

## 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1日に新設された。初代の室長として山口一成が、血液・安全性研究部長との併任で就任した。平成19年5月10日には、血液・安全性研究部 内藤誠之郎、細菌第二部 落合雅樹、ウイルス第三部 大槻紀之が、当室に併任された。平成19年10月1日には、内藤誠之郎が当室に配置換えとなり、血液・安全性研究部に併任された。平成19年10月15日には、当室の技術補助員として内田孝子が採用された。

本年度の前半は、部屋の什器類の整備および事業計画の作成などの新しい部屋を立ち上げるための準備作業にあてられた。10月には、正職員として配置換えにより内藤が着任し、補助員として内田が採用されたことから、業務を遂行する体制が整った。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項目を挙げると、1. 検定・検査業務必携の編集と発行、2. 検定検査品質保証室ホームページの開設、3. 国家検定の実施に関わる標準作業手順書(SOP)の取扱要領の策定、4. 国家検定の実施に関わるSOP原本の当室での一元管理システムの導入、5. 生物学的製剤基準試験法の改良・開発研究に関する調査の実施、6. 検定業務評価委員会による定期査察への参加、などである。また、生物学的製剤に関する研究業務として、引き続き、内藤を中心に、1. 経皮ワクチンに関する研究 2. 血液製剤に対する発熱試験法の見直しに関する研究 が行われた。

近年、各方面で品質マネジメントシステム整備の重要性が叫ばれており、各国の国家検定試験所(National Control Laboratory, NCL)においても、試験所の品質マネジメントシステムの国際的デファクトスタンダードであるISO 17025:2005を導入する動きがある。国立感染症研究所としても、NCLとして国際的にも理解の得られる国家検定の品質および信頼性の水準を維持するためには、より一層の品質保証体制の整備が求められると思われる。当室では、これに対応して、来年度以降も国家検定・検査に関わる品質マネジメントシステムの整備に尽力して

ゆく所存である。さらなるSOP整備の推進、各種の指針・規程等の策定、関連する委員会(品質保証運営委員会、検定業務評価委員会、教育研修小委員会、検定機器小委員会、検定コンピュータ小委員会)との連携と分担の明確化が今後の課題である。

#### 業績

##### 調査・研究

##### . 生物学的製剤に関する研究

##### 1. 経皮ワクチンに関する研究

##### (1) 経皮ワクチンによる粘膜免疫応答の誘導

卵白アルブミン(OVA)溶液を含有したガーゼパッチを、マウスの耳介に16時間添付する方法で経皮免疫した。同様の免疫を3回繰り返した後、糞便抽出液中の抗体をELISA法で測定したところ、有意なOVA特異的IgAおよびIgG抗体が検出された。以上より、皮膚免疫系と粘膜免疫系に何らかのクロストークの機構があることが示唆された。[内藤誠之郎、前山順一(血液・安全性研究部)]

##### (2) 経皮ワクチンによるIgE抗体産生

OVA溶液を含有したガーゼパッチを、マウスの耳介に16時間添付する方法で経皮免疫した。同様の免疫を3回繰り返した後、血清中のIgE抗体を抗体capture-ELISA法で測定したところ、有意なOVA特異的IgE抗体が検出された。アジュバントとしてCpG-ODNまたはコレラトキシンBサブユニットを、OVAと同時に投与したところ、OVA特異的IgE抗体産生は減少する傾向が認められた。[内藤誠之郎、前山順一(血液・安全性研究部)]

##### (3) スギ花粉蛋白の経皮免疫

経皮ワクチンをスギ花粉症の免疫療法(減感作療法)に応用する目的で、スギ花粉蛋白(SBP)を含んだガーゼパッチをマウスの耳介に16時間貼付する方法で経皮免疫した。試薬として販売(和光純薬)されている濃度(200µg/ml)のSBPを経皮免疫した場合(マウスあたり10µg投与)には、血清中に有意なSBP特異的IgG抗体産生は検出できなかったが、5倍に濃縮して投与したところ(マウスあたり50µg投与)、有意な抗体産生が誘導

された。[内藤誠之郎、阪口雅弘（麻布大学）]

