

となった。新製法の莢膜血清 9N 及び 17F 型ポリサッカライドでは、従来製法のポリサッカライドより酢酸ナトリウム及び C-ポリサッカライドがわずかに多く含まれ、新製法の莢膜血清 33F 型ポリサッカライドでは、従来製法のポリサッカライドより酢酸ナトリウムと総残留溶媒量（フェノール、エタノール及び 2-プロパノール）がわずかに多かった。

生物学的活性

血清学的同定試験により、各莢膜血清型ポリサッカライドが同種抗血清（当該ポリサッカライドと同じ莢膜血清型の抗血清）に免疫反応を示し、異種抗血清（当該ポリサッカライドと異なる莢膜血清型の抗血清）に免疫反応を示さないことが確認された。また、各莢膜血清型ポリサッカライドに対するウサギポリクローナル抗血清を用い、従来製法のポリサッカライドを標準品として定量的速度比濁法により抗原/ポリサッカライド原薬（Ag/Pw）比を求め、Ag/Pw を Ps/Pw で除することにより相対的抗原性（抗原/ポリサッカライド重量：Ag/Ps）を算出した。その結果、Ag/Ps 値の結果は、■■■■～■■■■ であり、従来製法と新製法のポリサッカライドの抗原エピトープは同等であると判断されている。

3) 不純物

肺炎球菌由来の不純物としては、たん白質、核酸、C-ポリサッカライドについて検討がなされた。ポリサッカライド含量に対するたん白質含量は、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬について概ね検出限界（■■～■■%）以下と、従来製法の同等以下であったが、幾つかの莢膜血清型ポリサッカライド原薬において、まれに、蛋白質含量の多いロット（0.8～1.3%）が認められている。核酸含量は、大半の莢膜血清型ポリサッカライド原薬について概ね 0.1%（ポリサッカライド含量に対する%）以下であり、従来製法のポリサッカライド原薬と比較して減少していたが、莢膜血清 6B、10A、15B、17F、19F 及び 22F 型では、従来製法のポリサッカライド原薬に比べて増加していた。C-ポリサッカライドの莢膜ポリサッカライドに対する含量（w/w%）は、各莢膜血清型で 0.4～19.0%、平均 6.2% であり、従来製法の 0.5～12.1%、平均 4.1%と比較して約 1.5 倍に増加している。原薬中の C-ポリサッカライドを、ペプチドグリカンを介して莢膜ポリサッカライドに結合している「結合型」と結合していない「遊離型」に分けて分析したところ、遊離型 C-ポリサッカライドの残留が増加した結果、C-ポリサッカライド含量が増加したとされている。

精製工程に由来する不純物について、ポリエチレンイミンは検出限界（ポリサッカライド原薬に対する w/w% として、莢膜血清 1、5、8、12F、18C 及び 19A 型では ■■■%、それ以外は ■■■%）未満、トリスは検出限界（同、■■■■%）未満であった。リン酸ナトリウム及び塩化ナトリウムについては、微量の残留が認められるが、小分け製剤に含まれる量は最大で 11 µg/0.5 mL 及び 4 µg/0.5 mL と算出されている。酢酸ナトリウムについては 23 種類の莢膜血清型ポリサッカライド原薬で総じて従来製法原薬と同程度であり、小分け製剤に含まれる量も同程度であると算出されている。エタノール、2-プロパノール及びフェノールについては、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬において微量の残留が認められるが、小分け製剤に含まれる量はエタノール：27 µg/0.5 mL 及び 2-プロパノール：4 µg/0.5 mL と算出され、フェノールは小分け製剤に添加される量に比べて無視できる残量であった。エンドトキシンは、莢膜血清 ■■■ 及び ■■■ 型でのバリデーションから、膜限外ろ過工程のリン酸緩衝液を用いたダイアフィльтраーションにおいて、定量限界（ポリサッカラ

イド原薬に対する w/w%として () 未満まで除去されることが確認されている。

これらの原薬を用いて製造される製剤に含まれる不純物は、以下のように見積られている。

表 2-1 従来製法と新製法のポリサッカライド原薬中の不純物の比較

| 不純物の種類 | 不純物 | 従来の製造法の原薬 (1用量当たりの含量 ¹) | 新製造法の原薬 (1用量当たりの含量 ¹) |
|-------------------------|------------------|--|--------------------------------------|
| 菌体由来の 不純物 | たん白質 | 2 µg | < 1 µg |
| | 核酸 | 1 µg | 1 µg |
| | C-ポリサッカライド | 23 µg | 35 µg |
| 従来及び新製 造工程由来の 不純物 | リン酸ナトリウム | 測定なし ² | 11 µg |
| | 酢酸ナトリウム | 19 µg | 17 µg |
| | エタノール | 18 µg | 27 µg |
| | 2-プロパノール | 10 µg | 4 µg |
| 新製造工程 由来の不純物 | ポリエチレンジアミン | N/A | < 1 µg ³ |
| | トリス(ヒドロキシメチル)アミン | N/A | ≤ 1 µg ³ |
| | エンドトキシン | N/A | ≤ 1 pg ³ |

