

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス政策研究事業

総括研究報告書

ワクチン等の品質確保を目的とした新たな国家検定システムの 構築のための研究

研究代表者 脇田 隆字 国立感染症研究所 所長

研究要旨：

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

- 1) 血液製剤については、SLP 審査によるロットリリースを導入すべく検討を重ね、令和元年7月より試行を開始した。SLP 試行において明らかとなった問題点はその都度、メーカーや厚生労働省の関係各所と解決をはかり、施行開始とともに血液製剤の SLP 審査制度を滞りなく導入することが出来るよう準備を進めた。また、SLP 審査の信頼性の向上を目指し、SLP 電子審査システムの構築を検討した。蛇毒抗毒素製剤については、乾燥まむしウマ抗毒素について SLP 審査の試行を行い、その他の抗毒素製剤については、検定申請の頻度や他製剤における経験等を踏まえ、試行を省略する形で進めることになった。
- 2) 試験方法の評価と改良に関して、動物実験については、人道的エンドポイントの新たな指標として体温に着目し、それを可能にする実行容易な体温測定方法について検討したところ、体温測定部位は剃毛が不要な肛門周囲の温度と被毛の薄い腹部の温度が、直腸温度と強い正の相関を認めた。また、体温を指標とした人道的エンドポイントの設定は、ボツリヌス抗毒素力価試験において有効であることが示唆された。ヒトの血清中にははぶ毒素 (出血 II) に対する十分な抗出血 II 価が含まれているという科学的根拠に基づき、生物学的製剤基準からはぶ試験毒素 (出血 II) 関係の記載が削除された。また、狂犬病ワクチン、B 型肝炎ワクチン、4 種混合ワクチンに含まれるセービン株由来不活化ポリオワクチン、破傷風トキソイドの力価試験について、実験動物を用いて免疫原性を評価する *in vivo* 試験から抗原量を測定する *in vitro* 試験への移行のための検討を進めた。インフルエンザ HA ワクチンの力価試験については、現在国家検定として実施されている SRD 試験において、感染研成績と製造所成績の間に一部乖離が認められた。この原因の究明と適切な対応法の確立が、全ロット試験から一部ロット試験への移行には必要であると考えられた。
- 3) ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価 (試行) に対するアンケート調査に基づいて、共通重要度の導入を行い、各製剤のリスク区分の区分けを試みた。共通重要度の導入によって、リスク評価により高い客観性を持たせることが期待できるが、実際の運用を行うためには、各製剤担当者を含めて幅広くコンセンサスが得られるリスク評価の手法を確立する必要がある。

さらに、リスク評価に基づいて国家検定における試験実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方（リスク評価の実施頻度、レベル分類、試験実施頻度を全ロットから一部ロットに移行する際の必須要件、試験実施頻度の下限の考え方、試験品の提出について等）を検討した。また、乾燥製剤のロットが同じであっても添付溶解液のロットが異なる場合は国家検定の申請を分ける必要がある点については、早急に検討すべき課題であると考えられた。

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

研究分担者

			ウイルス第一部 室長
浜口 功	国立感染症研究所 血液・安全性研究部 部長	伊藤睦代	国立感染症研究所 ウイルス第一部 室長
西條政幸	国立感染症研究所 ウイルス第一部 部長	河原円香	国立感染症研究所 ウイルス第一部
高橋宜聖	国立感染症研究所 免疫部 部長	松村隆之	国立感染症研究所 免疫部 室長
花木賢一	国立感染症研究所 安全実験管理部 部長	岩城正昭	国立感染症研究所 安全実験管理部・細菌第二部
石井孝司	国立感染症研究所 品質保証・管理部 部長	妹尾充敏	国立感染症研究所 細菌第二部
染谷雄一	国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長	田原口元子	国立感染症研究所 安全実験管理部
森 茂太郎	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
原田勇一	国立感染症研究所 インフルエンザウイルス研究センター 室長	内藤誠之郎	国立感染症研究所 品質保証・管理部

研究協力者

			品質保証・管理部
大西 真	国立感染症研究所 副所長	板村繁之	国立感染症研究所 品質保証・管理部
大隈 和	国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長	木所 稔	国立感染症研究所 品質保証・管理部
野島清子	国立感染症研究所 血液・安全性研究部	鈴木亮介	国立感染症研究所 ウイルス第二部 室長
松岡佐保子	国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長	清原知子	国立感染症研究所 ウイルス第二部
水上拓郎	国立感染症研究所 血液・安全性研究部 室長	柴山恵吾	国立感染症研究所 細菌第二部 部長
林 昌宏	国立感染症研究所	加藤はる	国立感染症研究所

細菌第二部 室長
 嶋崎典子 国立感染症研究所
 インフルエンザウイルス研究センター
 佐藤佳代子 国立感染症研究所
 インフルエンザウイルス研究センター
 中村一哉 国立感染症研究所
 インフルエンザウイルス研究センター
 阿戸 学 国立感染症研究所
 感染制御部 部長
 竹田 誠 国立感染症研究所
 ウイルス第三部 部長
 大槻紀之 国立感染症研究所
 ウイルス第三部 室長
 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
 多屋馨子 国立感染症研究所
 感染症疫学センター 室長
 草柳秀雄 国立感染症研究所
 総務部業務管理課
 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 特命教授

A. 研究目的

国家検定制度は、製造販売承認制度、GMP 調査制度、製造販売後調査制度等とともに、我が国に流通するワクチン、血液製剤等の生物学的製剤の品質確保において根幹を成す医薬品規制制度の一つである。近年、医薬品流通のグローバル化に伴い国家検定の国際標準化、医薬品の品質向上が図られているが、一方で企業におけるガバナンスやコンプライアンスのあり方等の課題が明らかとなって来ている。また、平成 30 年度か

