

研究結果報告書（概要）

研究課題名：再生医療等製品原材料の放射線処理によるウイルスリスクの軽減についての調査研究

主たる研究者（所属部署）： 前田 大輔（再生医療製品等審査部）

【目的】

細胞加工製品たる再生医療等製品はその本質が生きた細胞等であるため、最終製品の製造工程で病原体（ウイルス）の不活化処理を施すことは困難であることが多くの品目で想定される。そのため、品質確保の観点から、病原体の混入のない原材料を用いて製造を行うことが重要であり、開発者には原材料の病原体に対する安全性が担保されていることを説明することが求められている。

ウシ血清、培地、サイトカイン等、再生医療等製品の製造に使用する材料の成分は多岐にわたり、開発者が単独ですべての材料の製造方法に対してウイルスクリアランス等の検証を行うことは負担が大きいこと、及び材料供給元からノウハウの保護等を理由に材料の詳細な製造方法が開示されないために検証作業が困難であることがこれまでに指摘されてきた。材料の製造工程に関する検証を行うことが困難な場合、その代替として、開発者が使用前に材料に放射線照射等のウイルス不活化／除去処理を行うことは可能であるが、製造販売承認審査においては、線種や照射条件についてその妥当性を示すことが前提となっている。

本研究においては、現在の科学水準や海外規制当局での要求事項との調和を図りつつ、審査側からウイルス不活化を目的として適用可能な放射線処理やその条件について一定の基準等を示すことで、相談及び承認審査の迅速化を目指す。

【研究方法】

以下の資料から、放射線照射による病原体（ウイルス）不活化効果や材料品質への影響に関する情報を抽出し、材料ごとに選択可能な照射条件等を整理して示す。

1. 海外の規制関連文書
2. 原料等の供給メーカー等が提供している文献
3. 承認申請（審査）資料・対面助言資料（非開示データを含む）

1 については、米国、欧州、WHO を検索。

2 については、“gamma irradiation”, “virus(viral) inactivation”, “bovine serum”, “trypsin”等の用語で一般検索サイトにて検索。また、同様の用語でトムソンロイター社の DataBase も活用。

3 については、平成 23 年から平成 26 年 7 月までに再生医療製品分野及び遺伝子治療分野で実施した品質に関する審査品目・相談品目を対象に、放射線照射によるウイルス不活化が施された材料を抽出し、材料別に適用されている照射条件やそのウイルス不活化効果について調査。

【結果・考察】

1. 海外の規制関連文書

米国：米国薬局方の<1024>ウシ血清において、高頻度には選ばれる γ 線最小照射量に関する記述 (25 kGy) があるが、要求事項ではない。ブタ由来トリプシンその他の材料については、USP には γ 線照射条件に関する記載は見当りなかった。

欧州：EMA ガイダンスにおいて、ウシ血清への γ 線照射に関して最小照射量として 30 kGy が記載されており、ブタ由来トリプシンに対してもウイルス不活化処理として 30 kGy を最小照射量とする γ 線照射を使用することができる旨が述べられている。

WHO：ウシ血清、ブタ由来トリプシンに対する照射に関する報告書は確認できなかったが、血液製剤に対する照射によるウイルスクリアランスと目的タンパク質の生物活性等に関する情報が確認された。

米国・欧州ともに、 γ 線照射における重要工程パラメータとして、温度、最大／最小照射量、照射時の製品量と配置、モニタリングにあたっての線量計の配置等が挙げられている。

2. 原料等の供給メーカー等が提供している文献

1. において細胞培養で高頻度に使用されるウシ血清及びブタ由来トリプシンの海外規制関連文書が認められたことから、当該材料について重点的に検索を行った。

ウシ血清のうち、ウシ胎児血清 (FBS) については研究分野における供給メーカーシェアの情報があり、上位 3 社で全体の 75%を占める (2012 年)。臨床使用でのシェアに関する情報は確認できなかった (注：臨床開発をする場合には安定供給が可能か否かも重要な着眼点になるため、研究分野上位のシェアがより上がる可能性もあるかもしれない)。上位の供給メーカーについては各社 HP にて掲載情報の確認を行った。その結果、複数のウイルスを用いて、 γ 線照射量とウイルス対数減少値 (LRV) の関係性を評価した結果が公表されていることが確認され、ウシ血清については 25 kGy で大幅な減少を認め、35 kGy でブタパルボウイルス (PPV) を除く試験に用いたほぼすべてのウイルスが検出限界未満となっているという傾向が確認された。

ブタ由来トリプシンについては、製品開発等でのシェアの情報は入手できず、メーカーからの適切な文献は入手できなかったが、文献検索において、ブタ由来トリプシンへのスパイク試験で 35 kGy 照射時の PPV のクリアランスは 2 Log 以下であり、一方で酵素活性低下への影響も大きいとの情報が確認された。

3. 審査資料・相談資料 (非開示データを含む)

平成 23 年から平成 26 年 7 月までに品質に関する審査・相談を行った 34 品目を対象に、放射線照射によるウイルス不活化が施された材料の使用状況を確認した。

