

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 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 第4室室長
研究協力者 浜口 功 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
研究協力者 谷生道一 国立感染症研究所 次世代生物学的製剤研究センター 主任研究官
研究協力者 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 第1室室長

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た試験として、ワクチン及び血液製剤の安全性や品質管理試験として長年にわたり重要な役割を果たして来た。近年国際的に試験の設定の考え方が検討・整理され、最終的に2018年に削除方針が決定したことに伴い、日本においても試験法の国際調和への協力のため生物学的製剤基準からの削除について検討を進めて来た。これまで血液製剤や生ワクチン、組換えワクチン等で生物学的製剤基準からの試験の削除の妥当性が確認され削除されたところである。本年度は、結合型ワクチン、インフルエンザHAワクチン、四種混合ワクチンおよび関連ワクチン、組織培養ワクチン、およびウマ抗毒素類について試験の削除の妥当性について検討した。その結果、それぞれの製剤についてこれまでのすべての試験結果は基準を満たし、問題が無いことの確認し、また加えてそれぞれの製剤の特徴、現在の製造環境等についても確認し、すべての製剤について異常毒性否定試験を実施しない品質管理の方法へ移行可能であることが確認された。これらの製剤の生物学的製剤基準からの異常毒性否定試験の削除は、2022年11月までに検定検査業務委員会において承認され、2023年3月までに厚生労働省から告示され、現在国内で販売されているすべての生物学的製剤について、生物学的製剤基準からの異常毒性否定試験の削除が完了した。

A. 研究目的

異常毒性否定試験（以下、異毒）は、製造工程中の予期しない異物等の混入をモルモットやマウスの腹腔内に製剤を接種し、体重変化等を含めて動物の異常がないことを確認する品質管理試験である。歴史的には1900年頃より用いられる。日本においても生物学的製剤基準（以下、生物基）に記載され、製剤の均一性を確認する目的で重要な試験としてこれまで長年に渡って設定されて来た。しかしながら、国際的に異毒の設定の考え方が、この約10年間で著しく変化し、

特に2015年頃からは試験の整理に向けた検討が進められて来た。最終的には2018年のWHO Expert Committee on Biological Standardizationにおいて、国際的に生物学的製剤の試験から削除する方針となった（WHO (ECBS) 69th TRS 1016, 3.1.3, 2018）。この方針に伴って、2020年改正のThe International Pharmacopoeia, Tenth Edition, 2020からは異毒が削除されている。日本においては2012年から長期に安定した結果を示す製剤については、異毒の試験免除を導入することで異毒の削減について取り

組み、2020年までに組換えHBVワクチン等の5製剤に試験免除を導入して来たところであったが、試験法の国際調和への協力のため、2021年から異毒の生物基からの削除について検討を進めた。昨年度までに血液製剤（全製剤）、生ワクチン等、組換えワクチン（組換え沈降B型肝炎ワクチン、組換え沈降ヒトパピローマワクチン、乾燥組換え帯状疱疹ワクチン）、試験省略導入ワクチン（肺炎球菌ワクチン、日本脳炎ワクチン、ヒブワクチン）等について、生物基からの異毒削除を検討し、削除を進めた（表1）。

本年度は、最終的にこれまで国家検定で異毒を実施してきた全ての製剤の生物基からの異毒の削除の完了を目指して引き続き検討を進め、下記の結合型ワクチン、インフルエンザHAワクチン、四種混合ワクチンおよび関連ワクチン、組織培養ワクチン、ウマ抗毒素類について、これまでの試験結果の精査等より削除の可能性について検討し、検定検査業務委員会および検定協議会に審議提案した。

B. 研究方法

これまでの国家検定および自家試験で実施された試験結果を精査し、これまでの異毒の結果が基準を満たし、均一性が安定して維持されてきたことを確かめた。製造所へ異毒の削除の品質管理への影響について確認した。試験結果の精査等について製剤担当室および品質保証管理部と協議し、異毒を削除してもこれまでと同等の品質管理が可能であることを確認した。これらの結果を総合的に判断し、異毒を用いない品質管理の方法へ移行可能であることを判断し、検定検査業務委員会へ各製剤の生物基からの削除の審議を

提案した。

（倫理面への配慮）

特になし。

C. 研究結果

・結合型ワクチン

4価髄膜炎菌ワクチン（ジフテリアトキソイド結合体）について、過去の国家検定、自家試験の結果を精査し、これまで異毒で問題はなく、長期に渡って製剤の均一性が確認された。すでに異毒が削除された他の結合型ワクチンのヒブワクチンや海外実績等から異毒が設定されなかった肺炎球菌結合型ワクチン等と同様に異毒を実施せずともこれまでと同等の品質管理が可能であると確認された。

