

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と
国際整合化のための研究

研究代表者 石井 孝司 国立感染症研究所 品質管理研究センター センター長

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。本研究では国際的な整合性の確保を図りながら、本邦の国家検定制度をより効果的かつ効率的なものにするための検討を進める。国立感染症研究所（感染研）の特殊法人国立健康危機管理研究機構（JIHS）への移行に伴い実地試験を除きロットリリース機能はPMDAに移管されることが決定しているが、本研究班で移管に伴う課題等の検討を行い、厚生労働省、PMDA との緊密な連携を図ることによりスムーズな移管を進める。また、動物試験代替法の開発は国際的にも強く求められているところであり、本研究班での検討により国家検定で実施される動物試験を減らしていくことが可能になる。

品質管理試験法の評価と改良

抗 D 人免疫グロブリン (RhIG) 製剤の力価試験である抗 D 抗体価測定法の国際調和を目指した研究を進めた。欧州薬局方 (EP) を中心に国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法について情報収集を行い、国内にて RhIG を製造販売する製造所を対象に国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法の導入について意見交換を行い、導入可能な測定法の選定を行うと共に、候補となる測定法の国内導入の妥当性について検討するための共同測定を計画した。ボツリヌス毒素接種試験におけるマウスの体温変化を詳細に分析し、人道的エンドポイントの設定を試みたところ、「早期死亡群」においては「接種 6－7.5 時間後 34℃以下」および、「11.5－13 時間後 34℃以下」に対して「接種後 4 時間の症状評価」を組み合わせることが適切であると示された。一方、「後期死亡群」においては「接種 19.5 時間後 34.5℃以下」「接種 24 時間後 34℃以下、または 34.5℃以下」に対して「接種 4 時間後時点、および、その後の症状評価」を組み合わせることで、対象となるマウスの見落としを防ぎながら、生存群の誤処分リスクを最小限に抑えることが可能となると考えられた。体温推移と症状が死亡時期と関連し特定の閾値を設定することで動物の苦痛を軽減しつつ適切な評価が可能であることが示唆された。狂犬病ワクチンの力価試験の改良に関しては、本年度はバーバリアンノルディック社のワクチンサンプルを輸入し、それを用いて前希釈決定の試験を実施したところ、ワクチンサンプルの 100 倍希釈が最適であることが確認された。来年度は決定したプロトコルに従い試験を行い、国際会議に参加する予定である。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っているが、この試験法の代替法として培養細胞を用いた試験法を開発・検討したところ、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ている。今年度は、ワクチン製造メーカーにおいてトキソイド化が不完全な検体（毒性が残存している検体）を調製し、細胞培養法で

検出可能か調べたところ、本法はアジュバントであるアルミニウムゲルにトキシイドが吸着・内包された状態でも毒性を検出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

血液製剤の製造・試験記録等要約書 (SLP) 審査制度が導入され、承認書の確認、SLP 審査を通し、製造工程の要約・試験確認により十分な品質管理が可能となったことから、一定の基準（長期間に渡り不合格事例がなく、国家検定と自家試験成績が規格値に対して余裕を持って合格している）を満たすような試験に関しては国家検定からの削除を進めることとした。今年度は、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤の免疫グロブリン G 重合物否定試験、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の力価試験（血液凝固第 IX 因子）、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の力価試験、乾燥濃縮人 $\alpha 1$ -プロテインアーゼインヒビター製剤の力価試験を国家検定項目から削除した。その結果、SLP 審査のみでロットリリースされる製剤が登場し、事務処理期限の短縮が計られ、より柔軟な需給調整が可能となりつつある。麻しん、風しん、おたふくかぜ生ワクチンの中間段階で実施されている国家検定項目の一つであるウイルス含量試験について検討した結果、国家検定実施機関である感染研で規定している「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」に規定される項目に必ずしも該当しないものの、ウイルス含量試験は国家検定で実施しなくともワクチンのロットリリース時の品質に与える影響はほとんどないと考えられることから国家検定からの削除は可能と考えられた。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（令和 6 年 9 月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じることができる対象品目を選定した。また、ワクチンのリスク評価に用いるリスク評価シートの見直しなどを検討した。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、国家検定の実績、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等に応じた国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。

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

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

花木賢一 国立感染症研究所
安全管理研究センター
センター長

伊藤睦代 国立感染症研究所
ウイルス第一部 室長

大槻紀之 国立感染症研究所
ウイルス第三部 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
品質管理研究センター 室長

研究協力者

脇田隆字 国立感染症研究所
所長

手塚健太 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

池邊詠美 国立感染症研究所

次世代生物学的製剤研究センター

倉光 球	国立感染症研究所 室長 次世代生物学的製剤研究センター 室長	林 昌宏	治療薬・ワクチン開発研究センター 室長 国立感染症研究所
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	染谷雄一	ウイルス第一部 室長 国立感染症研究所
平賀 孔	国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター	鈴木亮介	ウイルス第二部 室長 国立感染症研究所
百瀬暖佳	国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター	清原知子	ウイルス第二部 室長 国立感染症研究所
関 洋平	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	原田勇一	ウイルス第二部 国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長
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	佐藤佳代子	国立感染症研究所 ウイルス第三部
岩城正昭	国立感染症研究所 安全管理研究センター・細菌第二部	小川道永	国立感染症研究所 細菌第一部 室長
網 康至	国立感染症研究所 安全管理研究センター	見理 剛	国立感染症研究所 細菌第二部 部長
田原口元子	国立感染症研究所 安全管理研究センター	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 安全管理研究センター 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
村方好子	国立感染症研究所 安全管理研究センター	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
仲山紀子	国立感染症研究所 ウイルス第一部	藤田賢太郎	国立感染症研究所 品質管理研究センター
河原円香	国立感染症研究所 ウイルス第一部	湯浅磨里	国立感染症研究所 品質管理研究センター
金 玄	国立感染症研究所 細菌第二部	加藤文博	国立感染症研究所 品質管理研究センター
嶋崎典子	国立感染症研究所 ウイルス第三部	木所 稔	国立感染症研究所 品質管理研究センター
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	内藤誠之郎	国立感染症研究所 品質管理研究センター
森山彩野	国立感染症研究所	佐々木裕子	国立感染症研究所 品質管理研究センター

新井万柚子 国立感染症研究所
品質管理研究センター
草柳秀雄 国立感染症研究所
総務部業務管理課
松倉裕二 医薬品医療機器総合機構
ワクチン等審査部 部長
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

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、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、早期の制度導入に向けた検討を行う。また、国家検定における各品目の試験項目について試験の削除が可能と思われる項目の検討を行い、SLP 審査のみによるロットリリースが可能と思われる品目を選定する。令和7年度には国立感染症研究所（感染研）は特殊法人国立健康危機管理研究機構（新機構）に移行するが、それに伴い

実地試験を除き国家検定のロットリリース機能は順次独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）へ移管されることが決定している。厚生労働省及び PMDA との緊密な連携を図り、国家検定のスムーズな PMDA への移管を進めるために必要な検討を行う。また、現在の検定基準は、生物学的製剤基準の医薬品各条単位で国家検定において実施する試験項目を定めているが、同一の医薬品各条の製剤には複数のメーカーによって製造されるケースがあり、これらの製剤の製造実績や製造方法等は製品ごとに違いがあるため、実状を踏まえたより適切な検定基準のあり方について検討する。

B. 研究方法

試験方法の評価と改良

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法は EP を中心に情報収集を行った。また、現在の試験法が生物基に導入された経緯、過去に記載のあった試験法等について、過去の生物基や製造所より情報収集を行った。収集した情報（試験に必要な機器、試薬、およびプロトコル等）を基に、国内にて RhIG を製造販売する製造所を対象に国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法の導入について意見交換を行い、導入可能な測定法を選定した。選定した測定法については、EP に従い国際標準品を用いて予備試験を実施した。

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・運動量測定と症状の観察

1. nano tag の埋め込み

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 10g、腹腔内投与) による麻酔下で実施した。マウスの背面の皮膚を約 1cm 切開し、nano tag のアンテナ部分が外側になるように皮下に埋め込み、クリップで縫合した。埋め込み後、nano tag により 5 分間隔で経時的な体温および運動量の記録を開始した。

2. ボツリヌス毒素の接種および観察

nano tag 埋め込み 3 日目に、以下の 13 段階に希釈した A 型ボツリヌス毒素を腹腔内投与 (0.5 mL/ マウス) した。接種後、死亡するまで、または最大 7 日間観察した。接種毒素量 (LD₅₀) : 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.375, 0.5, 0.625, 0.75, 0.875, 1, 2, 4, 10LD₅₀

3. 症状の評価

死亡に至るまでの症状を、以下の 4 段階に分類し記録した。

症状レベル	症状の定義
[-]	症状なし (腹部を両側から押すと強い反発あり)
[+]	弱い症状 (腹部を両側から押すと反発が弱い)
[++]	やや強い症状 (腹部を押したときの反発なし、上から見ると腹部の陥凹が観察される)
[+++]	強い症状 (マウスが動けない) (図 2)

これらの症状記録と体温の変化を照合し、体温低下と症状進行・死亡の関係を解析した。

狂犬病ワクチン力価検定の見直し

抗原 ELISA については EDQM により提供された BSP148 Phase 2 Study Protocol に従って行った。Capture Mab を Buffer で希釈し、プレートに播種して 4°C で 16—20 時間放置した。プレートを 0.05%Tween20 含有 DPBS で洗浄後、BSA1%含有 DPBS でブロッキングし、洗浄後前希釈したワクチン試料を 1.8 倍段階希釈して添加した。ビオチン化 Detection Mab、Streptavidin-Peroxidase、OPD を毎回洗浄後に順に反応させた後、stop solution を加えた。492nm で測定した数値より 620nm で測定した数値を引き、結果を GraphPad Prism10 およびCombiStats ソフトウェアで 5-parameter logistic (5PL) model を用いて解析した。

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

国内でジフテリアトキソイドを製造しているメーカーにおいて、トキソイド化が不完全な検体を調製した。実際のワクチン製造と同一の方法で調製し、トキソイド化のステップのみ、実際のワクチン製造と同じ濃度のホルマリンで処理した検体、濃度をある程度下げたホルマリンで処理した検体、濃度を大幅に下げたホルマリンで処理した検体を調製し、アルミニウムアジュバントを含む沈降検体とした後、細胞培養法およびウサギ法にて評価した。Vero 細胞の生死判定には、画像解析法として、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)、および生細胞の代謝能を利用する方法である MTT 法として、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

血液製剤における国家検定試験の削除

過去のロットリリース試験の結果を精査し、特に、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロ

ブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合体否定試験の削除が可能か検討した。また、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について検討した。

生ウイルスワクチンの国家検定の見直し
現在国内で使用されている、麻しんワクチン（3社分）風しんワクチン（3社分）、おたふくかぜワクチン（2社分）の中間段階の自家試験成績並びに国家検定成績を約 10 年分比較検討した。また製造所における中間段階のウイルス含量試験と最終小分け製品（ワクチン製剤）の力価試験成績との比較を実施しウイルス含量試験の意義について検討を行った。また、感染症研究所の内規で定められている「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」への該当状況についても検討した。それぞれの検討結果を踏まえて中間段階におけるウイルス含量試験の国家検定からの削除の可否について総合的に評価した。

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、各ワクチンの製剤担当部署に令和 6 年 9 月末までを評価対象期間としてリスク評価シート（適用、本質、製造実績、試験実績、SLP 審査に対する評価項目（図 1）をスコアリングするために用いる）への記入を依頼し、提出されたリスク評価シートの確認、リスクスコアの集計・解析を行い、試験頻度を減じることができるワクチン（対象品目）の選定とリスク区分（試験頻度の設定）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

評価シートの見直しなどを検討した。

（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

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

EP には 3 種類の抗 D 抗体価測定法（Method A、B、C）が規定されており、国内の RhIG を製造販売する全ての製造所、および国立感染症研究所において、Method B（競合 EIA 法）での測定が可能であることを確認した。

測定検体については、国内製品 1 ロットを購入し、海外製品 1 ロットを輸入した。加えて、製造所より 1 ロットの提供を受け、合計 3 ロットを入手した。さらに、競合 EIA 法に使用する測定用抗体（NIBSC Code: 02/230）、および国際標準品を入手し、国際標準品を用いた予備試験を実施して、使用する赤血球固相化プレートの作成、及び抗体や基質の最適な反応条件を確認して、SOP（案）を作成した。

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>

ボツリヌス毒素接種後のマウスは活発な運動と休息を周期的に繰り返し、接種 24 時間後の観察時には、61 匹中 0.375 – 10 LD₅₀ の毒素を接種したマウス 23 匹が死亡していた。これらのマウスでは、接種 4 時間後に「弱い」から「やや強い」症状が観察され、接種 3 – 6 時間後から急激な体温および運動

量の低下が認められ、接種 9–21 時間後に死亡したと推測された。接種 48 時間後・接種 72 時間後の観察では、61 匹中 0.25 – 1 LD₅₀ の毒素を接種したマウス 9 匹が死亡していた。これらのマウスでは、接種 10–12 時間後から緩やかな体温および運動量の低下が認められ、接種 30–60 時間後に死亡したと推測された。また、接種 4 時間後では症状は認められなかったが、接種 24 時間後には「やや強い」または「強い」へと症状が出現していた。接種 7 日後に生存していたマウスの 90.9%が接種 4 時間後の観察時には症状が認められず、接種 24 時間後から「弱い」から「やや強い」症状が出現していた。これらのマウスでは、接種 24 時間後から緩やかに体温および運動量が低下し、接種 3 日後までは症状が増強した個体も観察されたが、4 日後以降から症状の軽減が認められた。接種 3 日後までに生存していたマウスは、その後、症状の回復が認められ観察最終日まで 29 匹が生存した。これらの結果は、接種 4 時間後の時点で症状がなかったマウスの大半が生存していたことを示しており、接種 4 時間後の症状がその後の生存の可能性の予測指標になりうる可能性があることが推測された。

<平均体温の推移に基づく人道的エンドポイントの設定>

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。毒素接種 24 時間後の観察時に死亡していたマウスを「早期死亡群」、接種 48 時間後、接種 72 時間後の観察時に死亡していたマウスを「後期死亡群」、観察期間終了まで生存していたマウスを「生存群」として分類した。各群の平均体温の推移を分析し、人道的エンドポイントと

して適切な体温の閾値を推定した。各群の平均体温の傾向から、35℃、34.5℃、34℃を体温の閾値として人道的エンドポイントに設定することが可能であると推測された。

<体温を測定するタイミングの検証>

各群で体温閾値以下になるタイミング(接種後の経過時間)に違いがみられたため、体温が 35℃、34.5℃、34℃の閾値を下回る個体数を時間ごとにカウントし、各群(早期死亡群・後期死亡群・生存群)ごとの割合を算出した。この解析により、体温測定の適切なタイミングを検討した。体温閾値を 35℃に設定した場合、対象外のマウスを不要に処分する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、対象外のマウスを処分するリスクは残されたが、生存群については対象外のマウスを処分するリスクは低く抑えられていた。体温閾値を 34℃に設定した場合、後期死亡群に対して適応すべきマウスを見落とすリスクはあるが、生存群において不要に処分されるリスクが最小限に抑えられると考えられた。いずれの体温閾値においても、後期死亡群においては、生存群のマウスを除外するために、接種 4 時間後時点の症状、および、その後の症状の出現を確認し、「症状がない」マウスを除外することにより「誤処分」のリスクを減らすことができると考えられた。

