

18. 検定検査品質保証室

室長 山口 一成

概要

当室は、生物学的製剤および抗菌性物質製剤の国家検定・検査における成績の総合評価ならびに標準品の管理・評価などを通じて、より一層の国家検定・検査の信頼性の確保を図るために、平成19年4月に新設され、平成19年10月に、専任正職員1名と技術補助員1名が配置された。本年度は、設立第2年度目となる。平成20年5月には、細菌第二部主任研究官の落合雅樹が当室に配置換えとなり、細菌第二部に併任された。また、総務部事務補助員の片岡紀代が、検定コンピュータ管理業務の当室への移管に伴い、所属には変更がないものの、居室を当室に移した。平成20年7月には、血液・安全性研究部主任研究官の水澤左衛子が当室に併任された。このように、本年度から、当室の業務は主任研究官2名、補助員1.5名（片岡は、週に2日を検定コンピュータ管理業務に当てる）で実施されることになった。

業務面では、検定・検査品質保証業務の一貫として検定コンピュータシステムの管理業務が当室に移管されたことが大きな変更である。本年度は検定コンピュータシステムの4年に1度の契約更新が行われ、平成20年7月に新システムの運用が開始された。また、新たに9号棟が竣工し、当施設での新型インフルエンザワクチン株の製造に関して、当室が品質保証業務を分担する方向性がワクチン株製造施設（9号棟）管理委員会で行き決められた。将来、当室の重要業務の一つになるものと思われる。これに伴い、さらに増員要求を行っているところである。

以下に、本年度、当室で行った品質管理、品質保証に関する主な業務を挙げると、1. 国家検定の実施に関わるSOP原本の管理とSOP作成支援、2. 検定コンピュータシステムの管理、3. 検定検査品質保証室ホームページの運営、4. 検定業務評価委員会による定期査察への協力、5. 9号棟運用規準構築支援業務 などである。また、生物学的製剤に関する研究業務として、落合を中心に生物学的製剤の品質管理に関する研究、標準品に関する研究が行われ、内藤を中心に、新しい経皮ワクチンデリバリーに関する研究が行われた。

以上のように、本年度、当室は、業務の拡大に伴い人

員増が図られたが、品質保証業務は多岐に亘っており、限られた人員のもとでは、優先順位を見極め、効率的に運営することが重要である。各種の委員会との連携も、ますます重要となっている。近い将来、日本のワクチンのNational Control Laboratoryとして、感染研に対してWHOの査察が行われることが見込まれている。室長の山口一成は、本年度で定年退官を迎える。次年度以降は新室長のもとで、当室がさらに発展していくことを願っている。

業績

調査・研究

I. 生物学的製剤の品質管理に関する研究

1. 残存百日咳毒素活性測定法に関する研究

DPT ワクチンの残存百日咳毒素活性は、マウス白血球数増加試験及びマウスヒスタミン増感試験により確認されている。しかし世界的には動物実験代替試験法の確立が求められている。そこでHPLCを用いて百日咳毒素のADP-リボシル化活性の測定法及び百日咳毒素の糖鎖に対する結合活性を測定する2つの非動物系測定法とマウスヒスタミン増感試験を比較した。同じタイプのアルミニウムゲルを含有するDPTワクチン間の比較では、ADP-リボシル化活性および糖鎖結合活性はマウスヒスタミン増感活性とよく相関した。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦（細菌第二部）、Chun-Ting Yuen（英国NIBSC）、Dorothy Xing（英国NIBSC）、Michael J. Corbel（英国NIBSC）、堀内善信（医薬品医療機器総合機構）]

2. 不活化ポリオワクチン参照品の安定性に関する検討

不活化ポリオワクチンの開発において、力価試験に用いられる参照品は品質管理上重要である。これまでに製造された力価参照品の安定性評価は、ラット免疫原性試験およびD抗原ELISAにより実施されてきた。ラット免疫原性試験は近似最尤法による平行線定量法（IPVラット力価試験計算シート）により解析される。このIPVラット力価試験計算シートを用いて同時に解析できる検体数を大幅に増やした。これまでに蓄積したデータについて共通回帰を用いた一括解析が可能となり、安定性評

価の信頼性向上を図った。[落合雅樹、白土東子（ウイルス第二部）、武田直和（ウイルス第二部）、脇田隆宇（ウイルス第二部）、堀内善信（医薬品医療機器総合機構）]