ら「ワクチン行政全般に関する官民対話」が進められているところであるが、動物試験の 3Rs 対応等国家検定に関連する課題については、本研究班でも検討することになった。本研究ではこうした内外の状況変化に対応すべく、国家検定をより有効な制度に向上させるために必要な調査、研究を行うことを目的としている。

ワクチンの国家検定においては、製造・試験記録等要約書 (SLP) 審査が導入され、ワクチンの品質保証体制が質的に向上し、国家検定制度 (ロットリリース制度) の国際的な調和が図られることになったが、その他の国家検定対象製剤 (血液製剤、抗毒素製剤等) については、未だ SLP 審査が導入されておらず、国際標準に合わせるためにも SLP 審査を導入すべき時期に来ている。一方、国家検定で実施する試験で不適合になる場合は極めて稀となり、ワクチン、血液製剤等の品質向上がうかがえる。本研究ではワクチン等の品質に係るリスクを客観的に評価し、品質リスクに応じて試験頻度及び試験項目を変更可能な国家検定の仕組みを提案し、国家検定試験に必要なリソースの有効活用を目指す。また、国家検定に用いられている動物実験に関しては、試験精度、再現性等の改善及び欧州を中心に進められている動物愛護の観点からの 3Rs 対応を検討する。さらに、WHO が主催する国際会議等に積極的に参加するなどして他国のロットリリース制度の状況を参考にしながら、我が国のワクチン、血液製剤等の国家検定制度の国際整合性の確保、国家検定から得られる情報を適切に評価することに

よる検定試験の最適化、及び試験精度等の向上をめざした国家検定試験方法の見直しが必要であろうと考えている。これらは国家検定機関しかできないことである。

B. 研究方法

血液製剤等への SLP 導入

血液製剤メーカーとの協力体制の構築

国内の血液製剤メーカー3社、日本血液製剤機構(京都工場、千歳工場)、日本製薬、KM バイオロジクスと、海外の血液製剤メーカー2社、CSL ベーリング、武田薬品工業(シャイアー・ジャパン)の担当者と国立感染症研究所(感染研)ワーキンググループ(WG)、厚生労働省監視指導・麻薬対策課(厚労省監麻課)とで、複数回の会合を実施した。特に本年度は新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の影響で、web会議の形式を取り入れて会合を重ねた。尚、令和3年1月にグリフォルス社の製造する新規製剤が承認され、オーファンパシフィック社が製造販売業者として追加された。

血液製剤の SLP 審査の試行の実施

通知すべき全品目をリスト化し、通知の進捗について管理し、感染研 WG 内、メーカー各社、厚労省監麻課と情報共有しながら、試行を実施した。血液製剤はロット数が多いことから、検定申請の際には、SLP 相当要約書での検定申請と自家試験記録での検定申請を選択できることとした。また、出検頻度が低い品目については、「検定に紐づかない製造・試験記録等要約書確認願ひ」での模擬審査での試行を可能とした。

SLP 電子審査化システムの構築

SLP 電子審査システムの構築にあたり、各血液製剤メーカーに SLP 様式の作成を依頼すると同時に、PDF と Excel 形式での電子媒体での提出を依頼し、製剤担当室とメーカーとの協議の末に作成、通知された SLP 様式を解析し、おおよその開発作業工程を推計した。

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

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

試験方法の評価と改良

致死性動物試験の人的エンドポイントの検討

致死性動物試験における動物福祉の向上を目的として、マウスにおけるエタノール誘発性低体温実験で、体温を指標とした人的エンドポイントの設定を試みた。20w/v%エタノールを腹腔に投与して10分毎に肛門周囲温度、腹部温度、直腸温度を測定した。また、ボツリヌス抗毒素力価試験、破傷風トキシソイド力価試験、ジフテリア抗毒素力価試験を生物学的製剤基準(生物基)に従って行い、マウス(ジフテリア

のみモルモット) の肛門周囲温度を 4 日間測定し、生死とともに記録した。

狂犬病ワクチン力価検定法の見直し

生物基では、力価試験におけるエンドポイントは死亡とされている。これまでの検討で、死亡に代えて麻痺をエンドポイントとすることで約 4 日の苦痛軽減効果が得られることが分かった。そこで、製造所 (KM バイオロジクス) においても、この変更により試験結果に影響が出るかについて 4 回の試験結果を用いて検証した。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

不活化試験は不活化ワクチン溶液中に感染性の残ったウイルスが存在しないことを確認する試験である。昨年の本研究班において開発した簡便な Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) を用いた方法について、*in vitro* アッセイの結果をさらに解析し、実際の導入における課題について考察した。

B 型肝炎ワクチン力価試験法の見直し

国内未承認肝炎ワクチンのマウス力価試験 (*in vivo* 試験) : GSK の Infanrix hexa (6 種混合ワクチン : DTP-IPV-HB-Hib)、Twinrix (2 種混合ワクチン : HA-HB)、Dynavax の Hepelisav-B (CpG アジュバント : HB) について、50% のマウスが抗体陽転化する濃度 (ED50) を算出した。比較のため、既存の単味 B 型肝炎ワクチン (KM バイオロジクス ビームゲン) も同様に ED50 を算出した。

B 型肝炎ワクチン *in vitro* 試験の性能確

認 : 抗原量が既知のワクチンと同ワクチンを加温変性した低力価ワクチンの *in vitro* 試験で抗原の検出を行い、併行精度、特異性、直線性、範囲について検討した。また、真度については 11 ロットについて、*in vivo* および *in vitro* 相対力価のトレンド比較を行った。