N/A: 該当なし。

1 核磁気共鳴スペクトル測定法による定量分析で求めたポリサッカライド含量に基づく。

2 従来の製造法のポリサッカライド原薬中のリン酸ナトリウム含量は定期的に測定しなかったが、検出限界程度の量である。

3 定量限界に基づいて計算した場合の最高値を示した。

4) 規格及び試験方法

各莢膜血清型ポリサッカライド原薬について、以下の規格が設定されている。

性状、¹H-NMR による確認試験及び O-アセチル含量 (1、7F、9V、11A、15B、17F、18C、20、22F 及び 33F)、改良ローリー法によるたん白質含量、紫外可視吸光度測定法による核酸含量、多角度レーザー光散乱及び屈折率で検出するサイズ排除 HPLC による平均分子量、定量的速度比濁法による血清学的同定試験、局方による微生物限度試験及びエンドトキシン試験が設定されている。従来製法で設定されていた規格及び試験方法からの変更点は、新たに O-アセチル含量及びエンドトキシン試験が追加され、たん白質含量及び平均分子量規格値が変更され、確認試験、核酸含量及び血清学的同定試験の試験方法が変更された。さらに、A・B 血液型物質否定試験及びフェノール不活化試験が削除されている。

なお、規格及び試験方法には設定されていないが、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬について、製剤化の際に必要なポリサッカライド含量及び C-ポリサッカライド含量が ¹H-NMR により測定される。

5) 標準品又は標準物質

標準品については、第 2 部と第 3 部の記載に齟齬があるため、内容を確認中である。

6) 安定性

ポリサッカライド原薬は、ポリカーボネート製容器で -70±10°C で保存されるか、又は、ステンレススチール製容器において -55±10°C で最大 8 ヶ月間保存された後、ポリカーボネート製容器に移され、-70±10°C で保存するとされている。ステンレススチール製容器における -55±10°C

での安定性試験は 10 ヶ月の期間で、莢膜血清 1、10A、19A、19F 及び 23F 型ポリサッカライド原薬でのみ実施された。-70±10℃での安定性試験は、ポリプロピレン製容器を用いて、全ての莢膜血清型ポリサッカライド原薬について ■年間実施される計画であり、19■年■月～20■年■月にかけて開始されている。また、実際の保存条件を更に正確に反映するために、20■年■月■日以降に開始した安定性試験では、ポリカーボネート製容器を用いることとした、とされている。なお、いずれの安定性試験についても、測定項目は性状及び平均分子量のみである。

(2) 製剤

1) 製剤処方及び製造方法

本剤は、現行製剤と同様、1用量あたり各ポリサッカライド 25 µg、塩化ナトリウム 4.5mg、注射用水 0.5mL、液状フェノール 1.25mg を含む。

各莢膜血清型ポリサッカライド 50 µg/mL、塩化ナトリウム 0.9%及びフェノール 0.25%を含む 23 価バルクを調製し、これを孔径 ■µm のフィルターで無菌ろ過して最終バルクとする。製剤化工程及び無菌ろ過工程が重要工程とされ、■ロットの製造によりプロセス・バリデーションを実施している。最終バルクは■～■℃で最大■ヶ月間保存され、再度、孔径 ■µm のフィルターで無菌ろ過してバイアルに充填される。なお、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬の仕込量は、¹H-NMR により測定されたポリサッカライド含量に基づいて決定される。

従来製法では、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬のポリサッカライド含量を熱質量測定法により測定し、各莢膜血清型ポリサッカライド原薬の仕込量を決定していた。水分のみを補正する熱質量測定法で測定されたポリサッカライド含量に比べ、¹H-NMR により測定されるポリサッカライド含量は、総じて 10%程度低くなるため、新製法は従来製法に比べて約 10%原薬の仕込量が增加している。