・インフルエンザHAワクチン

本製剤は、過去の異毒による均一性が確認され、2020年に試験の省略が導入された製剤である。よって、2018年の試験省略の業務委員会の承認以降の過去データを精査し、これまで全ロットで異毒による均一性が確認され、問題ないこと確認した。また、本製剤は製造株が頻繁に変更される特徴があることから、過去13年間の12回の株の変更と異毒の結果への影響を解析した。その結果、これまで製造株の変更は、すべて異毒の試験結果には影響していないことが確かめられ、現在の製造方法で製造される限り、製造株の変更も試験結果へ影響しないことが確認された。

・四種混合ワクチンおよび関連ワクチン

沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合

ワクチン（四種混合ワクチン）、沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン（三種混合ワクチン）、沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド、成人用沈降ジフテリアトキソイド、沈降破傷風トキソイドについて、過去の国家検定、自家試験の結果を精査し、これまで異毒で問題はなく、長期に渡って製剤の均一性が確認されてきたことが確認された。異毒を削除してもこれまでと同等の品質管理が可能であることが確認された。

・組織培養ワクチン

乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチンおよび乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチンについて、過去の国家検定、自家試験の結果を精査し、これまで異毒で問題はなく、長期に渡って製剤の均一性が確認された。一部製剤で日本での製造販売開始後間もなく国内での試験実績が少ない製剤があるものの承認審査時において海外の多数のロットでの異毒結果に問題がないことが精査されていたことから、海外および国内において、他の製剤と同様に異毒による長期の均一性が確認された。これらのワクチンについても異毒を実施しない品質管理へ移行可能と確認された。

・ウマ抗毒素類

乾燥ガスエソウマ抗毒素、乾燥ジフテリアウマ抗毒素、乾燥ボツリヌスウマ抗毒素、乾燥はぶウマ抗毒素、および乾燥まむしウマ抗毒素の5製剤について、過去の検定、自家試験の確認し、これまで均一性が確認されてきたことを確かめた。一部の製剤は出検頻度が極めて低く、多数のロットでの長期の均一性の評価が現実的に困難であったものの、対象

5製剤の製造方法を確認し、製造方法に微細な違いがあるもののそれらの違いは異毒の結果に影響するものではないことを確認し、製造法の高い類似性から異毒の結果評価に関しては、これらの5製剤は同種製剤としての評価できると考えられたことから、全5製剤の異毒による製剤の均一性が確認された。また、製造、品質管理環境を確認（GMP等）した。WHOの方針に従って、異毒を実施せずともこれまでと同等の品質管理が可能であると確認された。

D. 考察

結合型ワクチン、インフルエンザHAワクチン、四種混合ワクチンおよび関連ワクチン、組織培養ワクチン、ウマ抗毒素類について、それぞれの製剤の検定および自家試験の結果を精査し、削除の可能性について検討したところ、すべての製剤の全ロットにおいて、異毒の結果に問題はないことを確認できた。これらのことから、今後は異常毒性否定試験を用いない品質管理の方法へ移行可能であることが確認されたため、製剤担当室および品質保証管理部と協議の上、これらの製剤について生物基からの異毒削除を本年度の検定検査業務委員会（2022年4月、7月、9月、11月）および検定協議会にて審議提案し、それぞれの審議にてすべての提案について承認された（表1）。

E. 結論

異常毒性否定試験は、長年に渡り製剤の均一性を確認する重要な品質管理試験として役割を果たして来たが、2018年に国際的に試験の設定のあり方が整理されたことに伴い、試験法の国際調和への協力のため、試験

削除の検討を進めた。

すべての製剤について、これまでの試験結果を製剤担当室および品質保証管理部と精査し、すべての結果について問題が無かったことを確認し、またそれぞれの製剤の特徴および製造環境等の確認からも異毒削除による影響がない事を確認し、今後は異常毒性否定試験を用いない品質管理の方法へ移行可能であることが確認された。2022 年内に国内で販売されている全製剤について、生物基からの試験削除が検定検査業務委員会および検定協議会で承認された。2023 年 3 月の厚生労働省告示をもって、試験の削除が完了した (表 1)。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表
 - 1) Madoka Kuramitsu, Takuo Mizukami, Isao Hamaguchi. Removal of abnormal toxicity test from minimum requirements for biological products in Japan. 7th WPR NCL workshop Global Bio Conference (GBC) 2022. Sep 5-7, 2022, Seoul, KOREA (ZOOM)