セービン株由来不活化ポリオワクチン力価試験法の見直し

- (1) 5 種混合ワクチンの力価試験 : ソークワクチン (cIPV) を含む GSK の Infanrix IPV Hib, Sanofi の Pentavac を購入し、国内 sIPV 向けに実施される試験法に従い、ラット免疫原性試験、D 抗原含量試験を行った。国内に導入されている単味製剤 (サノフィ イモバックスポリオ)、4 種混合ワクチン (第一三共 スクエアキッズ) を対照とした。
- (2) sIPV の D 抗原量単位の比較 : 韓国国内標準品制定の共同研究で得られた実験データの一部を使用した。本研究では 17/160 の提示 D 抗原量 (1 型、2 型、3 型とも 100 SDU/mL) と TIPV の提示 D 抗原量 (1 型 25.9 DU/mL、2 型 956 DU/mL、3 型 976 DU/mL) を用い、比較した。
- (3) 国内 sIPV 製剤の D 抗原含量試験 : 阪大微生物病研究会、KM バイオロジクスの 4 種混合ワクチン (それぞれ、テトラビック、クアトロバック) の D 抗原含量試験を実施し、メーカーの自家試験成績と比較した。

破傷風トキソイド力価試験法の代替法の開

登

破傷風毒素は神経毒であり細胞毒性がないため、培養細胞の障害を指標とした中和抗体価定量試験は不可能である。一方、ELISA 法で結合抗体価を測定して力価を算出する試みについては、攻撃法で測定した力価と ELISA 抗体価の間に厳密な相関が得られないため、実用化は困難であった。そこで本研究では、ELISA 法を用いるが、あえて厳密な相関を求めることをせず、値の「レンジ」を用いることによって代替法を開発することをめざした。マウスを破傷風トキソイドで免疫し、4 週後にマウス尾部から部分採血し、血清を分取した。分取した血清中の破傷風抗体価は、デンカ生研(株)により試作された破傷風抗体測定キット(ヒト用)を利用して測定した。採血の翌週に、マウスの大腿部皮下に破傷風毒素を注射することにより毒素攻撃を行なった。攻撃後のマウスは4日間観察し、生死および症状を記録した。

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験

平成30年度から令和2年度までに国家検定の試験品として提出されたインフルエンザ HA ワクチンの力価試験(一元放射免疫拡散試験 [SRD 試験])の製造所での試験成績と感染研での検定成績について解析を行った。各ワクチンの力価(HA 含量)について各製造所での測定値と感染研での検定における測定値の比を求め、その対数について分布を解析した。標準品の安定性評価では、標準抗原の力価について4°C、-30°C、-80°C保存で7ヶ月または16ヶ月までの安

定性を調べた。また、試験成績の乖離の原因調査では、感染研における試験実施者が受講したSRD試験の精度及び技能維持訓練時のデータを検証するとともに、試験条件についても検討を行った。

「はぶ毒素(出血II)」の生物基からの削除検討

KM バイオロジクスと協議、その後、感染研品質保証・管理部と協議、さらに厚生労働省医薬品審査管理課、総務部業務管理課、免疫部第二室との間で協議を行い、「はぶ毒素(出血II)」の生物基からの削除について検討を行った。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価 ワクチンのリスク評価

これまでに実施してきた品質リスク評価(試行)に対するアンケート調査を昨年度に行なったが、その際に多かった意見を反映させて評価項目の重要度について共通重要度の設定を試みた。共通重要度と評価者別の重要度による差異について、製剤固有の特性に関する評価項目でのリスクスコアを比較して、その妥当性を検討した。また、リスクスコアに基づいたリスク区分の方法について検討した。

WHO ワクチンロットリリースガイドライン(WHO TRS 978 Annex 2)、諸外国における状況等を参考にしながら、リスク評価に基づいて国家検定における試験の実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト検体・情報を用いる実験は、「ヘルシンキ宣言」の主旨に従い、感染研のヒトを対象とする医学研究倫理審査委員会の審査・承認のもと行った。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、感染研の動物実験委員会の審査・承認のもと行った。

C. 研究結果

血液製剤等への SLP 導入

血液製剤メーカーとの協力体制の構築および SLP 様式作成、試行の開始

昨年度に引き続きメーカーと感染研との協力体制を維持しながら、SLP 様式の通知を順次実施した。令和3年3月現在、99品目(抜き取り試験項目を含む)中92品目について通知済である。血液製剤はロット数が多いことから、SLP 相当要約書での検定申請と自家試験記録での検定申請を組み合わせ試行がなされて安定供給を維持している。また、一部製剤は模擬審査での試行を実施した。令和3年3月現在、99品目中71品目について試行済である。

試行を経て出てきた問題点は、その都度議論し、メールベースでの改善策の提示や薬事に関する説明会を開催するなどで解決をはかった。審査項目であるにも関わらず記載が出来ない箇所については、監麻課より記載を依頼した。

承認書を精査し、メーカーにより書き振りや記載の程度が異なることが分かり、本省およびPMDAに情報共有した。

SLP 電子審査システムの構築

導入に向けた検討の結果、一定の開発期間により、血液製剤の SLP 内容をデータベース化し、さらにそれらの規格への適合性をコンピューター上で判定できるシステムの構築が可能であることがわかった。また、原薬等登録原簿(MF)に関しそれぞれ MF がどの製剤で使用され、審査されているかをリアルタイムで管理するシステムの構築も可能であることが明らかとなった。