2) 規格及び試験方法

製剤の規格及び試験方法として、性状、C-ポリサッカライド含量試験（製剤化に使用した各莢膜血清型ポリサッカライド原薬の C-ポリサッカライド量の合計）、HPLC 法によるフェノール含量試験、定量的速度比濁法による確認試験及びポリサッカライド含量試験、現行製剤の生物学的製剤基準に準じた pH 試験、無菌試験、異常毒性否定試験、エンドトキシン試験及び発熱試験、並びに局方による浸透圧比、不溶性異物試験、ガラス容器試験、実容量試験が設定されている。

なお、現行製剤で規定されている A・B 血液型物質否定試験は、動物由来原材料を使用しない製法へ変更したため削除されている。また、現行製剤で規定されているヒト力価試験（製造方法が変更された場合に 25 例でのヒト力価を確認する。）についても、分析手法の進歩により品質・工程管理で対応できること、及び 25 例の試験で得られる情報に疑問があることから、削除されている。

3) 標準品及び標準物質

標準品は、確認試験及びポリサッカライド含量試験で使用される。従来製法により製造され規格に適合した各莢膜血清型の原薬 1 mg/mL となるよう溶解したものを乾燥後、重水に再溶解して

NMRで定量することで正確な含量を求め、各型 10 µg/mL を含む多価溶液として標準溶液を調製する。標準品として使用する原薬の保存期間は、原薬と同様 -70±10°C で、莢膜血清型により 6～10 年保存する。将来的には、新製法で製造した標準品を使用する予定である。

4) 安定性

3 ロットの製剤を用いて長期保存試験 (2～8°C/暗所/30 ヶ月) が実施され、性状、pH 試験、相対分子量、フェノール含量試験、無菌試験及びエンドトキシン試験について検討された。

<機構における審査の概略>

(1) シードバンクの同等性/同質性について

本申請に先立って実施された治験相談では、新製法と従来製法の MSB の同等性について、申請者は、「各菌株の遺伝学的特徴について検討し、従来製法による MSB と新製法による MSB が免疫学的にも、化学的にも同等であることを確認した。分析パラメータとしては、コロニーの形態、グラム染色、オプトキン感受性及び莢膜血清型特異的抗血清による莢膜膨化反応が行われた。」と説明していたが、提出された資料においては、「従来製法の MSB の純度、血清学的同定及び生菌数に関する試験結果は入手できない。」とされていることから、申請者に説明を求めた。申請者は、従来製法のシードバンクとの同等性/同質性は検討していないが、新製法のシードの特性は、本品の品質を保証するのに十分と考えていると説明した。

機構は、治験相談の際に虚偽の説明が行われたことを確認した。なお、本件が本剤とニューモバックスとの同等性/同質性の評価に与える影響については、品質に関する他の問題点も解決した上で総合的に判断したい。

(2) 培養工程の工程管理パラメータについて

生産培養工程では、XXXXXXXXXX濃度及び光学密度 (A_{600nm}) により菌の増殖をモニタリングし、XXXXXXXXXX濃度が $\blacksquare \sim \blacksquare$ g/L まで低下した時点でフェノールを添加して培養を終了するとされている。XXXXXXXXXX濃度を工程管理パラメータとして用いる妥当性の根拠として、莢膜血清 9V 型のバリデーションロット (3 ロット) での経時的な XXXXXXXXXX濃度と光学密度 (A_{600nm}) のデータが示されているが、XXXXXXXXXX濃度は 3 ロットで同様に低下しているものの、光学密度 (A_{600nm}) 上昇は 1 ロットで大きく異なっていることについて申請者の見解を求めた。申請者は、光学密度 (A_{600nm}) の上昇に差が観られた理由は、光学密度 (A_{600nm}) を測定する試験者の操作ミスによると考えており、制限基質である XXXXXXXXXXの濃度は菌の増殖を示す良い指標であると回答した。

機構は、制限基質である XXXXXXXXXXの濃度を生産培養の工程管理パラメータに用いる原理は理解するが、操作ミスがあったと考えられるデータをもって、その妥当性を判断することは困難であることから、他の莢膜血清型のバリデーションロットのデータの提出を求めた。その結果、総じて XXXXXXXXXX濃度は経時的な低下を示しているものの、光学密度 (A_{600nm}) の上昇プロファイルには大きなばらつきがあることに加え、一方向性の上昇を示していないロットも散見され、最終光学密度 (A_{600nm}) は同じ莢膜血清型内で最大約 3 倍の差が認められた。このようなバ

