

生物学的製剤のウイルス安全性とウイルスクリアランス試験

デンカ生研株式会社 ワクチン研究部

丸山 裕一

生物学的製剤でウイルスの迷入を 特に問題視する理由

原料からの迷入

細胞からの迷入

作業員からの迷入

プロセスでの
新規産生

環境からの迷入

感染性因子に対し、最新の規制および製造・試験技術に従ってリスク管理を行うことが求められる。

2

バイオ医薬品におけるウイルスの迷入の事例

原因ウイルス	細胞基材	発生年	会社名
EHDV	CHO	1988	Bioferon GmbH
MVM	CHO	1993, 1994	Genentech
	CHO	2006	Amgen
	CHO	2009	Merrimack Pharmaceuticals Inc.
Vesivirus 2117	CHO	2003	Boehringer Ingelheim Pharma
	CHO	2008, 2009	Genzyme
Human adenovirus	HEK 293	?	Eli Lilly
PCV*	Vero	2010	GSK
	Vero	2010	Merck

EHDV: Epizootic haemorrhagic
MVM: Minute virus of mice
PCV: Porcine circovirus

*PCVの事例では、経口弱毒生ヒトロタウイルスワクチン (Rotarix/GSK)に感染性ウイルス(PCV-1)の迷入が、また、RotaTeq/MerckではPCVのDNA断片が検出された。

3

発表内容

1. ウイルス安全性に関する主なガイドライン
2. ウイルスクリアランス試験の概要
3. ウイルスクリアランス試験実施時の留意点

4

1. ウイルス安全性に関する 主なガイドライン

- ✓ 血漿分画製剤
- ✓ バイオ医薬品
- ✓ ワクチン
- ✓ その他参考になるガイドライン等

5

バイオ医薬品は、動物由来の原材料を使用することが多く、また、材料や添加剤として生物由来の物質を使用することがあるため、ウイルスやマイコプラズマに汚染される可能性について十分な対策が必要である。



ICHや厚生労働省、規制当局から、その対応策を示したガイドラインが出されている。

6

血漿分画製剤

1. 血漿分画製剤のウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン、平成11年8月30日付医薬発第1047号医薬安全局長通知
➢ 本邦の血漿分画製剤のガイドライン。現在、当局にてガイドラインの改訂が議論されている。
2. ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価、医薬審第329号平成12年2月22日、ICH Q5A
➢ 血漿分画製剤のガイドラインではないが、ICHガイドラインが適用できる場合はこれを参考にする場合が多い。
3. CPMP Note for Guidance on Virus Validation Studies: The design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses CPMP/BWP/268/95, 1996.
4. CHMP/BWP Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products CHMP/BWP/398498/2005
5. CPMP Guideline on plasma-derived medicinal products CPMP/BWP/706271/2010 .

7

バイオ医薬品

1. ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価、医薬審第329号平成12年2月22日、ICH Q5A
➢ ウイルスクリアランス試験の概要が記載されており、このガイドラインに基づいてウイルススクリアランス試験が行われる。
2. EMEA/CHMP/BWP/398498, 2009: Guideline on virus safety evaluation of biotechnological investigational medicinal products
➢ EMEA(EMA)から発出されたICH Q5Aを補完するガイドライン。
3. FDA (CBER), 1993 Points to Consider in the Characterization of Cell Lines Used to Produce Biologicals
4. FDA (CBER), 1997 Points to consider in the manufacturing and testing of monoclonal antibody products for human use

8

ワクチン

1. ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価(医薬審第329号平成12年2月22日)、ICH Q5A
2. FDA (CBER), 1993: Points to consider in the characterization of cell lines used to produce biological
3. EMEA/CPMP/BWP/268/95, 1996: Note for guidance on virus validation studies: The design, contribution and interpretation of studies validating the inactivation and removal of viruses
4. WHO Technical Report Series : 例えば No. 927, 2005 ; Recommendation for the production and control of influenza vaccine (inactivated)
5. FDA Guidance for Industry 2010 : Characterization and Qualification of Cell Substrates and Other Biological Materials Used in the Production of Viral Vaccines for Infectious Disease Indications
6. Draft: EMA/CHMP/BWP/814397/2011 Guideline on the use of porcine trypsin used in the manufacture of human biological medicinal products
7. EMA/CHMP/BWP/457920/2012 rev1 : Guideline on the use of bovine serum in the manufacture of human biological medical product

