	0	6	0	76	16	95	696
± 2.5 SD	325	0	38	0	79	62	98	398
± 3 SD	613	0	143	0	32	158	15	39
± 3.5 SD	818	0	45	0	7	127	1	2
± 4 SD	958	0	8	0	0	33	1	0
± 4.5 SD	993	0	2	0	0	4	1	0
± 5 SD	999	0	0	0	0	1	0	0
総試験数	4817	0	242	0	194	401	211	1135

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

蛇毒抗毒素製剤の国家検定の見直し

研究分担者 高橋 宜聖 国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター

研究協力者 松村 隆之 国立感染症研究所 治療薬・ワクチン開発研究センター

研究要旨：

SLP 審査導入により、原材料から小分製品までの製造工程における様々な試験結果を精査可能となったが、試験担当室による小分製品の含湿度試験および発熱試験については、年間ロット数が少ないため、現在のところ省略されていない。今後の国家検定のあり方について検討するために過去の検定記録を調査したところ、現在の製造所から出検された抗毒素製剤は、「乾燥はぶウマ抗毒素」については過去 43 年間（昭和 51 年～平成 30 年）で 22 ロット、「乾燥まむしウマ抗毒素」については過去 34 年間（平成 2 年～令和 5 年）で 24 ロット存在し、これらのロット全てで合格実績が確認された。年間ロット数は少ないが、過去の記録においてすべて合格していることや、動物試験における 3R の観点から、試験省略を検討することは妥当であると考えられる。今回、発熱試験について、国家検定成績と製造所の自家試験記録とを比較検討し、試験結果の再現性および安定性を確認した。以上の結果から、蛇毒抗毒素製剤の国家検定における発熱試験の省略は可能であると考えられた。

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」と「乾燥まむしウマ抗毒素」があり、国家検定において令和 3 年 7 月から SLP 審査が導入されている。しかしながら、年間ロット数が少ないとの理由から、国家検定において、試験担当室による含湿度試験、たん白質含量試験、異常毒性否定試験および発熱試験については、SLP 導入後、令和 5 年 3 月の直近の国家検定まで省略されていなかった。今年度は、これら抗毒素製剤の発熱試験の省略について検討することを目的とした。

B. 研究方法

「乾燥まむしウマ抗毒素」における SLP 様式の修正

国内抗毒素製剤の製造所と免疫部第二室（現・治療薬・ワクチン開発研究センター第三室）とで作成された「乾燥まむしウマ抗毒素」の SLP 様式（ver.001）について適宜修正を進めている。修正案（ver.004）は、品質保証・管理部第二室からのコメントに基づいて適正に修正変更を行った。

「乾燥はぶウマ抗毒素」における SLP 様式の作成

医薬品製造販売承認書に基づいて、国内抗毒素製剤の製造所と治療薬・ワクチン開発研究センター第三室とで「乾燥はぶウマ抗毒素」

SLP 様式案を作成し、品質保証・管理部第二室からのコメントに基づいて適正に修正変更を行った。

蛇毒抗毒素製剤の過去の国家検定試験判定結果の調査

国内抗毒素製剤の現在の製造所から出検された抗毒素製剤の国家検定試験判定結果を調査した。「乾燥はぶウマ抗毒素」については過去 43 年間（昭和 51 年～平成 30 年）の合否判定結果、「乾燥まむしウマ抗毒素」については過去 34 年間（平成 2 年～令和 5 年）の合否判定結果を調査した。

国家検定における発熱試験の削除の検討

乾燥まむしウマ抗毒素および乾燥はぶウマ抗毒素の発熱試験の省略について、過去 17 年間（平成 18 年から令和 4 年）を対象期間とし、この期間における発熱試験の検定および自家試験の結果の評価に基づいて検討した。

（倫理面への配慮）該当なし。

C. 研究結果

「乾燥まむしウマ抗毒素」における SLP 様式の修正

生物基の一部改正（異常毒性否定試験の削除）に伴い、「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤の SLP 様式修正案が KM バイオロジクス株式会社より提出された。品質保証・管理部第二室からのコメントに基づいて適正に修正変更を進め、令和 5 年 9 月に第 4 版 (ver.004) へと更新した。

「乾燥はぶウマ抗毒素」における SLP 様式

の作成

令和 5 年に予定されていた「乾燥はぶウマ抗毒素」における SLP 様式の作成を行った。医薬品製造販売承認書に基づいて、国内抗毒素製剤の製造所と治療薬・ワクチン開発研究センター第三室とで「乾燥はぶウマ抗毒素」 SLP 様式案を作成し、品質保証・管理部第二室からのコメントに基づいて適正に修正変更を進め、令和 5 年 7 月に初版 (ver.001) を通知した。

蛇毒抗毒素製剤の過去の国家検定試験判定結果

乾燥ウマ抗毒素製剤は、現在、一つの製造所が製造しており、当該製造所から出検された抗毒素製剤は、「乾燥はぶウマ抗毒素」については過去 43 年間（昭和 51 年～平成 30 年）で 22 ロット、「乾燥まむしウマ抗毒素」については過去 34 年間（平成 2 年～令和 5 年）で 24 ロット存在した。両製剤の国家検定記録を調査したところ、今回記録を入手したロット全てで合格実績が確認された。

国家検定における発熱試験の削除の検討

過去 17 年間（平成 18 年から令和 4 年）の発熱試験について、国家検定成績と製造所の自家試験成績とを比較した。両成績は良く一致し、再現性・安定性の観点からも当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。また、「国家検定から試験項目の廃止を考慮する状況」と「国家検定における試験項目の廃止に関する考え方」(第 3 版)に基づいて検討したところ、当該試験を国家検定試験項目から削除することは可能と考えられた。

D. 考察

乾燥ウマ抗毒素製剤の年間ロット数は少ないが、今回記録を入手したロット全てが合格であることや、3Rの観点、発熱試験の結果の再現性・安定性の観点から、当該試験を国家検定としてダブルチェックする必要性は低いと考えられた。また、現在は製造所においてGMPや包括的な品質管理の技術が十分に整っていると考えられ、さらにSLP審査の導入によって製造所で実施される品質管理試験について詳細な検証ができるようになっており、当該試験の自家試験成績を確認することで十分に当該製剤の品質を確保できると考えられた。

E. 結論

現在の製造所から出検された抗毒素製剤は、「乾燥はぶウマ抗毒素」については過去43年間（昭和51年～平成30年）で22ロ

ット、「乾燥まむしウマ抗毒素」については過去34年間（平成2年～令和5年）で24ロット存在し、これらのロット全てで合格実績が確認された。年間ロット数は少ないが、過去の記録においてすべて合格していることや、動物試験における3Rの観点から、試験省略を検討することは妥当であると考えられる。今回、発熱試験について、国家検定成績と製造所の自家試験記録とを比較検討し、試験結果の再現性および安定性を確認した。以上の結果から、蛇毒抗毒素製剤の国家検定における発熱試験の省略は可能であると考えられた。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

動物試験に係る 3Rs の検討

研究分担者	花木 賢一	国立感染症研究所	安全実験管理部
研究協力者	岩城 正昭	国立感染症研究所	安全実験管理部・細菌第二部
	妹尾 充敏	国立感染症研究所	細菌第二部
	網 康至	国立感染症研究所	安全実験管理部
	田原口元子	国立感染症研究所	安全実験管理部
	滝本 一広	国立感染症研究所	安全実験管理部

研究要旨：致死性動物試験における苦痛の軽減を目的として、体温低下を指標とした人道的エンドポイントの設定について検討した。これまでの研究で、致死性動物試験の一つであるボツリヌス抗毒素力価試験では、死亡前日の顕著な体温低下による「日単位」「時間単位」の死亡予測により、体温を指標とした人道的エンドポイントの設定が有効であることが示唆されている。本研究では、複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの時間が異なる場合の体温の推移を **nano tag** で測定して、その情報から人道的エンドポイントの設定を試みた。毒素接種後、毒素濃度により死亡するまでの時間により体温低下の推移が異なったが、毒素接種 22 時間後までに死亡する群と 48 時間後までに死亡する群に分けることで各群の人道的エンドポイントを設定することが可能であった。また、複数回の体温測定により人道的エンドポイントをほぼ適切に適用できることが示唆された。ただし、人道的エンドポイントの対象とすべきマウスの見落としや対象外のマウスに対する人道的エンドポイントの誤適用というリスクがあるため、更にサンプル数を増やしてこのようなリスクを軽減できれば、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能と思われた。体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線体温計を用いて実施することが想定されるが、**nano tag** による測定温度は非接触赤外線体温計（物体モード）と非常に高い相関を示し、**nano tag** の測定温度は非接触赤外線体温計の測定温度より 1℃程度高いことが確認されたため、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合は、人道的エンドポイントの体温閾値を 1℃下げる必要があると考えられた。

A. 研究目的

動物実験における国際的倫理原則「3Rs」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、致死性の動物実験では 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の設定が義務づけられている。一般的な人道的エンドポイントの例は、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等が挙げられる（中井伸子. LABIO 21. 26-31, 2007）。しかし、急激な病状の悪化では一般的な人道的エンドポイントの指標を適用できない場合がある。そこで、本研究では感染動物実験における人道的エンドポイントとして例示されている体温に注目した（Olfert and Godson. ILAR J. 41:99-104, 2000）。