<R5 年度に報告書で提案した人道的エンドポイントの検証と適応>

これまでの研究では、0.5～4 LD₅₀ の毒素量を接種したマウスにおいて、以下のように人道的エンドポイント(体温の閾値)を設定していた。

[R5 年度の基準]

I. 「毒素接種 22 時間後までに死亡する群」

- ① 接種 8～9.5 時間後の体温が 34℃以下
- ② 接種 8～9.5 時間後の体温が 34.5℃以下

II. 「接種 48 時間後までに死亡する群」

- ③ 接種後 11 時間以降の体温が 35℃以下

しかし、これらの基準には「対象とするマウスの見落とし」や「対象外のマウスの誤適用」といったリスクが残されていた。そこで、本研究では、より広範な毒素量 0.03125 - 10 LD₅₀ の 13 段階で毒素を接種したマウス 61 匹のデータを、R5 年度の人道的エンドポイントに当てはめて検証した。早期死亡群の I-①、I-②の設定では、対象外のマウスを処分する可能性は低い対象となるマウスを見落とすリスクが高かった。反対に、後期死亡群の II-③-1、II-③-2 の設定では、対象となるマウスを見落とすリスクは低い対象外のマウスを処分するリスクが高いことがわかった。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

実験 1：Phase2 では事前に EDQM が試験ワクチンの前希釈について検討を行い決定されていた。しかし、今回各国で使用するワクチン製剤を使用するため、各製剤の濃度や特性に合わせた前希釈を設定する必要がある。そこで、各ワクチンサンプルを 50 倍、100 倍および 150 倍に希釈して試験を行った。GraphPad Prism10 による解析の結果、各サンプルはほぼ完全なシグモイド曲線を取っており、試験ワクチンは 100 倍希釈で 7thIS と近い曲線を示したことから、試験ワクチンの前希釈としては 100 倍が適当であると考

えられた。12 のワクチンサンプルのすべてで 100 倍希釈が最も適当な前希釈の濃度であった。

実験 2：実験 1 により決定した前希釈：100 で各試験ワクチンを希釈して試験を行った。Combistats による解析の結果、各曲線はほぼ完全なシグモイド曲線を取っていたが、Plate2 においては 2 段階目の希釈で数値のブレが見られた。7thIS の各数値はプレート間でほぼ一定であった。

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

<トキシノイド化が不完全な検体の細胞培養法による毒性検出>

トキシノイド化のステップのみ、実際のワクチン製造と同じ濃度のホルマリンで処理した検体（検体 A）、濃度をある程度下げたホルマリンで処理した検体（検体 B）、濃度を大幅に下げたホルマリンで処理した検体（検体 C）をそれぞれ 2 倍段階希釈し、培地に加えたものを用いて 4 日間、37℃、5%CO₂ の条件下で Vero 細胞を培養した。その結果、画像解析法では、検体 A および B では毒性は検出されず、検体 C のみ 2¹⁵ 倍希釈まで毒性が検出された。一方、MTT 法では、毒性が検出されなかったのは検体 A のみで、検体 B は原液、検体 C は 2¹⁵ 倍希釈まで毒性が検出された。検体 B の原液および検体 C の原液での画像解析法と MTT 法の結果の相違について、アルミニウムゲルが一定の濃度を超えると画像解析法では結果に影響を与えと考えられた。

<トキシノイド化が不完全な検体のウサギ法による毒性検出>

培養細胞法の結果を元に、検体 A および B の原液、2³ 倍希釈、検体 C の原液、2³、2⁷、

2¹⁰、2¹³、2¹⁴、2¹⁵、2¹⁶ 倍希釈したものをウサギ皮内に接種し、2 日後に皮膚の状態を観察した。また、コントロールとして、4、1、0.1、0.01 MRD（最小反応投与量）のシック試験毒素を用いた。その結果、コントロールでは 4 および 1 MRD で発赤が認められたが、0.1 および 0.01 MRD では、発赤は認められなかった。検体 A および B では原液および 2³ 倍希釈のどちらも発赤は認められなかった。検体 C では、原液から 2¹³ 倍希釈まで発赤が認められた。2¹⁴ 倍希釈においても小さい発赤が認められるが、本法において頻回に認められる接種痕と同程度のサイズであることから陰性とした。

国家検定制度の最適化と強化

血液製剤における国家検定試験の削除

1. 人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験削除

令和 5 年度に検討した人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験削除に関しては、令和 6 年 6 月 24 日に告示となった(厚生労働省告示第二百二十七号)。併せて事務処理期間が 60 日から 30 日に短縮され、迅速なロットリリースが可能となった。

2. ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合体否定試験の削除について

ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリンはポリエチレングリコール処理により凝集体が除去され、pH4 処理酸性人免疫グロブリンは低 pH 処理により凝集体産生が抑制された非修飾完全分子型の静注用人免疫グロブリン製剤であり、免疫グロブリン G 重合体否定試験（重合体否定試験）が国家検定として設定されている。今回、ポリエチ

レングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリンについて、国家検定からの重合体否定試験の削除について検討した。検討の結果、直近 10 年間（2014 年度～2023 年度）に検定申請された本 2 製剤の国家検定で不合格事例はなく、国家検定と自家試験成績は規格値に対して余裕を持って合格し、両試験値は概ね一致していた。また各種検討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く、国家検定を廃止しても SLP 審査により製剤の品質を確認できると判断した。

3. 乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除について

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤（Prothrombin Complex Concentrate、以下、PCC 製剤）の国家検定として、血液凝固第 IX 因子の力価試験が実施されている。国家検定から当該試験の削除が可能か検討を行った結果、本製剤承認後の全製造期間である過去 7 年間（2017 年～2023 年）に、製造所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、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く、また各種検討からも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。

4. 乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除について

乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定として、活性化血液凝固第 VII 因子の力価試験とエンドトキシン試験が実施されている。今回、国家検定から力価試験の削除が可能か検討を行った。

本製剤において承認後の全製造期間である過去 10 年間（2014 年～2023 年）に、製造

所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、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また各種検討からも、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。

5.乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について

乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤（以下、 α 1-PI 製剤）の国家検定として、力価試験が実施されている。今回、国家検定から力価試験の削除が可能か検討を行った。本製剤において、承認前試験を含む過去5年間（2020～2024年度）に製造所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、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。また各種検討からも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。

生ウイルスワクチンの国家検定の見直し

国家検定結果と自家試験成績は麻しんおよび風しんともにいずれの製造会社のものであってもその結果は過去10年分の成績ではほぼ等しかった。一方、おたふくかぜワクチンにおいては、一社のものに関して基準は満たしているものの国家検定結果と乖離する場合が確認されている。

またウイルス含量試験の結果（自家試験および国家試験）はロットによりばらつくものが多いことが判明した。このことはGMP管理を厳格に行っても製造における変動が避けられない生ワクチン製剤およびバイオアッセイを用いる試験方法の特性からくるもの

と考えられた。

中間段階の試験は基本的に中間原液を最終製品濃度に希釈した検体で自家試験並びに国家検定を実施している。このため理論上は中間段階のウイルス含量試験結果と最終製品の力価試験は同等となることが予想されるが、最終製品においてはその製造工程で凍結乾燥が行われる。凍結乾燥によりウイルス含量試験結果（中間段階）と力価試験結果（最終製品）の乖離が生じるかを確認したところ風しんワクチンでは凍結乾燥によるウイルス含量試験と力価試験の乖離は確認されなかったが、麻しんでは最終製品の力価試験成績はウイルス含量試験から大きく低下することが確認できた。このことは麻しんワクチンのウイルス含量試験結果は必ずしも最終製品の有効性を担保する試験でないことを示唆するものであった。

「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」（非公開資料）への該当については製剤および試験法の特性上、結果のばらつきが確認されることなどから一部の項目で適合する状況でないことを確認した。

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、各ワクチンの製剤担当部署に令和6年9月末までの実績（標準対象期間：令和3年4月～令和6年9月）に基づき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4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 18 ワクチンを選定候補とした。ただし、すでに販売終了となっている 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 2 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、標準対象期間に出検がない 2 ワクチンは、試験頻度を減じる対象から除外し、残りの 12 ワクチンについて、過去のリスク評価結果を比較検討に加え評価を行った。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、試験頻度を減じることができる対象品目として選定された実績があるワクチンであったが、2 番目に全体リスクスコアが高かったワクチンは、前回のリスク評価と比べてスコアに大きな上昇が認められ、その原因として試験実績と SLP 審査の両方の項目で比較的大きなスコアの上昇が見られた。本ワクチンについては、試験実績が安定することなどを確認した上で試験頻度を減じることができる品目として選定するこ

とが妥当と考えられたため、本ワクチンより全体リスクスコアが低い品目を選定する方針とした。5 ワクチンは、今回の評価により初めて試験頻度を減じることができる対象品目として選定されたが、過去のリスク評価において、全体リスクスコアが安定して低リスクと評価されてきたことを確認した。また、選定候補とした品目においては、標準対象期間に製品回収が発生していないことを確認した。

以上により、試験頻度を減じることができるワクチンとして、10 ワクチンを選定し、試験頻度は 50%に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などの検討

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。

- ・ 適用の対象年齢に妊婦を追加する
 - ・ 製造実績の「国内での製造実績（出検数）」は、カバーページの標準対象期間の出検数から自動計算させる
- また、以下については、継続検討事項とした。
- ・ 令和 4 年度以降の評価対象期間は、厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課（監麻課）と相談の上、12 月末まで（年区切り）あるいは 3 月末まで（年度区切り）に変更する
 - ・ 本質の添加物について、添加物の一覧を作成し、本評価項目の指標を見直す

その他、令和 3 年 7 月に SLP 審査が導入された医薬品(乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)、精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤、血液製剤を除く)に対するリスク評価について検討した。精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤は、用途が診断あるいは治療であること、抗毒素製剤においては製造方法がワクチンとは大きく異なることなどからワクチン用に作成したリスク評価シート的大幅な改訂の必要性が見込まれること、また出検数が少なく実質的に試験頻度を減じることができないことから、出検数の増加が見込まれる際に検討することにした。乾燥 BCG 膀胱内用(日本株)は、乾燥 BCG ワクチンと同様の製造方法及び品質管理に用いる試験方法であり、ワクチン用に作成したリスク評価シートの適用を一部改訂することで評価可能と考えられること、また出検数も多いことから次回以降のリスク評価の対象にすることとした。

D. 考察

試験方法の評価と改良

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

RhIG は製造販売量が少なく、同時期に複数ロットの販売が無い場合、複数ロットの入手には購入時期を空ける必要があった。次年度に別ロットを追加購入し、共同測定は測定検体の有効期限を考慮して実施するよう計画している。現在、国内で承認されている RhIG に海外製造品は無く全て国内製造品であるが、100%海外からの輸入血漿を原料に製造されている。国内の D (Rho) 陰性者は全体の 0.5%と海外に比べ低く、RhIG の原料血漿となる抗 D 抗体をもつ D (Rho) 陰性ドナー血漿の国内調達には困難な状況であるが、世界的にもドナーは高齢化しており原料血漿の確保、および安定供給への影響が懸

念されている。世界では唯一、インドの製薬企業 BSV 社が抗 D ヒトモノクローナル抗体 (Trinbelimab) の製造開発に成功しており、将来的には Trinbelimab を含む海外製造品の国内導入の必要性が予想されることから、国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法、および国際単位規格の生物基への導入は喫緊の課題と考えられた。

人道的エンドポイントの検討

本研究では、ボツリヌス毒素試験における人道的エンドポイントの最適な設定を目的とし、「体温閾値と体温を測定するタイミングの検証」、「R5 年度提案の人道的エンドポイントの検証と適応」、「体温と症状の進行の関係」という 3 つの観点から解析を行った。その結果、「早期死亡群」と「後期死亡群」それぞれに適した体温閾値と測定時間の設定が可能と考えられた。

まず、体温測定のタイミングの検証では今回の解析で、早期死亡群では、接種 12 時間後以降で 100%のマウスが 34.5℃以下となり、一部のマウスでは接種 3-6 時間後から急激な体温低下し 34℃以下に達することが確認された。一方、後期死亡群では接種 12 時間前後に 34.5℃以下となる個体が増え、接種 19.5 時間以降で 90-100%の個体が 34.5℃以下に達する傾向が認められた。このことから、早期死亡群では接種 12 時間以内の測定、後期死亡群では接種 12 時間以降の測定が適切であることが示唆された。

次に、R5 年度に提案した人道的エンドポイントの基準をより広範な毒素量で適応し検証したところ、「R5 年度に提案した前期死亡群の基準」では対象となるマウスを見落とすリスクが高く、「R5 年度に提案した後期死

亡群の基準」では生存群の誤処分リスクが高いことが判明した。特に、「R5 年度の後期死亡群の基準」を適用すると生存群の 55.2-62.0%が処分されるリスクがあることが示され、基準の見直しが必要であることが明らかになった。この結果から、早期死亡群には 34℃の体温閾値の設定が求められ、後期死亡群にはタイミングにより、34.5℃と 34℃を閾値とすることで、生存個体を過剰に処分するリスクを抑えられる可能性が示された。

さらに、体温と症状の進行の関係を分析した結果、接種 4 時間後時点の症状の有無がその後の生存可能性を予測する指標となる可能性が示唆された。早期死亡群では接種後 4 時間の時点で「弱い」から「やや強い」症状が出現し、症状がやや強かったマウス[++]は、接種 3-6 時間後から急激な体温低下が見られ接種 12 時間以内に死亡した。一方、7 日間生存していたマウスの 90%は接種後 4 時間の時点で症状が見られず、接種 24 時間後に「弱い」から「やや強い」症状が出現していた。このことから、早期死亡群では接種 4 時間時点の症状評価が重要であり、体温測定と組み合わせることで、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能であると考えられる。また、後期死亡群では体温低下の進行が緩やかであるため、接種 12 時間以降の測定が適切であることが示された。さらに、後期死亡群においても生存群のマウスを除外するために、接種 4 時間後時点の症状、および、その後の症状の出現を確認し、「症状がない」マウスを除外することにより「誤処分」のリスクを減らすことができると考えられた。

以上の結果を踏まえ、本年度の解析で得られた新たな人道的エンドポイントの基準とし

て、「早期死亡群」においては、体温 34℃を閾値とし、接種 4 時間後の症状評価を組み合わせることで、「接種 6 - 7.5 時間後」および、「接種 11.5 - 13 時間後」での体温測定を行うことが適切であると考えられる。一方、「後期死亡群」においては、34.5℃、34℃を閾値とし、接種 4 時間後、および、その後の症状評価を組み合わせることで、34.5℃では「接種 19.5 時間後」「接種 24 時間後」、34℃では「接種 24 時間後」での体温測定を行うことで、対象となるマウスの見落としを防ぎながら、生存群の誤処分リスクを最小限に抑えることが可能となると考えられた。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

現在日本で承認されているワクチンは、バーバリアンノルディック社（販売：オーファンパシフィック社）のラビピュール筋注用と KM バイオロジクス社の乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの 2 製品であり、そのうち KM バイオロジクス社のワクチンについては 2019 年以降製造がない。本研究では、バーバリアンノルディック社より、12 ロットのサンプル供与を受け、それを用いた条件検討を行った。実験 1 によりラビピュールについては前希釈 100 倍が適当であることが分かった。実験 2 では前希釈 100 倍で試験を行い、本希釈率で試験を行うことが適当であると再確認された。一方、プレート 2 では数値のブレが見られたが、これは電動ピペットの速度の設定を間違えて通常より早くしたことにより、攪拌に異常があったことが原因と考察された。再発防止のため、プロトコルに電動ピペットの設定値とその確認の項目を追加した。