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

本年度は、乾燥 BCG 膀胱内用と精製ツベルクリンの SLP 相当様式を作成するとともに、乾燥 BCG 膀胱内用については SLP 審査の試行を行った。抗毒素製剤については、ヘビ毒の抗毒素製剤と合わせて SLP 審査導入について引き続き検討を行った。「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤については、2020年5月に1回目の SLP 審査試行を行った。また本製剤については、2020年5月の生物基改正に関連して、2021年2月上旬までに KM バイオロジクスと免疫部とで SLP 様式の更新を行った。「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤については新様式を用いて2回目の SLP 審査試行を行う予定である。「乾燥はぶウマ抗毒素」等、その他の抗毒素製剤については SLP 審査試行を省略する形で進めることになっており、本件は厚労省監麻課からの合意も得られている。2021年7月からすべての抗毒素製剤が SLP 指定製剤となる予定であるが、「乾燥はぶウマ抗毒素」製剤は当面

出検が予定されておらず、それまでに SLP 様式の作成を行うことになっている。

試験方法の評価と改良

人道的エンドポイントの検討

肛門周囲温度と直腸温度をプロットしたところ、非常に強い正の相関があることが明らかになった。同様に、腹部温度と直腸温度をプロットした場合も非常に強い正の相関があることも明らかになった。ボツリヌス抗毒素力価試験では、毒力が強く現れる抗毒素量を投与した群では、すべての個体で投与翌日に顕著な体温低下を認め、その翌日には全数死亡した。一方、毒力が中程度に現れる抗毒素を投与した群では、死亡した個体では前日に体温の顕著な低下を認めたが、顕著な体温低下を認めたにもかかわらず生存する個体が半数存在した。破傷風トキソイド力価試験、ジフテリア抗毒素力価試験では、死亡した動物個体すべてにおいて、死亡前日の肛門周囲温度の変化は認められなかった。

ワクチンの動物を用いた力価試験代替法

・狂犬病ワクチンの力価試験について、これまでの結果と合わせて平成 28 年 10 月の検定検査協議会において人道的エンドポイントの導入に関する承認を得た。その後平成 29 年 2 月の検定検査業務委員会において人道的エンドポイントを導入することの承認を得て、同年 4 月より検定において実施した。この変更により、マウスが麻ひを示した場合には直ちに安楽殺を行えることとなった。

・B 型肝炎ワクチンの *in vitro* 試験の性能確認について、既知ワクチンと低力価ワクチンに含まれる抗原はいずれも検出され、明確に区別することができた（感度）。一方、HBs 抗原を含まない検体での非特異反応は認められなかった（特異性）。各ワクチンの繰り返し測定値はほぼ一致し（併行精度）、3~167 ng/mL の範囲で直線性を示した（範囲、直線性）。*in vivo* 相対力価と *in vitro* 相対力価のトレンド（11 ロット分）は、各群の有意差は認められなかった。

・参照不活化ポリオワクチン（セービン株）について、5 種混合ワクチンの D 抗原含量試験では、cIPV を含む 2 種の 5 種混合ワクチンは、国内の単味ワクチン、4 種混合ワクチンと同等の D 抗原を含むと算出された。また、ラット免疫原性試験でも、4 種混合ワクチンと同等の免疫原性力価が認められた。sIPV の D 抗原量単位の比較では、sIPV 国際標準品に付された国際単位 SDU と国内 sIPV 製剤に付された単位 DU との比較を行い、両単位間の換算が可能と推測された。国内 sIPV 製剤の D 抗原含量試験では、阪大微生物病研究会、KM バイオロジクスの 4 種混合ワクチン製剤（テトラビック、クアトロバック）について、我々が実施して得た D 抗原含量試験の結果をメーカーの自家試験成績と比較したところ、大きな乖離がないことが分かった。

・破傷風トキソイド力価試験法に関しては、46 匹の免疫マウスを攻撃後のスコア（症状スコア）ごとに分類し、それぞれの個体における血中抗体価を階段希釈倍数ごとの ELISA 吸光度としてプロットしたものと、

同じ症状スコアを示したマウス集団の血中抗体価プロットを平均したものを比較検討したところ、症状スコアごとに、相互に区別可能な血中抗体価の分布が示された。次に、血中抗体価をもとに、吸光度に基づく「吸光度スコア」を定義し、46 個体の症状スコアから導かれた用量反応曲線を標準曲線とし、同じ 46 個体から得られた吸光度スコアを「検体」として扱って、吸光度スコアから得られる「相対力価」を計算したところ、吸光度スコアは症状スコアを用いたのと極めて近い計算結果が得られることが判明し、吸光度スコア体系が症状スコアの代替として利用できる可能性が示された。

狂犬病ワクチン不活化試験法の見直し

昨年の報告にあるように ELISA 法による *in vitro* アッセイの検出限界は 0.015 ffu/assay であり、以前の direct immunofluorescence assay (DIFA) を用いたアッセイの検出限界 (0.023 ffu/assay) とほぼ同等であった。一方、同じサンプルについて、DIFA と ELISA の両方法で判定した場合には DIFA 法がより少ないウイルスを検出出来ることが分かった。また、ELISA 法の光学濃度 (OD 値) はスパイクしたウイルスの濃度依存的に上昇しており、各ウェルのばらつきは少ないことが分かった。

はぶ毒素出血 II (HR2) の生物基からの削除検討

ヒトの血清中には、「はぶ毒素 (出血 II)」に対する十分な抗出血 II 価が含まれているという科学的根拠が得られたので、これま

で、「はぶ毒素 (出血 II)」の生物基からの削除について検討を行い、2020 年 5 月の生物基改正において、「乾燥はぶウマ抗毒素」の各条からの「抗出血 II 価」に関する記載ならびに「はぶ試験毒素 (出血 II)」の記載が削除された。

