

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

異常毒性否定試験の実施方策の検討

研究分担者	水上 拓郎	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第1室	室長
研究協力者	濱口 功	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	部長	
	倉光 球	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第4室	室長
	池辺 詠美	国立感染症研究所	血液・安全性研究部	第2室	主任研究官

研究要旨：

異常毒性否定試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施されてきた。ワクチンにおいては、国家検定に製造・試験記録等要約書 (SLP) 制度が導入され、長期に安定した試験結果を得ているワクチン製剤に関しては、多くの製剤で 20-50 回の合格確認後に異常毒性否定試験が省略可能となる「省略規定」を導入し、国家検定及びメーカー自家試験が順次省略されてきた。2021 年 7 月より血液製剤においても SLP 制度が本施行され、品質管理が強化されることをきっかけに、現状における異常毒性否定試験の実施の必要性について過去の試験記録、製造記録を確認することで検討した結果、異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認され、2021 年 10 月 21 日付で生物学的製剤基準が改正され、血液製剤のすべての各条より異常毒性否定試験の項目が削除された (厚生労働省告示第 376 号)。一方、生ワクチン等に関しては、国家検定としては設定されず、自家試験のみが実施されてきた。生ワクチンに関してもすでに SLP 審査導入後 10 年以上を経ていることから、異常毒性否定試験の必要性について過去の試験記録、製造記録を確認することで検討を行った結果、同様に異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。また、組換え沈降 B 型肝炎ワクチン (酵母由来) は、同規定を初めて導入した製剤で、2013 年に省略規定が導入され、約 10 年が経過しようとしていた。省略以降、おおよそ 10 年に渡る製造実績、異常毒性否定試験の再開、再省略の経過とその試験記録を確認、精査した結果、異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。また、省略規定導入時に設定した「再開規定」に関しても、一部変更承認申請が適切に実施されていれば、再開する意義も低いことが確認された。

A. 研究目的

異常毒性否定試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施されてきた。ワクチンにおいては、国家検定に製造・試験記録等要約書

(SLP) 制度が導入され、長期に安定した試験結果を得ているワクチン製剤に関しては、多くの製剤で 20-50 回の合格確認後に異常毒性否定試験が省略可能となる「省略規定」を導入し、国家検定及びメーカー自家試験が順次省略されている。

2021年7月より血液製剤においてもSLP制度が本施行され、品質管理が強化されることとなる。そこで、現状における異常毒性否定試験の実施の必要性について検討することとした。

一方、生ワクチン等に関しては、国家検定としては設定されず、自家試験のみが実施されてきた。生ワクチンに関してもすでにSLP審査導入後10年以上を経ていることから、異常毒性否定試験の必要性について検討を行うこととした。また、精製ツベルクリンや水痘抗原に関しては血液製剤と同時期にSLP制度が導入され、今後、品質管理が強化されることから、合わせて検討対象とした。

また、組換え沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)は、同規定を初めて導入した製剤で、2013年に省略規定が導入され、約10年が経過しようとしている。一方、WHOやFDA、EMAでは過去の実績や3Rの観点から異常毒性否定試験が削除され、日本においても国際調和に基づく異常毒性否定試験削除の対応が求められている。そこで、省略規定導入後の製造・出検状況を検証し、生物学的製剤基準(各条)からの削除について検討することとした。

B. 研究方法

血液製剤に関しては、異常毒性否定試験は2005年に既に国家検定から廃止されており、現在は製造所における自家試験のみが引き続き実施されている。各製造所に自家試験記録の提出を依頼し、未出検のロットも含め、製造記録を含め、検定廃止以降過去16年間の結果を精査した。

生ワクチン等に関しては、全製造所からロットリリースの対象となる製剤ごとの直近

50ロットの自家試験結果の提供を依頼し、得られた製剤の各6~50ロット分の製造履歴および異常毒性否定試験結果について検証した。

組換え沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来)に関しても、製造所より国家検定省略規定導入後の試験結果(実施していれば)及び製造記録を提出していただき、異常毒性否定試験結果について検証した。

また、異常毒性否定試験結果解析に基づき、生物学的製剤基準からの削除が可能と考えられた製剤に関しては、製造所に異常毒性否定試験を生物学的製剤基準より削除しても、製造上、品質管理上問題ないかを確認した。

(倫理面への配慮)

本研究課題は過去に実施された国家検定試験の結果およびメーカー自家試験のデータ解析に基づく研究課題であり、追加で動物実験をするものではない。また国立感染症研究所で実施された試験に関しては、全て動物実験委員会において承認されている。