これまでに、ヒト用非接触赤外線体温計（物体温度測定モード）は直腸体温を非常によく反映し、肛門周囲、腹部表面の温度を測定することにより直腸温度を推定できることが確認されている。このヒト用非接触赤外線体温計による体温測定法を用い、3つの致死性動物試験で体温変化が死の前兆として認められるか検討したところ、ボツリヌス抗毒素力価試験において、死の前日に顕著な体温低下が認められ、体温を指標とした人道的エンドポイントの設定が有効であることが示唆された。また、体温測定の間隔を短くすることにより、ボツリヌス抗毒素力価試験における「時間単位」での死亡予測も可能であることが示唆され、苦痛軽減（苦痛を与える時間の短縮）につながると考えられた。一方で、体温が低下しても死亡しないマウス、体温が低下しないが死亡したマウスが少数ながら存在し、顕著な体温変化が必ずしも死の前兆とはならなかった。そこで、毒素接種後の体温変化についてより正確な情報を得ることを目的として、データロガー（“nano tag”、キッセイコムテック社）をマウスの背部皮下に埋め込み、毒素接種後の体温および運動量の推移について継続的な測定を行ったところ、10LD₅₀の毒素を接種したマウス

において体温低下から死亡までの急速な体温の推移を観察することができた。そこで本研究では、複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの時間が異なる場合の体温の推移を nano tag で測定して、その情報から人道的エンドポイントの設定を試みた。また、nano tag による継続的な温度測定中に直腸体温も測定して比較し、nano tag による測定温度が直腸温を反映しているのかを確認した。更に、体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線体温計を用いて実施することが想定されるため、nano tag による測定温度とヒト用非接触型体温計による測定温度との相関性および温度差について比較検討した。

B. 研究方法

ボツリヌス毒素接種後の経時的な体温・運動量測定

ddY マウス（4 週齢，♀，N=2）を用いて実験を行った。nano tag の背部皮下への埋め込みは、3 種混合麻酔薬（塩酸メドミジン+ミダゾラム+酒石酸ブトルフェノールの混合液、1 匹あたり 0.1mL/体重 10 g、腹腔内投与）による麻酔下で行った。マウスの背面の皮膚を切開（1cm 程度）し、nano tag のアンテナ部分が外側になるように皮下に埋め込んだのちクリップで縫合した（図 1）。埋め込み後、nano tag により経時的な体温と運動量の記録を開始した。翌日、0.5LD₅₀、1 LD₅₀、2 LD₅₀、3 LD₅₀、4 LD₅₀ の 5 段階に希釈した A 型ボツリヌス毒素を腹腔内投与（0.5mL/マウス）し、死亡するまで、あるいは最大 2 日間観察を続けた。死亡に至るま

での症状の変化を記録し、体温の変化と照合することにより、体温低下と症状進行・死亡の関係を解析した。



図1. nano tag を皮下に埋め込んだマウス

各種条件下における nano tag、非接触赤外線体温計および直腸体温計による体温測定

ddY マウス (6 週齢, ♀, N=5) を用いて実験を行った。体温計はヒト用非接触赤外線体温計 DT-8806H (CEM) と小動物用直腸プローブを取り付けた環境ロガー AD-1687 (A&D) を使用した。マウスの剃毛はせず、ヒト用非接触赤外線体温計 (物体温度測定モード) により腹部皮膚の温度を、環境ロガーにより直腸の温度を 3 種 (無処置、37°C 生理食塩水投与による加温、エタノール投与による低体温誘発) の条件下で測定した。nano tag は上記と同様に背部皮下に埋め込み、5 分間隔で継続的な温度測定を行った。

マウスの加温処置は 37°C に加温した生理食塩水を腹腔内投与 (0.75mL/30g 体重) することにより行い、低体温の誘発は 4g/kg の用量でエタノールを腹腔内投与 (生理食塩水中 16%w/v、0.75mL/30g) することにより行った。各処置後 1 時間までは 10 分ごとに測定、以降は 2, 3, 4, 5, 7 時間ごとに測定した。

(倫理面への配慮) 本実験は国立感染症研究所動物実験委員会による審査、所長の承認を得て行った (承認番号 122126, 122177)。ボツリヌス接種実験は人道的エンドポイント設定のための知見を得る実験のため、あらかじめ人道的エンドポイントを設定することはできなかった。

C. 研究結果

ボツリヌス接種試験における動物の体温推移

毒素接種後のマウスの運動量と体温の変化を図 2 および図 3 に示した。マウスは活発な運動と休息を周期的に繰り返し (黒縦棒グラフ)、そのパターンは接種した毒素量と関係なくどのマウスでもほぼ類似していた。毒素接種 22 時間後の観察時には 2~4 LD₅₀ の毒素を接種したマウスおよび 1LD₅₀ の毒素を接種したマウスのうちの 1 匹の計 7 匹が死亡していた。これらのマウスは接種後約 11-17 時間で死亡したと考えられた。死亡に先立ち、接種 5~6 時間後から著しい運動量の減少が認められた。ボツリヌス毒素による弛緩性の麻痺が運動量の計測値に反映されたと考えられる。運動量の低下とともに接種後 10 時間後までに平均 5°C 程度の体温低下が観察された (図 2)。

毒素接種 48 時間後の観察時には 0.5 LD₅₀ の毒素を接種したマウスおよび 1LD₅₀ の毒素を接種したマウスのうちの 1 匹の計 3 匹が死亡していた。これらのマウスでは、接種 7 時間後頃から緩やかな体温および運動量の低下が認められ、23~40 時間後に死亡したと推測された。また、接種 22 時間後の観察時には中~強程度の症状が認められた (図

3)。

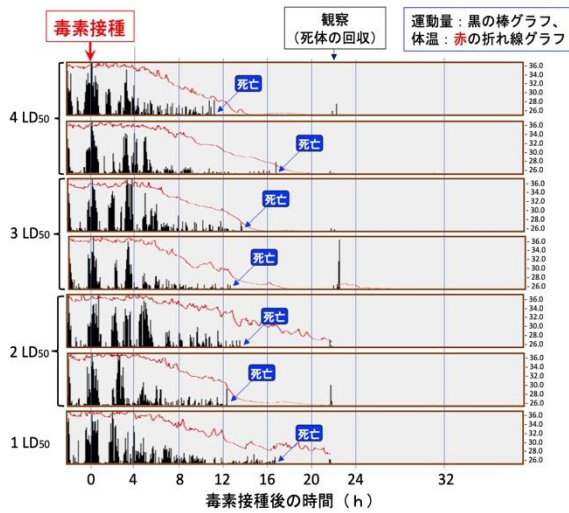


図2. 毒素接種後の体温・運動量の推移 (接種22時間後の観察時に死亡していたマウス)

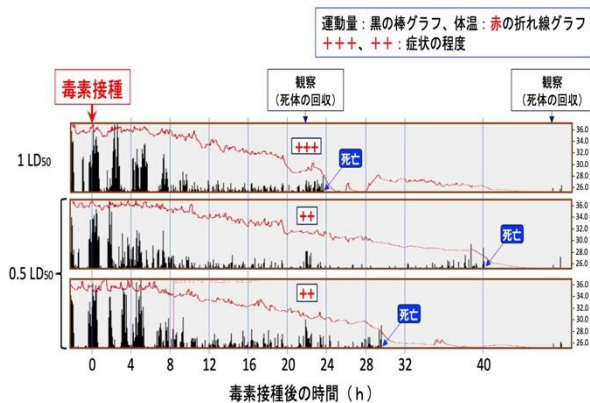


図3. 毒素接種後の体温・運動量の推移 (接種48時間後の観察時に死亡していたマウス)

平均体温の推移に基づく人道的エンドポイント設定の試み

今回得られたマウスの体温推移の結果から人道的エンドポイントの設定を試みた。まず接種 22 時間後に死亡していたマウスを「前期死亡群」、接種 48 時間後に死亡していたマウスを「後期死亡群」として各群の平均体温の推移から体温の閾値(人道的エンドポイントの体温)を推測した。両群において、平均体温が 35℃以下になる

と、その後も下がり続ける傾向が認められたが、34.5℃以下になるとその傾向がより強くなったことから 35℃あるいは 34.5℃を体温の閾値として設定可能と推測された(図 4、図 5)。

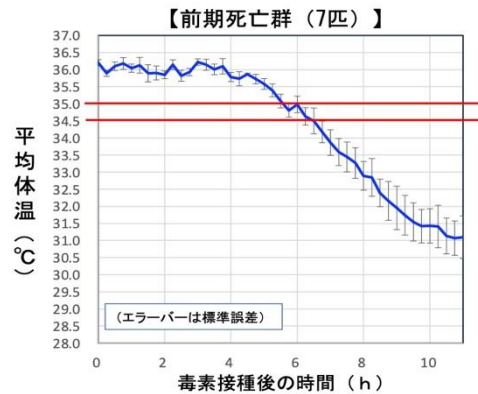


図4. 前期死亡群の毒素接種後の体温推移 (平均値±SE)



図5. 後期死亡群の毒素接種後の体温推移 (平均値±SE)

体温閾値以下になるタイミング(接種後の時間)が両群で異なっていたため、体温が閾値以下になる各群の匹数を接種後の時間ごとにカウントし、体温を測定するタイミングを検討した。その際、前期死亡群では接種後 11 時間後までに死亡したマウスがいたため、前期死亡群の測定時間は接種後 11 時間以内に設定する必要があることを考慮した。体温閾値を 35℃に設定した場合、前期死亡群は