リレーションロットの成績から光学密度 (A_{600nm}) を工程管理のパラメータとして設定することの妥当性の説明するのは疑問があり、さらなる検討を行う必要があると考える。一方、社内工程内管理として精製工程の収率を算出するために、不活化プロセス中のポリサッカライド含量が測定されており、複数のバリデーションロットについて測定した血清型の値 (g/L) は、莢膜血清 1 型 (0.56、0.54)、3 型 (0.85、0.87、0.83)、4 型 (0.45、0.46)、5 型 (0.38、0.43、0.44)、6B 型 (0.95、1.05)、8 型 (0.61、0.68)、9N 型 (0.79、0.84、0.68)、9V 型 (0.97、0.86、0.92)、11A 型 (0.96、1.04)、14 型 (0.71、0.70)、18C 型 (1.11、1.16)、23F 型 (0.69、0.73) と、各莢膜血清型毎で同程度のポリサッカライド含量を示していることから、生産培養において概ね一定の菌の増殖が得られていると推察された。今後、販売用ロットにおけるデータも確認した上で、生産培養の工程管理を [] 濃度によって行うことの妥当性について判断したい。

(3) 不活化工程の工程管理パラメータについて

従来製法でのフェノール濃度の工程管理値は 0.9 w/w% 以上であったのに対し、新製法では 0.8 w/w% 以上とされており、この管理値の妥当性について申請者は、当初、以下のように説明していた。

フェノールによる不活化の重要なパラメータ (例えば、不活化する菌、培養液の複合培地成分、温度や pH のような物理的パラメータ、不活化剤の目標濃度及び攪拌条件) は、従来製法と新製法で変わりはない。従来製法の [] L スケールも含め、本剤の実生産スケールに至るまでの様々な製造スケールにおいて、15 種類の莢膜血清型のフェノールによる不活化速度を決定するために、肺炎球菌のフェノールによる不活化工程を検討した (表 2-2)。選択した 15 種類の莢膜血清型は、23 種類の莢膜血清型ポリサッカライドの化学構造及び粘性を代表するものであり、従来製法と新製法における不活化工程は類似していることから、これまでに得た不活化に関する速度データを直接比較することができる。肺炎球菌の生菌数は約 $10^8 \sim 10^9$ CFU/mL であるが、不活化が確実に実行されるためには、一定時間 (約 20 分間) における 1.0% フェノールによる不活化率が、この生菌数を大幅に上回る必要がある。フェノール濃度が 1.0% のとき、生菌数の 14-対数減少が 4.9 分を超えたことはなく、不活化速度が速すぎるため、フェノール濃度 0.75% 付近で更に検討したところ、14-対数減少までの時間は 5~16 分であった。また、実生産スケールにおけるフェノールによる不活化時間 ([] 分) は、菌が確実に不活化されることを保証する。これらのデータより、不活化工程の改訂フェノールの濃度 (0.8% 以上) は妥当と判断した。

これに対し、機構は、以下のように考える

従来製法と新製法とでは培養液の組成、不活化の際の温度、培養スケール等が異なっていることから、フェノールによる不活化の重要なパラメータは、従来製法と新製法で変わりはない、という申請者の主張は受け入れがたい。また、従来製法と新製法における不活化工程が類似していることから、これまでに得た不活化に関する速度データを直接比較できると主張し、ワーストケースにおける 14-対数減少はフェノールの濃度が 0.73% のときの 15.87 分であると主張しているが、培養スケールの増大により不活化時間が延長 (18C 型: [] L, 1.02%, 1.31 分に対し [] L, 1.02%, 2.22 分、19F 型: [] L, 0.73%, 15.87 分及び 0.99%, 1.7 分に対し [] L, 0.84%, 15.77 分及び 1.19%, 4.93 分) しており、0.8% で確実に不活化されることは保証できない。さらに、審

査の過程で、上記の表のデータは、-L、-L、-L 及び -L の各スケールの培養機において直接測定されたものではなく、培養機から培養液の一部を別のフラスコに分取したものに表記の濃度になるようフェノールを加えて測定されたデータであることが発覚した。不活化時の容量の影響に関する情報が得られていない状況で、本剤の製造工程における不活化条件が妥当であるのか判断できないことから、さらなる情報を確認中である。