## 2. 血液製剤に対する発熱試験法の見直しに関する研究

### (1) ウサギへの検体投与量の見直し

前年度に引き続き、5種類の血液製剤（静注用免疫グロブリン製剤、乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤、人ハプトグロビン製剤、乾燥人フィブリノゲン製剤、5%人血清アルブミン製剤）について、エンドトキシン添加製剤を新旧2種類の投与量でウサギに投与して発熱反応を測定し、投与量を増量することに問題がないかどうか確認するためのデータを集積した。その結果、いずれの製剤においても、現投与量に比べて新投与量の方が強い発熱反応を誘導する傾向が認められ、投与量を増量することに問題は認められなかった。したがって、臨床投与量との整合性および国際調和の観点から、これら5種類の血液製剤については、発熱試験法におけるウサギへの投与量を増量することが適当であると考えられた。[内藤誠之郎、前山順一（血液・安全性研究部）、山口一成]

### (2) 血液製剤によるエンドトキシン発熱反応の増強

エンドトキシン規格値を適正に設定するために、血液製剤によるエンドトキシン発熱活性に対する増強作用を検討した。21品目の血液製剤について検討し、乾燥濃縮人血液凝固第VIII因子製剤、乾燥濃縮人血液凝固第IX因子製剤、乾燥人フィブリノゲン製剤、乾燥濃縮人アンチトロンビンIII製剤および乾燥濃縮人活性化プロテインC製剤において、3.6倍から8.9倍の有意な発熱増強活性を認めた。これらの製剤のエンドトキシン規格値は、増強率に応じて補正すべきであると考えられた。人免疫グロブリン製剤15品目については、逆に発熱を抑制する傾向を認めた。人ハプトグロビン製剤では、エンドトキシン発熱活性に対する有意な影響は認められなかった。[内藤誠之郎、浜口功（血液・安全性研究部）、山口一成]

### (3) エンドトキシン規格値の算定と試験法適用の可能性

個々の血液製剤について、エンドトキシン発熱活性の増強作用も考慮に入れてエンドトキシン規格値を算出した。さらに、算出したエンドトキシン規格値にもとづいて最大有効希釈倍数（MVD）を試算し、個々の血液製剤についてエンドトキシン試験法適用の技術的可能性を判断した。その結果、乾燥濃縮人アンチトロンビンIII製剤を除いて、エンドトキシン試験法の適用が可能であると考えられた。同製剤は、強い反応阻害作用があり、通常の方法ではエンドトキシン試験法の適用が困難と考え

られた。エンドトキシン試験法ではエンドトキシン以外の発熱性物質を検出できないことに留意する必要があるが、実際上の発熱性物質混入リスクとエンドトキシン試験法導入によるメリットを勘案し、発熱試験法に替えてエンドトキシン試験法を導入することを、積極的に検討すべきと考えられた。[内藤誠之郎；浜口功、益見厚子（血液・安全性研究部）；落合雅樹、山本明彦、堀内善信（細菌第二部）；山口一成]

## 品質管理に関する業務

### ・標準作業手順書（SOP）の管理に関する業務

#### 1. 国家検定に関するSOPの取扱要領の制定

これまで各検定担当部室にまかされていたSOPの文書管理について、所内で統一的な取扱いをするために、国家検定に関するSOPを「作成」「修正」「改訂」「廃止」する場合の各取扱要領を定めた。これらの取扱要領は、品質保証運営委員会での審議を経て、平成20年1月24日に業務運営委員会で承認されたのち、平成20年2月7日に検定協議会で承認された。[内藤誠之郎、内田孝子、落合雅樹、大槻紀之、山口一成]

#### 2. 国家検定に関するSOP原本の検定検査品質保証室での一元管理の導入

国家検定に関するSOPの管理を徹底するために、原本を検定検査品質保証室で一元管理することが、平成19年12月27日の業務運営委員会で決定された。これを受けて、平成20年3月17日から、各担当室からのSOP原本提出の受付を開始した。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受け付けて、部室ごとに整理してファイルし、施錠保管庫に保管した。受け付けたSOP原本は、マスターファイルに登録し、検定検査品質保証室のホームページ上で確認できるようにした。今回提出されたSOP原本を通覧したところ、内容、様式に統一性が欠ける問題点が明らかになった。今後、「検定検査試験手順書作成要綱」の改定、標準様式の提示などにより標準化を図ることが必要と考えられた。[内藤誠之郎、内田孝子、山口一成]