接種後 8 時間以降では全マウスが閾値以下であったが、後期死亡群でも 11 時間後まででは 1~2 匹が該当し、対象外の多くのマウスを処分してしまうリスクがあると考えられた。体温閾値を 34.5℃に設定した場合、前期死亡群は接種後 8 時間以降では全マウスが閾値以下であったが、後期死亡群でも 11 時間後まででは 1 匹が該当し、対象外のマウスを処分する可能性は残された。体温閾値を 34℃に設定した場合、前期死亡群は接種後時間以降ではほぼすべてのマウスが閾値以下 (8, 9 時間後に各 1 匹が閾値以上) であり、後期死亡群は接種後 10 時間までであれば閾値以下に体温が下がることはほぼなかった (図 6)。

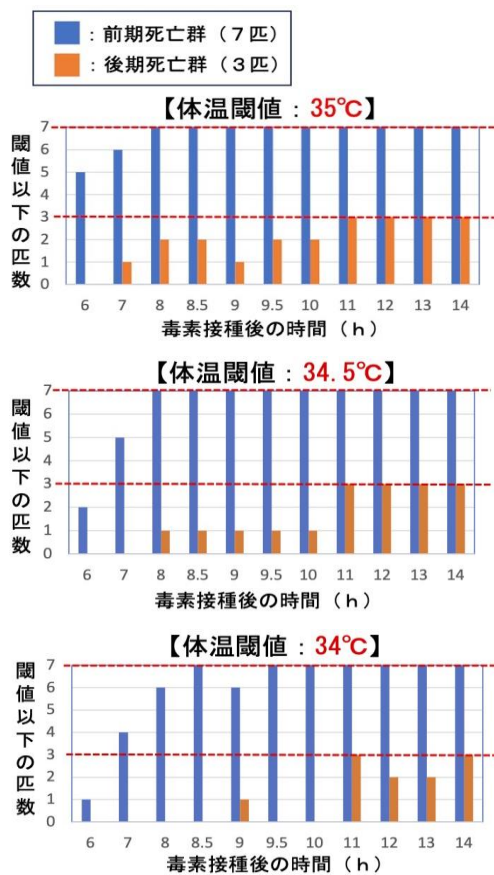


図6. 各毒素接種後の時間における体温閾値以下に達したマウスの匹数

nano tag、非接触赤外線体温計および直腸体温計による測定温度の比較

各体温計で測定した温度はいずれの条件下でも同様のパターンで推移し、直腸温度、nano tag、非接触体温計の順に温度が高いことが確認された (図 7~9)。

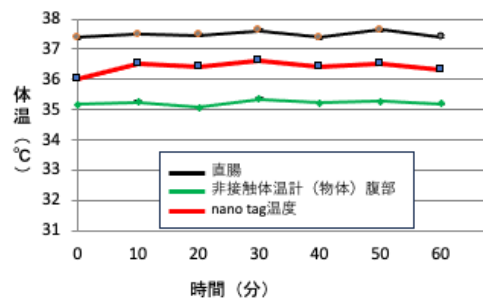


図 7. 無処置マウスの体温推移 (平均値, N=5)

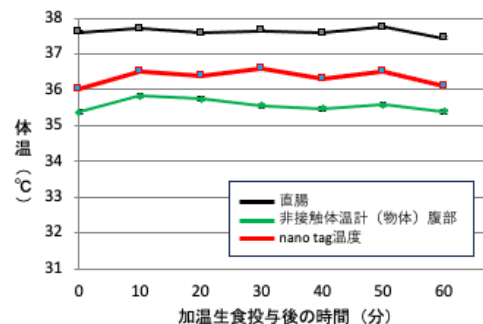


図 8. 加温生理食塩水投与後の体温推移 (平均値, N=5)

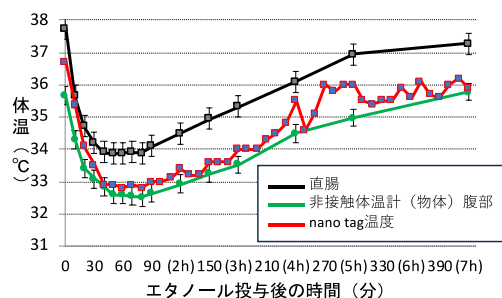


図 9. エタノール誘発低体温の推移 (平均値±SD, N=5)

無処置および加温生理食塩水投与後の温度では、nano tag の温度は非接触体温計の温度より 1℃程度高かった。また、非接触赤外線体温計の温度は、直腸の測定温度より 2

度程度低かった。エタノール誘発低体温 (図 10, 図 11) では、nano tag 温度は、それぞれ直腸温度 ($R^2=0.94$) にも非接触体温計による腹部皮膚温度の物体モード ($R^2=0.90$) にも高い相関を認めた。

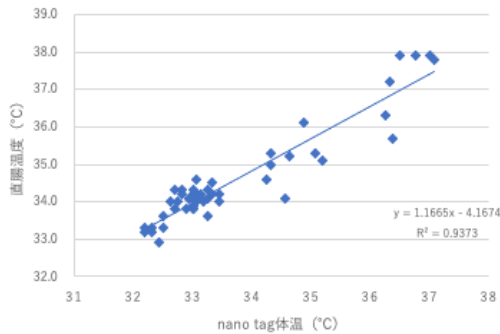


図 10. エタノール投与後の nanotag 温度と直腸温度の相関性 (測定点=50)

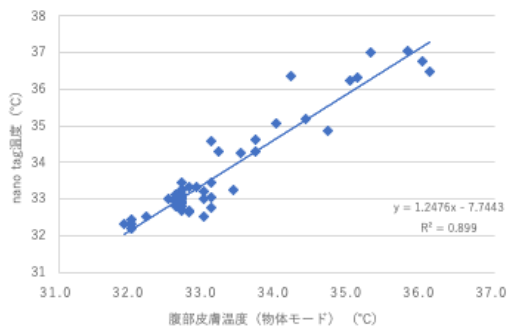


図 11. エタノール投与後の nanotag 温度と腹部皮膚温度の相関性 (測定点=50)

D. 考察

本研究では、ボツリヌス毒素による致死的試験における人道的エンドポイントの設定について検討した。これまでに、「日単位」「時間単位」での死亡予測を検討したが、より正確な死亡予測のためには時間間隔をおいた定点での体温測定では情報が不十分なため、nano tag をマウスの背部皮下に埋め込み、毒素接種後の体温および運動量の推移

について継続的に測定し、体温推移から人道的エンドポイントの設定を試みた。0.5LD₅₀、1 LD₅₀、2 LD₅₀、3 LD₅₀、4 LD₅₀ の毒素を接種したマウスにおいて、接種後 22 時間までに死亡するマウス (前期死亡群) と接種後 48 時間後までに死亡するマウス (後期死亡群) の 2 パターンが認められたため、各群における人道的エンドポイントの設定を試みた。前期死亡群では「接種 8~9.5 時間後の体温が 34°C 以下」または「接種 8~9.5 時間後の体温が 34.5°C 以下」と設定し、後期死亡群では「接種 11 時間以降の体温が 35°C 以下」と設定することができた。しかし、前期死亡群においては人道的エンドポイントの対象とすべきマウスの見落としや対象外のマウスに対する人道的エンドポイントの誤適用というリスクが残された。今後、更にサンプル数を増やしてこのようなリスクを軽減できれば、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能と思われる。また、毒素接種後、死亡するまでの時間により体温低下の推移パターンが異なる場合でも、複数回の体温測定を行うことでほぼ適切に人道的エンドポイントを適用できると考えられた。ただし、今回設定した人道的エンドポイントはあくまでも今回得られた体温推移のパターンに限られるものであり、ボツリヌス毒素の種類や濃度によっては今回のパターンに当てはまらない可能性が十分考えられるので、異なる体温推移のパターンについて検証する必要があると思われた。

nano tag による測定温度が直腸温を反映しているのか確認したところ、非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は直腸温より 1°C 程度低いことが確認された。また、nano tag による測定温度は非接触赤外線体

温計（物体モード）とも非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は 1℃程度高いことが確認された。体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線体温計を用いて実施することが想定される。そのため、nano tag とヒト用非接触赤外線体温計による測定温度に相関性が認められたことは有益な情報であり、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合でも、体温閾値を 1℃下げることによって nano tag による測定温度に基づいて設定した人道的エンドポイントを適用できると考えられた。

E. 結論

複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの時間が異なる場合の体温の推移を nano tag で測定して、その情報から人道的エンドポイントの設定を試みた。毒素接種後、毒素濃度により死亡するまでの時間により体温低下の推移が異なったが、毒素接種 22 時間後までに死亡する群と 48 時間後までに死亡する群に分けることで各群の人道的エンドポイントを設定することが可能であった。また、複数回の体温測

定により人道的エンドポイントをほぼ適切に適用できることが示唆された。ただし、人道的エンドポイントの対象とすべきマウスの見落としや対象外のマウスに対する人道的エンドポイントの誤適用というリスクがあるため、更にサンプル数を増やしてこのようなリスクを軽減できれば、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能と思われた。

体温を指標とした人道的エンドポイントの適用はヒト用非接触赤外線体温計を用いて実施することが想定されるが、nano tag による測定温度は非接触赤外線体温計（物体モード）と非常に高い相関を示し、nano tag の測定温度は非接触赤外線体温計の測定温度より 1℃程度高いことが確認されたため、ヒト用非接触赤外線体温計を用いる場合は、人道的エンドポイントの体温閾値を 1℃下げることが必要だと考えられた。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