9

バイオ医薬品・ワクチンのウイルスに対する安全性確保に関するガイドライン

ウイルスクリアランス試験は、ICH Q5Aをベースに実施する。
求められるウイルスクリアランス値の指定はない。

特に

- 原材料由来のウイルス
- 生産細胞由来ウイルス
- 製造工程での迷入ウイルス
のリスクについては十分に考慮する必要がある。

10

その他参考になるガイドライン等

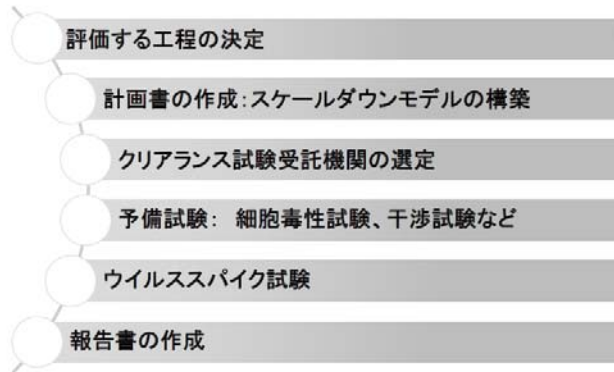
1. 第16改正日本薬局方参考情報G3生物薬品関連：日局生物薬品のウイルス安全性確保の基本要件
2. FDA 2001: Guidance for Industry. Monoclonal Antibodies Used as Reagents in Drug Manufacturing
3. EMEA, CPMP/BWP/3354/99; July 2002 : Note for Guidance on Production and Quality Control of Animal Immunoglobulins and Immunesera for Human Use
4. ISO 22442-3:2007 (E): Medical devices utilizing animal tissues and their derivatives —Part 3: Validation of the elimination and/or inactivation of viruses and transmissible spongiform encephalopathy (TSE) agents
5. PDA Technical Report No. 14 2008: Validation of Column-Based Chromatography Processes for the Purification of Proteins
6. PDA Technical Report No. 41 2008 : Virus filtration
7. PDA Technical Report No. 47 2010: Preparation of Virus Spikes Used for Virus Clearance Studies
8. ASTEM : New Practice for Process for Inactivation of Retrovirus by pH (WK36552 作成中。現在未公開)

11

2. ウイルスクリアランス 試験の概要

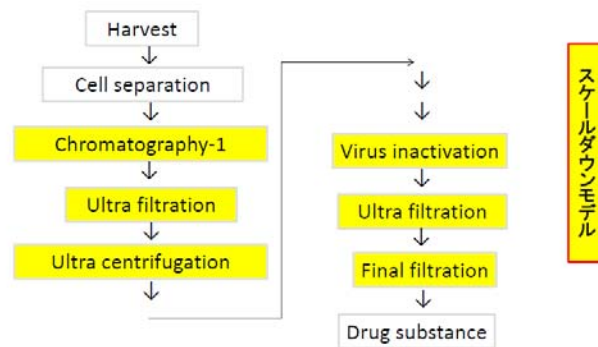
12

ウイルスクリアランス試験の流れ



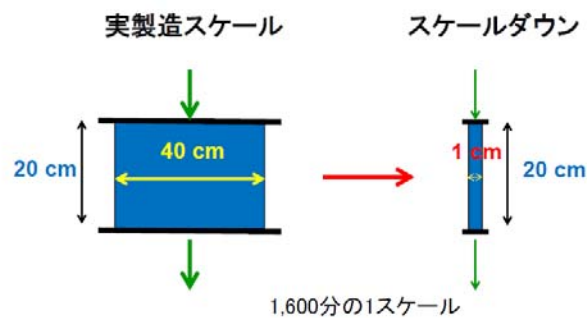
13

評価する工程の決定



14

クロマトグラフィー スケールダウンの例



スケールダウンの例

項目	実製造	スケールダウン
カラム直径	40 cm	1 cm
カラムベッド高	20±2 cm	
線流速	200±20 cm/h	
負荷量	≤30 g/L resin	
クロマトグラム	同等であることを確認する	
収率	同等であることを確認する	

16

モデルウイルスの選択(その1)