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

トキシド化が不完全な検体をワクチン製造メーカーにおいて実際のワクチン製造と同一の方法で調製し、アルミニウムゲルに吸

着・内包されている状態での毒性検出が細胞培養法で可能か調べた。その結果、細胞培養法で毒素検出することが可能であり、その感度はウサギ法の 4 倍程度であることが示された。また、細胞生存率の判定について、画像解析法ではアルミニウムゲルが一定の濃度以上であると影響を受けるが、MTT 法では濃度に関係なく影響を受けないことが明らかとなった。

国家検定制度の最適化と強化

血液製剤における国家検定試験の削除

本研究課題により、血液製剤における国家検定の廃止が進められた。

ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合体否定試験の削除、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について可能であると結論づけた。

国立感染症研究所は令和 7 年より国立健康危機管理研究機構に改組され、検定業務に関しては PMDA へ移管することとなっている。初年度の令和 7 年度については、血液製剤 7 品目（①加熱人血漿たん白、②人血清アルブミン、③乾燥フィブリノゲン、④乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子、⑤乾燥濃縮人アンチトロンビン III、⑥人ハプトグロビン、⑦乾燥濃縮人プロテイン C）の移管を準備しており、PMDA への実地教育訓練（OJT）等を実施し、適切に移行できるよう協力している。令和 6 年度の検証結果に基づき、告示改正されれば、当該製剤に関しても令和 8 年より PMDA へ移管されることが想定される。

生ウイルスワクチンの国家検定の見直し

麻しん、風しん、おたふくかぜ生ワクチンの中間段階におけるウイルス含量試験は製剤の特性、また品質管理法がバイオアッセイであることより必ずしも試験結果が安定するものではないと考えられた。一方で当該試験の結果は最終製品の有効性を必ずしも担保するものでないこと、さらにはロットリリース時には製造所での力価試験並びに国家検定における力価試験を実施することによりその有効性を担保している。このことはウイルス含量試験を国家検定から廃止した場合においても製剤の有効性に影響を与えるものでないことを示していると考えられた。

また過去 10 年程度の自家試験並びに国家検定の結果からはウイルス含量試験で規格外試験結果は発生しておらず規格外となる可能性は低いものと考えられた。

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 6 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 10 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、今回の評価から製品回収の発生状況を把握し、対象品目の選定において考慮することにした。

リスク評価シートについては、製造実績の「国内での製造実績（出検数）」を、カバーページの標準対象期間の出検数から自動計算させることにより、製剤担当者による入力内容を統一化することによる誤入力の防止や集計作業時の確認を容易にすることが期待できる。評価対象期間及び本質の添加物に関する指標の見直しについては、継続検討事

項とした。評価対象期間については、実運用導入時に監麻課から発出される通知の内容に従って設定する必要がある。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。

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についても、SLP 審査の実績が蓄積されつつある。血液製剤を除く乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）、精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤のうち、乾燥 BCG 膀胱内用（日本株）は乾燥 BCG ワクチンと同様の製造方法及び品質管理方法が用いられており、ワクチンのリスク評価シートの適用を一部改訂することによりリスク評価が可能と考えられた。また出検数も多いことから、試験頻度を減じることができる対象品目に選定された場合にはその効果が高くなることが見込まれる。

ワクチン等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、選定対象とする品目を段階的に広げていくこと、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。

国家検定は、令和 7 年度以降検定項目が SLP 審査のみになった品目から順次独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）に移管される。数年後にはすべての品目の国家検定（SLP 審査を含む）が PMDA に移管され、実地試験は国立健康危機管理研究機構（現在の感染研）に委託される予定である。国家検定（SLP 審査）移管後のリスク評価の実施体制については、厚生労働省及び

PMDA 関係者も含めた検討が必要である。

E. 結論

試験方法の評価と改良

国内の RhIG を製造販売する全ての製造所、および国立感染症研究所において、Method B（競合酵素免疫測定法（競合 EIA 法））での測定が可能であることが確認された。導入候補となった競合 EIA 法の生物基準への導入の妥当性の検討のため、国内外で承認されている RhIG について、競合 EIA 法に加え生物基準に従って間接クームス法にて抗 D 抗体価を測定する共同測定を計画している。国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法、および国際単位規格の生物基への導入は喫緊の課題であり、早期の対応を目指す。

ボツリヌス毒素接種試験におけるマウスの体温変化を詳細に分析し、人道的エンドポイントの設定を試みた。本研究の結果から、「早期死亡群」においては「接種 6 - 7.5 時間後 34℃以下」および、「11.5 - 13 時間後 34℃以下」に対して「接種後 4 時間の症状評価」を組み合わせることが適切であると示された。一方、「後期死亡群」においては「接種 19.5 時間後 34.5℃以下」「接種 24 時間後 34℃以下、または 34.5℃以下」に対して「接種 4 時間後時点、および、その後の症状評価」を組み合わせることで、対象となるマウスの見落としを防ぎながら、生存群の誤処分リスクを最小限に抑えることが可能となると考えられた。体温推移と症状が死亡時期と関連し特定の閾値を設定することで動物の苦痛を軽減しつつ適切な評価が可能であることが示唆された。

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、Phase3 は各国での国内ワクチンを使用した試験を行うが、それに必要なワクチンの前希釈率を決定することが出来た。また、電動ピペットの設定の重要性が明らかとなったことから、設定

とその確認について新たにプロトコルに追加した。来年度は決定したプロトコルと前希釈に従い試験を行うとともに、試験の導入に向けて国際会議に参加する予定である。

ジフテリアトキソイド無毒化試験のウサギ法の代替法として開発した細胞培養法はアジュバントであるアルミニウムゲルにトキソイドが吸着・内包された状態でも毒性を検出可能であることが示された。また、細胞生存率の判定方法として、画像解析法は簡便であるが濃度が高いとアルミニウムゲルの影響を受けること、MTT法はアルミニウムゲルの影響を受けないが手間と時間がかかることを考慮し、状況に応じて使い分ける必要があることが示された。今後、トキソイド化が不完全な検体について、ホルマリン濃度を変化させる方法以外で調製した検体を用いて検討すること、また、モルモット法との比較を行うことで、追加評価を実施することを考えている。

国家検定制度の最適化と強化

本研究課題により、血液製剤における国家検定の廃止が進められた。ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合物否定試験の削除、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について可能であると結論づけた。SLP 審査のみでロットリリース可能な製剤は事務処理期間が、60 日から 30 日へと変更となり、より迅速なロットリリースが可能となり、国内需給調整にも大きく貢献するものと考えられる。

麻しん・風しん・おたふくかぜワクチンの中間段階で実施されている国家検定「ウイル

ス含量試験」について国家試験から排除できるかを多角的に検討した結果、国家検定より当該試験を削除した場合においても最終製品の有効性に影響が出ないと考えられた。このことより当該試験の国家検定からの削除を推進することが適当であると考えられた。

過去のリスク評価結果等を考慮した上で直近（令和 6 年 9 月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じることができる品目として 10 ワクチンを選定した。また、リスク評価シートの見直しなどを検討した。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。

F. 健康危険情報 なし

G. 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*. 85: 101754, 2024
- 2) Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Shin JH, Chantarasomchin P, Mizukami T, Ng SW, Thi DL, Ramondrana D, Dimapilis GN, Sohn KH, Roh HS, Koh HJ, Lee W, Kim YH. Report of the Ninth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2024, with a focus on regional harmonization of regulatory systems to prepare for cross-border transfer of plasma. *Biologicals*. 2025; 90: 101823.
- 3) 野島 清子、関 洋平、水上 拓郎. 人免

疫グロブリン製剤の歴史と品質確保 (解説). ファルマシア (0014-8601) 60 巻 6 号 Page543-547 (2024.06)

- 4) 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)

2. 学会発表

- 1) Mizukami T. Recent Updates and Future Prospects for National Lot Release Systems in Japan. Asian National Control Laboratory Network Meeting 2024、Seoul、Korea、5th September, 2024.
- 2) 水上拓郎. 生物学的製剤の品質管理試験の見直しについて～血液製剤の検定のあり方と異常毒性否定試験の生物基からの削除～. 第 21 回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム. 2024 年 12 月 10 日 東京

- 3) 石井孝司. 感染研における生物学的製剤の品質管理の概要と国家検定の将来. 第 21 回医薬品レギュラトリーサイエンスフォーラム. 2024 年 12 月 10 日 東京
- 4) Murakata Y, Iwaki M, Senoh M, Taharaguchi M, Ami Y, Yonemitsu Y, Takimoto K, Hanaki K. “Approach to Humane Endpoint Setting in Potency Testing of Botulinum Antitoxins.” 60th Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, Atlanta, GA, 17th-20th November 2024. (Poster session)
- 5) Iwaki M, Ishii K. Replacements for animal testing for biologicals in Japan. Informal consultation on WHO Guidelines on the phasing out of animal tests for the quality control of biological products. Geneva, Switzerland (WHO), 27th-28th February 2025.

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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 隆子

次の職員の令和6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国家検定の最適化と国際整合化のための研究

3. 研究者名 (所属部・職名) 品質管理研究センター センター長

(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)
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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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」、「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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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 隆字

次の職員の令和6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国家検定の最適化と国際整合化のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 次世代生物学的製剤センター・センター長
(氏名・フリガナ) 水上 拓郎 (ミズカミ タクオ)

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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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」、「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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口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 隆字

次の職員の令和6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国家検定の最適化と国際整合化のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全管理研究センター・センター長
- (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)
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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☒	☐	☒	国立感染症研究所	☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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」、「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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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 隆字

次の職員の令和6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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) ウイルス第一部 第三室長
- (氏名・フリガナ) 伊藤 睦代・イトウ ムツヨ

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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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」、「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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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 隆字

次の職員の令和6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国家検定の最適化と国際整合性のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 国立感染症研究所 ウイルス第三部 室長
- (氏名・フリガナ) 大槻 紀之 (オオツキ ノリユキ)

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)
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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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。

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6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国家検定の最適化と国際整合化のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 細菌第二部第三室・室長
- (氏名・フリガナ) 妹尾 充敏・セノオ ミツトシ

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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☒	☐	☒	国立感染症研究所	☐
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：)	☐	☒	☐		☐

(※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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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 隆字

次の職員の令和6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国家検定の最適化と国際整合化のための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 品質管理研究センター 室長
(氏名・フリガナ) 落合 雅樹 (オチアイ マサキ)

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)
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)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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:)	☐	☒	☐		☐

(※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」、「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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☒ 無 ☐ (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 ☐ 無 ☒ (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
国家検定の最適化と国際整合化のための研究

令和6年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石井 孝司

令和7(2025)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と国際整合化のための研究

研究代表者 石井 孝司 1

II. 分担研究報告

1. 「血液製剤の国家検定のあり方について」に関する研究

水上 拓郎 18

2. 動物試験に係る 3Rs の検討

花木 賢一 25

3. 不活化ウイルスワクチンの国家検定の見直し

伊藤 睦代 35

4. 生ウイルスワクチンの国家検定の見直しに関する研究

大槻 紀之 39

5. 細菌ワクチンの国家検定の見直し

妹尾 充敏 41

6. 国家検定の試験頻度の見直し等に関する検討

落合 雅樹 44

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 51

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と国際整合化のための研究

分担研究報告書

「血液製剤の国家検定のあり方について」に関する研究

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	手塚 健太	国立感染症研究所	次世代生物学的製剤研究センター
	池辺 詠美	国立感染症研究所	次世代生物学的製剤研究センター
	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
	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
	平賀 孔	国立感染症研究所	次世代生物学的製剤研究センター
	百瀬 暖佳	国立感染症研究所	次世代生物学的製剤研究センター
	関 洋平	国立感染症研究所	次世代生物学的製剤研究センター
	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

研究要旨：

血液製剤の品質管理に関しては、2021年7月に製造・試験記録等要約書（SLP）審査制度が導入され、承認書の確認、SLP審査を通し、製造工程の要約・試験確認により十分な品質管理が可能となった。これまで国家検定試験として実施してきた規格試験等に関しても、標準品等の整備により試験法が標準化され、施設間差も減少してきた経緯から、国家検定による二重の確認の必要性は低下してきた。このような状況を鑑み、国立感染症研究所では、上記の基準に適合するような試験に関しては国家検定からの削除を進めることとした。

令和5年度は乾燥フィブリノーゲン製剤における凝固性たん白質含量及び純度試験、人ハプトグロビンの力価試験、乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ製剤の力価試験、人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験、乾燥濃縮人血液凝固第Ⅷ因子製剤の力価試験の削除を進めた。令和6年度は、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及びpH4処理酸性人免疫グロブリン製剤の免疫グロブリンG重合物否定試験、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の力価試験（血液凝固第Ⅸ因子）、乾燥濃縮人血液凝固第Ⅹ因子加活性化第Ⅶ因子製剤の力価試験、乾燥濃縮人α1-プロテイナーゼインヒビター製剤の力価試験を国家検定項目から削除した。その結果、SLP審査のみでロットリリースされる製剤が登場し、事務処理期限の短縮が計られ、より柔軟な需給調整が可能となりつつある。

一方、試験法の改良・開発が必要な試験として、抗D人免疫グロブリン（以下、RhIG）製剤の力価試験である、抗D抗体価測定法の国際調和を目指した研究を進めた。欧州薬局方（EP）を中心に国際的に標準化された抗D抗体価測定法について情報収集を行い、国内にてRhIGを製造販売する製造所を対象に国際的に標準化された抗D抗体価測定法の導入について意見交換を行い、導入可能な測定法の選定を行うと共に、候補となる測定法の国内導入の妥当性について検討するための共同測定を計画した。

A. 研究目的

血液製剤における国家検定試験の削除

献血血液から製造される血液製剤は主に輸血用の赤血球製剤、血漿製剤、血小板製剤のような「輸血用血液製剤」と数千～数万人の血漿をプールして製造される「血漿分画製剤」に分類される。輸血用血液製剤に関しては、製造されて短期間の内に使用されることや、ロットを構成しないことから、日本赤十字社で製造され、品質管理試験が行われた後、出荷されている。一方、血漿分画製剤に関しては血漿分画メーカーで保管後、アルブミンやグロブリン、凝固因子などが分画され製造される。血漿分画製剤に関してはメーカーの自家試験に加えて、国立感染症研究所において国家検定が実施されて、有効性・安全性を含めた品質が確認されてきた。

血液製剤の製造方法は基本的に 1941 年に確立したコーンの低温エタノール分画法に基づき、長期間安定して製造され、安全に用いられてきた。また GMP (Good Manufacturing Practice) の導入により製造が原料から出荷まで適切に管理されていること、また実施されている規格試験等に関しても、標準品等の整備により試験法が標準化され、施設間差も減少してきたことから、国家検定による確認の必要性は低下してきたといえる。さらに 2021 年 7 月に血液製剤に関して、製造・試験記録等要約書 (SLP) 審査制度が導入され、承認書の確認、SLP 様式の作成、SLP 審査を通し、製造工程の要約・試験確認により品質管理が可能となった。このような状況を鑑み、