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験

インフルエンザ HA ワクチンの力価試験である SRD 試験の再現性を検証するために、同一ロットのワクチンの力価について、製造所での測定値と感染研での測定値の比を計算し、その対数値の分布を解析した。令和 2 年度のデータについて、自家試験成績/感染研成績の対数値が、-0.1 から 0.1 の範囲に出現する頻度の積算率 (積算%) を求めたところ、A(H1N1)pdm09 (H1)、B 型 Victoria 系統 (Bvic) では 100%と、精度を維持していた。B 型 Yamagata 系統 (Byam) についても、積算率は 100%となり、昨年度よりも精度の向上が見られた。A(H3N2) (H3) については、積算率 92.6% (63/68 ロット) と、乖離の認められるロットが観察された。H3 については、平成 30 年度にも同様の解析で一部乖離するロットが観察され、標準抗原の保管温度による劣化がその原因と考えられたが、詳細な解析の結果、本年度に観察された乖離は標準抗原の安定性によるものではないことが明らかとなった。一方、本乖離が観察された国家検定試験についてその成績を調査したところ、本乖離は特定の作業者が従事した試験に集中しており、その原因は、標準抗原で形成させる SRD リング径が小さいことに起因する

ことが示唆された。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価 ワクチンのリスク評価について

本研究では、品質リスク評価における重要度を評価者別から共通重要度へ変更を試みた。分担研究者のグループで設定した共通重要度と、これまで各製剤担当者によって独立に設定されていた評価者別の製剤固有部分の重要度を比較検討した結果、両者には強い相関が認められ、共通重要度を導入することで、各評価者が評価した重要度に基づいたリスクスコアが全体として大きく変わることはないと考えられた。次に、共通重要度を用いた各製剤のリスクスコアに基づくリスク区分について検討した。まず、基準となるワクチンのリスクスコアを求め、各ワクチンのリスクスコアを、試験・製造実績の評価項目の単純リスクを中間であるスコア3とし、製剤固有分との和によって求めた。このリスクスコアの中央値を与えるワクチンを仮に基準となるワクチンとした。試験・製造実績の評価項目の単純リスクを中間であるスコア3とし、製剤固有分との和によって求める方法、評価項目の試験・製造実績部分に重み付けをすることを目的として、この部分の重み付リスクのスコアを2倍して、全体のリスクスコアを製剤固有分との和によって求める方法、評価項目の製剤固有部分と試験・製造実績部分に分けてリスク区分を行う方法を検討した。試験・製造実績の評価項目の単純リスクが1ずつ異なるリスクスコアを通る直線を引いてリスク区分を行い、各製剤のリ

スク区分の区分けを試みた。

リスク評価に基づいて国家検定における試験の実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方として作成した「リスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針（案）」の骨子を以下に示す。

- ①リスク評価に基づいて SLP 審査（全ロット）＋試験（全ロット）、SLP 審査（全ロット）＋試験（10～50%の一部ロット）、SLP 審査のみ（全ロット）のレベル分類を行う。
- ②試験頻度を全ロットから一部ロットに移行するための必須要件を定める。
- ③リスク評価の実施頻度は、新規承認時、その後は原則として年1回行う。ただし、全ロット試験に該当する事由が生じた場合（前述の必須要件を満たさなくなった場合）は、直ちにレベル変更を行う。
- ④出検頻度を考慮し、試験実施頻度（SLP 審査＋一部ロット試験の場合）の下限を設定する。
- ⑤試験品は、検定申請されるすべてのロットについて提出させる。

また、リスク評価に基づく一部ロット試験導入に向けて、リスクのスコアリング、リスク評価の実施、試験頻度設定（見直し）及び承認等のプロセス（案）を作成した。

D. 考察 血液製剤等への SLP 導入

WHO Blood Regulators Network (BRN) は、2011年に各国の行政機関に対してアセスメントクライテリアを発出し血液製剤のロットリリースにおいて SLP 審査の実施を求め

ているところであり、我が国において順次全製剤について試行を実施し、SLP 審査が令和 3 年 7 月より本格導入される予定である。欧米、アジア等の多くの国では、ロットリリースにおいてすでに SLP 精査を実施しており、我が国は遅れを取っている状況であったが、試行ではあるが SLP 審査により総合判定され、ロットリリースは順調に進められている。我が国のロットリリースにおいて、安全性や有効性に関する項目の試験の実施に加えて、採血センターが定めたスクリーニング項目を満たしているか、製剤が承認書通りに製造されているかについても精査し、工程管理試験の結果データ等についても確認することにより、製造と品質の紐付けを可能にし、血液製剤の安全性確保と安定供給に貢献できると考えられる。

SLP 電子審査システムの構築については、検討により、血液製剤における SLP のデータベース化が可能となり、さらに、電子審査の導入が可能となった。これにより、軽微なミス等は回避され、製造工程のわずかな変化に着目した審査が可能となるとともに、信頼性向上、迅速化にも対応が可能となることが予想された。今後は、より適正な電子媒体の検討と、SLP 電子審査導入に向けた開発準備体制を構築する。また、得られた製造工程に関するデータを用いて、AI 等を用いた新しい品質管理・解析方法等の開発が可能か検討し、安全性・信頼性を向上させた国家検定制度の確立を目指す。さらに将来を見据え、電子申請システムや現行の検定 PC システムとの連携もはかり、

検定検査システムの効率化の一助となるよう、引き続き検討していく。

蛇毒抗毒素製剤については、「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤における SLP 相当様式を整備し、SLP 審査の試行を行った。「乾燥はぶウマ抗毒素」製剤については、当面の間出検の予定がなく、また「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤と類似した製剤であるため、SLP 様式を作成するのも比較的容易であり、SLP 審査の試行を省略することが妥当であると考えられた。今後 SLP 審査が導入されることによって、これらの製剤の品質がより確保され、国民の健康や福祉に貢献することが期待される。