3. 予防接種後健康被害ならびに副反応とワクチン成分及び性状に関する研究

ワクチン接種後副反応と品質管理試験成績あるいはワクチン成分との関連性は多くの場合不明である。したがって、ワクチン接種後副反応と品質管理試験成績あるいはワクチン成分との関連性を調査することで、副反応の発生に関連するワクチン側のリスク因子が明らかになることが期待される。そこで、現在定期接種に用いられるワクチンに対して実施されている国家検定の試験項目について、今後の調査および解析に用いるためのパラメータとして整理した。[落合雅樹、片岡紀代、山本明彦（細菌第二部）、内藤誠之郎、多屋馨子（感染症情報センター）、堀内善信（医薬品医療機器総合機構）]

4. 血液製剤へのエンドトキシン試験法適用に関する研究

これまでの研究からアンチトロンビン製剤はエンドトキシン試験において強い反応阻害作用を示すことから、希釈による反応干渉因子の除去では感度が不足し本試験法の適用は不可能であった。そこで、LPS 親和性を示すペプチドを固相化したビーズを用いた測定法の可能性を検討した。その結果、本法によりアンチトロンビン製剤に添加したエンドトキシンの LAL 活性を阻害することなくライセート試薬により検出、定量出来ることがわかった。[落合雅樹、山本明彦（細菌第二部）、内藤誠之郎、鈴木政嗣（ペプタイドドア）、松本めぐみ（ペプタイドドア）、堀内善信（医薬品医療機器総合機構）]

5. ボツリヌス毒素の動物実験代替法に関する研究

A 型ボツリヌス毒素がシナプス前膜に存在する SNAP-25 (Synaptosomal-associated Protein of 25 kDa) を特異的に切断するエンドペプチダーゼ活性を利用した、非動物系の A 型ボツリヌス毒素活性測定法の国内技術移転を行った。本測定法が導入されれば、実験動物使用数の削減に加え試験精度の向上が期待できる。[落合雅樹、高橋元秀（細菌第二部）、Russell G.A. Jones（英国 NIBSC）、Dorothea Sesardic（英国 NIBSC）、Michael J. Corbel（英国 NIBSC）]

II. 標準品に関する研究

1. 日本薬局方エンドトキシン標準品 Lot 9, 10, 11 候補

品の力価評定

日本公定書協会にて日本薬局方エンドトキシン標準品 (Lot 9, 10, 11) 候補品が作成され、標準プロトコールに従って、日本公定書協会、当研究所他(計 7 機関)で力価共同評定を実施した。3 種のライセート試薬を用いて WHO エンドトキシン国際標準品に対する相対力価を算出し、エンドトキシン標準品 Lot 9, 10, 11 候補品の単位はそれぞれ 20,000、17,000、17,000 EU/バイアルと評価された。

[落合雅樹、蒲地一成（細菌第二部）、中川ゆかり（日本公定書協会）、村井敏美（日本公定書協会）]

2. 台湾百日せきワクチン力価試験用標準品候補品の標準化に対する研究協力

台湾で製造した百日せきワクチンの力価試験標準品候補品の標準化に、感染研、化血研および阪大微研の国内 3 機関が協力した。候補品と全菌体百日せきワクチン用の国際標準品を、脳内接種法による力価試験により比較した。国内 3 機関の測定結果からは、台湾国内標準品候補品の力価は 17.3 IU/バイアル（幾何平均）、14.2 IU/バイアル（加重平均）と評価された。[落合雅樹、蒲地一成（細菌第二部）、山本明彦（細菌第二部）、高橋元秀（細菌第二部）、渡邊治雄（副所長）、徳永英治（化血研）、大西敏之（阪大微研会）]

III. 新規ワクチンに関する研究

1. 溶解性マイクロニードルを用いた経皮ワクチンに関する研究

溶解性マイクロニードルは、薬物を含有した水溶性・洩糸性高分子を、マイクロメートルオーダーの微小針に成型・乾燥させた新規の皮膚薬物送達システムである。微小針は皮膚上層のみに刺入・溶解し、薬物を皮内に無痛・効率的に送達する。この新規システムのワクチンへの応用可能性を検討するため、以下の研究を行った。

(1) 溶解性マイクロニードルの皮膚吸収の観察

エバンスブルーを含有した溶解性マイクロニードルをマウスの皮膚に投与した。エバンスブルーによる皮膚の青斑を観察することにより、皮膚に刺入されたマイクロニードルは、5 分以内に溶解・吸収されることが示された。青斑は、数時間かけて吸収され、24 時間後には見られなくなった。溶解性マイクロニードルによる皮膚への有害作用は、特に認められなかった。