表 2-2 肺炎球菌の不活化に関する速度データ

| 荚膜血清型 | 培養スケール | フェノールの濃度 (w/v%) | 14-対数減少までの推定時間 (分) |
|-------|--------|-----------------|--------------------|
| 1 | -L | 1.22 | 0.6 |
| 3 | -L | 0.86 | 5.65 |
| | | 1.07 | 2.11 |
| 4 | -L | 1.04 | 1.97 |
| | | 0.65 | 14.96 |
| | | 0.77 | 4.96 |
| 6B | -L | 1.04 | 1.55 |
| 8 | -L | 1.12 | 3.29 |
| 9N | -L | 1.05 | 1.4 |
| 9V | -L | 1 | 1.25 |
| 10A | -L | 0.91 | 1.21 |
| 14 | -L | 0.89 | 2.63 |
| 17F | -L | 1.04 | N/A |
| 18C | -L | 0.68 | 6.46 |
| | | 0.94 | 1.56 |
| | | 0.65 | 5.91 |
| | | 1.02 | 1.31 |
| | | 0.75 | 4.77 |
| 19A | -L | 1.02 | 2.22 |
| | | 1.06 | 0.86 |
| 19F | -L | 0.73 | 15.87 |
| | | 0.99 | 1.7 |
| | | 0.84 | 15.77 |
| | | 1.19 | 4.93 |
| 20 | -L | 1.15 | 0.73 |
| 23F | -L | 0.81 | 5.69 |
| | | 1.13 | 1.79 |

-L、-L、-L 及び -L は従来の製造法、-L は本剤の製造法である。
N/A: 正確に値を求めるには不活化が速すぎた。

(4) バイオバーデンについて

精製工程におけるバイオバーデン及びエンドトキシン試験の結果は、以下の通りであった。

表2-3 精製工程におけるバイオバーデン

| 荚膜血清型 | ロット番号 | 清澄化 | | | | 膜限外ろ過 | ポリッシング | | | 目的物質回収 | |
|-------|-------|---------|-----------|-------------|-------------|-------|--------|------------|-----------------|--------|---------------------|
| | | 不活化プロセス | 遠心分離後プロセス | 清澄化プロセス | | | 最終保持液 | 5%フェノール処理液 | ローレット・7Aコーキ分画澄液 | | ローレット・7Aコーキ分画上澄液のろ液 |
| | | | | 1回目の7Aコーキろ過 | 2回目の7Aコーキろ過 | | | | | | |
| 1 | | 0 | 0 | <10 | N/A | 80 | <10 | 0 | 0 | 適合 | |
| | | 0 | 0 | 0 | N/A | 70 | 1 | 1 | 0 | 適合 | |
| 2 | | 0 | 0 | ND | ND | 35 | 0 | 0 | 0 | 適合 | |
| | | 1 | 0 | 2 | 0 | >3000 | 0 | 1 | 0 | 適合 | |
| 3 | | 0 | 0 | 1 | 0 | 890 | 1 | 20 | 0 | 適合 | |
| | | 0 | 0 | 1 | 1 | >300 | 3 | >300 | 0 | 適合 | |
| | | <10 | <10 | ND | N/A | 40 | 0 | 10 | <10 | 適合 | |
| 4 | | ND | 2 | 1 | N/A | 41 | 1 | 36 | 0 | 適合 | |
| | | 0 | 0 | 0 | N/A | 7 | 0 | 10 | 10 | 適合 | |
| 5 | | 0 | <10 | <10 | N/A | <10 | <10 | 0 | 1 | 適合 | |
| | | 0 | 10 | 0 | N/A | 28 | 2 | 10 | 0 | 適合 | |

| | | | | | | | | | | |
|-----|--|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|-----|----|
| 6B | | <10 | 0 | 0 | N/A | 57 | 0 | 14 | 0 | 適合 |
| | | 0 | 0 | 0 | N/A | 440 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 7F | | 0 | 0 | 0 | N/A | >3000 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| | | 1 | 0 | 0 | 1 | 200 | 0 | <10 | <10 | 適合 |
| 8 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 1 | 適合 |
| | | 30 | 80 | 0 | N/A | 10 | <10 | <10 | <10 | 適合 |
| | | <10 | ND | <10 | N/A | <10 | 0 | 2 | <10 | 適合 |
| 9N | | 0 | 0 | 0 | N/A | ND | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 9V | | ND | 1 | 1 | N/A | 10 | 0 | 1 | 2 | 適合 |
| 10A | | 0 | 0 | 0 | N/A | 10 | 1 | 1 | 0 | 適合 |
| | | 0 | 0 | 0 | N/A | 670 ² | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 11A | | 0 | 0 | 10 | N/A | >300 | 0 | 30 | 10 | 適合 |
| 12F | | <10 | <10 | 1 | N/A | 58 | 0 | 2 | 0 | 適合 |
| | | 0 | 0 | 0 | N/A | 7 | 0 | 0 | 2 | 適合 |
| 14 | | 0 | 0 | 0 | N/A | 243 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 15B | | ND | <10 | 0 | N/A | 30 | 6 | 0 | 0 | 適合 |
| 17F | | 0 | 0 | 1 | N/A | 18 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| | | ND | 0 | ND | 0 | 19 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 18C | | 0 | 0 | 1 | 0 | 10 | 0 | 6 | 0 | 適合 |
| 19A | | 0 | 0 | 2 | N/A | 35 | 4 | 0 | 0 | 適合 |
| 19F | | 0 | 1 | 1 | N/A | 10 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 20 | | 0 | 0 | 1 | N/A | 10 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 22F | | 0 | 0 | 0 | N/A | 4 | 0 | 0 | 0 | 適合 |
| 33F | | 4 | 1 | 0 | N/A | 11 | 0 | 0 | 0 | 適合 |

