

## 多施設共同測定による第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品の力価制定

百瀬 暖佳<sup>1)</sup> 松岡佐保子<sup>1)</sup> 落合 雅樹<sup>2)</sup> 池辺 詠美<sup>1)</sup> 大村 貞幸<sup>3)</sup>  
 奥山しおり<sup>4)</sup> 小西 久郎<sup>5)</sup> 中村 徹<sup>6)</sup> 加藤 孝宣<sup>7)</sup> 浜口 功<sup>1)</sup>

キーワード：抗HBs人免疫グロブリン製剤，力価試験，国内標準品

### 緒 言

抗HBs人免疫グロブリン製剤は、B型肝炎ウイルス(HBV)の中和抗体である抗HBs抗体を含む血漿分画製剤であり、HBV陽性血液への暴露、母子感染、移植等に伴うB型肝炎の発症予防に用いられる。製剤中に含まれる抗HBs抗体の力価の基準値は国によって若干異なるが、日本においては1ml当たり200(国際)単位以上とされている<sup>1)~3)</sup>。国際単位(IU)は世界共通の単位であり、世界保健機関(WHO)のExpert Committee on Biological Standardizationが制定するWHO国際標準品の力価表記に用いられる。このWHO国際標準品の力価を基準とし、それぞれの国や地域において整備された国内標準品の力価が定められ、実際の製剤の力価評価に供される。国立感染症研究所では、抗HBs人免疫グロブリン製剤の力価評価用国内標準品として第1次国内標準品を制定し、2001年より国内向けに交付してきた。この度ロット更新を行うため、新たに第2次国内標準品を整備した。第2次国内標準品の表示力価について、日本国内にある抗HBs人免疫グロブリン製剤の各製造所の協力のもとに共同測定を行い、1バイアル当たり314IUと定めたので報告する。

### 方 法

#### 1. 参加施設

第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品の力価測定は、一般社団法人日本血液製剤機構(JB)京都工場、JB千歳工場、日本製薬株式会社成田工場、一般財団法

人化学及血清療法研究所(現KMバイオロジクス株式会社)、および国立感染症研究所の5施設で行った。

#### 2. 検体

第2次WHO抗HBs人免疫グロブリン国際標準品(WHO 2nd International Standard for anti-hepatitis B surface antigen (anti-HBs) immunoglobulin, human (NIBSC Code : 07/164))は英国機関 National Institute for Biological Standards and Controlより入手した<sup>4)</sup>。第1次、および第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品は、B型肝炎ワクチン ENGERIX-B(グラクソ・スミスクライン株式会社)接種により抗体価を高めた人由来の血漿から、抗HBs人免疫グロブリン製剤の製造方法に準拠して製造されたものである<sup>5)</sup>。表示力価はWHO国際標準品が100IU/アンプル、第1次国内標準品が320IU/バイアルとなっている。参加施設へはWHO国際標準品、第1次および第2次国内標準品を各3本配布した。標準品は全て凍結乾燥品であり、使用前に各施設で注射用水1mlに溶解してWHO国際標準品は100IU/ml、第1次国内標準品は320IU/mlとして用いた。

#### 3. 力価の測定と解析

生物学的製剤基準に記載されている一般試験法の抗HBs抗体価測定法のうち、酵素免疫測定法に準じ<sup>6)</sup>、エンザイグノスト anti-HBs II (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス株式会社)を用いて測定した。WHO国際標準品、および第2次国内標準品の希釈系列を作製して各ポイントにおける吸光度を測定した後、WHO国際標準品の表示力価(100IU/ml)を基準とし

1) 国立感染症研究所血液・安全性研究部

2) 国立感染症研究所品質保証・管理部

3) 一般社団法人 日本血液製剤機構京都工場

4) 一般社団法人 日本血液製剤機構千歳工場

5) 日本製薬株式会社成田工場

6) KMバイオロジクス株式会社熊本工場

7) 国立感染症研究所ウイルス第二部

[受付日：2019年4月18日，受理日：2019年7月12日]