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表 1 生物学的製剤基準からの異常毒性否定試験の削除の経過のまとめ

年度	製剤名(カッコ：製剤数)	製剤担当室	検定検査 業務委員会承認	厚生労働省告示
令和2年度	血液製剤(29)	血液・安全性研究部*第一室 血液・安全性研究部第二室 血液・安全性研究部第四室	2021年2月	2021年10月21日 厚生労働省告示第376号
令和3年度	乾燥弱毒生水痘ワクチン 乾燥弱毒生麻疹ワクチン 乾燥弱毒生麻疹風疹ワクチン 乾燥弱毒生風疹ワクチン 乾燥弱毒生おたふくかぜワクチン 精製ツベルクリン 水痘抗原 組換え沈降B型肝炎ワクチン(酵母由来) 組換え沈降ヒトパピローマウイルス様粒子ワクチン(3) 乾燥組換え帯状疱疹ワクチン(チャイニーズハムスター卵巣細胞由来) 肺炎球菌ワクチン 乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン 乾燥ヘモフィルスb型ワクチン(破傷風トキソイド結合体)	ウイルス第一部第四室 ウイルス第三部第一室 ウイルス第三部第一室 ウイルス第三部第二室 ウイルス第三部第三室 細菌第二部第四室 ウイルス第一部第四室 ウイルス第二部第五室 病原体ゲノム解析研究センター第一室 ウイルス第一部第四室 細菌第一部第三室 ウイルス第一部第二室 細菌第二部第二室	2021年11月 2021年12月 2022年1月 2022年3月	2022年4月28日 厚生労働省告示第177号 2022年6月28日 厚生労働省告示第296号
令和4年度	4価髄膜炎菌ワクチン(ジフテリアトキソイド結合体) インフルエンザHAワクチン 沈降破傷風トキソイド 成人用沈降ジフテリアトキソイド 沈降ジフテリア破傷風混合トキソイド 沈降精製百日せきジフテリア破傷風混合ワクチン 沈降精製百日せきジフテリア破傷風不活化ポリオ混合ワクチン(2) 乾燥組織培養不活化A型肝炎ワクチン 乾燥組織培養不活化狂犬病ワクチン 乾燥ガスエソウマ抗毒素 乾燥ジフテリアウマ抗毒素 乾燥ボツリヌスウマ抗毒素 乾燥はぶウマ抗毒素 乾燥まむしウマ抗毒素	細菌第一部第五室 ウイルス第三部第四室 細菌第二部第三室 細菌第二部第三室 細菌第二部第三室 細菌第二部第一室 ウイルス第二部第一室 ウイルス第二部第五室 ウイルス第一部第三室 細菌第二部第三室 細菌第二部第三室 細菌第二部第三室 治療薬・ワクチン開発研究センター第三室 治療薬・ワクチン開発研究センター第三室	2022年4月 2022年7月 2022年9月 2022年11月	2022年9月26日 厚生労働省告示第295号 2022年12月28日 厚生労働省告示第377号 2023年3月27日 厚生労働省告示第93号

*: 2022年4月より次世代生物学的製剤研究センターに名称変更。

Removal of Abnormal Toxicity Test (Innocuity Test) from Minimal Requirement of Biological Products in Japan

Madoka Kuramitsu¹, Michikazu Tanio¹, Takuo Mizukami¹, Isao Hamaguchi^{1,*}

1. Research Center for Biological Products in the Next Generation, National Institute of Infectious Diseases.

Abstract

The abnormal toxicity test (ATT), also known as the innocuity test or general safety test, is a quality control test used historically to confirm uniformity of composition during lot release of biological products. However, international policy on ATT implementation has changed significantly during 2010s, and in 2018 the WHO Expert Committee on Biological Standardization decided its discontinuation. Efforts to reduce testing in Japan since 2013 have led to an exemption for products that show stable results in the ATT; furthermore, a policy change in 2021 directed the elimination of the ATT from all Minimal Requirement of Biological Products (MRBP) monographs to ensure international harmonization.

Ongoing evaluation of the ATT for all preparations marketed in Japan has confirmed that all results met the criteria. Therefore, it was concluded that the transition to quality control without ATT could be ensured with adequate Good Manufacturing Practice and comprehensive quality control of manufacturing processes. Up until November 2022, proposals for the deletion of ATT from product monographs were evaluated and approved at the scientific committee in National Institute of Infectious Diseases. After approval, the ATT requirement was removed from the applicable MRBP monograph by the Ministry of Health, Labour and Welfare, resulting in the complete removal of the ATT for all biological products marketed in Japan in March 2023.

This study was supported by MHLW grant number JP21KC1001.