国立感染症研究所では、上記の基準に適合するような試験項目に関しては国家検定からの削除を進めることとした。

令和 5 年度は乾燥フィブリノーゲン製剤から凝固性たん白質含量及び純度試験、人ハプトグロビンの力価試験、乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ製剤の力価試験、人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験、乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子製剤の力価試験の削除の検討を行った。乾燥フィブリノーゲン製剤から凝固性たん白質含量及び純度試験、ハプトグロビンの力価試験の削除および乾燥濃縮人アンチトロンビンⅢ製剤の力価試験の削除については 2024 年 3 月に告示され (厚生労働省告示第百十一号及び第百十二号)、SLP 審査のみでロットリリースされる製剤が登場した。

そこで本研究課題では令和 6 年度における検定削除の検討状況、進捗状況についてまとめるとともに、今後の血液製剤のロットリリースのあり方について検討することを目的とした。

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

また本研究課題では、国際調和が進んでいる抗 D 人免疫グロブリン製剤 (RhIG) 抗体価測定法の確立を目的として研究も行うこととした。

RhIG は国際標準品 (NIBSC code: 16/332) が制定されており、国際的には力価試験法の標準化が達成され、力価は国際単位 (IU/mL) にて表記されている。一方、国内にて製造販売されている

RhIG の力価試験は、生物学的製剤基準（以下、生物基）にて規定されている抗 D 抗体価測定法（間接クームス試験法）にて実施され、力価である抗 D 抗体価は、間接クームス試験法による最高希釈倍数（倍）で表記されており、国際単位（IU/mL）表記の導入には至っていない。そこで本研究課題では、国際調和の取れた抗 D 抗体価測定法の確立を目的に生物基改定（案）作成に資する情報の提供を目指す。

B. 研究方法

血液製剤における国家検定試験の削除

過去のロットリリース試験の結果を精査し、特に、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合物否定試験の削除が可能か検討する。また、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1・プロテインゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について検討する。

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法は EP を中心に情報収集を行なった。また、現在の試験法が生物基に導入された経緯、過去に記載のあった試験法等について、過去の生物基や製造所より情報収

集を行なった。収集した情報（試験に必要な機器、試薬、およびプロトコル等）を基に、国内にて RhIG を製造販売する製造所を対象に国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法の導入について意見交換を行い、導入可能な測定法を選定した。選定した測定法については、EP に従い国際標準品を用いて予備試験を実施した。

（倫理面への配慮）

抗 D 抗体価測定法の国際調和に関しては、測定検体の提供について、試料提供契約書（MTA）の締結を行なった。

C. 研究結果

A. 血液製剤における国家検定試験の削除

1. 人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験削除

令和 5 年度に検討した人血清アルブミン・加熱人血漿たん白製剤のエンドトキシン試験削除に関しては、令和 6 年 6 月 24 日に告示となった（厚生労働省告示第二百二十七号）。併せて事務処理期間が 60 日から 30 日に短縮され、迅速なロットリリースが可能となった。

2. ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合物否定試験の削除について

ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリンはポリエチレングリコール処理により凝集体が除去され、pH4 処

理酸性人免疫グロブリンは低 pH 処理により凝集体産生が抑制された非修飾完全分子型の静注用人免疫グロブリン製剤であり、免疫グロブリン G 重合物否定試験（重合物否定試験）が国家検定として設定されている。重合物否定試験はグロブリン凝集体の含量が一定値以下であることを、一般試験法の免疫グロブリン G 重合物否定試験を準用し確認する試験である。今回、ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン及び pH4 処理酸性人免疫グロブリンについて、国家検定からの重合物定試験の削除について検討した。検討の結果、直近 10 年間（2014 年度～2023 年度）に検定申請された本 2 製剤の国家検定で不合格事例はなく、国家検定と自家試験成績は規格値に対して余裕を持って合格し、両試験値は概ね一致していた。また各種検討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く、国家検定を廃止しても SLP 審査により製剤の品質を確認できると判断した。

3.乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除について

乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤（Prothrombin Complex Concentrate、以下、PCC 製剤）の国家検定として、血液凝固第 IX 因子の力価試験が実施されている。国家検定から当該試験の削除が可能か検討を行った結果、本製剤承認後の全製造期間である過去 7 年間（2017 年～2023 年）に、製造所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比

較したところ、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く、また各種検討からも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。

4.乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除について

乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定として、活性化血液凝固第 VII 因子の力価試験とエンドトキシン試験が実施されている。今回、国家検定から力価試験の削除が可能か検討を行った。

本製剤において承認後の全製造期間である過去 10 年間（2014 年～2023 年）に、製造所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、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また各種検討からも、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。

5.乾燥濃縮人 α 1-プロテインナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について

乾燥濃縮人 α 1-プロテインナーゼインヒビター製剤（以下、 α 1-PI 製剤）の国家検定として、力価試験が実施されている。今回、国家検定から力価試験の削除が可能か検討を行った。本製剤において、承認前試験を含む過去 5 年間（2020

～2024 年度）に製造所が実施した自家試験成績と国家検定成績を比較したところ、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。また各種検討からも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。

B. 国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

EP には 3 種類の抗 D 抗体価測定法 (Method A、B、C) が規定されており、国内の RhIG を製造販売する全ての製造所、および国立感染症研究所において、Method B (競合酵素免疫測定法 (競合 EIA 法)) での測定が可能であることを確認した。

測定検体については、国内製品 1 ロットを購入し、海外製品 1 ロットを輸入した。加えて、製造所より 1 ロットの提供を受け、合計 3 ロットを入手した。さらに、競合 EIA 法に使用する測定用抗体 (NIBSC Code: 02/230)、および国際標準品を入手し、国際標準品を用いた予備試験を実施して、使用する赤血球固相化プレートの作成、及び抗体や基質の最適な反応条件を確認して、SOP (案) を作成した。

D. 考察

A. 血液製剤における国家検定試験の削除

本研究課題により、血液製剤における国家検定の廃止が進められた。

ポリエチレングリコール処理人免疫

グロブリン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合体否定試験の削除、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験 (血液凝固第 IX 因子) の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1-プロテイナーゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について可能であると結論づけた。

国立感染症研究所は令和 7 年より国立健康危機管理研究機構に改組され、検定業務に関しては PMDA への移管することとなっている。初年度の令和 7 年度については、血液製剤 7 品目 (①加熱人血漿たん白、②人血清アルブミン、③乾燥フィブリノゲン、④乾燥濃縮人血液凝固第 VIII 因子、⑤乾燥濃縮人アンチトロンビン III、⑥人ハプトグロビン、⑦乾燥濃縮人プロテイン C) の移管を準備しており、PMDA への実地教育訓練 (OJT) 等を実施し、適切に移行できるよう協力している。令和 6 年度の検証結果に基づき、告示改正されれば、当該製剤に関しても令和 8 年より PMDA へ移管されることが想定される。

B. 国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

RhIG は製造販売量が少なく、同時期に複数ロットの販売が無い場合、複数ロットの入手には購入時期を空ける必要があった。次年度に別ロットを追加購入し、共同測定は測定検体の有効期限を考慮して実施するよう計画している。現在、

国内で承認されている RhIG に海外製造品は無く全て国内製造品であるが、100%海外からの輸入血漿を原料に製造されている。国内の D (Rho) 陰性者は全体の 0.5%と海外に比べ低く、RhIG の原料血漿となる抗 D 抗体をもつ D (Rho) 陰性ドナー血漿の国内調達は困難な状況であるが、世界的にもドナーは高齢化しており原料血漿の確保、および安定供給への影響が懸念されている。世界では唯一、インドの製薬企業 BSV 社が抗 D ヒ ト モ ノ ク ロ ナ ー ル 抗 体 (Trinbelimab) の製造開発に成功しており、将来的には Trinbelimab を含む海外製造品の国内導入の必要性が予想されることから、国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法、および国際単位規格の生物基への導入は喫緊の課題と考えられた。

E. 結論

血液製剤における国家検定試験の削除

本研究課題により、血液製剤における国家検定の廃止が進められた。ポリエチレングリコール処理人免疫グロブリン、pH4 処理酸性人免疫グロブリン製剤における国家検定からの免疫グロブリン G 重合体否定試験の削除、乾燥濃縮人プロトロンビン複合体製剤の国家検定からの力価試験（血液凝固第 IX 因子）の削除、乾燥濃縮人血液凝固第 X 因子加活性化第 VII 因子製剤の国家検定からの力価試験の削除、乾燥濃縮人 α 1-プロテインゼインヒビター製剤の国家検定からの力価試験の削除について可能であると結論づけた。SLP 審査のみでロット

リリース可能な製剤は事務処理期間が、60 日から 30 日へと変更となり、より迅速なロットリリースが可能となり、国内需給調整にも大きく貢献するものと考えられる。

国際調和を目指した抗 D 人免疫グロブリン製剤 抗体価測定法の確立

国内の RhIG を製造販売する全ての製造所、および国立感染症研究所において、Method B（競合酵素免疫測定法（競合 EIA 法））での測定が可能であることが確認された。導入候補となった競合 EIA 法の生物基準への導入の妥当性の検討のため、国内外で承認されている RhIG について、競合 EIA 法に加え生物基準に従って間接クームス法にて抗 D 抗体価を測定する共同測定を計画している。国際的に標準化された抗 D 抗体価測定法、および国際単位規格の生物基への導入は喫緊の課題であり、早期の対応を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Choi CW、 Choi Y、 Maryuningsih YS、 Shin JH、 Chantarasomchin P、 Mizukami T、 Ng SW、 Thi DL、 Ramondrana D、 Dimapilis GN、 Sohn KH、 Roh HS、 Koh HJ、 Lee W、 Kim YH. Report of the Ninth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2024、 with a focus on regional harmonization of regulatory systems to prepare for cross-border transfer of plasma. *Biologicals*. 2025; 90: 101823.
- 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. 2024; 85:101754.

- 3) 野島 清子、関 洋平、水上 拓郎. 人免
疫グロブリン製剤の歴史と品質確保 (解
説). *ファルマシア* (0014-8601) 60 巻 6 号
Page543-547 (2024.06)

2. 学会発表

- 1) Mizukami T. Recent Updates and Future
Prospects for National Lot Release Systems
in Japan. Asian National Control Laboratory
Network Meeting 2024、 Seoul、 Korea、
5th September、 2024.
- 2) 水上拓郎. 生物学的製剤の品質管理試験
の見直しについて～血液製剤の検定の
あり方と異常毒性否定試験の生物基か
らの削除～. 第 21 回医薬品レギュラト
リーサイエンスフォーラム. 2024 年 12
月 10 日 東京

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と国際整合化のための研究

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	安全管理研究センター
研究協力者	岩城 正昭	国立感染症研究所	安全管理研究センター・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	安全管理研究センター
	田原口 元子	国立感染症研究所	安全管理研究センター
	滝本 一広	国立感染症研究所	安全管理研究センター
	村方 好子	国立感染症研究所	安全管理研究センター

研究要旨：動物実験における国際的倫理原則 3Rs のうち、致死性実験では 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。従来のボツリヌス毒素試験では、マウスの死亡をエンドポイントとしていたため、動物福祉の向上を図るにはより早期の人道的エンドポイントの設定が求められていた。本研究では、ddY マウスにボツリヌス毒素を接種し、体温推移と症状の進行の関係に着目し体温、運動量、及び症状の程度を経時的に測定することで、人道的エンドポイントとしての適用可能性を検討した。接種後の生存期間に基づき、マウスを「早期死亡群（接種 24 時間以内に死亡）」「後期死亡群（接種 48 – 72 時間の観察時に死亡）」「生存群（観察期間中生存）」の 3 群に分類し、各群の体温推移および症状変化を解析した。早期死亡群は接種 3 – 6 時間後に急激な体温低下が認められ、接種 9 – 21 時間後に死亡していた。後期死亡群では接種 10 – 12 時間後から緩やかな体温の低下が認められた。生存群では、接種 12 時間後までは体温が 35℃以下にならず、接種 30 時間まで 34℃以下に低下しなかった。臨床症状の観察において、死亡したマウスの 58.8%は、接種 4 時間後の時点で「弱い」から「やや強い」症状が観察され、後期死亡群では接種 24 時間後に「やや強い」から「強い」に症状が増強した。また、生存群の 90.9%は、接種 4 時間後の時点では症状が認められず、接種 24 時間後から症状が出現していた。早期死亡群の人道的エンドポイントとして体温 34℃を閾値とし、接種 4 時間後の症状評価を併用しつつ、6 – 7.5 時間後、および、11.5 – 13 時間後で体温測定を行うことが適切であると示された。一方、後期死亡群では体温 34℃、34.5℃を閾値とし、接種 4 時間後およびその後の症状評価を併用しつつ接種 19.5 時間後および、接種 24 時間後に体温測定を実施することで、生存群の誤処分リスクを抑えながら対象個体を適切に識別できる可能性が示唆された。体温推移と症状が死亡時期と関連し特定の閾値を設定することで動物の苦痛を軽減しつつ適切な評価が可能であることが示唆された。

A. 研究目的

動物実験における国際的倫理原則「3Rs」

のうち、代替法の利用 (Replacement) および
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されている。一方、動物実験技術の洗練・苦痛の軽減（Refinement）は義務事項として規定されている。そのため、致死性の動物実験においては、Refinement の観点から動物を苦痛から早期に解放すること（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などが挙げられる（中井伸子. LABIO 21, 26-31, 2007）。しかし、ボツリヌス抗毒素力価試験・破傷風トキソイド力価試験・ジフテリア抗毒素力価試験などの致死性試験では、現行の観察方法では動物の死を予測することが難しく、急激な病状の悪化により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。

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、複数のボツリヌス毒素濃度を設定してマウスに接種し、死亡までの体温の推移をデータロガー（“nano tag”、キッセイコムテック社）で測定することにより、死亡までの経過時間によって体温低下の推移が異なることが示され、「毒素接種 22 時間後までに死亡する群」と「接種 48 時間後までに死亡する群」に分類することで、それぞれの人道的エンドポイントを設定できる可能性が示唆された。さらに、複数回の体温測定により、人道的エンドポイントを適用できることがほぼ確認された。しかし、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、対象外のマウスへの「誤適用」というリスクは完全には排除できていなか

った。

そこで、本研究では、これまでに設定した条件の検証、サンプル数の増加、複数の段階的な毒素量の接種を行うことで、人道的エンドポイントの見落としや誤適用のリスクを軽減し、より正確な人道的エンドポイントの設定を検討した。

B. 研究方法

ボツリヌス毒素接種後の経時的な体温・運動量測定と症状の観察

本研究では、ddY マウス 計 61 匹（4 週齢，♀，n = 2-10）を用いて実験を行った。

1. nano tag の埋め込み

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+酒石酸ブトルファノールの混合液、1 匹あたり 0.1mL/体重 10g、腹腔内投与）による麻酔下で実施した。マウスの背面の皮膚を約 1cm 切開し、nano tag のアンテナ部分が外側になるように皮下に埋め込み、クリップで縫合した（図 1）。埋め込み後、nano tag により 5 分間隔で経時的な体温および運動量の記録を開始した。

2. ボツリヌス毒素の接種および観察

nano tag 埋め込み 3 日目に、以下の 13 段階に希釈した A 型ボツリヌス毒素を腹腔内投与（0.5 mL/ マウス）した。接種後、死亡するまで、または最大 7 日間観察した。接種毒素量（LD₅₀）：0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.375, 0.5, 0.625, 0.75, 0.875, 1, 2, 4, 10LD₅₀