不活化ウイルスワクチンの国家検定の見直し

研究分担者 伊藤 睦代 国立感染症研究所 ウイルス第一部
研究協力者 河原 円香 国立感染症研究所 ウイルス第一部
仲山 紀子 国立感染症研究所 ウイルス第一部

研究要旨：狂犬病ワクチンは致死率 100%の狂犬病の発症を予防する唯一の手段である。日本は狂犬病清浄国であるが、渡航用のワクチンとして大変重要である。ワクチンの力価試験は現在動物を用いた方法が実施されているが、動物愛護の観点から改善が求められている。そこで、動物を用いない力価試験法である抗原 ELISA について、欧州医薬品品質部門（EDQM）との共同研究を行った。その結果、試供された 10 種類の試験品において、安定的な値を得ることが出来た。今後国内流通品において本方法を実装可能かについての検討を行いたい。

A. 研究目的

狂犬病は狂犬病ウイルスによる人獣共通感染症であり、世界では 59,000 人のヒトが狂犬病により亡くなっていると推定されている。ヒトは狂犬病を発症した動物に咬まれたり、エアロゾルによる暴露を受けたりして感染し、発症した場合、その致死率はほぼ 100%となる。一方、感染疑いの動物による咬傷を受けた後であっても、1~3 か月に及ぶ長い潜伏期を利用してワクチン接種を行うことにより、発症を防ぐことが出来る（暴露後免疫）。また、通常のワクチンと同じように狂犬病流行国に渡航する前に免疫をつけるためにも使用される（暴露前免疫）。

ヒト用狂犬病ワクチンの力価試験では、マウスを用いた方法が実施されている。本方法は致死的な動物実験であり、動物愛護の観点

より改善が求められている。そこで、本研究では、*in vitro* 力価試験である抗原 ELISA 法を導入することを目的とする。

上記目的のため、我々は欧州医薬品品質部門（EDQM）が行っている、国際共同研究 Biological Standardisation Programme 148

（BSP148）に参加している。これまでに、EDQM のプロトコルに沿って 3 回の試験を行った結果、濃度の濃いサンプルで試験間の力価のブレが大きいという問題があった。そのため、昨年度は安定性を高めることを目的にプロトコルの改善を行った。本年度はその方法によって、3 回の試験を実施し、結果の解析を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 抗原 ELISA : EDQM により提供された

BSP148 Phase 2 Study Protocol に従って行った。特に下記の点については、プロトコルに記載のない部分であったが、EDQM と議論して改善を行った。詳細は令和3年度及び4年度の報告書を参照のこと。

1. 前希釈の希釈率の変更
2. 抗体の反応に用いるプレートシェーカーの変更
3. 使用するピペットの容量の変更
4. ELISA プレートや希釈に用いるチューブ、チップ等の変更
5. DPBS の変更
6. 試薬の管理方法の変更

2. 試験結果の解析：試験結果の解析はEDQM が品質管理試験のために開発したソフトウェア Combi Stats を用いた。解析モデルを Sigmoid curves (In dose)、Transformation を 5-parameters (asymmetric) に設定した。

(倫理面への配慮) 該当なし

C. 研究結果

表 1 に示すようにプロトコルの改善前 (NIID2021) では、試験品 E を除き、Pre-Dilution の希釈率が 80-100 倍と高い試験品 G,H 及び K において特に試験間での値のばらつきが大きくなっていた。一方、改善後 (NIID2023) では各試験間のばらつきが少なくなっていた。実際、表 2 に示すように標準偏差 (SD: Standard Deviation) は試験品 E, F, G, H 及び K において約 3~30 倍の改善が見られた。平均値については改善前、改善後ともに EDQM の平均値と大きな相違はなかった (表 3)。また、図 1 に示すように OD 値の容量反応曲線は高希釈及び低希釈帯での

OD 値がプラトーに達しないサンプルがあるものの、5-parameter ロジスティック回帰で標準品およびサンプルの測定値をプロットしたところ、逆シグモイド曲線が得られた。

D. 考察

これまでに我々は、死亡を待たずに麻ひを指標として安楽殺を行うことで、結果に影響を与えずに苦痛の軽減 (Refinement) が可能であることを示し (Takayama-Ito et al. Biologicals, 2017)、生物基の改訂を行った。しかし、最終的には動物を使用しない方法の導入が望まれるため、本研究により検定試験方法を変更することを目指している。

今回抗原 ELISA によって安定的な力価の値を得ることが出来たことから、今後国内で使用されているワクチンを用いて本方法のバリデーションを行い、力価試験法を変更する道筋が出来たと考えている。現在日本で承認を受けている狂犬病ワクチンは、KM バイオロジクス (KMB) 社製の国産品と 2019 年から輸入が開始されたグラクソスミスクライン (GSK) 社製のラビピュールの 2 つである。しかし、2018 年から KMB のワクチンの製造は停止しており、今後再開の見込みは立っていないことから、ラビピュールについての検討を行う予定である。

E. 結論

動物を用いない狂犬病ワクチンの力価試験法である抗原 ELISA について、EDQM との共同研究により試供された 10 種類の試験品において、安定的な値を得ることが出来た。今後国内流通品において本方法を実装可能かについての検討を行いたい。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

	Pre-Dilution (times)	NIID 2021			NIID 2023			IU/mL
		1st	2nd	3rd	4th	5th	6th	
SampleA	50	6.21	6.06	6.01	6.26	6.20	5.97	
SampleB	100	14.38	13.32	13.52	14.46	13.55	13.47	
SampleC	50	6.44	6.24	6.26	6.07	5.80	5.41	
SampleD	50	7.04	6.66	6.58	7.22	6.71	6.67	
SampleE	50	8.09	9.49	7.58	7.28	7.39	7.09	
SampleF	150	31.42	35.48	29.09	29.84	29.39	27.76	
SampleG	80	14.34	9.09	7.78	9.89	9.25	9.65	
SampleH	150	18.26	26.78	49.07	27.56	26.59	21.43	
SampleI	50	7.01	7.02	6.65	6.61	5.98	6.27	
SampleK	100	14.40	14.86	22.56	13.18	13.32	13.49	

表 1：プロトコル改善前(NIID2021)及び改善後(NIID2023)のワクチン力価
太字は平均値+3SD 以上の外れ値を示す。

SD	NIID 2021	NIID 2023
SampleA	0.10	0.15
SampleB	0.56	0.55
SampleC	0.11	0.33
SampleD	0.24	0.30
SampleE	0.99	0.15
SampleF	3.23	1.09
SampleG	3.47	0.32
SampleH	15.91	3.29
SampleI	0.21	0.32
SampleK	4.59	0.15

表 2：プロトコル改善前(NIID2021)及び改善後(NIID2023)の標準偏差の比較

AVERAGE

	NIID 2021	NIID 2023	EDQM Ph1	EDQM Ph2.
SampleA	6.1	6.1	6.0	5.9
SampleB	13.7	13.8	15.0	13.8
SampleC	6.3	5.8	6.8	6.2
SampleD	6.8	6.9	6.7	6.7
SampleE	8.4	7.3	8.0	7.8
SampleF	31.9	29.0	29.3	28.6
SampleG	10.0	9.6	10.0	9.7
SampleH	28.8	25.0	22.0	24.5
SampleI	6.9	6.3	7.3	7.1
SampleK	16.9	13.3	14.6	13.8

表 3：プロトコル改善前(NIID2021)及び改善後(NIID2023)の平均値と EDQM の行った Phase1（開発施設での結果）及び Phase2（協力施設 12 か所）のワクチン力価の比較

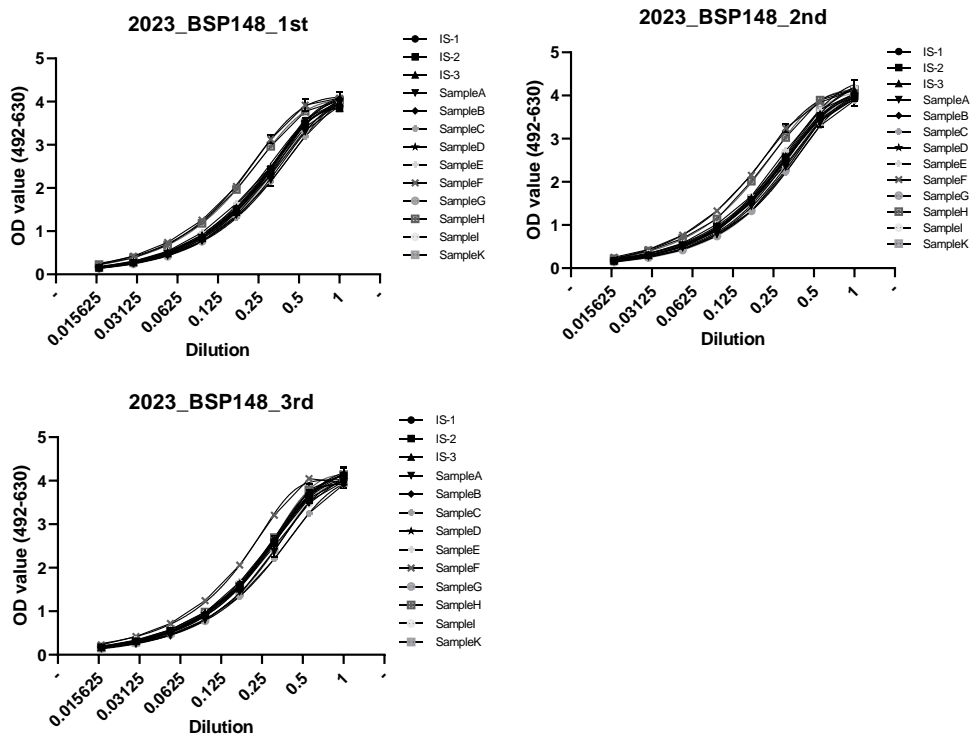


図 1：プロトコル改善後(NIID2023)の ELISA 試験の OD 値の推移

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

「細菌ワクチンの国家検定の見直し」

ジフテリアトキソイド無毒化試験の 3Rs 対応試験法の開発

研究分担者 妹尾 充敏 国立感染症研究所 細菌第二部第三室 室長
研究協力者 岩城 正昭 国立感染症研究所 安全実験管理部 主任研究官
嶋崎 典子 国立感染症研究所 ウイルス第三部 主任研究官