(2) OVA 含有溶解性マイクロニードルに対する抗体応答

卵白アルブミン (OVA) を含有する溶解性マイクロニードル

検定検査品質保証室

ドルをマウスに投与して、血中の OVA 特異的抗体応答を観察した。用量反応性の検討から、溶解性マイクロニードルは、抗原溶液を皮膚に塗布する方法に比べて、千分の一の抗原量で有意な抗体応答を誘導することが可能であり、皮内注射と比べても遜色ないことが確認された。

(3) OVA 含有溶解性マイクロニードルの皮膚吸収性

マウス皮膚投与後に残留したマイクロニードル中の OVA 量を ELISA 法により測定した。マイクロニードル中の OVA の 60～70%が皮膚に吸収されずに残留し、皮膚への正味吸収量は 30～40%であった。OVA の正味吸収量と血清中の OVA 特異的抗体量には正の相関が認められた。[内藤誠之郎、落合雅樹、片岡紀代、清原知子（ウイルス第二部）、前山順一（血液・安全性研究部）]

品質管理に関する業務

I. 国家検定・検査の品質マネジメントに関する業務

1. 国家検定に関する SOP 原本の一元管理

国家検定に関する SOP の原本を検定検査品質保証室で一元管理することとなり、平成 20 年 3 月から各担当部・室が作成／承認した検定に関する SOP 原本の一元管理を開始した。SOP 原本は、「検定検査試験手順書作成要綱」に照らして様式を検査した後に、部室ごとにファイルし、施錠保管庫に保管している。SOP 原本のタイトルなどは、検定 SOP マスターリストに登録し、検定検査品質保証室のホームページ上で確認できる。

一元管理開始時に回収された SOP 原本は、332 通であった。平成 20 年度中に、新規作成 28 通、修正 17 通、改訂 100 通、廃止 7 通の SOP を受け付けた。平成 20 年度末に有効な SOP は 353 通である。

[内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、山口一成]

2. 検定検査試験手順書作成要綱の改定案の作成

現作成要綱の不備な点などを改め、SOP 標準様式を付け加えた改定案を作成して、品質保証運営委員会に提出した。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、山口一成]

3. 生物学的製剤の国家検定における品質マネジメント指針の改定案の作成

品質マネジメント指針の「原則」および付属資料 2 などについて改定案を作成し、品質保証運営委員会に提出した。[内藤誠之郎、落合雅樹、内田孝子、山口一成]

4. 検定業務評価委員会による査察への協力

生物学的製剤の品質管理に関わる業務が遺漏なく執り

行われていることを確認することを目的に、年に 1 回、検定業務評価委員会による定期査察が行われている。事前に査察対象室の SOP ファイルを準備して、査察委員に提出した。すべての査察に同行して意見を述べた。[落合雅樹、内藤誠之郎、内田孝子]

5. 検定検査品質保証室のホームページの運営

検定検査業務の円滑な遂行に資するために、NIH-Net User's Page の委員会のページに検定検査品質保証室のホームページを開設しており、このサイトを利用して、検定検査関係の各種の情報提供を行っている。あらたに情報の改訂が行われた検定・検査業務必携、検定 SOP マスターリストなどの更新を行い、最新情報を掲載するようにした。[内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、山口一成]

II. 国家検定・検査業務品質管理コンピュータシステムに関する業務

1. 検定コンピュータシステムの更新

検定コンピュータシステムの 4 年に 1 度の契約更新に当たり、システムの改善を図るため検定コンピュータ小委員会を中心に仕様の全面的な見直しを行い、システム開発業者との打ち合わせ、システム運用テストを経て、平成 20 年 7 月に新システムの運用を開始した。[落合雅樹、片岡紀代、検定コンピュータ小委員会]

2. 検定コンピュータシステムの管理者業務

検定コンピュータシステムの日常メンテナンス業務およびシステム管理業務を実施するとともに、トラブル等への対応、必要に応じてシステムの改善を図った。またシステム開発業者と定例会を開催し、システムに関する情報の共有化および今後の方針について検討した。[落合雅樹、片岡紀代、内田孝子、内藤誠之郎]

III. 検定検査関係の業務管理課支援業務

1. 検定料金改定に関する業務

3 年に 1 回の検定料金改定（平成 21 年 4 月 1 日予定）に向けた検定・検査・製品交付の見直し作業を行った。各試験担当室より見直した試験単価表を集め、不整合がないか確認しながら単価の統一を図った。また、今年度の検定コンピュータ更新時期に併せて独立に設定していた試験項目名及び製剤名を一致させることにより、誤入力をなくすよう改善した。[片岡紀代、梅原勢津子（業務管理課）、内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、金田真千子（業務管理課）]

1881-8, 2009.