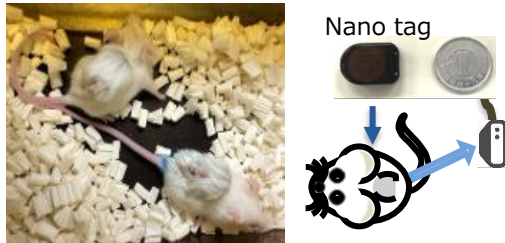


図 1. Nano tag を背部皮下に埋め込んだマウス (4 週齢, ♀)

3. 症状の評価

死亡に至るまでの症状を、以下の 4 段階に分類し記録した。

症状レベル	症状の定義
[-]	症状なし (腹部を両側から押すと強い反発あり)
[+]	弱い症状 (腹部を両側から押すと反発が弱い)
[++]	やや強い症状 (腹部を押したときの反発なし、上から見ると腹部の陥凹が観察される)
[+++]	強い症状 (マウスが動けない) (図 2)

これらの症状記録と体温の変化を照合し、体温低下と症状進行・死亡の関係を解析した。

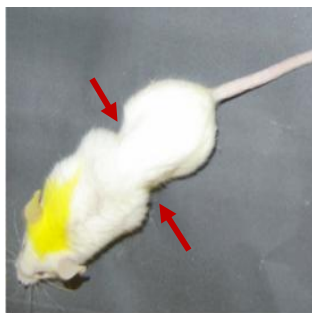


図 2. ボツリヌス毒素攻撃による攻腹部の著しい凹みが観察されたマウス (症状の程度: [+++])。

(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 122177-III)。

C. 研究結果

ボツリヌス毒素接種試験における動物の体温推移と症状の進行

ボツリヌス毒素接種後のマウスの運動量および体温の変化、症状の程度を図 3A-3C 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、接種 24 時間後の観察時には、61 匹中 0.375 – 10 LD₅₀ の毒素を接種したマウス 23 匹が死亡していた (図 3A)。これらのマウスでは、接種 4 時間後に「弱い」から「やや強い」症状が観察され、接種 3 – 6 時間後から急激な体温および運動量の低下が認められ、接種 9 – 21 時間後に死亡したと推測された。接種 48 時間後・接種 72 時間後の観察では、61 匹中 0.25 – 1 LD₅₀ の毒素を接種したマウス 9 匹が死亡していた (図 3B)。これらのマウスでは、接種 10 – 12 時間後から緩やかな体温および運動量の低下が認められ、接種 30 – 60 時間後に死亡したと推測された。また、接種 4 時間後では症状は認められなかったが、接種 24 時間後には「やや強い」または「強い」へと症状が出現していた。接種 7 日後に生存していたマウスの 90.9% が接種 4 時間後の観察時には症状が認められず、接種 24 時間後から「弱い」から「やや強い」症状が出現していた (図 3C、図 4)。これらのマウスでは、接種 24 時間後から緩やかに体温および運動量が低下し、接種 3 日後までは症状が増強した個体も観察されたが、4 日後以降から症状の軽減が認め

られた。接種 3 日後までに生存していたマウスは、その後、症状の回復が認められ観察最終日まで 29 匹が生存した。これらの結果は、接種 4 時間後の時点で症状がなかったマウスの大半が生存していたことを示しており、接種 4 時間後の症状がその後の生存の可能性の予測指標になりうる可能性があることが推測された。

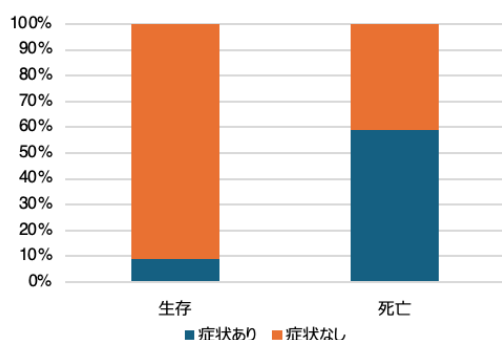


図 4. ボツリヌス毒素接種 4 時間後の症状の有無とその後の生死

平均体温の推移に基づく人道的エンドポイントの設定

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。毒素接種 24 時間後の観察時に死亡していたマウスを「早期死亡群」、接種 48 時間後、接種 72 時間後の観察時に死亡していたマウスを「後期死亡群」、観察期間終了まで生存していたマウスを「生存群」として分類した。各群の平均体温の推移を分析し、人道的エンドポイントとして適切な体温の閾値を推定した。早期死亡群では、接種約 6 時間後で平均体温が 35℃ 以下になると、その後も下がり続け急速に低下していた (図 5: 青)。後期死亡群においては、接種約 9 時間後以降で平均体温が 35℃

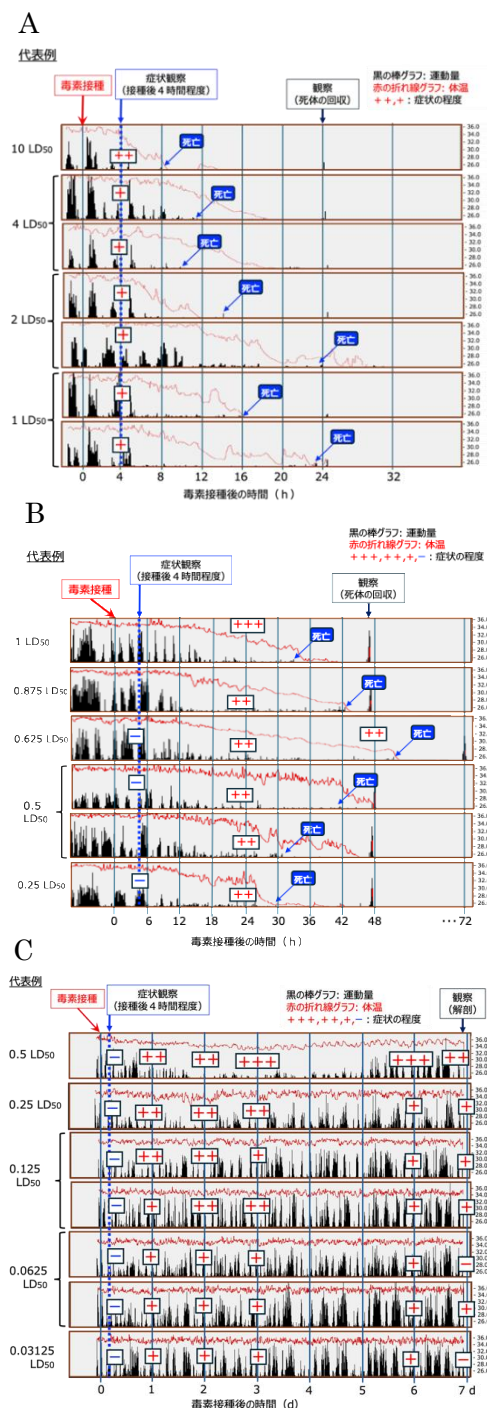


図 3. ボツリヌス毒素接種試験における動物の体温推移 (各群とも代表的なグラフのみを示す)

(A) 接種 24 時間後までに死亡したボツリヌス毒素接種後の体温および運動量の推移と症状、(B) 接種 48 時間後および接種 72 時間後に死亡したボツリヌス毒素接種後の体温および運動量の推移と症状、(C) 接種 7 日目に生存していたボツリヌス毒素接種後の体温および運動量の推移と症状。

以下になり、その後も下がり続ける傾向が認められ、34.5℃以下のなるとその傾向がより増強された(図5:赤)。生存群の平均体温は緩やかに低下したが、接種16時間後までは35℃以下には低下せず、接種25時間後までは34.5℃を下回らず、接種30時間後までは34℃以下には低下しなかった(図5:黒)。各群の平均体温の傾向から、35℃、34.5℃、34℃を体温の閾値として人道的エンドポイントに設定することが可能であると推測された。

体温を測定するタイミングの検証

各群で体温閾値以下になるタイミング(接種後の経過時間)に違いがみられたため、体温が35℃、34.5℃、34℃の閾値を下回る個体数を時間ごとにカウントし、各群(早期死亡群・後期死亡群・生存群)ごとの割合を算出した。この解析により、体温測定の適切なタイミングを検討した。体温閾値を35℃に設定した場合、各群では以下のような傾向がみられた。早期死亡群では接種9時間後以降で95.5 - 100%のマウスが閾値以下となった。接種9 - 13時間後では、後期死亡群では33.3 - 88.9%、生存群では17.2 - 37.9%が該当した(図6A [本報告書末尾])。この結果から、35℃を人道的エンドポイントとする場合、対象外のマウスを不要に処分する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、各群では以下の傾向がみられた。早期死亡群は、接種11.5時間後まででは34.8 - 95.5%が該当し、接種11.5時間後以降では95.5 - 100%のマウスが閾値以下となり、接種24時間後までに死亡していた。後期死亡群では、接種

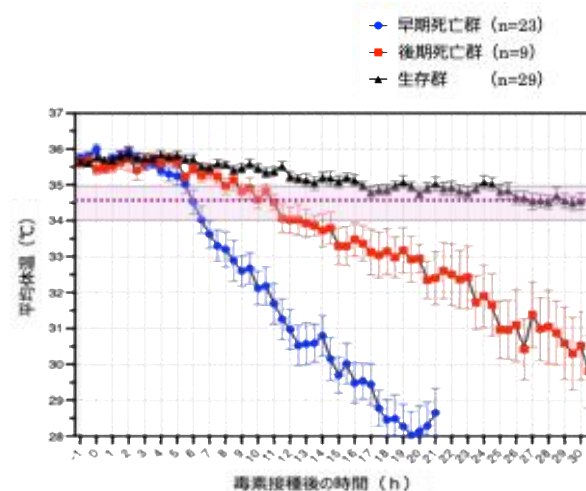


図5. 毒素接種後の早期死亡群(接種24時間後の観察時に死亡したマウス)・後期死亡群(接種48, 72時間後の観察時に死亡したマウス)・生存群(接種後7日生存したマウス)別の体温推移

11.5時間後まででは11.1 - 55.6%、接種11.5 - 19時間後までは55.6 - 88.9%が該当し、接種19.5 - 24時間後までには88.9 - 100%のマウスが閾値以下となった。対象外のマウスを処分するリスクは残された。生存群においては、閾値以下のマウスが接種12時間後までは3.4 - 10.3%であり生存群については対象外のマウスを処分するリスクは低く抑えられていた(図6B)。体温閾値を34℃に設定した場合、各群で以下の傾向がみられた。早期死亡群では、接種11.5時間後に閾値以下のマウスは90%を超え、90.9 - 100%の範囲で推移し、接種20.5時間後以降で100%のマウスが閾値以下を示した。後期死亡群では、接種7時間後までは閾値以下を示したマウスはいなかった。後期死亡群では、接種8 - 13時間後で11.1 - 33.3%、接種14 - 19.5時間後で55.6 - 77.8%、接種23.5時間以降で88.9%のマウスが閾値以下を示した。生存群では、接種16.5時間後までで閾値以下を示したマウスは3 - 10%、接種24時間後までは20%以下であった。この結果から

34℃を人道的エンドポイントとする場合、後期死亡群に対して適応すべきマウスを見落とすリスクはあるが、生存群において不要に処分されるリスクが最小限に抑えられると考えられた（図 6C）。いずれの体温閾値においても、後期死亡群においては、生存群のマウスを除外するために、接種 4 時間後時点の症状、および、その後の症状の出現を確認し、「症状がない」マウスを除外することにより「誤処分」のリスクを減らすことができると考えられた。

R5 年度に報告書で提案した人道的エンドポイントの検証と適応

これまでの研究では、0.5～4 LD₅₀ の毒素量を接種したマウスにおいて、以下のように人道的エンドポイント（体温の閾値）を設定していた。

[R5 年度の基準]

- I. 「毒素接種 22 時間後までに死亡する群」
 - ① 接種 8～9.5 時間後の体温が 34℃以下
 - ② 接種 8～9.5 時間後の体温が 34.5℃以下
- II. 「接種 48 時間後までに死亡する群」
 - ③ 接種後 11 時間以降の体温が 35℃以下

しかし、これらの基準には「対象とするマウスの見落とし」や「対象外のマウスの誤適用」といったリスクが残されていた。そこで、本研究では、より広範な毒素量（0.03125 - 10 LD₅₀）の 13 段階で毒素を接種したマウス 61 匹のデータを、R5 年度の人道的エンドポイントに当てはめて検証した。検証結果を本報告書末尾の図 7 に示した。各グラフ（図 7A-D）では、「R5 年度の基準」を濃い棒グラフで表示している。

I-① の設定では 52.2 - 72.7%（図 7A）、I-② の設定では 60.9 - 90.9%（図 7B）、II-③の設定で接種 24 時間後・接種 48 時間後の観察時に死亡したマウス（II-③-1）では、接種 11 - 18 時間後で 83.3～100%、接種 18 時間以降で 100%（図 7C）、II-③の設定で接種 48 時間後・接種 72 時間後の観察時に死亡したマウス（II-③-2）では、接種 11 - 12 時間後では 66.7%、接種 12.5 時間以降では 66.7-100%（図 7D）であった。生存群においては、I-①では 0-3.4%、I-②では 6.9 - 10.3%、II-③-1 では接種 11 - 16.5 時間後では 24.1 - 44.8%、接種 17 - 21 時間後では 44.8 - 72.4%、II-③-2 では接種 11 - 16.5 時間後では 24.1 - 44.8%、接種 17 - 18.5 時間後では 55.2 - 62.0%を示した。早期死亡群の I-①、I-②の設定では、対象外のマウスを処分する可能性は低い対象となるマウスを見落とすリスクが高かった。反対に、後期死亡群の II-③-1、II-③-2 の設定では、対象となるマウスを見落とすリスクは低い対象外のマウスを処分するリスクが高いことがわかった。

D. 考察

本研究では、ボツリヌス毒素試験における人道的エンドポイントの最適な設定を目的とし、「体温閾値と体温を測定するタイミングの検証」、「R5 年度提案の人道的エンドポイントの検証と適応」、「体温と症状の進行の関係」という 3 つの観点から解析を行った。その結果、「早期死亡群」と「後期死亡群」それぞれに適した体温閾値と測定時間の設定が可能と考えられた。

まず、体温測定のタイミングの検証では今

回の解析で、早期死亡群では、接種 12 時間後以降で 100%のマウスが 34.5℃以下となり（図 6A）、一部のマウスでは接種 3-6 時間後から急激な体温低下し 34℃以下に達することが確認された（図 6C, 7A）。一方、後期死亡群では接種 12 時間前後に 34.5℃以下となる個体が増え、接種 19.5 時間以降で 90-100%の個体が 34.5℃以下に達する傾向が認められた（図 6B）。このことから、早期死亡群では接種 12 時間以内の測定、後期死亡群では接種 12 時間以降の測定が適切であることが示唆された。