研究要旨：ジフテリアトキソイド無毒化試験は、モルモットおよびウサギを使用する方法で実施されており、国家検定ではウサギを用いた試験を行なっている。本研究では、この試験法の代替法として、動物実験の 3Rs に対応した試験法を開発することを目的としている。昨年度、培養細胞を用いた試験法の検討を行い、その結果、感度はウサギを用いた試験法の約 10 倍、アジュバントであるアルミニウムが培養細胞に大きな影響を及ぼすことはなく、判定においても一定の希釈で対応できることが明らかになったことから、本法は 3Rs に対応したジフテリアトキソイド無毒化試験として、ウサギを用いた試験法の代替法となり得ることが示された。次に、本法の生物学的製剤基準への収載を目指し、ワクチン製造所に協力を依頼し、共同研究契約を締結した。共同研究では、各メーカーでの本法の評価、ワクチン製造時のアクシデントを想定し、人為的にトキソイド化が不完全なトキソイド（毒性残存している検体）を調製し、本法で検出可能かを調べる予定にしている。また、ジフテリアトキソイド力価試験における培養細胞の生死判定について、客観性の高い方法に変更するため、2 種類の方法について現行法と比較検討した。

A. 研究目的

ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイドは、有効性を確認するための力価試験、安全性を確認するための無毒化試験が国家検定として実施されている。力価試験では、ジフテリアトキソイド、破傷風トキソイド共にマウス、無毒化試験では、ジフテリアトキソイドはウサギ、破傷風トキソイドはモルモットを使用することから、動物実験の 3Rs に対応した試験法の開発が必要とされている。本研究では、ジフテリアトキソイド無毒化試験について、ウサギの代替として発育鶏卵もしくは培

養細胞を用いることを考えた。孵化前の発育鶏卵は動物個体ではないと考えられていることから、発育鶏卵を用いてジフテリア毒素の毒性を検出する方法を開発すること、もしくは培養細胞を用いた方法を開発することで無毒化試験法を 3Rs に対応した方法で実施できるようになると考えている。また、ジフテリアトキソイド力価試験では、培養細胞の生死を判定する必要があるが、現在は主観性の高い方法で行っていることから、客観性の高い方法へ変更する必要があるため、複数の方法を用いて比較検討した。

B. 研究方法

1. <ジフテリアトキソイド無毒化試験>

-ワクチン製造所との共同研究契約締結-
2022年9月8日に国内でジフテリアトキソイドを製造しているメーカーと会議を開催し、今後の品質管理における動物実験の3Rs対応について、また、Vero細胞を用いた無毒化試験のin vitro法について説明し、共同研究への参加の可否についてアンケート形式で回答を得た。2023年2月16日に再度会議を開催し、Vero細胞法の詳細説明、評価方法、トキソイド化が不完全なトキソイドの調製について説明し、共同研究の中で実施可能かについて回答を得た。

2. <ジフテリアトキソイド力価試験>

-Vero細胞生死判定法の比較-
生物学的製剤基準、ジフテリアトキソイド、3.2.5力価試験、マウスを用いる血中抗毒素価測定法に準じて行った。血中抗体価の測定には、培養細胞法を用いた。Vero細胞の生死判定には、現行法である顕微鏡での目視の他、3次元培養細胞イメージング装置 Cell3iMager duos (SCREENホールディングス)、および細胞増殖/細胞毒性アッセイキット Cell Counting Kit-8 (同仁科学研究所)を用いた。

(倫理面への配慮)本研究における動物実験は、国立感染症研究所動物実験委員会で承認された後、実施した。(承認番号122201)

C. 研究結果

1. <ジフテリアトキソイド無毒化試験>

共同研究を行うに際し、ワクチン製造所の意向を確認するため、アンケートでは、参加の可否に加え、トキソイド化が不完全なトキソイドの調製やVero細胞を用いた試験の実施の可否などについても実施可能との回答を得た。また、その後の会議において、トキソイド化が不完全なトキソイドの調製方法などについて詳細に議論した。

2. <ジフテリアトキソイド力価試験>

血中抗体価の算出に用いるVero細胞の生死判定について、現行法である顕微鏡での目視、イメージング装置 Cell3iMager duos、細胞毒性アッセイキット Cell Counting Kit-8の3種類の方法を用いて実施し、結果を比較した。まず、標準沈降ジフテリアトキソイドを用いて、各希釈濃度について、値を比較したところ、目視とイメージング装置の結果はほぼ同一であったのに対し、細胞毒性アッセイキットでは、高希釈倍率では他の2法と変わらない値であったが、低希釈倍率では、差が明確であった(図1)。

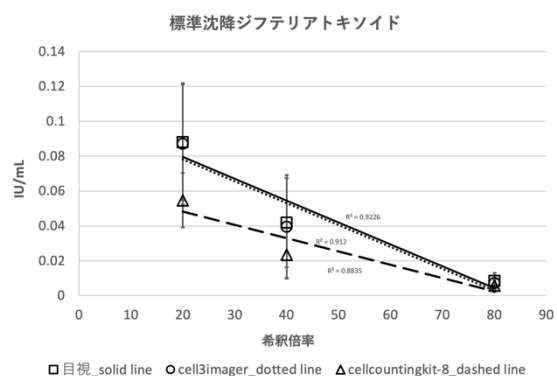


図1. 20, 40, 80倍希釈した標準沈降ジフテリアトキソイドで免疫したマウスの血中抗体価を目視(□)、イメージング装置(○)、

細胞毒性アッセイキット (△) でそれぞれ算出。ddY マウス、SPF、メス、5 週齢、一群 10 匹。

次に、実際の製剤である 2 種混合トキソイド (DT) と 4 種混合ワクチン (DPT-IPV) を購入し、3 種類の方法を用いて力価算出し、比較した。その結果、いずれの製剤においても、3 種類の方法全てで有意差はないことが示された (図 2)。

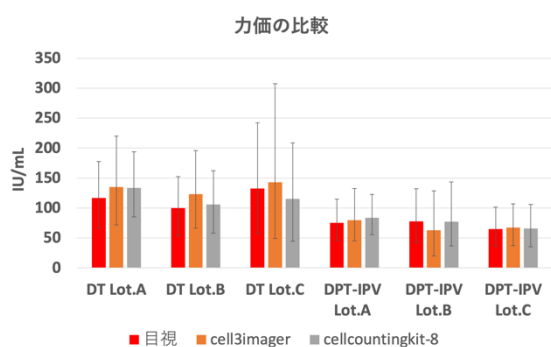


図 2. 2 種混合トキソイド (DT) および 4 種混合ワクチン (DPT-IPV) に含まれるジフテリアトキソイドの力価を目視 (赤)、イメージング装置 (橙)、細胞毒性アッセイキット (灰) で算出。各 3 ロットで実施。

D. 考察

ワクチン製造所との共同研究を行うため、契約書案の検討から締結まで 1 年という長時間を要したが、少なくとも共同研究が開始できる状態になり、次の段階に進むことが可能となった。

ジフテリアトキソイド力価試験では、Vero 細胞の生存率を用いて免疫したマウスの血中抗体価を算出している。本法は数十年前に方法が確立されているため、今でも当時の方法が用いられていることが多く、本試験においても Vero 細胞の生死判定は、顕微鏡を用いた目視で行っている。様々な方法が開発されている現在の状況において、目視で判定するという主観性の高い方法を継続することは好ましいとは言えないため、客観性の高い方法と比較したところ、現行法から客観性の高い方法へ移行することは可能であることが示された。

E. 結論

ジフテリアトキソイド無毒化試験の in vitro 法の開発について、共同研究を開始できる環境になったため、今後さらなる展開を望むことができる。

ジフテリアトキソイド力価試験について、現行法は主観性が高く、それゆえ、手技の習得に時間を要していたが、客観性の高い方法へ移行することが可能であることが示されたため、今後、これらの方法を国家検定などで使用できる環境を整える予定である。

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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究

分担研究報告書

国家検定の試験頻度等の見直し及び試験検査機関の品質システムに関する検討

研究分担者	落合 雅樹	国立感染症研究所	品質保証・管理部	室長
研究協力者	石井 孝司	国立感染症研究所	品質保証・管理部	部長
	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
	湯浅 磨里	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
	木所 稔	国立感染症研究所	品質保証・管理部	主任研究官
	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
	佐々木裕子	国立感染症研究所	品質保証・管理部	主任研究官