C. 研究結果

血液製剤の異常毒性否定試験について

検定廃止以降過去16年間の結果を精査した結果、対象製剤全てにおいて異常毒性否定試験の「不合格」はなく、試験結果により検定申請を取り止めたロットがないこと、再試験率は低く、試験成績も安定していたことが確認された。また、病理検査等による異常所見等の報告もなかった。以上の結果より、過去16年、血液製剤等においては、異常毒性否定試験によって不適と判定されるロットは製造されておらず、今後、異常毒性否定試験を廃止しても問題がないことが確認され

た。また、血漿分画メーカーからも、生物学的製剤基準からの削除による影響はないことが確認された。

生ワクチン等の異常毒性否定試験について

対象製剤全てにおいて異常毒性否定試験の「不合格」はなく、試験結果により検定申請を取り止めたロットはないこと、試験成績も安定していたこと、病理検査等による異常所見等の報告もなかったことから、生ワクチン等においては、異常毒性否定試験によって不適と判定されるロットは製造されておらず、今後、異常毒性否定試験を生物学的製剤基準(各条)から削除しても、製剤の品質管理等に問題がないことが確認された。また、製造メーカーからも、生物学的製剤基準からの削除による影響はないことが確認された。

組換え沈降 B 型肝炎ワクチン (酵母由来) における異常毒性否定試験について

組換え沈降 B 型肝炎ワクチン(酵母由来)については、2013 年の省略規定導入後、省略規定および再省略規定に基づき、一定ロット数の異常毒性否定試験が国家検定・自家試験として再開されたが、実施期間において国家検定・自家試験いずれも全て適合であり、問題は認められず、過去 10 年に渡り、異常毒性否定試験を実施しなくても、品質管理上問題は発生しておらず、生物学的製剤基準から異常毒性否定試験の削除が可能な状況であると考えられた。

また一変等によって異常毒性否定試験が再開された場合に関しても製剤及び本試験の問題は確認されておらず、一変等で承認を受けていれば省略導入後に試験を再開する意義は低いことが確認された。

また、製造メーカーからも、生物学的製剤基準からの削除による影響はないことが確認された。

D. 考察

異常毒性否定試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施されてきた。ワクチンにおいては、国家検定に製造・試験記録等要約書 (SLP) 制度が導入され、長期に安定した試験結果を得ているワクチン製剤に関しては、多くの製剤で 20-50 回の合格確認後に異常毒性否定試験が省略可能となる「省略規定」を導入し、国家検定及びメーカー自家試験が順次省略されてきた。

今回、異常毒性否定試験の「省略規定」を初めて導入した組換え沈降 B 型肝炎ワクチン(酵母由来)に関し、省略以降、おおよそ 10 年に渡る製造実績、異常毒性否定試験の再開、再省略の経過とその試験記録を確認、精査した。その結果、異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。また、省略規定導入時に設定した「再開規定」に関しても、一部変更承認申請が適切に実施されていれば、再開する意義も低いことが確認された。上記の結果に基づき、組換え沈降 B 型肝炎ワクチン(酵母由来)に関しては、生物学的製剤基準より異常毒性否定試験を削除することが確定した。現在、2022 年 4 月の告示にて削除が予定されている。

また、生ワクチン等に関しては、そもそも国家検定として異常毒性否定試験が実施されておらず、メーカーのみが自家試験を実施している状況であった。このような状況で、

過去の試験記録、製造記録を確認することで、同様に異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。こちらも、2022年4月の告示にて削除が予定されている。

血液製剤に関しては、2005年に国家検定の廃止が決まったが、それ以降は生ワクチン同様にメーカーのみが自家試験を実施している状況であった。このような状況で、過去の試験記録、製造記録を確認することで、同様に異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。パブリックコメントを経て、2021年10月21日付で生物学的製剤基準が改正され、血液製剤のすべての各条より異常毒性否定試験の項目が削除された（厚生労働省告示第376号）。

異常毒性否定試験は生物学的製剤基準の一般試験法に記載され、ワクチン等及び血液製剤の安全性試験、品質管理試験として長年にわたり実施され、品質管理上、一定の役割を果たしてきたといえる。今後、すでに省略規定を導入した製剤や今回、生物学的製剤基準より削除した組換え沈降B型肝炎ワクチン（酵母由来）などのように、遺伝子組み換え製剤に分類される他製剤などについても、生物学的製剤基準からの削除を検討が可能となると考えられる。その一方で異常毒性否定試験に代わる、新たな品質管理試験法の開発も期待されている。製剤の特性に鑑みた試験法が開発され、ワクチンの品質管理が向上することが期待される。