試験方法の評価と改良

致死性動物試験における動物福祉の向上を目的として、体温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ところ、肛門周囲または腹部の温度を測定することで、直腸温度を推定することが可能であることが明らかになった。致死性動物試験は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を選定して、肛門周囲温度の変化が死の予兆となり人道的エンドポイントの設定に応用できるか検討した。唯一、死の前日に肛門周囲温度の変化を認めたのは、ボツリヌス抗毒素力価試験のマウスで、残る 2 つの試験のマウスまたはモルモットでは肛門周囲温度または耳介温度（モルモットのみ）の変化を認めなかった。このことから、ボツリヌス抗毒素力価試験では肛門周囲温度の測定によって人道的エンドポイントを

設定できると考えられた。しかし、毒力が中程度に現れるボツリヌス抗毒素を投与した群では、急激な肛門周囲温度低下が必ずしも死の予兆とはならなかった。そのため、実際にボツリヌス抗毒素力価試験へ体温を指標とする人道的エンドポイントを導入する場合には、その信頼性についてさらに検討が必要である。

狂犬病ワクチンの力価試験については、生物基の改正により、製造者の自家試験においても人道的エンドポイントが実施される。感染研では上記の様に先んじて導入を行っているが、マウスの苦痛軽減だけではなく、作業者の精神的苦痛の軽減、作業時間の短縮などの効果があった。また、生物基改正時のパブリックコメントでは、動物を使用しない方法に切替えるべきという意見が寄せられた。この件に関しては現在欧州医薬品品質部門（EDQM）の国際共同プロジェクトに参加し、抗原 ELISA 法の導入に向けて取り組んでいる。不活化試験代替法については、検出方法として ELISA 法より DIFA 法の方がより鋭敏であることが示されたが、ELISA 法の検出限界は 0.015 ffu/assay と非常に低く、ワクチン 1 本あたりに感染性ウイルスが 1 粒子でも混入した場合には検出可能であることから、現実的には問題とならないと考えられた。今後導入に向けて、陽性対照の設定、哺乳マウスもしくは欧州薬局方（EP）掲載の *in vitro* アッセイとの直接比較、不活化不足のワクチンを用いた実験、複数ラボでのバリデーションを行う必要があると考えている。

B 型肝炎ワクチンについて、国内未承認

肝炎ワクチンの *in vivo* 試験では、既知単味ワクチンの ED50 は近似した結果となった。今回検討した 3 製剤については、他抗原の干渉やアジュバントの違いによる試験阻害はなく、単味ワクチンと同じ希釈範囲で *in vivo* 試験の実施が可能であると考えられた。B 型肝炎ワクチン *in vitro* 試験については、各評価パラメータにおいて十分な性能を示した。トレンド解析では *in vivo* 試験との相同性も示された。メーカー試験成績との比較や参照ワクチンの調整など残された課題はあるが、試験法の移行について議論を進める土台ができたと考えている。

セービン株由来不活化ポリオワクチンについては、5 種混合ワクチンに含まれる Hib 成分はラット免疫原性試験および D 抗原含量試験にはほぼ影響しないと言える。SDU に対する DU の相対値は、今後更なる検討が必要であるが、おおまかな目安が得られたものと考えている。また、阪大微生物病研究会、KM バイオロジクスの 4 種混合ワクチン製剤の D 抗原含量試験は感染研においてもメーカーと同等に実施でき、品質評価上問題はないと考えられる。

破傷風トキソイド力価試験については、ELISA キットを用いて「吸光度スコア」を定義することにより、症状スコアを用いたのと極めて近い計算結果が得られ、吸光度スコア体系が症状スコアの代替として利用できる可能性が示された。今後、さらにデータを集積し、代替法としての可能性を詳細に検討する予定である。

はぶ毒素（出血 II）の生物基からの削除を検討してきた結果、2020 年 5 月の生物基

改正において、「乾燥はぶウマ抗毒素」の各条からの抗出血Ⅱ価に関する記載ならびに「はぶ試験毒素（出血Ⅱ）」の記載が削除された。2018年WHOガイドラインでは、抗致死価を力価試験で必須な試験として位置づけ、抗出血価等は、抗致死活性が担保されていれば既存抗毒素の品質管理に必ずしも必須でないという考えを打ち出している。当該ガイドラインの適用範囲にはぶも含まれると考えられ、今回生物基から削除された「はぶ抗出血価Ⅱ（HR2）」に限らず、「はぶ抗出血価Ⅰ（HR1）」ならびに「まむし抗出血価」に関しても、本ガイドラインの考え方に基づけば削除検討項目になると考えられる。これら「抗出血価」の取り扱いについては、今後も国際的な動向を踏まえながらさらなる検討が必要であろう。

令和2年度インフルエンザHAワクチン国家検定試験の力価試験において、H3を除く型、亜型の成績については、昨年度と同様の精度や製造所成績との一致が観察されるか、昨年度から改善が見られた。これは、毎年国家検定試験が開始される前に、感染研と製造所との間で力価試験の測定に関する標準化作業を実施していることが寄与しているものと考えられる。H3については、平成30年度と同程度の一致率にとどまったが、その原因は標準抗原の安定性によるものではなく、しかも、特定の作業者と特定の標準抗原が組み合わさった場合にのみ高い再現性をもって観察される現象であった。今回の事象には、標準抗原の取り扱いと、ウイルス株の性状の双方が関与している可能性が高く、引き続き原因調査と、そ