### ・標準品の管理に関する業務

#### 1. 標準品の管理に関する国際研修への参加

平成20年3月11-12日に英国 National Institute of Biological Standards and Control (NIBSC、国立生物学的製剤研究所)で開催された国際研修“Principles of Biological Standardization Training Course”(生物学的製剤標準化の原理)に参加して、標準品に関する理解を深めるとともに、

講師および参加者との意見交換を行った。[内藤誠之郎、清原知子(ウイルス第二部)、岩城正昭(細菌第二部)]

#### ・教育・訓練に関する業務

##### 1. 検定・検査業務必携の編集、発行

検定・検査業務必携は、検定業務を適正に執行するために必要な情報をまとめた参考書である。はじめて検定に携わる者にとっては入門書となり、すでに検定に携わっている者にとっては、必要に応じて参照すべきマニュアルである。前回の改訂から2年が経過し、実態と相違する部分も出てきたことから、改訂作業を行い、平成20年3月に新版を発行した。また、今年度からは、検定検査品質保証室のホームページでも検定・検査業務必携を閲覧できるようにし、必要に応じて改訂原稿を掲載することにした。[内藤誠之郎、内田孝子、山口一成]

#### ・内部監査に関する業務

##### 1. 検定業務評価委員会による査察への参加

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。今年度は、当室が発足して初年度ということで、すべての査察に同行して、必要に応じて意見を述べた。[内藤誠之郎]

#### ・生物学的製剤基準に関する業務

##### 1. インフルエンザHAワクチンの白血球減少試験に関する検討会の開催

インフルエンザHAワクチンのマウス白血球減少試験について、所内関係者(細菌第二部、ウイルス第三部、血液・安全性研究部、免疫部)による議論の場を設定し、今後の方針を決定した。会議の要旨は、議事録にまとめた。[内藤誠之郎、山口一成]

##### 2. 生物学的製剤基準試験法の改良・開発研究に関する調査

生物学的製剤基準の試験法を、科学技術の進歩および社会的要求の変化に応じて改良・開発していくことは、生物学的製剤の品質、安全性および有効性を確保していく上で重要である。この方向での研究開発を促進する方策を探るために、所内で実施されている研究に関してアンケート調査を実施した。さらに、複数上がった研究課題について業務運営委員会で選任された評価委員に評価していただき、5課題について厚生労働科学研究費補助金の交付を申請した。[内藤誠之郎、山口一成]

##### 3. 沈降型インフルエンザワクチン(H5N1株)の生物学的製剤基準英訳版の校正

沈降型インフルエンザワクチン(H5N1株)の製造販売が承認され、あらたに生物学的製剤基準が定められた。ウイルス第三部第一室で作成した基準の英訳版について、他の基準との整合性などの観点から校正を行った。[内藤誠之郎]

#### ・その他

##### 1. 検定検査品質保証室のホームページの開設

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た。このサイトを利用して、検定検査関係の内規や検定・検査業務必携などの閲覧および検定検査品質保証室への届け出様式のダウンロードができるようにした。また、検定検査関係の各種の情報提供を行った。[内田孝子、内藤誠之郎、山口一成]

## 発表業績一覧

### ・誌上発表

#### 1. 欧文発表

- 1) Naito S, Maeyama J, Mizukami T, Takahashi M, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Transcutaneous immunization by merely prolonging the duration of antigen presence on the skin of mice induces a potent antigen-specific antibody response even in the absence of an adjuvant. *Vaccine* 25: 8762-70, 2007.
- 2) Kuramitsu M, Hamaguchi I, Mizukami T, Masumi A, Momose H, Takizawa M, Mochizuki M, Naito S, Yamaguchi K. Deficient RSP19 protein production induces cell cycle arrest in erythroid progenitor cells. *British Journal of Haematology* 140: 348-59, 2007.
- 3) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, Yamaguchi K. Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germ-line stem cells. *Stem Cells and Development* 17: 67-80, 2008.
- 4) Mizukami T, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K. Application of DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004(H5N1) vaccine safety evaluation. *Vaccine* 26: 2270-83, 2008.

2. 和文発表

- 1) 内藤誠之郎：経皮免疫ワクチン，臨床免疫・アレルギー科，47(2)：226-31，2007.
- 2) 内藤誠之郎：発熱性物質試験法．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，in press.