次に、R5 年度に提案した人道的エンドポイントの基準をより広範な毒素量で適応し検証したところ、「R5 年度に提案した前期死亡群の基準」では対象となるマウスを見落としリスクが高く（図 7A, 7B）、「R5 年度に提案した後期死亡群の基準」では生存群の誤処分リスクが高いことが判明した（図 7C, 7D）。特に、「R5 年度の後期死亡群の基準」を適用すると生存群の 55.2-62.0%が処分されるリスクがあることが示され、基準の見直しが必要であることが明らかになった。この結果から、早期死亡群には 34℃の体温閾値の設定が求められ、後期死亡群にはタイミングにより、34.5℃と 34℃を閾値とすることで、生存個体を過剰に処分するリスクを抑えられる可能性が示された。

さらに、体温と症状の進行の関係を分析した結果、接種 4 時間後時点の症状の有無がその後の生存可能性を予測する指標となる可能性が示唆された。早期死亡群では接種後 4 時間の時点で「弱い」から「やや強い」症状が出現し、症状がやや強かったマウス[++]は、接種 3-6 時間後から急激な体温低下が見られ接種 12 時間以内に死亡した（図 3A）。一

方、7 日間生存していたマウスの 90%は接種後 4 時間の時点で症状が見られず、接種 24 時間後に「弱い」から「やや強い」症状が出現していた（図 3C, 4）。このことから、早期死亡群では接種 4 時間時点の症状評価が重要であり、体温測定と組み合わせることで、より正確な人道的エンドポイントの設定が可能であると考えられる。また、後期死亡群では体温低下の進行が緩やかであるため、接種 12 時間以降の測定が適切であることが示された。さらに、後期死亡群においても生存群のマウスを除外するために、接種 4 時間後時点の症状、および、その後の症状の出現を確認し、「症状がない」マウスを除外することにより「誤処分」のリスクを減らすことができると考えられた。

以上の結果を踏まえ、本年度の解析で得られた新たな人道的エンドポイントの基準として、「早期死亡群」においては、体温 34℃を閾値とし、接種 4 時間後の症状評価を組み合わせることで、「接種 6 - 7.5 時間後」および、「接種 11.5 - 13 時間後」での体温測定を行うことが適切であると考えられる。一方、「後期死亡群」においては、34.5℃、34℃を閾値とし、接種 4 時間後、および、その後の症状評価を組み合わせることで、34.5℃では「接種 19.5 時間後」「接種 24 時間後」、34℃では「接種 24 時間後」での体温測定を行うことで、対象となるマウスの見落としを防ぎながら、生存群の誤処分リスクを最小限に抑えることが可能となると考えられた。

E. 結論

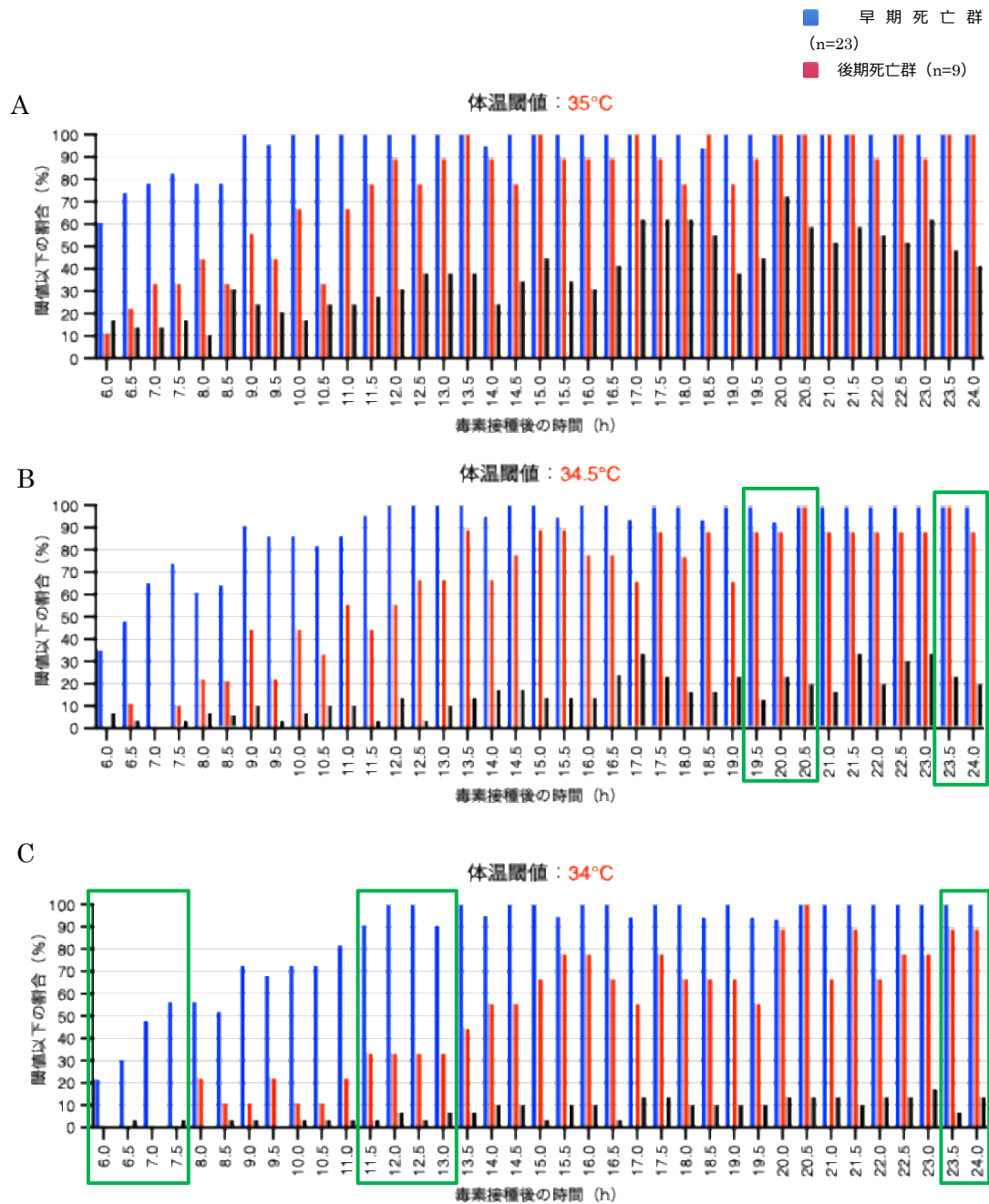
本研究では、ボツリヌス毒素接種試験におけるマウスの体温変化を詳細に分析し、人道的エンドポイントの設定を試みた。本研究の

結果から、「早期死亡群」においては「接種 6 – 7.5 時間後 34℃以下」および、「11.5 – 13 時間後 34℃以下」に対して「接種後 4 時間の症状評価」を組み合わせることが適切であると示された。一方、「後期死亡群」においては「接種 19.5 時間後 34.5℃以下」「接種 24 時間後 34℃以下、または 34.5℃以下」に対して「接種 4 時間後時点、および、その後の症状評価」を組み合わせることで、対象となるマウスの見落としを防ぎながら、生存群の誤処分リスクを最小限に抑えることが可能となると考えられた。体温推移と症状が死亡時期と関連し特定の閾値を設定することで動物の苦痛を軽減しつつ適切な評価が可能であることが示唆された。

F. 研究発表

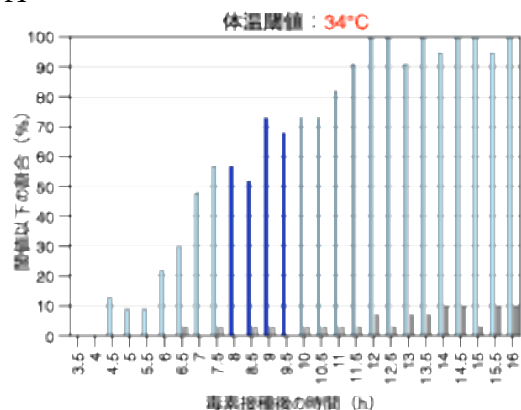
1. 論文発表 なし
 2. 学会発表
- 1) Murakata Y, Iwaki M, Senoh M, Taharaguchi M, Ami Y, Yonemitsu Y, Takimoto K, Hanaki K. “Approach to Humane Endpoint Setting in Potency Testing of Botulinum Antitoxins.” 60th Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, Atlanta, GA, 17th - 20th November 2024. (Poster session)

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし



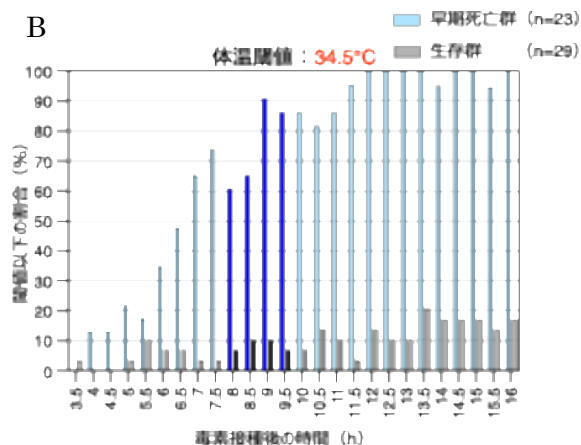
I. 「毒素接種 22 時間後までに死亡する群」
① 接種 8～9.5 時間後の体温が 34℃以下

A



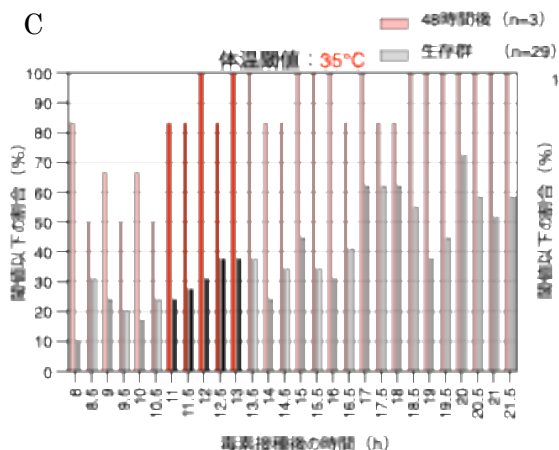
I. 「毒素接種 22 時間後までに死亡する群」
② 接種 8～9.5 時間後の体温が 34.5℃以下

B



II. 「48 時間後までに死亡する群」③ 接種後 11 時間以降の体温が 35℃以下

C



D

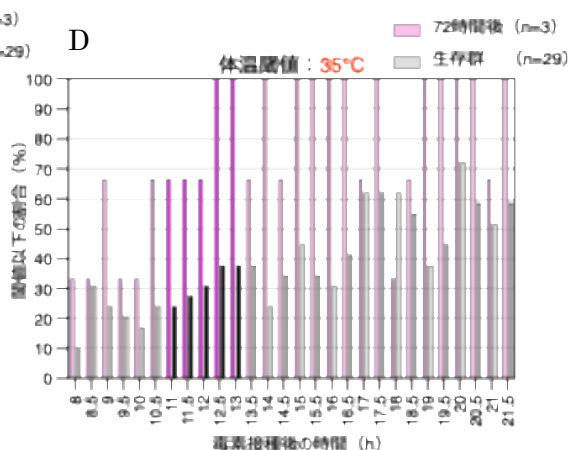


図 7. R5 年度の人工的エンドポイント（体温閾値+測定のタイミング）の検証 (A) R6 年度の接種 24 時間後までに死亡した早期死亡群と生存群に対する検証 (B) R6 年度の接種 24 時間後までに死亡した早期死亡群と生存群に対する検証 (C) R6 年度の接種 24 時間後から 48 時間後までに死亡した後期死亡群と生存群に対する検証 (D) R6 年度の接種 48 時間後から 72 時間後までに死亡した後期死亡群と生存群に対する検証（「R5 年度の基準」を濃い棒グラフで表示）

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と国際整合化のための研究

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 仲山 紀子 国立感染症研究所 ウイルス第一部
河原 円香 国立感染症研究所 ウイルス第一部

研究要旨：本研究は、狂犬病ワクチンの力価試験を動物実験から *in vitro* の抗原 ELISA 法に変更することを目的としている。狂犬病は致死率がほぼ 100% の人獣共通感染症であり、世界では年間約 59,000 人が亡くなっている。日本では 1957 年以降国内発生はないが、渡航用ワクチンとして重要である。上記目的のため、我々は欧州医薬品品質部門（EDQM）の国際共同研究 BSP148 に参加している。BSP148 では、Phase1 でプロトコル準備、Phase2 で国際標準品を用いた試験、Phase3 で各国のワクチンを使用した試験が行われる。本年度は Phase3 として、バーバリアンノルディック社のワクチンサンプルを輸入し、それを用いて前希釈決定の試験を実施した。実験では、ワクチンサンプルを 50 倍、100 倍、150 倍に希釈し、100 倍希釈が最適であることが確認された。電動ピペットの設定ミスによる数値のブレも発見され、プロトコルに設定確認項目を追加した。来年度は決定したプロトコルに従い試験を行い、国際会議に参加する予定である。

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る。日本では 1957 年のネコの症例を最後に狂犬病の国内発生はないが、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、厚生労働科学研究費補助金による研究成果を受けて、2017 年より人道的エンドポイントの導入がされた。本研究では、さらなる改善として力価試験を *in vitro* 力価試験である抗原 ELISA 法に変更することを目的としている。

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。BSP148 は 3 つの Phase からなっており、Phase1 は EDQM 協カラボによるプレテスト・プロトコル準備、

Phase2 は国際標準品および EDQM 提供サンプルを用いた参加ラボによる共同試験、Phase3 は各国での国内ワクチンを使用した試験となっている。これまでに、我々は Phase2 において EDQM のプロトコルに従って試験を繰り返し、その結果より、試薬、前希釈および使用機器の変更等を行うことにより、プロトコルの調整を行った。また、Phase2 の結果について国際会議が開催され、最終的なプロトコルについて確定された。

本年度は Phase3 の実施のため、バーバリアンノルディック社より試験に用いるワクチンサンプルを輸入し、これを用いた前希釈決定のための試験およびその確認を行った。

B. 研究方法

材料：

- ・ ラビピュール 12 バイアル (バーバリアンノルディック社より分与)
- ・ 第 7 次国際標準品：7thIS (NIBSC より購入)
- ・ 国内標準品 (GSK 社 ラビピュール)
- ・ Capture Mab: Anti-Rabies Virus Antibody, clone 1112-1 (RD biotech/MERCK)
- ・ Detection Mab: Anti-RABV Glycoprotein Antibody, clone D1-25 (MERCK)
- ・ DPBS (GIBCO 14190)
- ・ BSA(SIGMA A2153)
- ・ Tween20 (WAKO 167-11515)
- ・ Streptavidin, Peroxidase Conjugated (SIGMA S2438)
- ・ Citate buffer (SIGMA P4809)
- ・ o-Phenylenediamine dihydrochloride:OPD (SIGMA P3804)
- ・ H2O2 (WAKO 10977-015)
- ・ Coating buffer: Carbonate-bicarbonate buffer

(0.2M), pH 9.6

- ・ Stop solution: 1M H2SO4 (WAKO 198-09595)

方法：抗原 ELISA については EDQM により提供された BSP148 Phase 2 Study Protocol に従って行った。Capture Mab を Buffer で希釈し、プレートに播種して 4°C で 16—20 時間放置した。プレートを 0.05%Tween20 含有 DPBS で洗浄後、BSA1%含有 DPBS でブロッキングし、洗浄後前希釈したワクチン試料を 1.8 倍段階希釈して添加した。ビオチン化 Detection Mab、Streptavidin-Peroxidase、OPD を毎回洗浄後に順に反応させた後、stop solution を加えた。492nm で測定した数値より 620nm で測定した数値を引き、結果を GraphPad Prism10 および CombiStats ソフトウェアで 5-parameter logistic (5PL) model を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