- 放射線照射による不活化が施されている材料を使用している製品は、34 品目中 20 品目あり、29 品目で γ 線照射された材料が、1 品目で電子線照射された材料が使用されていた。
- 照射された材料として、ウシ血清、ブタ由来トリプシン、他 1 種が確認された。ウシ血清は 5 社からのウイルスバリデーションの成績が参照でき、いずれも γ 線照射の成績であった。ブタ由来トリプシンは 2 社からのウイルスバリデーションの成績が参照でき、1 件は電子線照射、1 件は γ 線照射の成績であった。
- γ 線照射条件を抽出し、比較を行ったところ、ウシ血清については、いずれも凍結状態で実施されていることは共通しており、照射量に 25~40 kGy の範囲でばらつきがあった。照射量が 25 kGy と記載されているものについては、照射庫内での分布なども加味して 25 kGy を担保するように照射をされているのではないかと (つまり最小照射量が 25 kGy とされているのではないかと) と推測されるものの、相談資料という性質上、原資料へのアクセスに限界があり、平均照射量や照射分布などに関する情報は確認できなかった。照射量と LRV の関係性を検討したデータが提出されているものもあり、傾向は 2. の公表データと同様であった。ブタ由来トリプシンの γ 線照射については 2 件であったが、同様の照射条件のウシ血清と比較して傾向の違いは認められなかった。

γ 線の最小照射量をどのように考えるかは難しい問題である。ウシ血清については、米国薬局方では「25 kGy」を挙げ (欧州等への配慮とも考えられるが「30 kGy を求めている地域があること」にも言及している)、欧州は 30 kGy を挙げている。ブタ由来トリプシンについては 2014 年の欧州ガイダンスでは 30 kGy を挙げ、その理由として 25 kGy は全てのウイルスを不活化するには十分ではないと述べている。

今回の調査に基づくと、ウシ血清及びブタ由来トリプシンは共に 30 kGy までの照射では品質低下に関する情報は確認できておらず、25 kGy 以上で大きく LRV が増加して、35 kGy 以上でプラトー (スパイクウイルス検出限界) という傾向にあるため、25 kGy を確実に確保することは必要であるとした上で、より不活化効果を期待できる 30 kGy が望ましいと考えるのが妥当であろう。ただし、①ウイルスクリアランス試験はあくまで製造工程が有するウイルスクリアランス能を評価するために高濃度のウイルス原液を工程にスパイクする人工的な実験系であること、②実際には「健康な動物」に由来するものであることが基準上も求められ、混入するウイルスの種類や量について材料のウイルス検査が実施されるなどの一定の管理がされること、③ 25 kGy の照射を行っているウシ血清が再生医療等製品で使用されていること、④ブタ由来トリ

プシンに関してはその製造工程において低 pH 処理が施され、ウイルスクリアランスが見込まれることが EMA のガイダンスを含む文献で言及されていること等を考慮すると、最小照射量が「25～30 kGy」の範囲にあるウシ血清及びブタ由来トリプシンについては、照射前のウシ血清プールやブタ臓腑プール等でのウイルス検査結果、 γ 線照射における平均照射量、製造工程や実際の平均照射量を示した上で個別に評価して、30 kGy に準じる取扱いをすることができる場合もあるかもしれない。

今回の研究については、再生医療等製品の開発動向から単年度研究によって一定の結論を出すこと目標としたため、書面やデータ検索が中心の調査となった。放射線照射を受託している施設へのヒアリング等を行い、実際の照射条件を選択する場合の留意点等も含めることができればさらに研究の意義は高くなった可能性がある。

【結論】

今回の調査から以下のことが明らかになった。

- ウシ血清（仔ウシ血清、ウシ胎児血清を含む）及びブタ由来トリプシン溶液については、凍結状態にて最小照射量として 30 kGy 以上の γ 線が照射されていれば、一定のウイルスクリアランスは期待できる。
- ブタ由来トリプシンについては、製造工程中に γ 線照射処理の他に不活化効果を期待できる処理が存在しない場合には、ブタパルボウイルス (PPV) 及びブタサーコウイルス (PCV) のウイルス検査の実施を考慮する必要がある。

本研究においては、上記の 2 つの材料に対して一定の照射量の γ 線照射を実施した場合に、当該処理のウイルスクリアランス検証データの当局提出を省略できるかという考察はできなかった。また、その他の材料に対する γ 線照射条件の外挿可能性についても議論をしていない。

γ 線照射に抵抗性の高いウイルスは存在しており、製造工程でのウイルス迷入リスクを完全に否定することが不可能であることも依然として変わりはない。また、当該材料が健康な動物に由来することを確認し、材料全体に均質に γ 線照射がなされていることのバリデーションデータは別途取得しておくことは必要である。

製品のウイルス安全性は、全体の管理戦略に基づき、材料に対する試験、工程内管理試験、工程のウイルスクリアランス評価を組み合わせることによって確保されるものであり、個々の試験のみで達成されるものではないという認識を持つことが重要である。

以上