研究要旨：ワクチンの国家検定へのリスク評価に基づく一部ロット試験の導入に向けて、過去のリスク評価結果を考慮した上で直近（令和5年9月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目を選定した。また、リスク評価シートの見直しを検討した。国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入されることにより、製造技術や品質管理手法の向上、新規モダリティの製品の導入などに応じた国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。

試験検査機関の品質システムについて検討した。PIC/S や WHO において ISO 17025 が実質的な国際標準となっている現状を踏まえると、感染研としても ISO 17025 の認定を取得することが望ましいと考えられた。認定取得の過程で見いだされた課題等への取組みは、品質システムの強化と向上にも資すると期待できる。

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、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、我が国に流通するワクチン等の品質確保において重要な医薬品規制制度の一つである一方、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、ワクチン等の迅速・安定供給の障壁になっているとの指摘もある。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製造ロットごと実施しているが、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（以下、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がされており、こうした方式は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。過去の国家検定制度に関する研究（「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構築のための研究」等）において、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検討が行われてきたが、一部の製造業者で製造販売承認書と製造実態との齟齬が認められた事例等、医薬品に対する信頼を揺るがす重大な事例が発覚したことなどが逆風となり、国家検定において検定機関が実施する試験を従来の全ロット試験から一部ロット試験に移行するといった規制緩和については、実運用化が進められなかった側面がある。しかしながら、上記法令違反事例の後、製造販売承認書と製造実態との整合性に係る一斉点検や無通告査察を含めた GMP の強化等がなされ、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（以下、SLP）の審査が平成 24 年 10 月から導入され、ワクチン製品の品質等に係る情報が十分に蓄積されていることや、新型コロナウイルス感染症の蔓延を契機に新規モダリティのワクチンが次々と開発されていることなど、昨今の状況の変化に鑑みて、検定機関のリソース配分の最適化を含めた国家検定の合理化を早急に進める必要があると考えられた。したがって、本研究においては、国家検定の試験成績、SLP の

情報等を活用したワクチンのリスク評価に基づく一部ロット試験導入の実運用開始に向けた検討を行う。

また、国家検定やその他の公的な試験検査を担当する公的試験検査機関における品質システムをめぐる国内外の状況を整理し、国際的な標準に照らして、感染研としてあるべき姿や改善すべき事項等について検討する。

B. 研究方法

1. ワクチンのリスク評価について

国家検定の試験成績、SLP の情報等を活用したワクチンのリスク評価に基づく一部ロット試験制度の実運用開始に向けて、令和 5 年 10 月に各ワクチンの製剤担当部署に令和 5 年 9 月末までを評価対象期間としてリスク評価シートへの単純リスクスコア等の記入を依頼し、リスクスコアの集計・解析を試行し、ワクチンのリスク区分（試験頻度の設定）及び試験頻度を減じる対象ワクチン（品目）について検討した。また、今回のリスク評価を踏まえて、リスク評価シート（評価項目及び指標等）の見直しを検討した。なお、リスク評価シートは、適用、本質、製造実績、試験実績、SLP 審査を評価対象としている。

2. 試験検査機関の品質システムに関する検討

公的試験検査機関の品質システムに求められる要件について、国内外の考え方を整理し、各国の試験検査機関の対応状況について調査した。さらに、試験・校正機関の品質システムの国際規格である ISO/IEC

17025:2017 (JIS Q 17025:2018)「試験及び校正を行う試験所の能力に関する一般要求事項」(以下、ISO 17025)について、(公財)日本適合性認定協会(以下、JAB)にエンドトキシン試験での認定を申請することとして準備を進め、第二段階審査を受けた。また、審査の過程において審査員から求められた是正処置への対応を行った。

(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

1) リスクスコアの集計・解析及び評価

リスク評価に基づく一部ロット試験導入に向けて、令和5年10月に各ワクチンの製剤担当部署に令和5年9月末までを評価対象期間としてリスク評価シートへの単純リスクスコア等の記入を依頼し、リスクスコアの集計・解析結果に基づき国家検定の試験頻度を減じる対象ワクチン(品目)等について検討した。

今回のリスク評価では、過去3回分のリスク評価結果等を比較検討に加え評価を実施した。リスク評価項目の単純リスクスコア及び重要度に基づいて、各製剤の全体リスクスコア(各評価項目の単純リスクスコアを重要度に基づき重み付けしたリスクスコアを合計したスコア)を計算した。また評価項目の内容に従って「製剤固有部分」と「製造及び試験実績部分」のリスクスコアに分けて、各製剤の特性を考慮してリスク

評価を実施した。各ワクチンの「製剤固有部分」と「製造及び試験実績部分」のリスクスコアを等価に評価するために、試験頻度を減じる対象として全体リスクスコアが低いワクチンを選択する際に、これらの品目がグラフの左下(低リスク側)に来るように基準線を設定した(図1)。評価対象期間における各ワクチンのリスクスコアの集計結果を評価し、試験頻度を減じる対象として全体リスクスコアの低いものから15ワクチンを候補として選定した。ただし、すでに供給停止となっている1ワクチン、すでに試験項目がすべて削除されている1ワクチン、新規承認後の経過年数が3年未満かつ出検ロット数が20ロット未満であり、評価データが十分に蓄積していない3ワクチン、標準対象期間に国家検定で実施する試験方法の本質的な変更があった1ワクチンは、試験頻度を減じる対象から除外し、残りの9ワクチンについて、過去のリスク評価結果に基づき検証を行った。これらのワクチンのうち7ワクチンは、過去のリスク評価においても常に全体リスクスコアが低く、試験頻度を減じる対象として選定された実績があるワクチンであった。2ワクチンは、今回の評価により初めて試験頻度を減じる対象として選定されたが、過去のリスク評価において、常に全体リスクスコアが上位15以内であり安定して低リスクと評価されてきたことを確認した。

以上により、試験頻度を減じることが可能なワクチンとして、9ワクチンを選定し、試験頻度を50%とすることが可能と評価した。なお、国家検定の試験頻度を減じる対

象は最終段階のみとし、出検数が少ない品目については最低でも年間1ロット（出検数が0ロットの場合を除く）の試験を実施する必要があると考えた。

2) リスク評価シートの見直し

今年度もリスク評価の信頼性を高めるため、リスク評価シートの見直しを検討した。見直し内容を以下に示す。カバーページに評価の対象となったロット数の記載欄を設ける。令和4年度と令和5年度の評価対象期間は、厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課（監麻課）が作成していた「ワクチンのリスク評価に基づく国家検定の一部ロット試験方式の運用について」（運用通知）案に従い、9月末までとしていたが、12月末まで（年区切り）あるいは3月末まで（年度区切り）にするのがよいか、実導入に向けて監麻課と協議が必要と考えられた。また、対象期間を現在の受付日ベースから判定日ベースに変更することについて検討したが、前述した評価対象期間と合わせて引き続き検討することとした。製造実績の平均ロット数の小数点以下の扱いを注記に追加する。試験実績の再試験と試験不成立が重複してカウントされないよう試験不成立は再試験の項目では対象としないことを注記に追加するとともに、再試験の発生状況と試験不成立の発生状況を算出する方法を注記に追加する。加えて、これらの評価項目の指標（配点区分）を変更する（以上／超、以下／未満の変更のみで指標値の変更はない）。直近1年間の評価項目について、直近1年間の出件数が「0」の場合の扱いを注記に追加する。本質の添加物については、添加物の一

覧を作成し、指標の見直しを検討する。

2. 試験検査機関の品質システムに関する検討

医薬品査察協定及び医薬品査察共同スキーム（Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Cooperation Scheme; 以下、PIC/S）は、医薬品分野におけるGMP基準の国際調和、及びGMP査察における相互信頼の維持と査察品質の向上を目的とした査察当局間の非公式な協力組織である。法的な拘束力はないが、事実上のGMPの国際標準として広く認知されており、日本は2014年に加盟を果たした。PIC/Sのガイドラインでは、GMP査察当局の要件として試験検査機関へのアクセスを確保することを求めており、その委託試験検査機関は、国際的に認知された基準に従ってクオリファイされていなければならない。「国際的に認知された基準」としては、ISO 17025が例示されている。日本ではPIC/Sに加盟するにあたり、PIC/Sの求める枠組みにしたがってGMP調査要領（最新版は令和4年3月17日薬生監麻発0315第5号により通知）を改正し、その別添2で「医薬品等の試験検査を実施する公的認定試験検査機関に求められる要件について」（以下、公的認定試験検査機関の要件）が示されている。日本がPIC/Sに加盟する際には、公的試験検査機関の一つとして感染研もPIC/S査察団の調査を受け、ISO 17025の枠組みや公的認定試験検査機関の要件に沿った品質システムを運用していることを説明した。