単位：CFU/mL

N/A：2回目のフィルターを通さない。

ND：試験が管理時間内（24時間以内）にできなかったためデータなし。

注：総好気性細菌数でコロニーの形成が認められなかった場合、結果は（1×希釈倍率）未満として報告した。

1 微生物限度試験による[総好気性細菌数： 10^4 CFU/g以下、総細菌数： 10^6 CFU/g以下、総真菌数： 10^3 CFU/g以下、特定微生物（大腸菌、サルモネラ、緑膿菌及び黄色ブドウ球菌）を認めない]。

2 緑膿菌が検出されたが、作業員の不適切な試料採取が汚染の原因であることが判明し、ロットに汚染があったわけではない。

表2-4 精製工程におけるエンドトキシン試験

| 英膜血清型 | ロット番号 | 清澄化 | | | | 膜限外ろ過 | ポリッシング | | | 目的物質回収 |
|-------|-------|---------|-----------|-------------|-------------|-------|------------|-----------------|-----------------|--------|
| | | 不活化プロセス | 遠心分離後プロセス | 清澄化プロセス | | | 5%フェノール処理液 | ロケット・7Kコール分画上澄液 | ロケット・7Kコール分画下澄液 | |
| | | | | 1回目のフィルターろ過 | 2回目のフィルターろ過 | | | | | |
| 1 | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| 2 | | <2.00 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | 6.17 | <4.00 | <5.00 | <5.00 | <2.00 |
| | | <2.50 | <2.50 | <2.50 | <2.50 | 10400 | <2.50 | <5.00 | <5.00 | <5.00 |
| 3 | | <2.00 | <1.00 | <1.00 | <1.00 | 2440 | <4.00 | <4.00 | <4.00 | <5.00 |
| | | <2.00 | <2.00 | <2.00 | <2.00 | 10.8 | <4.00 | <4.00 | <5.00 | <5.00 |
| 4 | | <1.00 | ≦1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| | | <2.00 | <4.00 | <5.00 | N/A | 2.26 | <4.00 | <5.00 | <4.00 | <2.00 |
| | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 5 | | <0.50 | <0.50 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| | | <1.00 | <5.00 | <5.00 | N/A | 13 | <5.00 | <10.0 | <5.00 | <0.50 |
| 6B | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 7F | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | <0.50 | 1.77 | <1.00 | <1.00 | <2.50 | <1.00 |
| 8 | | <1.00 | <5.00 | <4.00 | <4.00 | 82 | <2.00 | <4.00 | <4.00 | <2.00 |
| | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.05 |
| | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | 0.82 | <2.50 | <2.50 | <2.50 | <2.00 |
| 9N | | <0.50 | <1.00 | <2.00 | N/A | <1.00 | <5.00 | <4.00 | <5.00 | <1.00 |

| | | | | | | | | | | |
|-----|--|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 9V | | <0.50 | <0.50 | ND | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 10A | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | 1190 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 11A | | <2.00 | <4.00 | <4.00 | N/A | 486 | <4.00 | <5.00 | <4.00 | <5.00 |
| 12F | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | 1.18 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.05 |
| | | <0.50 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| 14 | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | 91.7 | <1.00 | <2.50 | <1.00 | <0.50 |
| 15B | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <2.00 |
| 17F | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | 0.6 | <1.00 | <0.50 | <0.50 | <0.50 |
| | | <2.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <2.50 | <2.00 |
| 18C | | <1.00 | <2.00 | <4.00 | <4.00 | 135 | <4.00 | <4.00 | <4.00 | <2.00 |
| 19A | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <1.00 | <2.00 |
| 19F | | <0.50 | <0.50 | <0.50 | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 20 | | <0.50 | <0.50 | ND | N/A | <0.50 | <1.00 | <2.50 | <2.50 | <0.50 |
| 22F | | 1.17 | <1.00 | <2.50 | N/A | <0.50 | <2.50 | <3.75 | <3.75 | <0.50 |
| 33F | | <1.00 | <1.00 | <2.50 | N/A | 1.87 | <2.50 | <10.0 | <5.00 | <5.00 |