ウイルスクリアランス試験に用いられるウイルスを選択するポイント

- ・ 感染力価の測定が可能
- ・ 問題となる可能性があるウイルス、もしくは近縁のウイルス、または性状が似ているウイルス。
- ・ 通常3から4種類を選択しゲノムの種類、脂質膜の有無、除去/不活化への耐性など考慮する。

17

モデルウイルスの選択(その2)

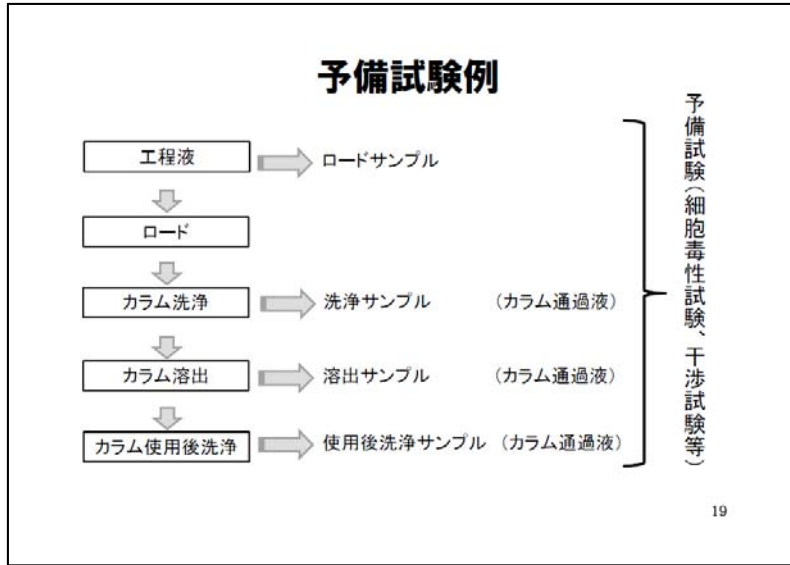
製造工程で投入される、原材料の起源を考慮することも重要である。

WHOの不活化インフルエンザワクチンのガイドラインでは、以下のウイルスが例として記載されている。

egg-derived vaccines: avian leukosis virus, mycoplasma, avian adenovirus
 cell-derived vaccines: poliovirus, human immunodeficiency virus, human adenovirus, parainfluenza virus, minute virus of mice