の対応法の確立が必要である。

国家検定制度及びワクチンのリスク評価

感染研におけるアンケート結果から、品質リスク評価について、本年度は共通の重要度を導入して検討した。共通の重要度を導入しても全体像に極端な変更は認められなかった。共通の重要度を導入したことで、リスク評価により高い客観性が期待される。また、本研究では、「生ワクチンのタイプ」、「不活化ワクチンのタイプ」以外は、特に「生ワクチン」、「不活化ワクチン」のグループ分類ごとの共通の重要度ではなく、両ワクチンに共通の重要度を導入して、合わせて解析を行った。この点については、「生ワクチン」と「不活化ワクチン」に分けて解析する必要性を含めて検討する必要があるかもしれない。次に、共通重要度を用いた各製剤のリスクスコアに基づくリスク区分について検討を行った。本研究で検討した方法は、いずれも標準的なワクチンを仮定して、試験・製造実績部分のリスクスコアによって区分を行った。試験・製造実績部分に重み付けをせずに検討したいずれの方法も、同じ順位付けで、区分としては同じカテゴリーに分類された。一方、アンケート調査で、リスク評価の試行で得られた各製品のリスクスコアについて、イメージに近いとの意見が多かった試験・製造実績部分のスコアを2倍にして加算したものをを用いて区分分けを行うと、7製剤について区分されたカテゴリーに違いが認められた。これが、実際の区分分けのイメージに近いのかは、より詳細な解析が必要である。ま

た、アンケート結果から、評価者の大部分はリスク評価では試験・製造実績と SLP 審査での不合格の発生状況は重要な項目と考えていることが推定され、試験・製造実績や SLP 審査に関連する評価項目を多くするなどして、相対的に配点を大きくすることで、重み付けをすることも検討に値すると考えられた。以上の解析結果を踏まえて、今後、実際の運用を行うためには、各製剤担当者を含めたワーキンググループにおいて幅広くコンセンサスが得られるリスク評価の手法を確立する必要がある。

リスク評価に基づいて国家検定における試験の実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方として、以下の「リスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針（案）」を作成した。リスク評価の実施頻度は、新規承認時、その後は原則として年 1 回行う。ただし、全ロット試験に該当する事由が生じた場合（後述の必須要件を満たさなくなった場合）は、直ちにレベル変更を行う。一部ロット試験に移行できる前提として、新規承認後、連続した一定のロット数以上で検定に合格している製品を対象とする。製品ごとの評価を原則とするが、製造方法や成分組成（濃度）が同じ容量違い、剤形違い等の製品は、同一製品として評価することができる。試験の実施頻度は、製品のリスク評価及び各試験項目に対する所内の内規に基づき、全ロット（100%）、一部ロット（10～50%）、試験なし（0%）のレベル分類を行い、試験実施頻度を低くする場合、原則として 1 段階ずつ低くする（100%→50%→25%→10%→0%等）。試験実

施頻度の下限の考え方として、試験なしと分類された場合を除き、年 1 ロット以上の試験を実施することにより、メーカーが実施する自家試験成績と検定機関である感染研が実施する検定試験成績の一致度に変化がないか定期的にモニタリングすることができ、メーカーの自家試験成績の信頼性が担保されていることの確認に有用と考えられた。また、試験実施頻度を全ロットから一部ロットに移行するための必須要件として、国家検定での不合格状況、国家検定の対象となる試験項目の本質的な変更、GMP 調査の状況等に係る要件を定める。GMP 調査の状況は、PMDA で行われている調査結果を原則として年 1 回評価に反映（ただし、不適合、重大な指摘事項等があった場合は速やかに反映）することを計画しているが、関係組織間の GMP 調査結果の共有については、更なる調整が必要である。

リスク評価に基づき一部ロット試験を導入する国家検定制度への落とし込み方等については、感染研（研究班）として想定している提案を踏まえ厚労省監麻課との調整が必要になるが、国家検定の試験成績、SLP の情報等を活用し、リスクが低い製品に対しては国家検定で実施する試験頻度を現在の全ロットから任意の頻度に減らす一部ロット試験方式等を導入することにより、試験の実施が免除されたロットの国家検定においてはその実施期間の短縮が可能になり、ワクチン等の安定供給に資することが期待される。国際的にもリスク評価結果等に応じて国家検定の試験頻度や試験項目を見直す仕組みを導入する流れがあり、国際的な

整合性の確保を図りながら、我が国の国家検定をより効果的かつ効率的な制度に向上させる見直しと考えられる。

E. 結論

本研究により、血漿分画製剤メーカーと感染研とが協力体制を築きながら、全製剤について SLP 審査制度を導入すべく現在試行を行っている。試行終了後は全製剤について一斉に施行する予定である。また、SLP 電子審査システム構築の検討により、血液製剤における SLP 電子審査システムの導入が可能となり、信頼性向上、迅速化にも対応が可能となった。「乾燥まむしウマ抗毒素」製剤については 2020 年 5 月に SLP 審査試行を行った。「乾燥はぶウマ抗毒素」等、その他の抗毒素製剤については SLP 審査試行を省略する形で進めることになっている。「はぶ毒素（出血 II）」の生物基からの削除を検討してきた結果、「乾燥はぶウマ抗毒素」の各条からの「抗出血 II 価」に関する記載ならびに「はぶ試験毒素（出血 II）」の記載が削除された。

試験方法の評価と改良に関して、人道的エンドポイントの新たな指標として体温に注目し、マウスの体温の簡便な測定方法について検討した。その結果、無毛の肛門周囲温度と被毛の薄い腹部温度が直腸温度と非常に強い相関を示すことが明らかになった。そこで、3つの致死性動物試験で肛門周囲温度を指標として人道的エンドポイントを設定することが可能か検証すると、ボツリヌス抗毒素力価試験では体温が人道的エンドポイントの指標として