世界保健機関（以下、WHO）は、各国の薬事規制システムが、医薬品の品質、安全性及び有効性を確保する上で重要であり、世界保健の推進と進歩において必要不可欠な役割を果たしていることに鑑み、2014年のWHO総会決議（WHA Resolution 67.20）に基づいて、各国の薬事規制システムを評価してその強化に役立てるためのツール Global Benchmarking Tool（以下、GBT）（<https://www.who.int/tools/global-benchmarking-tools>）を作成した。GBTは、「承認」や「査察」などの規制分野ごとに9つのパートに分かれている。その中に Laboratory Testing と NRA Lot Release があり、国家検定を担当している感染研は、この2つのパートの評価対象となる。どちらの規制活動についても、その実施に当たり適切な品質システムを運用することが必須とされているが、参照すべき国際規格としては、Laboratory Testing では ISO 17025 が、NRA Lot Release では ISO 9001 が例示されている。さらに、EU 領域内では、ロットリリース（Official Control Authority Batch Release）において、領域内の国々に存在する公的試験機関である OMCL（Official Medicine Control Laboratory）がネットワークを形成し、お互いの試験結果を受け入れることにより、不要な試験の繰り返しの回避、リソースの最適化が図られているが、各 OMCL の ISO 17025 基準への準拠が当該ネットワークの礎となっている。

次に、各国の公的試験検査機関（National Control Laboratory; 以下、NCL）における、

品質システムの運用状況について検討した。各国の規制当局（National Regulatory Authority; 以下、NRA）や NCL との間で、ワクチン等の生物学的製剤の品質情報や技術情報を共有し、ワクチン等の国際的な流通と利用を促進することを目的として、WHO に National Control Laboratory Network for Biologicals（以下、WHO-NNB）が設立された。2023年12月の時点で52か国の NRA/NCL が加盟しており、日本は正式に加盟していないものの、オブザーバーとして参加している。WHO-NNB では、各国の NRA/NCL における品質システムの運用状況についても情報共有されており、その中で加盟国の NCL のほとんどが ISO 17025 の認定を取得済みであることが報告されていた。

ISO 17025 の認定を取得するためには、認定機関の審査を受ける必要がある。そこで国内の認定機関であり、生物系の試験の認定に実績のある JAB に認定のための審査を依頼することとした。認定後には、毎年のサーベイランスと原則として4年ごとの再審査を受ける必要がある。認定取得の過程では専門家の審査を受け、その指摘事項に対応して是正処置を講じることにより、品質システムの強化と向上に資することが期待できる。認定は試験法ごとに与えられるが、審査の過程で技能試験（proficiency testing）の結果を提示する必要があり、どの試験法で認定を取得するかについては検討を要する。検討の結果、治療薬・ワクチン開発研究センターが試験担当となっているエンドトキシン試験で認定を申請すること

に決定した。認定申請書に添付が必要な書類のリストは表 1 のとおりであるが、申請時に必要な書類は 1 から 16 までであり、感染研は国立研究機関のため登記事項証明書は不要とされた。17 から 26 については、書類審査により第一段階審査を行うことが妥当と判断された後、実際の審査までの間に提出が求められた。第一段階審査の結果、以下の 2 点について是正処置が求められた。

- ・ 不確かさの評価について
- ・ リスク及び機会への取組みについて

また、**proficiency test** (技能試験) は第一段階審査時にはまだ受けていなかったため、第二段階審査は技能試験終了後に行うとされた。これらの点については是正処置計画を 12 月 21 日に提出して受理された。技能試験は Charles River Singapore の LAL Proficiency Test Program で実施し、2023 年 4 月 18 日に Pass との評価を得た。

第二段階審査は、2023 年 6 月 6 日 (村山庁舎) と 8 日 (戸山庁舎) に行われた。その結果、以下の 3 点について是正処置が求められた。

- ・ JIS Q 17025:2018 に関する内部監査員の教育・訓練について
- ・ エンドトキシン試験の測定不確かさの評価について
- ・ JAB の適用基準等の外部文書の最新版の管理について

すべての指摘に対して是正処置を行った結果、2023 年 9 月 19 日に JIS Q 17025:2018 の基準に適合していることが認められ、認定番号 RTL05120 として試験所認定証が交付された。有効期限は 2027 年 9 月 30 日ま

でであり、その間 1 年に 1 回のサーベイランスが行われる。

D. 考察

1. ワクチンのリスク評価について

国家検定におけるワクチンのリスク評価に基づく一部ロット試験導入の実運用開始に向けて、直近 (令和 5 年 9 月末まで) の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目として 9 ワクチンを選定し、試験頻度を 50%とすることが可能と評価した。

リスク評価シートについては以下の見直しを行うことで、集計作業時の確認を容易にすること、担当者 (製剤) 間の解釈にばらつきが生じることを防ぐこと、直近 1 年間の出検数が「0」の場合にリスクスコアが過小評価される可能性を改善することが期待できる。

- ・ カバーページに評価の対象となったロット数の記載欄を設ける。
- ・ 製造実績の平均ロット数の小数点以下の扱いを注記に追加する。
- ・ 試験実績の試験不成立と再試験が重複してカウントされないように注記を追加する。
- ・ 再試験の発生状況と試験不成立の発生状況を算出する方法を注記に追加する。加えて、これらの評価項目の指標 (配点区分) を変更する。
- ・ 直近 1 年間の出件数が「0」の場合の扱いを注記に追加する。

以下の見直し事項については、引き続き検討することになった。

- ・ 評価対象期間の区切り（12月末まで（年区切り）あるいは3月末まで（年度区切り）にすること（現在は9月末まで）
- ・ 対象期間を現在の受付日ベースから判定日ベースに変更すること
- ・ 本質の添加物について、添加物の一覧を作成し、指標を見直すこと

本研究では、SLP 審査実績が十分に蓄積されたワクチンを対象にリスク評価を検討したが、令和3年7月に新たにSLP 審査が開始されたワクチン以外の製剤（血液製剤、抗毒素製剤、BCG 膀胱内用、精製ツベルクリン、水痘抗原）のうち、BCG 膀胱内用はBCG ワクチンと同様に製造されているため、概ねワクチンのリスク評価シートを使用できると考えられた。ただし、ワクチンのリスク評価シートには治療薬を想定していない評価項目があるため、治療薬用に評価項目を一部見直すことで試行的な評価ができると考えられた。他の製剤へのリスク評価の導入については、各製剤の担当者の意見や今後の検定実績も踏まえて検討を進めることが望ましいと考えられた。また、製品回収の発生状況について、リスク評価へ反映する必要性等を検討するため、次回以降のリスク評価においては製品回収の発生状況を把握することとした。

ワクチンの国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入された後は、低リスクと認められるワクチン（品目）を段階的に拡げていくこと、またリスクが低いと評価された品目については次回以降のリスク評価で再度リスクが低いと評価されれば試験頻度を更に低くすることで、国家検定の

最適化を進められることが期待できる。一方で、承認書等の製造方法と異なる製品の製造、虚偽の製造指図記録・試験記録の作成、不適切な試験の実施といった違反のほか、適切な変更管理、バリデーション、逸脱処理の未実施、安定性モニタリングにおける不適切な処理といった違反が相次ぎ、多くの製造業者が行政処分を受ける状況が続いている。こうした処分を受け、製品の出荷停止や出荷調整が広範に実施され、医薬品の供給不足が生じている。このような状況に鑑みると、国家検定による規制を一律に緩和するのではなく、リスクを評価した上で、リスクが低いと評価された製品は国家検定の試験頻度を減じることができる一方で、リスクが高いと評価された製品あるいは違反等が発覚し行政処分を受けた業者の製品に対しては国家検定で実施する試験頻度を全ロットにするなど、リスクに応じて国家検定を厳格に実施できる柔軟な制度に見直すことが不可欠である。

2. 試験検査機関の品質システムに関する検討

PIC/S や WHO では、いずれもガイドライン等により公的試験検査機関において適切な品質システムを運用することを求めており、ISO の認定取得を要件とはしていないが、ISO 17025 を国際的な標準規格として例示している。また欧州においては ISO 17025 基準に基づく OMCL ネットワークが構築され、ロットリリースにおける試験結果の相互利用が行われている。国家検定（NRA Lot Release）において試験を実施している各国の NCL の多くが、すでに ISO

ISO 17025 の認定を取得済みであることが明らかとなり、国家検定の分野でも、ISO 17025 が実質的な国際標準として広く受け入れられている状況が明確となった。認定を取得していないことは、将来的に、公的試験検査機関としての国際的な評価にとってマイナスとなることが懸念されること、国家検定の信頼性を確保するためには品質システムを運用することが必須であり、ISO 17025 の認定を取得する過程では、品質システムの強化と向上が図られる効果も期待できることから、感染研としても ISO 17025 の認定を取得することが望ましいと考え、取得のための作業を開始した。JAB による書類審査、第一段階審査、第二段階審査の過程で、マネジメントシステム及び試験実施のそれぞれにおいて是正処置が必要と指摘された点の改善を行い、2023 年 9 月に JIS Q 17025:2018 の基準に適合していることが認められ、認定番号 RTL05120 として試験所認定証が交付された。

E. 結論

1. ワクチンのリスク評価について

過去のリスク評価結果を考慮した上で直近（令和 5 年 9 月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じる対象品目を選定した。また、リスク評価シートの見直しを検討した。ワクチンの国家検定にリスク評価に基づく一部ロット試験が導入されることで、国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。