WHO Technical Report Series, No. 927, 2005

18

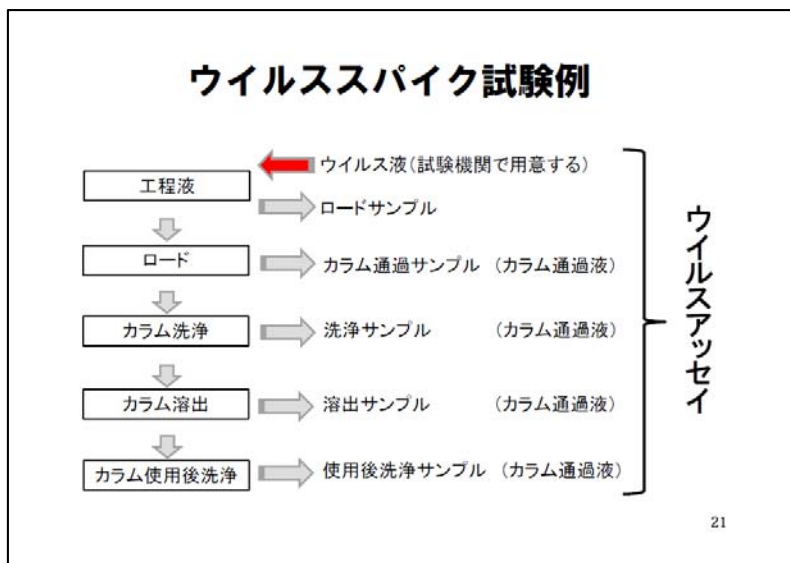


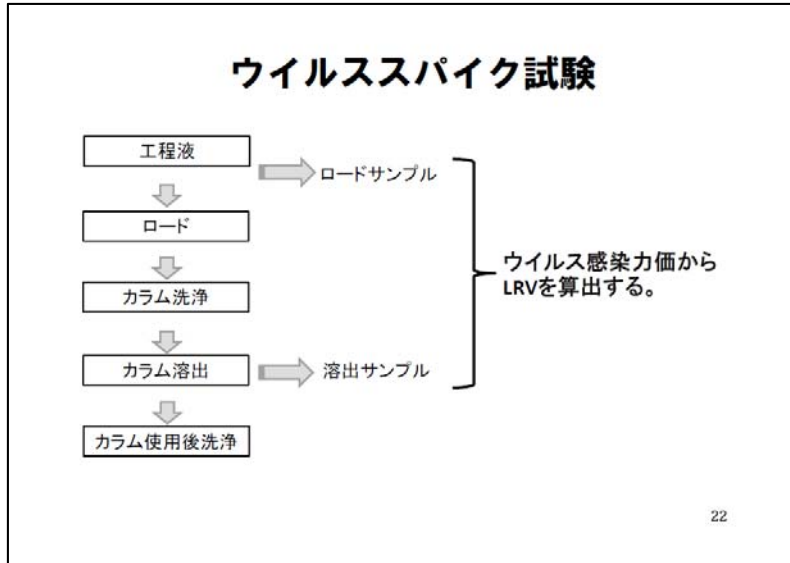
予備試験

- **Cytotoxicity試験**(細胞毒性試験)
 サンプルの溶液組成が指示細胞*に与える影響(毒性)を評価する。
- **Interference試験**(干渉試験)
 サンプルの溶液組成がウイルスの指示細胞*への感染に影響(干渉)するかを評価する。

*: 指示細胞はウイルスの感染の検出を行うために使用する細胞。
 一般的にウイルスの感染は、顕微鏡により細胞の変性で確認する。

20 20





3. ウィルスクリアランス 試験実施時の留意点

23

ウイルスクリアランス試験の留意点

○ 評価する工程の決定

ウイルスクリアランス 試験は、**準備**が大切。

○ ウィルススパイク試験

○ 報告書の作成

24

ウイルスクリアランス試験の留意点

評価する工程の決定

計画書の作成: スケールダウンモデルの構築

クリアランス試験受託機関の選定

予備試験: 細胞毒性試験、干渉試験など

ウイルススパイク試験

報告書の作成

25

ウイルスクリアランス試験の留意点

・計画書の作成

- ・ 誰が何をどのような施設で行うか、できるだけ綿密に記載する。
- ・ 試験条件の適格性がきちんと取れているか。
- ・ 計画書は社内QA部門の承認を受けることが望ましい。

・スケールダウンモデルの構築

- ・ 適切なバイオセーフティレベル(安全キャビネットなど)で行える製造工程を再現した実験系を確立する。
- ・ ウイルススパイクの組成(血清等)による影響(クロマトグラム、ろ過)を事前検討することが望ましい。
- ・ スケールダウンモデルの最適化は委託側の責任で実施。

26

ウイルスクリアランス試験の留意点

・受託試験機関の選定

- ・ 受託試験機関の得意分野、特徴を理解することが重要である。
- ・ 見積り金額だけで判断せず、試験の内容、技術レベルなどを考慮して選定することが望ましい。
- ・ 海外の受託試験機関を選定した場合は、試験担当者の負担を考え、試験施設、宿泊施設の周辺環境・天候・交通も把握しておくほうがよい。
- ・ 事前訪問により上記内容を確認することが重要である。

27

ウイルスクリアランス試験の留意点

・プロトコルの作成

- ・受託試験機関の担当者との綿密な情報交換を行い、サンプリングポイント、使用するウイルス、アッセイ方法などの情報を十分に検討する必要がある。
- ・プロトコル承認後は、変更手続きが煩雑であることに留意する。

28

ウイルスクリアランス試験の留意点

・試験の実施

- ・サンプルや器材を海外の試験施設に輸出する場合、動物検疫、輸出入許可取得の要否の確認と航空法上危険物と該当する試薬類の事前確認が必要となる。
- ・試験を海外で行う場合は、英語での会話となる。相互の理解を確かなものとする。時には筆談も有意義である。

29

終わりに

生物学的製剤のウイルス安全性とウイルスクリアランス試験について、規制情報の調査結果を踏まえ、試験を実施するための、留意すべき点を可能な限り実例を交えて報告した。

今後の試験計画の策定の一助になれば幸いである。

30