．学 会 発 表

1. 国際学会

- 1) Naito S, Ochiai M, Yamamoto A, Maeyama J, Masumi A, Hamaguchi I, Yamaguchi K, Horiuchi Y. Application of the Limulus amebocyte lysate test to various blood products as an alternative method to the rabbit pyrogen test. 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Science. August 21-25, 2007, Tokyo.
- 2) Mizukami T, Kuramitsu M, Takizawa K, Momose H, Mochizuki M, Masumi A, Naito S, Iwama A, Ogawa T, Noce T, Hamaguchi I, and Yamaguchi K: Identification of transcripts commonly expressed in both hematopoietic and germline stem cells.-Spp1 (Secreted phosphoprotein 1) is essential for the early niche formation in the bone marrow. 第 5 回国際幹細胞学会 ( Cairns Australia ) 2007.6.
- 3) Masumi A, Hamaguchi I, Mizukami T, Kuramitsu M, Momose H, Takizawa K, Naito S, Yamaguchi K : The role for Interferon regulatory factor-2 on hematopoietic differentiation. 第 50 回国際インターフェロン・サイトカイン学会 ( Oxford, England ) 2007. 9.

2. 国内学会

- 1) 益見厚子、浜口 功、水上拓郎、倉光 球、百瀬暖佳、滝澤和也、内藤誠之郎、山口一成：インターフェロン制御転写因子 IRF-2 の造血幹細胞分化に及ぼす役割．第 127 回日本薬学会．平成 19 年 3 月，富山．
- 2) 水上拓郎、浜口功、倉光球、滝澤和也、百瀬暖佳、内藤誠之郎、益見厚子、野瀬俊明、山口一成：生殖幹細胞と造血幹細胞の分子基盤の解明．第143回日本獣医学会学術集会，平成19年4月，筑波．
- 3) 倉光球、浜口功、水上拓郎、百瀬暖佳、滝澤和也、益見厚子、望月雅代、内藤誠之郎、山口一成：先天性赤芽球癆におけるリボソームタンパク質 S19(RPS19) の遺伝子変異と細胞増殖との関係の解析．第 55 回日本輸血・細胞治療学会，平成 19 年 5 月，福岡．
- 4) 水上拓郎・浜口功・滝澤和也・倉光球・百瀬暖佳・内藤誠之郎・益見厚子・岡田誠治\*・山口一成：髓

外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．

- 5) 倉光球、浜口功、水上拓郎、益見厚子、百瀬暖佳、滝澤和也、望月雅代、内藤誠之郎、山口一成：リボソームタンパク質S19の遺伝子変異に伴う細胞周期のG1/G0停止と先天性赤芽球癆との関係．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．
- 6) 百瀬暖佳、浜口功、倉光球、水上拓郎、益見厚子、滝澤和也、内藤誠之郎、山口一成：受容体型チロシンキナーゼTie2によるAngiopoietin-1の発現調節機構の解析．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．
- 7) 益見厚子、浜口功、水上拓郎、倉光球、滝澤和也、百瀬暖佳、内藤誠之郎、山口一成：インターフェロン制御転写因子IRF-2の巨核球分化における役割．第69回日本血液学会総会，平成19年10月，横浜．
- 8) 内藤誠之郎，前山順一，水上拓郎，長谷川秀樹，浜口功，山口一成：経皮ワクチンに関する研究 抗原の皮膚送達促進による免疫効果の増強とインフルエンザHAワクチンへの応用 第11回日本ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜．
- 9) 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，益見厚子，倉光 球，滝澤和也，野村信夫，渡辺慎哉，山口一成：網羅的遺伝子発現解析によるパンデミックインフルエンザワクチン ( H5N1 ) の安全性・有効性評価法の試み．第 11 回日本ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜．
- 10) 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝澤和也、水谷哲也、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成：遺伝子発現解析 ( QuantiGene Plex 法 ) を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み 第 11 回ワクチン学会，平成 19 年 12 月，横浜．
- 11) 水上拓郎・浜口 功・滝澤和也・倉光 球・百瀬暖佳・内藤誠之郎・益見厚子・岡田誠治・山口一成：髓外造血機構を用いた造血幹細胞ニッチの解析．第 145 回日本獣医学会，平成 20 年 3 月，相模原．