2. 試験検査機関の品質システムに関する検討

PIC/S や WHO において、ISO 17025 が試験検査機関の品質システムの実質的な国際標準となっており、多くの国の公的試験検査機関が認定を取得していることから、感染研としても認定を取得することが望ましいと考え、本年度に認定を取得することができた。認定を取得する過程で見いだされた課題等への取組みは、品質システムの強化と向上にも資することが期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shim SB, Choi CW, Shin JH, Kim JW, Schepelmann S, Jung JH, Chander H, Pujilestari R, Kuramitsu M, Ochiai M, Qi NY, Dimapilis GN, Dung LT, Moon HS, Shin IS. Report on the seventh meeting of national control laboratories for vaccines and biologicals of the WHO Western Pacific and South-East Asia member states. *Biologicals*. 84:101712, 2023 doi:10.1016/j.biologicals.2023.101712
- 2) Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T, Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS. Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2023: Self-sufficiency strategy of plasma-derived medicinal products and regulatory harmonisation. *Biologicals*. 85:101754, 2024

doi:10.1016/j.biologicals.2024.101754

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

H. 謝辞

ワクチンに対するリスク評価の検討、
リスク評価の実施及び試験頻度設定等

にご協力いただいたワクチン検定の担当室長、リスク評価小委員会など関係する先生方、ISO 17025 の審査に多大なご協力をいただいた治療薬・ワクチン開発研究センターの高橋センター長、森山室長及びエンドトキシン試験担当の先生方に深く感謝申し上げます。

図1 国家検定の試験頻度を減じる品目の選定

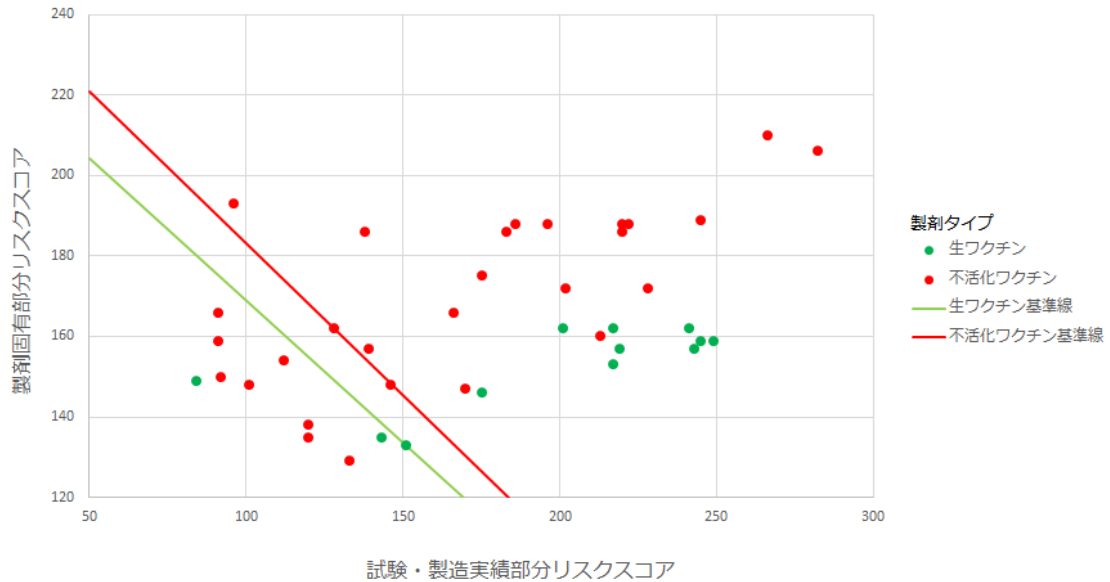
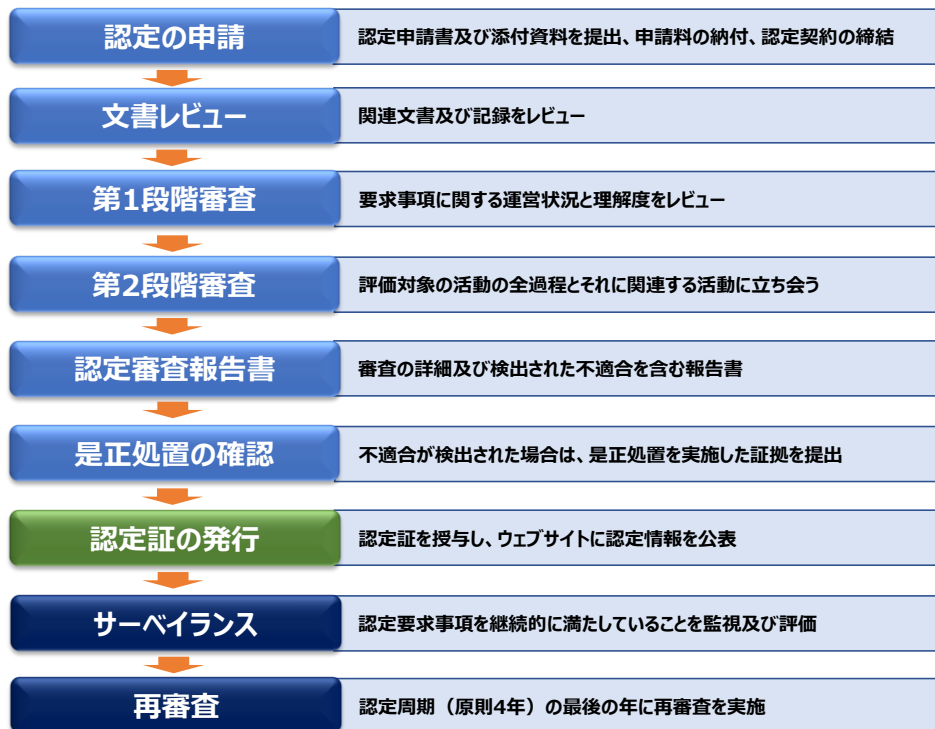


図2 ISO 17025認定までの流れ





試験所 認定証

認定番号 RTL05120

機 関 名 称 : 国立感染症研究所

所 在 地 : 東京都新宿区戸山 1-23-1

貴機関は本協会の下記の基準に適合していることが認められましたので、ここに試験所として認定します。

適 用 基 準 : JIS Q 17025:2018 (ISO/IEC 17025:2017)

認 定 範 囲 : 食品・医薬品試験 (附属書による。)

事 業 所 : 附属書による。

有 効 期 限 : 2027 年 9 月 30 日

初回認定日 2023 年 9 月 19 日

公益財団法人
日本適合性認定協会

理事長

飯塚悦功

飯塚悦功

管理番号 : RTL05120-20230919



認定番号

RTL05120

認定証 附属書

(1/2 頁)

試験所・校正機関の別	試験所
機関名称	国立感染症研究所
機関所在地	東京都新宿区戸山 1-23-1

1)試験を実施する事業所

事業所名称	国立感染症研究所 戸山庁舎	
同 所在地	〒	162-8640
	住所	東京都新宿区戸山 1-23-1
恒久的施設で行う試験か、 現地試験かの別	<input checked="" type="checkbox"/> 恒久的施設で行う試験 <input type="checkbox"/> 現地試験	

認定範囲

分野	M27 食品・医薬品試験
分類コード	M27.A20.2
対象品目	製剤

技術分類コード及び名称	試験対象項目	試験規格／標準作業手順書
B24.01 エンドトキシン 試験法	エンドトキシン	・日本薬局方 一般試験法 4.生物学的試験法/ 生化学的試験法/微生物学的試験法 4.01.エンドトキシン試験法 5.2.比色法 ・生物学的製剤基準 一般試験法 エンドトキシン試験法 ・国立感染症研究所 エンドトキシン試験 標準作業手順書 (SOP No.0804A00E04P001)



認定番号

RTL05120

認定証 附属書

(2/2 頁)

試験所・校正機関の別	試験所
機関名称	国立感染症研究所
機関所在地	東京都新宿区戸山 1-23-1

2) 1)以外の事業所で主たる活動を行う事業所

事業所名称	国立感染症研究所 村山庁舎	
同 所在地	〒	208-0011
	住所	東京都武蔵村山市学園 4-7-1

公益財団法人
日本適合性認定協会

管理番号 : RTL05120-20230919

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
Shim SB, Choi CW, Shin JH, Kim JW, Schepelmann S, Jung JH, Chander H, Pujilestari R, Kuramitsu M, Ochiai M, Qi NY, Dimapilis GN, Dung LT, Moon HS, Shin IS.	Report on the seventh meeting of national control laboratories for vaccines and biologicals of the WHO Western Pacific and South-East Asia member states.	Biologicals	84	101712	2023
Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, Mizukami T, Ochiai M, Samat AA, Mangorangca C, Thi DL, Van HP, Shim SB, Seong SK, Shin IS.	Report for the Eighth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2023: Self-sufficiency strategy of plasma-derived medicinal products and regulatory harmonisation	Biologicals	85	101754	2024
Kanda T, Sasaki-Tanaka R, Ishii K, Suzuki R, Inoue J, Tsuchiya A, Nakamoto S, Abe R, Fujiwara K, Yokosuka O, Li T.-C, Kunita S, Yotsuyanagi H, Okamoto H. and The AMED HAV and HEV Study Group.	Recent advances in hepatitis A virus research and clinical practice guidelines for hepatitis A virus infection in Japan	Hepatology Research	54	4-23	2024

「厚生労働科学研究費における倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告について
(平成26年4月14日科発0414第5号)」の別紙に定める様式(参考)

令和6年5月31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5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。

- 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
- 研究課題名 ワクチン等の品質確保を目的とした国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究
- 研究者名 (所属部署・職名) 品質保証・管理部 部長
(氏名・フリガナ) 石井 孝司

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)
人を対象とする生命科学・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"/>
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"/>
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"/>		<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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 未受講

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。