該当なし

C. 研究結果

実験 1：Phase2 では事前に EDQM が試験ワクチンの前希釈について検討を行い決定されていた。しかし、今回各国で使用するワクチン製剤を使用するため、各製剤の濃度や特性に合わせた前希釈を設定する必要がある。そこで、各ワクチンサンプルを 50 倍、100 倍および 150 倍に希釈して試験を行った (繰り返し 1 回)。GraphPad Prism10 による解析の結果、各サンプルはほぼ完全なシグモイド曲線を取っていた。図 1A に示すように試験ワクチンは 100 倍希釈で 7thIS と近い曲線を示したことから、試験ワクチンの前希

積としては 100 倍が適当であると考えられた。12 のワクチンサンプルのすべてで 100 倍希釈が最も適当な前希釈の濃度であった (図 1C)。

実験 2: 実験 1 により決定した前希釈 : 100 で各試験ワクチンを希釈して試験を行った (繰り返し 2 回)。Combistats による解析の結果、各曲線はほぼ完全なシグモイド曲線を取っていたが、Plate2 においては 2 段階目の希釈で数値のブレが見られた。7thIS の各数値はプレート間でほぼ一定であった。

D. 考察

現在日本で承認されているワクチンは、バーバリアンノルディック社 (販売: オーフアンパシフィック社) のラビピュール筋注用と KM バイオロジクス社の乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンの 2 製品であり、そのうち KM バイオロジクス社のワクチンについては 2019 年以降製造がない。本研究では、バーバリアンノルディック社より、12 ロットのサンプル供与を受け、それを用いた条件検討を行った。実験 1 によりラビピュールについては前希釈 100 倍が適当であることが分

かった。実験 2 では前希釈 100 倍で試験を行い、本希釈率で試験を行うことが適当であると再確認された。一方、プレート 2 では数値のブレが見られたが、これは電動ピペットの速度の設定を間違えて通常より早くしたことにより、攪拌に異常があったこと原因と考察された。再発防止のため、プロトコルに電動ピペットの設定値とその確認の項目を追加した。

E. 結論

Phase3 は各国での国内ワクチンを使用した試験を行うが、それに必要なワクチンの前希釈率を決定することが出来た。また、電動ピペットの設定の重要性が明らかとなったことから、設定とその確認について新たにプロトコルに追加した。来年度は決定したプロトコルと前希釈に従い試験を行うとともに、試験の導入に向けて国際会議に参加する予定である。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

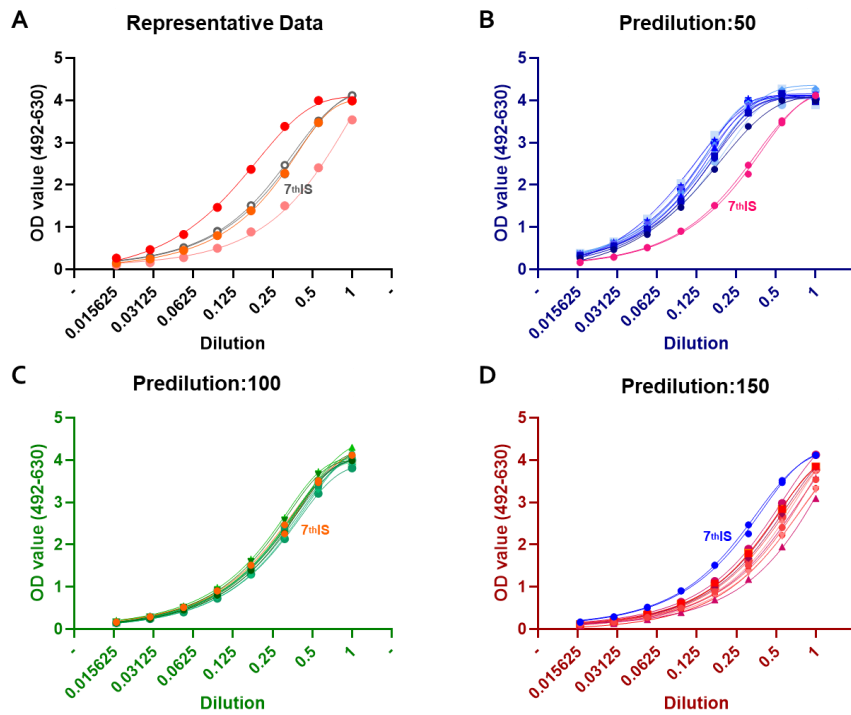


図 1：実験 1 の GraphPad Prism10 による解析

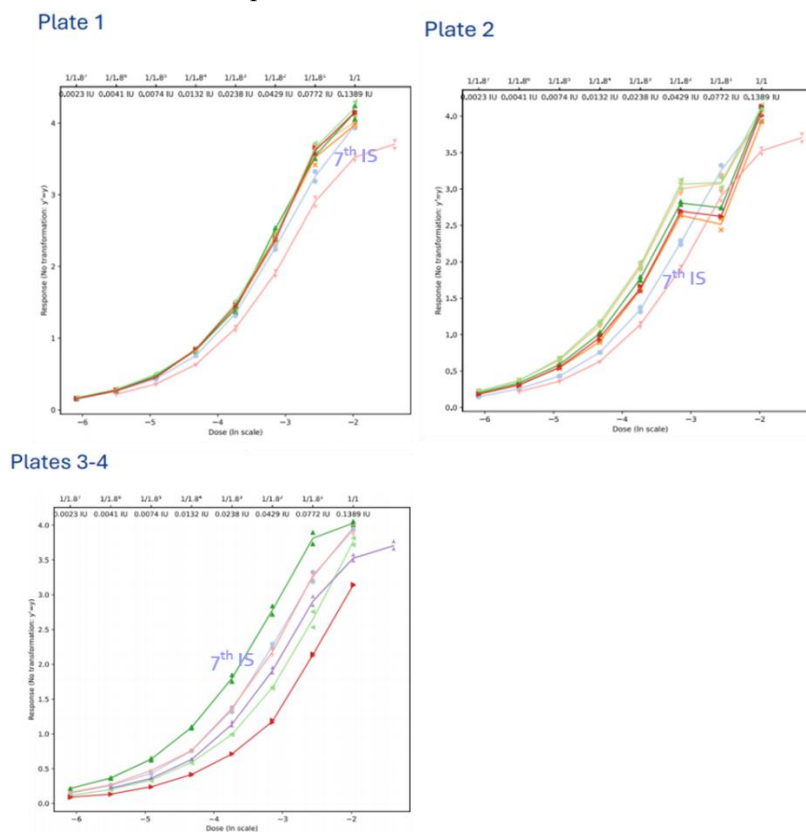


図 2：実験 2 の Combistats による解析

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と国際整合化のための研究

分担研究報告書

生ウイルスワクチンの国家検定の見直しに関する研究

研究分担者 大槻 紀之 国立感染症研究所 ウイルス第三部

研究要旨：麻しん、風しん、おたふくかぜ生ワクチンの中間段階で実施されている国家検定項目の一つであるウイルス含量試験についてその必要性を多角的に検討するとともに、約10年間の国家検定結果ならびに製造所における自家試験結果を比較検討し本試験を国家検定で実施する必要があるかを検討した。
その結果、国家検定実施機関である感染症研究所で規定している「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」に規定される項目に必ずしも該当しないものの、ウイルス含量試験は国家検定で実施しなくともワクチンのロットリリース時の品質に与える影響はほとんどないと考えられることから国家検定からの削除は可能と考えられた。

A. 研究目的

現在ウイルス性生ワクチンである麻しん・風しん・おたふくかぜワクチンにおいては小分け製品だけではなく原液（中間段階）においてウイルス含量試験およびマーカー試験（風しんおよびおたふくかぜワクチンのみ）が国家検定で実施されている。このうち3製剤に共通するウイルス含量試験について国家検定の必要性を検討し、国家検定項目からの削除が可能かを検討した。

験と最終小分け製品（ワクチン製剤）の力価試験成績との比較を実施しウイルス含量試験の意義について検討を行なった。また、感染症研究所の内規で定められている「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」（非公開資料）への該当状況についても検討した。それぞれの検討結果を踏まえて中間段階におけるウイルス含量試験の国家検定からの削除の可否について総合的に評価した。

B. 研究方法

現在国内で使用されている、麻しんワクチン（3社分）風しんワクチン（3社分）、おたふくかぜワクチン（2社分）の中間段階の自家試験成績並びに国家検定成績を約10年分比較検討した。また製造所における中間段階のウイルス含量試

（倫理面への配慮）特になし

C. 研究結果

国家検定結果と自家試験成績は麻しんおよび風しんともにいずれの製造会社のものであってもその結果は過去10年分の成績ではほぼ等しかった。一方、お

たふくかぜワクチンにおいては、一社のものに関して基準は満たしているものの国家検定結果と乖離する場合が確認されている。

またウイルス含量試験の結果（自家試験および国家試験）はロットによりばらつくものが多いことが判明した。このことは GMP 管理を厳格に行なっても製造における変動が避けられない生ワクチン製剤およびバイオアッセイを用いる試験方法の特性からくるものと考えられた。

中間段階の試験は基本的に中間原液を最終製品濃度に希釈した検体で自家試験並びに国家検定を実施している。このため理論上は中間段階のウイルス含量試験結果と最終製品の力価試験は同等となることが予想されるが、最終製品においてはその製造工程で凍結乾燥が行われる。凍結乾燥によりウイルス含量試験結果（中間段階）と力価試験結果（最終製品）の乖離が生じるかを確認したところ風しんワクチンでは凍結乾燥によるウイルス含量試験と力価試験の乖離は確認されなかったが、麻しんでは最終製品の力価試験成績はウイルス含量試験から大きく低下することが確認できた。このことは麻しんワクチンのウイルス含量試験結果は必ずしも最終製品の有効性を担保する試験でないことを示唆するものであった。

「国家検定における試験項目の削除に関する考え方」（非公開資料）への該当については製剤および試験法の特性上、結果のばらつきが確認されることなどから一部の項目で適合する状況でない

ことを確認した。

D. 考察

麻しん、風しん、おたふくかぜ生ワクチンの中間段階におけるウイルス含量試験は製剤の特性、また品質管理法がバイオアッセイであることより必ずしも試験結果が安定するものではないと考えられた。一方で当該試験の結果は最終製品の有効性を必ずしも担保するものでないこと、さらにはロットリリース時には製造者での力価試験並びに国家検定における力価試験を実施することによりその有効性を担保している。このことはウイルス含量試験を国家検定から廃止した場合においても製剤の有効性に影響を与えるものでないことを示していると考えられた。

また過去 10 年程度の自家試験並びに国家検定の結果からはウイルス含量試験で規格外試験結果は発生しておらず規格外となる可能性は低いものと考えられた。

E. 結論

麻しん・風しん・おたふくかぜワクチンの中間段階で実施されている国家検定「ウイルス含量試験」について国家試験から削除できるかを多角的に検討した結果、国家検定より当該試験を削除した場合においても最終製品の有効性に影響が出ないと考えられた。このことより当該試験の国家検定からの削除を推進することが適当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と国際整合化のための研究

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	金 玄	国立感染症研究所	細菌第二部	主任研究官
	岩城 正昭	国立感染症研究所	安全管理研究センター	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。これまでの研究において、培養細胞を用いた試験法を開発・検討したところ、本法は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。今年度は、ワクチン製造メーカーにおいて、トキソイド化が不完全な検体（毒性が残存している検体）を調製し、本法で検出可能か調べた。これにより、アジュバントであるアルミニウムゲルに吸着もしくは内包された状態においても毒性を検出できるか調べることができる。

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を対象としており、これまでの研究において、培養細胞を用いた試験法を開発したことから、本法の生物学的製剤基準への収載を目指し、ワクチン製造メーカーに

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、および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検体（毒性が残存している検体）を調製し、検出可能か調べることが目的となっている。本年度はトキソイド化が不完全な検体について検討を行った。

B. 研究方法

国内でジフテリアトキソイドを製造しているメーカーにおいて、トキソイド化が不完全な検体を調製した。実際のワクチン製造と同一の方法で調製し、トキソイド化のステップのみ、実際のワクチン製造と同じ濃

度のホルマリンで処理した検体（検体 A）、濃度をある程度下げたホルマリンで処理した検体（検体 B）、濃度を大幅に下げたホルマリンで処理した検体（検体 C）を調製し、アルミニウムアジュバントを含む沈降検体とした後、細胞培養法およびウサギ法にて評価した。Vero 細胞の生死判定には、画像解析法として、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）、および生細胞の代謝能を利用する方法である MTT 法として、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 124148）

C. 研究結果

・トキシイド化が不完全な検体の細胞培養法による毒性検出

検体 A、B、C をそれぞれ 2 倍段階希釈し、培地に加えたものを用いて 4 日間、37℃、5%CO₂ の条件下で Vero 細胞を培養した。その結果、画像解析法では、検体 A および B では毒性は検出されず、検体 C のみ 2¹⁵ 倍希釈まで毒性が検出された。一方、MTT 法では、毒性が検出されなかったのは検体 A のみで、検体 B は原液、検体 C は 2¹⁵ 倍希釈まで毒性が検出された。検体 B の原液および検体 C の原液での画像解析法と MTT 法の結果の相違について、アルミニウムゲルが一定の濃度を超えると画像解析法では結果に影響を与えたと考えられた（図 1）。

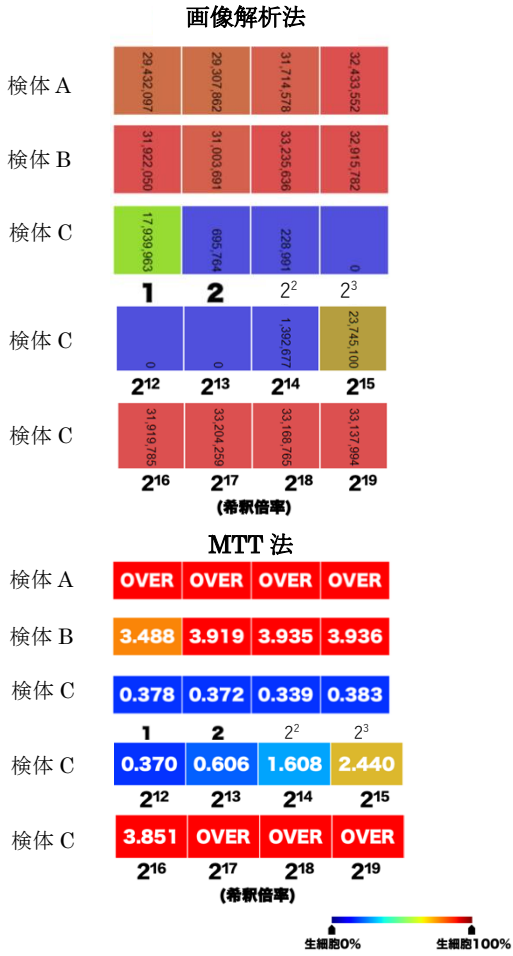


図 1. トキシイド化が不完全な検体の細胞培養法による毒性検出。細胞の生存率をヒートマップ方式で表示しており、赤を生存率 100%、青を生存率 0%とした。

・トキシイド化が不完全な検体のウサギ法による毒性検出

培養細胞法の結果を元に、検体 A および B の原液、2³ 倍希釈、検体 C の原液、2³、2⁷、2¹⁰、2¹³、2¹⁴、2¹⁵、2¹⁶ 倍希釈したものをウサギ皮内に接種し、2 日後に皮膚の状態を観察した。また、コントロールとして、4、1、0.1、0.01 MRD（最小反応投与量）のシック試験毒素を用いた。その結果、コントロールでは 4 および 1 MRD で発赤が認めら