単位:EU/mL。ただし、ポリサッカライド原薬は、EU/mg。

N/A:2回目のフィルター過は行わない。

ND:試験を実施しなかったため、データなし。

膜限外ろ過工程の最終保持液において、頻繁に微生物汚染が認められていること、また、高いエンドトキシン量が認められていることは、製造工程に何らかの問題が存在することを示唆するものであり、機構は、何らかの対策を講じる必要性について申請者の見解を尋ねた。

申請者は、製造工程には品質にかかわる重大な問題は無いと考えており、改良する計画はない。また、原薬にエンドトキシン試験が実施されることから、工程中の高いエンドトキシンレベルは原薬の品質に影響ないと考える旨、回答した。

このように頻繁な微生物汚染が認められているということは、精製工程において適切に微生物汚染に対する管理がなされていないことを示唆するものであり、今後、さらに高度な微生物汚染が発生する可能性が否定できない。また、販売用ロットの製造において精製工程中のバイオバーデンはモニタリングされず、原薬がエンドトキシン試験に適合することだけでは、精製工程中の微生物汚染に由来する不純物の存在を否定することにはならない。機構は、本件について審査を継続し、具体的な対策を検討する。

(5) エンドトキシンの規格について

原薬に対するエンドトキシンの規格は、莢膜血清3及び4型以外は10 EU/mg以下としているのに対し、莢膜血清3型ではバリデーション3ロット及び販売用1ロットの数値が全て5.0 EU/mg未満にもかかわらず規格値は90 EU/mg以下とされ、莢膜血清4型でもバリデーション2ロット、販売用4ロットのうち、5ロットが2.0 EU/mg未満、1ロットが0.5 EU/mg未満にもかかわらず、規格値は50 EU/mg以下としている理由を説明するよう求めた。

申請者は、従来製法では、莢膜血清3及び4型ポリサッカライド原薬は他の莢膜血清型原薬より高いエンドトキシン量を示しており、現時点では、新製法による原薬ロット数は限られていることから、従来製法における規格を準用したものである。今後製造する新製法ロットのデータに基づき、莢膜血清型3及び4型のエンドトキシン規格値を再検討する予定であると説明した。

機構は、前述したように、原薬の製造工程において頻繁に微生物汚染が発生しており、微生物汚染に由来する不純物の混入リスクの観点から、莢膜血清3及び4型のエンドトキシン規格を他の莢膜血清型と同等レベルに変更する必要があると考える。

また、申請時には製剤の規格にエンドトキシン試験が設定されていたが、資料の全面的な修正指示に対して提出された改訂資料においては、エンドトキシン試験が削除されていた。なお、米国へ出荷する製剤にはエンドトキシン試験が設定されている。機構は、製剤の規格にエンドトキシン試験を設定するよう要求し、申請者は了解した。

(6) 異常毒性否定試験の結果について

製剤の異常毒性否定試験において、新製法により製造された製剤6ロット(3ロットの最終バルクから各々2ロットの製剤が製造された)中、1ロットが不適合であったことについて、申請者は以下の見解を示している。

このロットの異常毒性否定試験の結果が、不適合であったことの原因が新製法にあるとは考えていない。製造に関する調査の結果、どの工程変更(従来製法から新製法への変更)も安全性試験の結果に悪影響を及ぼすとは考えられず、この試験に適合したロット番号[]は、不適合であったロット番号[]と同一の最終バルク(ロット番号[])から製造されている。異常毒性否定試験はモルモットで実施されるが、モルモットでは肺炎球菌ポリサッカライドの一般的な化学毒性により異常な臨床症状が現れることがわかっている。異常毒性否定試験にはモルモットが用いられるが、モルモットを用いて肺炎球菌ワクチンの安全性試験を実施した結果、化学毒性によるものと同様の臨床症状が毎回モルモットに現れた。社内での調査後、米国メルク社は外部研究所に試験を委託して、モルモットにおける肺炎球菌ワクチンの単回投与時の腹腔内毒性に関する評価を実施した。その結果、肺炎球菌ポリサッカライドを含む製剤が、有意的かつ異常な臨床症状を起こし、化学毒性に相当する組織病変を起こすことがわかった。肺炎球菌ポリサッカライドを含まない製剤を投与した動物には、毒性の徴候はほとんど認められなかった。異常な臨床症状は、腹部における急性炎症、又は、腹腔内に肺炎球菌ワクチン(ポリサッカライドとフェノールの組み合わせ)、もしくは、ポリサッカライドのみを投与する際に生じる一般的な生物反応におそらく関与している。