E. 結論

血液製剤に関しては、検定廃止以降過去16年間の結果を精査した結果、同様に異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、

問題がないことが確認された。また生ワクチン等に関しても、過去の試験記録、製造記録を確認することで、同様に異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。省略規定が初めて導入された組換え沈降B型肝炎ワクチン（酵母由来）に関し、異常毒性否定試験を実施しなくても、製造上、問題がないことが確認された。また、省略規定導入時に設定した「再開規定」に関しても、一部変更承認申請が適切に実施されていれば、再開する意義も低いことが確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyamoto S, Arashiro T, Adachi Y, Moriyama S, Kinoshita H, Kanno T, Saito S, Katano H, Iida S, Ainai A, Kotaki R, Yamada S, Kuroda Y, Yamamoto T, Ishijima K, Park ES, Inoue Y, Kaku Y, Tobiume M, Iwata-Yoshikawa N, Shiwa-Sudo N, Tokunaga K, Ozono S, Hemmi T, Ueno A, Kishida N, Watanabe S, Nojima K, Seki Y, **Mizukami T**, Hasegawa H, Ebihara H, Ken M, Fukushi S, Takahashi Y, Suzuki T. Vaccination-infection interval determines cross-neutralization potency to SARS-CoV-2 Omicron after breakthrough infection by other variants. *Med.* 2022;3(4):249-261.e4. doi: 10.1016/j.medj.2022.02.006.Epub 2022 Mar 4.
- 2) Sasaki E, Momose H, Furuhashi K, **Mizukami T**, **Hamaguchi I**. Impact of injection buffer volume to perform bronchoalveolar lavage fluid collection for isolating alveolar macrophages to investigate

- fine particle-induced IL-1 α secretion. *J Immunotoxicol.* 2021; 18: 163-172.
- 3) Sasaki E, Asanuma H, Momose H, Furuhashi K, Mizukami T, Hamaguchi I. Nasal alum-adjuvanted vaccine promotes IL-33 release from alveolar epithelial cells that elicits IgA production via type 2 immune responses. *PLoS Pathog.* 2021;17: e1009890
 2. 学会発表
 - 1) 関洋平, 野島清子, 水上拓郎, 福士秀悦, 森山彩野, 高橋宜聖, 前田健, 鈴木忠樹, 吉原愛雄, 瀧口功. SARS-CoV-2 mRNA ワクチン(コミナティ筋注®) 接種者血清を用いた SARS-CoV-2 変異株に対する中和能の検討. 第 68 回日本ウイルス学会学術集会. 神戸. 2021 年 11 月 16 日 (火) ~18 日 (木)
 - 2) 水上拓郎, 佐々木永太, 百瀬暖佳, 古畑啓子, 瀧口功. システム・ワクチノロジーを応用した in vitro 次世代アジュバント・ワクチン安全性評価法の開発. 日本動物実験代替法学会第 34 回大会. 2021 年 11 月 11 日-13 日 (オンライン共催)
 - 3) 水上拓郎, 野島清子, 関洋平, 福士秀悦, 森山彩野, 高橋宜聖, 前田健, 鈴木忠樹, 吉原愛雄, 瀧口功. SARS-CoV-2 mRNA ワクチン(コミナティ筋注®) 接種者血清パネルを用いた mRNA ワクチンの有効性・安全性に関する研究. 第 25 回日本ワクチン学会学術集会, 長野県軽井沢, 2021 年 12 月 3 日-5 日(日)。
 - 4) Mizukami T, Sasaki E, Momose H, Furuhashi K, Hamaguchi I. Systems vaccinology enable us to evaluate vaccine safety and quality *in vitro*. *WCII – the 11th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences*, August 23 – September 2, 2021, virtual congress
 - 5) Mizukami T. “Accelerating Global Deletion of the Abnormal Toxicity Test. Planning common next steps” . **A workshop organized by AFSA/HSI and EFPIA in collaboration with IABS.** October 14th, 2021, Zoom webinar
 - 6) Mizukami T. Current Status of Abnormal Toxicity Test in Japan -Removal of Abnormal Toxicity Test in Japan- **5th Symposium on Research and Quality Control of Vaccines.** March 7th-8th, 2022 Virtual Meeting. Co-organized by NIID (Japan), NIFDC (China) NIFDS (Korea)
- G. 知的財産権の出願・登録状況 なし