2. 新製剤および参照品の登録業務

「細胞培養痘そうワクチン」及び「乾燥細胞培養痘そうワクチン」の生物学的製剤基準への追加に伴い「ポック法によるとき」「プラーク法によるとき」を追加し、検定料金の算出を行った。新製剤「乾燥細胞培養日本脳炎ワクチン」の検定料金算出及び、検定コンピュータシステムへの登録作業を実施した。また、「麻疹ワクチン力価試験用自家参照品」を製品交付品に追加した。[片岡紀代、梅原勢津子（業務管理課）、内田孝子、内藤誠之郎、落合雅樹、金田真千子（業務管理課）]

IV. ワクチン株製造施設（9号棟）の運営支援業務

1. 品質管理文書の整備に関する支援

9号棟での新型インフルエンザワクチン株製造の稼働に向けて、品質管理文書を整備する業務を支援した。[内藤誠之郎、落合雅樹]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Hamaguchi I, Imai J, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Kato H, Mizutani T, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K. Application of quantitative gene expression analysis for pertussis vaccine safety control. *Vaccine* 26: 4686-96, 2008.
- 2) Mizukami T, Masumi A, Momose H, Kuramitsu M, Takizawa K, Naito S, Maeyama J, Furuhashi K, Tsuruhara M, Hamaguchi I, Yamaguchi K. An improved abnormal toxicity test by using reference vaccine-specific body weight curves and histopathological data for monitoring vaccine quality and safety in Japan. *Biologicals* 37:8-17, 2008.
- 3) Gaines-Das, R., Ochiai, M., Douglas-Bardsley, A., Asokanathan, C., Horiuchi, Y., Rigsby, P., Corbel, M.J. and Xing, D.K.L. Transferability of dermal temperature histamine sensitisation test for estimation of pertussis toxin activity in vaccines. *Hum Vaccin.*, 5 (3), 166-71, 2009.
- 4) Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A., Nagata, N., Hasegawa, H., Kurata, T. and Horiuchi, Y. Comparison of acellular pertussis based combination vaccines by Japanese control tests for toxicities and laboratory models for local reaction. *Vaccine*, 27 (13),

2. 和文発表

- 1) 内藤誠之郎:発熱性物質試験法. 新 GMP 微生物試験法, 佐々木次雄, 棚元憲一, 川村邦夫編. (株)じほう, 2008.
- 2) 内藤誠之郎:経皮ワクチン. 日本臨床 66(10):1888-93, 2008.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Horiuchi, Y., Kataoka, M., Yamamoto, A., Ochiai, M., Harashima, A., Nagata, N., Hasegawa, H. and Kurata, T. The success story of Japanese DTaP control and a further development of vaccine evaluation. 2nd World Conference on Magic Bullets (Ehrlich II), Oct. 2008.

2. 国内学会

- 1) 内藤誠之郎:自己溶解性マイクロパイルアレイによる経皮ワクチンの試み. 第2回ナノメディスン・アプリケーション研究会, 平成20年9月, 東京.
- 2) 落合雅樹, 山本明彦, 堀内善信, 血液製剤に対するエンドトキシン試験法の適用と基準化に関する研究. 第14回日本エンドトキシン研究会, 平成20年10月, 仙台.
- 3) 水上拓郎, 今井順一, 浜口 功, 河村未佳, 百瀬暖佳, 内藤誠之郎, 前山順一, 益実厚子, 倉光 球, 滝沢和也, 野村信夫, 渡辺慎哉, 山口一成:網羅的迅速検出法(Luminex法)によるインフルエンザワクチンの新しい安全性評価法の開発の試み. 第12回日本ワクチン学会, 平成20年11月, 熊本.
- 4) 百瀬暖佳, 今井順一, 浜口 功, 河村未佳, 水上拓郎, 内藤誠之郎, 益実厚子, 前山順一, 倉光 球, 滝沢和也, 野村信夫, 渡辺慎哉, 山口一成:網羅的遺伝子発現解析を用いたVero細胞由来日本脳炎ワクチンの評価. 第12回日本ワクチン学会, 平成20年11月, 熊本.
- 5) 内藤誠之郎:経皮ワクチンのメカニズムおよびその利点と課題. 技術情報協会セミナー, 平成21年3月, 東京.