機構は、従来製法で製造された製剤では、1988年に承認されてから現在までに本邦で国家検定を受けた47ロットのうち、異常毒性否定試験に不適合とされたロットは1ロットであること、新製法では原薬の精製工程において頻繁に微生物汚染が発生していたこと、また、世界各国で新製法の製剤が使用され始めた時期以降、副作用報告頻度の増加が見られていること(臨床に関する資料の項を参照)から、製法変更により安全性に係るリスクが増大している可能性が否定できないと考える。本件については審査を継続して更なる検討を行いたい。

(7) 製造工程の管理について

製造工程の管理については、バイオバーデンやエンドトキシンに見られた問題点に加え、バリデーションロット製造の際に、作業員の操作ミスにより以下の逸脱が認められている。

- ・ 不活化タンクでの攪拌速度の許容範囲は ■±■ rpm であるが、次工程の凝集沈殿の攪拌速度である 200 rpm で攪拌された。15 分後に操作ミスに気づき、攪拌速度は 100 rpm に戻された。
- ・ 清澄化工程における 2 次フィルターろ過時の流速の許容範囲は ■L/分以下であるが、ろ液の送液ラインが正しく設置されておらず、これを補修する際に流速が一時的に 52.3 L/分まで急上昇した。これにより、■時間■分のろ過時間のうち最初の約■分間、流速の CPP 許容範囲を超えた。
- ・ 清澄化工程において、■型フィルターを使用するところを、誤って A 型フィルターを使用した。
- ・ ポリッシング工程において、莢膜血清 8 型に用いる 2-プロパノール濃度の許容範囲は ■±■ vol% であるが、誤って過剰の 2-プロパノールが添加され、■vol% となった。

また、微生物限度試験を実施する操作上で微生物の汚染が散発していることもあり、製造工程全般で GMP に準じた管理が適切になされているか確認する必要があり、継続して検討したい。

(8) 安定性について

1) 原薬

機構は、 $-70\pm 10^{\circ}\text{C}$ での安定性試験について、提出された資料には、19■年■月～20■年■月にかけて製造された原薬ロットで最長でも 36 ヶ月まで、20■年■月に製造された原薬ロットで 12 ヶ月までの結果しか示されておらず、24 及び 36 ヶ月のデータが“試験実施予定”とされていることから、最新のデータの提出を要求したところ、申請者は以下のように回答した。

要求されている提出期限 (2006 年 3 月) までにデータの表を最新のものに改訂するのは困難である。各莢膜血清型の少なくとも 3 ロットの安定性試験を開始し、イニシャルポイントの測定が終了した時点で最新の原薬安定性データを提出する。生産スケールが大きいため原薬ロットが増えるのに時間がかかるので、安定性試験のロットが揃うまでにはかなりの時間がかかると思われる。

機構は、最新のデータを含めた資料の提出を、再度要求している。また、莢膜血清 1、2、8、11A、12F 及び 18C 型は、 $-70\pm 10^{\circ}\text{C}$ における保存で平均分子量の低下傾向が示唆される (表 2-5) ため、これらの莢膜血清型については $-55\pm 10^{\circ}\text{C}$ での安定性を確認しておく必要性について尋ねたところ、申請者は以下のように説明した。

$-55\pm 10^{\circ}\text{C}$ での保存における安定性は、莢膜血清 1、10A、19A、19F 及び 23F 型ポリサッカライド原薬を各々 1 ロット用いて検討した。これらの莢膜血清型は次のような理由で選択された。莢膜血清 1 型は O-アセチル側鎖を有する。莢膜血清 19A 型は最も平均分子量が小さいポリサッカライドである。莢膜血清 23F 型は最も平均分子量の大きいポリサッカライドである。そして、莢膜血清 10A、19A 及び 19F 型は潜在的に不安定なホスホジエステル結合を含有している。これらの莢膜血清型は、原薬の安定性の評価のためにすべてのワクチン莢膜血清型の重要な構造上の特徴を包括していると考える。莢膜血清 1、2、8、11A、12F 及び 18C 型ポリサッカライドの $-70\pm 10^{\circ}\text{C}$ 保存において観察された平均分子量の明らかな経時的「低下」は、分子量の実際の喪失、又は試験方法のばらつきを示している可能性がある。特に、莢膜血清 8 型の結果を検討すると、低下傾向よりむしろ結果