れたが、0.1 および 0.01MRD では、発赤は認められなかった。検体 A および B では原液および 2^3 倍希釈のどちらも発赤は認められなかった。検体 C では、原液から 2^{13} 倍希釈まで発赤が認められた。 2^{14} 倍希釈においても小さい発赤が認められるが、本法において頻回に認められる接種痕と同程度のサイズであることから陰性とした（図 2）。

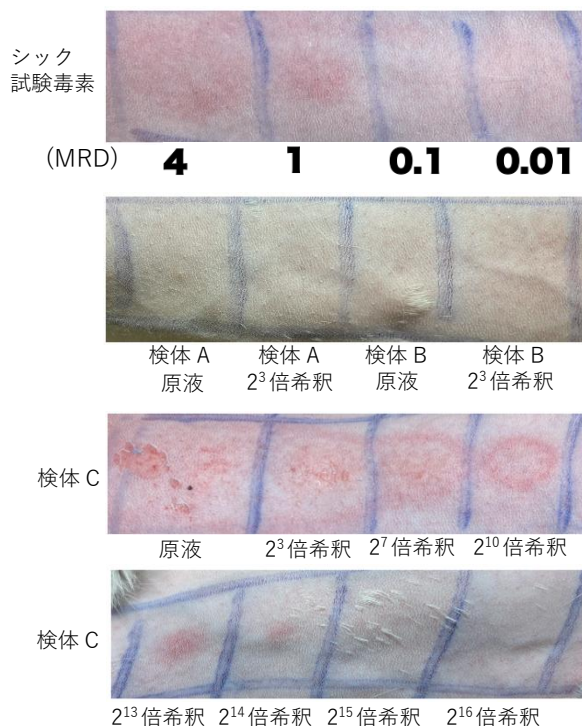


図 2. トキソイド化が不完全な検体のウサギ法による毒性検出。

D. 考察

トキソイド化が不完全な検体をワクチン製造メーカーにおいて実際のワクチン製造と同一の方法で調製し、アルミニウムゲルに吸着・内包されている状態での毒性検出が細胞培養法で可能か調べた。その結果、細胞培養法で毒素検出することが可能であり、その感度はウサギ法の 4 倍程度であることが示された。また、細胞生存率の判定につい

て、画像解析法ではアルミニウムゲルが一定の濃度以上であると影響を受けるが、MTT 法では濃度に関係なく影響を受けないことが明らかとなった。

E. 結論

ジフテリアトキソイド無毒化試験のウサギ法の代替法として開発した細胞培養法はアジュバントであるアルミニウムゲルにトキソイドが吸着・内包された状態でも毒性を検出可能であることが示された。また、細胞生存率の判定方法として、画像解析法は簡便であるが濃度が高いとアルミニウムゲルの影響を受けること、MTT 法はアルミニウムゲルの影響を受けないが手間と時間がかかることを考慮し、状況に応じて使い分けが必要であることが示された。今後、トキソイド化が不完全な検体について、ホルマリン濃度を変化させる方法以外で調製した検体を用いて検討すること、また、モルモット法との比較を行うことで、追加評価を実施することを考えている。

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と国際整合化のための研究

分担研究報告書

国家検定の試験頻度の見直し等に関する研究

研究分担者	落合 雅樹	国立感染症研究所	品質管理研究センター	室長
研究協力者	石井 孝司	国立感染症研究所	品質管理研究センター	センター長
	藤田賢太郎	国立感染症研究所	品質管理研究センター	主任研究官
	湯浅 磨里	国立感染症研究所	品質管理研究センター	主任研究官
	加藤 文博	国立感染症研究所	品質管理研究センター	主任研究官
	木所 稔	国立感染症研究所	品質管理研究センター	主任研究官
	内藤誠之郎	国立感染症研究所	品質管理研究センター	主任研究官
	佐々木裕子	国立感染症研究所	品質管理研究センター	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6年9月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じることができる対象品目を選定した。また、ワクチンのリスク評価に用いるリスク評価シートの見直しなどを検討した。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、国家検定の実績、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等に応じた国家検定の最適化や国際整合化が期待できる。

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一律にすべての製造ロットごとに実施しているが、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、WHO の「Guidelines for independent lot release of vaccines by

regulatory authorities」(WHO TRS 978, Annex 2, 2013)でも推奨されている。ワクチンの国家検定においては、製造・試験記録等要約書(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きたこと、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。これまで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国家検定の最適化や国際整合化を目指すための研究」等)において検討したリスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針等(図1)を踏まえて、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。

B. 研究方法

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、各ワクチンの製剤担当部署に令和6年9月末までを評価対象期間としてリスク評価シート(適用、本質、製造実績、試験実績、SLP審査に対する評価項目(図1)をスコアリングするために用いる)への記入を依頼し、提出されたリスク評価シートの確認、リスクスコアの集計・解析を行い、試験頻度を減じることができるワクチン(対象品目)の選定とリスク区分(試験頻度の設定)について検討した。また、今回のリスク評価を踏まえて、リスク評価シートの見直しなどを検討した。

(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) 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、各ワクチンの製剤担当部署に令和6年9月末までの実績(標準対象期間:令和3年4月~令和6年9月)に基づき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4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2)。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18ワクチンを選定候補とした。ただし、すでに販売終了となっている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2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、標準対象期間に出検がない2ワクチンは、試験頻度を減じる対象から除外し、残りの12ワクチンについて、過去のリスク評価結果を比較検討に加え評価を行った。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、試験頻度を減じることができる対象品目として選定された実績があるワクチンであったが、2番目に全体リスクスコアが高かったワクチンは、前回のリスク評価と比べてスコアに大きな上昇が認められ、その原因として試験実績とSLP審査の両方の項目で比較的大きなスコアの上昇が見られた。本ワクチンについては、試験実績が安定することなどを確認した上で試験頻度を減じることができる品目として選定することが妥当と考えられたため、本ワクチンより全体リスクスコアが低い品目を選定する方針とした。5ワクチンは、今回の評価により初めて試験頻度を減じることができる対象品目として選定されたが、過去のリスク評価において、全体リスクスコアが安定して低リスクと評価されてきたことを確認した。また、選定候補とした品目においては、標準対象期間に製品回収が発生していないことを確認した。

以上により、試験頻度を減じることができるワクチンとして、10ワクチンを選定し、試験頻度は50%に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などの検討

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。

- ・ 適用の対象年齢に妊婦を追加する
- ・ 製造実績の「国内での製造実績（出検数）」は、カバーページの標準対象期間の出検数から自動計算させる

また、以下については、継続検討事項とした。

- ・ 令和4年度以降の評価対象期間は、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」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）に変更する
- ・ 本質の添加物について、添加物の一覧を作成し、本評価項目の指標を見直す

その他、令和3年7月にSLP審査が導入された医薬品（乾燥BCG膀胱内用（日本株）、精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤、血液製剤を除く）に対するリスク評価について検討した。血液製剤については、本研究班の「血液製剤の国家検定のあり方について」（研究分担者：水上拓郎）において検討されているため、検討対象から除いた。精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤は、用途が診断あるいは治療であること、抗毒素製剤においては製造方法がワクチンとは大きく異なることなどからワクチン用に作成したリスク評価シートの大幅な改訂の必要性が見込まれること、また出検数が少なく（通常年

1 ロット以下)、実質的に試験頻度を減じることができないことから(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ため)、出検数の増加(年2ロット以上)が見込まれる際に検討することにした。乾燥BCG膀胱内用(日本株)は、乾燥BCGワクチンと同様の製造方法及び品質管理に用いる試験方法であり、ワクチン用に作成したリスク評価シートの適用を一部改訂することで評価可能と考えられること、また出検数も多いことから次回以降のリスク評価の対象にすることとした。

D. 考察

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6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10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、今回の評価から製品回収の発生状況を把握し、対象品目の選定において考慮することにした。

リスク評価シートについては、製造実績の「国内での製造実績(出検数)」を、カバーページの標準対象期間の出検数から自動計算させることにより、製剤担当者による入力内容を統一化することによる誤入力の防止や集計作業時の確認を容易にすることが期待できる。評価対象期間及び本質の添加物に関する指標の見直しについては、継続検討事項とした。評価対象期間については、実運用導入時に監麻課から発出される通知の内容に従って設定する必要がある。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。

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についても、SLP審査の実績が蓄積されつつある。血液製剤を除く乾燥BCG膀胱内用(日本株)、精製ツベルクリン、水痘抗原、抗毒素製剤のうち、乾燥BCG膀胱内用(日本株)は乾燥BCGワクチンと同様の製造方法及び品質管理方法が用いられており、ワクチンのリスク評価シートの適用を一部改訂することによりリスク評価が可能と考えられた。また出検数も多いことから、試験頻度を減じることができる対象品目に選定された場合にはその効果が高くなることが見込まれる。

ワクチン等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、選定対象とする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。

国家検定は、令和7年度以降検定項目がSLP審査のみになった品目から順次独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)に移管される。数年後にはすべての品目の国家検定(SLP審査を含む)がPMDAに移管され、実地試験は国立健康危機管理研究機構(現在の感染研)に委託される予定である。国家検定(SLP審査)移管後のリスク評価の実施体制については、厚生労働省及びPMDA関係者も含めた検討が必要である。

E. 結論

過去のリスク評価結果等を考慮した上で

直近（令和 6 年 9 月末まで）の実績等に基づきリスク評価を試行し、試験頻度を減じることができる品目として 10 ワクチンを選定した。また、リスク評価シートの見直しなどを検討した。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。

F. 研究発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

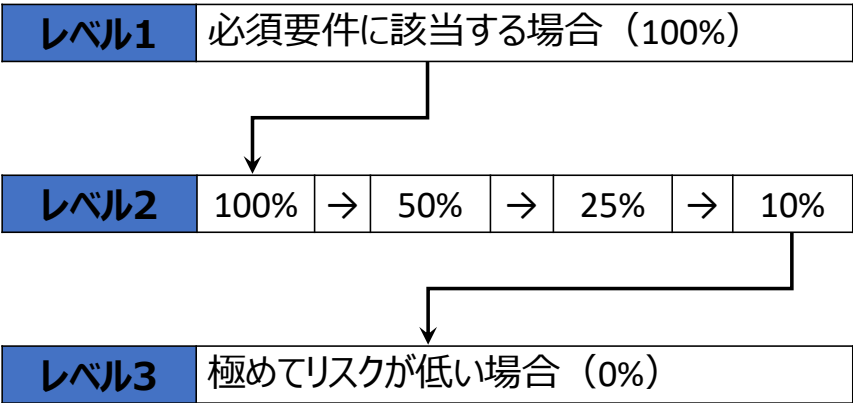
H. 謝辞

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に深く感謝申し上げます。

図1 リスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針等

リスク評価の実施（原則、年1回）

ただし、レベル1（必須要件）に該当する事由が生じた場合は、直ちにレベル変更を行う。



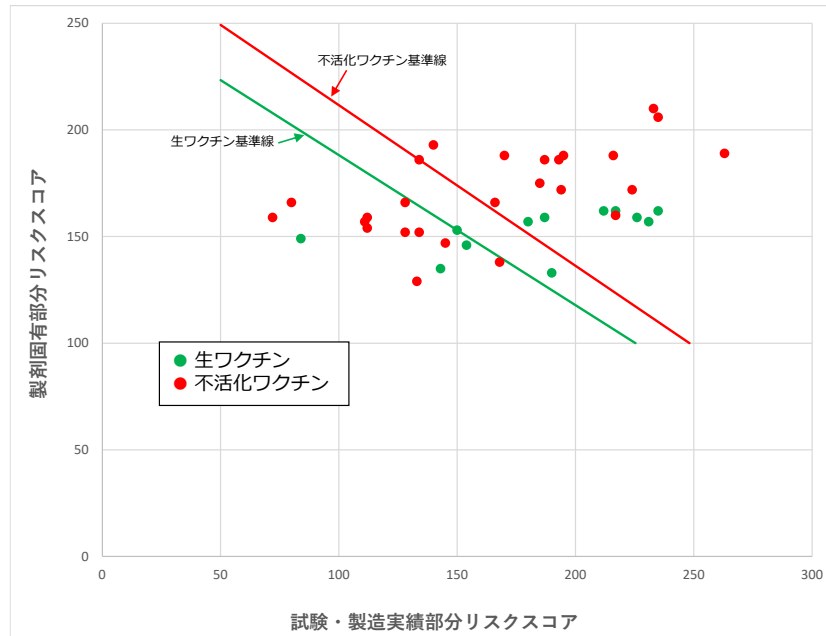
※ SLP審査は全ロットで実施

令和6年度リスク評価項目

製剤固有部分
製造及び試験実績部分

大項目	小項目
1. 適用	対象年齢
	対象者数
	接種回数
	接種経路
2. 本質	生ワクチンのタイプ
	不活化ワクチンのタイプ
	アジュバント
	添加物
	生物由来原料、不純物等
	製造株又はマスターシードの変更
	細胞基質等のタイプ
	製造工程の複雑さ
	製品の生物学的安定性
	製品の物理化学的安定性
3. 製造実績	原材料、中間体等の管理レベル
	製造工程の管理レベル
	承認からの使用実績
	国内での製造実績（出検数）
4. 試験実績	再試験の発生状況（自家試験）
	試験不成立の発生状況（自家試験）
	不合格の発生状況（検定試験）
	再試験の発生状況（検定試験）
	試験不成立の発生状況（検定試験）
	規格／基準値に対する余裕度（自家試験）
	規格／基準値に対する余裕度（検定試験）
	試験結果の安定性（恒常性：トレンドを含む）（自家試験）
	試験結果の安定性（恒常性：トレンドを含む）（検定試験）
	自家試験と検定試験の一致度
5. SLP審査	記載内容の正確度
	照会の頻度
	照会回答の的確性
	逸脱の発生状況
	逸脱への対応状況
	逸脱以外に製造工程・品質管理上イレギュラーなことが生じた際の対応状況
	SLP審査での不合格の発生状況

図2 国家検定の試験頻度を減じることができる品目の選定



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
Choi CW, Choi Y, Maryuningsih YS, Wibisono B, Kim JW, Ramondrana D, <u>Mizukami T</u> , 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
Choi CW、 Choi Y、 Maryuningsih YS、 Shin JH、 Chantarasomchin P、 <u>Mizukami T</u> 、 Ng SW、 Thi DL、 Ramondrana D、 Dimapilis GN、 Sohn KH、 Roh HS、 Koh HJ、 Lee W、 Kim YH	Report of the Ninth Asian National Control Laboratory Network meeting in 2024、 with a focus on regional harmonization of regulatory systems to prepare for cross-border transfer of plasma	Biologicals	90	101823	2025
野島 清子、関 洋平、 <u>水上 拓郎</u>	人免疫グロブリン製剤の歴史と品質確保	ファルマシア	60巻 6号	543-547	2024
Kanda T, Sasaki-Tanaka R, <u>Ishii K</u> , 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