機能することが期待された。ただし、その実用化にはさらに検討が必要である。狂犬病ワクチンの動物試験代替法の導入は、動物愛護の面からだけでなく、検定期間の短縮や精度管理の改善にも効果的である。今後、製造者とも協力しながら、力価試験、不活化試験ともに動物を使用しない方法に移行することを目指したい。B 型肝炎ワクチンの力価試験の *in vitro* 試験への変更については、B 型肝炎ワクチンを含む国内未承認ワクチンの *in vivo* 力価試験の条件設定が完了した。一方、既存の単味 B 型肝炎ワクチンについては *in vitro* 試験のバリデーションがほぼ終了した。*in vivo* 試験と *in vitro* 試験の成績が矛盾することはなく、いずれの方法でも品質管理が可能であることが示唆された。現行の国家検定は *in vivo* 試験であるが、不活化ポリオワクチン同様、実験動物に関する 3Rs の観点とともに、試験に要する時間、費用、人員を加味すると、*in vitro* 試験への移行は進められるべきである。2016 年 10 月以降、B 型肝炎ワクチンは定期接種化され、出検ロット数、ロットリリース数も増加している。B 型肝炎ワクチンの *in vitro* 試験採用による国家検定の合理化は引き続き喫緊の課題である。不活化ポリオワクチンに関しては、さまざまな製剤に含まれる sIPV 成分ならびに cIPV 成分のラット免疫原性試験 (*in vivo* 試験) と D 抗原含量試験 (*in vitro* 試験) を実施したことにより、両試験成績間で大きな矛盾が発生することはなく、いずれの方法でもワクチン製剤の品質管理が可能であると言える。cIPV 製剤の国家検定は D

抗原含量試験であるが、sIPV 製剤については現時点でラット免疫原性試験が採用されている。実験動物に関する 3Rs の観点とともに、試験に要する時間、費用、人員を加味すると、sIPV 製剤についても D 抗原含量試験への移行は進められるべきである。現在、sIPV 接種後の抗体価が高く維持される状況も明らかになってきており、規定の D 抗原量の確保が高い免疫原性を担保していることを示す有力なデータと言える。破傷風トキソイド力価試験においては、ELISA による吸光度スコアの定義と利用による代替法が開発できる可能性が示された。インフルエンザ HA ワクチンの力価試験では、標準抗原の品質を維持し、事前に試験条件を検討することで、かなり高い再現性を得られることが確認された。令和 2 年度に観察された、感染研成績と製造所成績の乖離の原因と考えられる事象については、類似の事象が試験機関に関係なく発生する可能性もあり、場合によっては国家検定試験の可否に影響を与える事態にもなりかねないため、その対応法の確立は試験精度維持のために必須である。一方で、今回観察された乖離の原因への対応として、全ロットの検定試験実施が必要となる可能性は低いと考えられる。従って、全ロット検定から一部ロット検定への移行については、検討を継続することが可能と考える。

ワクチンに対する品質リスク評価手法の改善を図るため、これまでに実施した品質リスク評価（試行）に対するアンケート調査に基づいて、共通重要度の設定を行っ

て、リスク評価の区分の基準設定を試みた。共通重要度の導入により、リスク評価により高い客観性が期待されるが、実際の運用を行うためには、各製剤担当者を含めて幅広いコンセンサスを得られるリスク評価の手法を確立する必要がある。また、リスク評価に基づいて国家検定における試験実施頻度を設定する際の基本的な方針及び考え方として、「リスク評価に基づく一部ロット試験導入の基本方針（案）」を作成した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanio M, Nakamura T, Kusunoki H, Ideguchi K, Nakashima K, Hamaguchi I, Validation of HPLC method for the determination of histamine in human immunoglobulin formulations, J AOAC Int., 2020; 103(5): 1223-1229
- 2) Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I. Immunogenicity and Toxicity of Different Adjuvants Can Be Characterized by Profiling Lung Biomarker Genes After Nasal Immunization. Front Immunol., 2020; 11:2171
- 3) Sasaki E, Hamaguchi I, Mizukami T. Pharmacodynamic and safety considerations for influenza vaccine and adjuvant design. Expert Opin Drug Metab Toxicol., 2020; 16(11): 1051-1061

- 4) Kawahara M, Takayama-Ito M, Kato H, Kitaura S, Satoh M, Saijo M. Development of an assay for detecting the residual viable virus in inactivated rabies vaccine by enzyme-linked immunosorbent assay. *Biologicals*, 2021; *In press*
- 5) Han K, Song H, Choi CW, Park S, Kang YS, Jung K, Lee BH, Takahashi Y, Matsumura T, Yamamoto A, Kim YJ, Jee S, Kim J. Standardization of the first Korean national reference standard for snake (Gloydius brevicaudus) antivenom. *Toxicol Res.*, 2020; 36(4):407-413
- 6) Murakami K, Fujii Y, Someya Y. Effects of the thermal denaturation of Sabin-derived inactivated polio vaccines on the D-antigenicity and the immunogenicity in rats. *Vaccine*, 2020; 38(17), 3295-3299
- 7) Takahashi H, Fujimoto T, Horikoshi F, Uotani T, Okutani M, Shimasaki N, Hamamoto I, Odagiri T and Nobusawa N. Determination of the potency of a cell-based seasonal quadrivalent influenza vaccine using a purified primary liquid standard. *Biologicals*, 2020; 68, 32-39
2. 学会発表
- 1) 水上 拓郎, 百瀬 暖佳, 佐々木 永太, 古畑 啓子, 楠 英樹, 浅沼 秀樹, 濱口 功. Reverse toxicology による新規アジュバントスクリーニング系の開発. 第 47 回日本毒性学会、令和 2 年 6~7 月、web 開催
- 2) 田原口元子、滝本一広、花木賢一：ヒト用赤外線体温計を用いたマウス体温測定に関する検討. 第 67 回日本実験動物学会総会、令和 2 年 5 月、誌上
- 3) 石井孝司：ワクチンの品質管理における動物試験：3R の応用、第 22 回日本動物実験代替法学会、令和 2 年 11 月、Web 開催
- H. 知的財産権の出願・登録状況** なし