表1 各施設における抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品の測定結果

施設	幾何平均 (IU/ml)	95% 信頼区間 (IU/ml)	GCV (%)	表示力価との比 (%)
第2次国内標準品				
A	291.7	279.3 ~ 304.7	1.8	93
B	318.8	309.6 ~ 328.2	1.2	102
C	328.0	297.9 ~ 361.2	3.9	104
D	302.5	274.3 ~ 333.6	3.9	96
E	322.2	303.3 ~ 342.2	5.8	103
第1次国内標準品 (参考値)				
A	340.6	317.5 ~ 365.4	2.8	106
B	326.2	317.3 ~ 335.4	1.1	102
C	338.2	300.6 ~ 380.6	4.8	106
D	322.9	307.5 ~ 339.0	2.0	101
E	342.7	322.9 ~ 363.7	5.7	107

て、平行線定量法により第2次国内標準品の力価（相対力価）を算出した<sup>7)</sup>。測定は日を替えて3回実施し、各標準品は測定日ごとに新しいバイアルを溶解して使用した。国立感染症研究所においては計6回の測定を行った。算出された相対力価の全データから幾何平均値を求め、小数点以下四捨五入した値を第2次国内標準品の表示力価とした。対照として、第1次国内標準品の相対力価も同様に算出した。また、施設毎の国内標準品の測定力価の解析を行った。幾何平均値と合わせて、95%信頼区間、および幾何変動係数（GCV）を求めた。

## 結 果

第2次抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品の表示力価を制定するため、WHO 国際標準品を基準に相対力価を算出した。その結果、全測定データの幾何平均値は 314IU/ml (95% 信頼区間: 305~323IU/ml, GCV: 5.7%) となり、これを第2次国内標準品の表示力価と定めた。対照として測定した第1次国内標準品の結果は 335IU/ml (95% 信頼区間: 328~343IU/ml, GCV: 4.4%) となった。第1次国内標準品の表示力価 (320IU/ml) に対して 105% の値であった。施設毎に解析した場合の国内標準品の測定結果を表1に示す。表示力価に対する測定力価の比率は、第2次国内標準品で 93~104%、第1次国内標準品で 101~107% であった。

## 考 察

今回の多施設共同測定の結果から、第2次国内標準品の表示力価は 314IU/ml と算出された。第2次国内標準品の表示力価は、現在国内で市販されている抗 HBs 人免疫グロブリン製剤と同等かそれ以上 (250~300IU/ml 程度) を見込んでおり、想定に近い値となった。また、第1次国内標準品の表示力価である 320IU/ml とも近い値であり、ロット更新に伴う力価の大きな変動は

見られなかった。

今回、対照として測定した第1次国内標準品の相対力価は 335IU/ml と算出された。第1次国内標準品の表示力価 320IU/ml は、第1次 WHO 国際参照品 (Lot 17-2-77) を基準として 2001 年に定めたものである。WHO 国際標準/参照品は 2008 年に第2次 WHO 国際標準品へと更新されており<sup>4)</sup>、これを基準として解析した今回の相対力価は表示力価より 5% 高値の結果となったが、誤差の範囲と考えられた。WHO 国際標準品はロット間のトレーサビリティが担保されているとの考え方から、ロットが更新された場合でも新しいロットを用いた国内標準品の力価の再評価は推奨されていない。一方で、WHO 国際標準品の力価は 1 世代前の標準品との相対定量で算出されていくため、厳密に言えばロットが更新される度にある程度の力価変動は避けられない。したがって、基準とする WHO 国際標準品のロットによって国内標準品の力価に若干の変動が生じる可能性を完全に否定することはできないが、この度の解析による第1次国内標準品の力価変動率は 5% であり、WHO 国際標準品のロット更新による影響は認められないものと考えられた。また、施設毎に国内標準品の測定力価を解析した結果、測定値は表示力価比で第2次国内標準品が 93~104%、第1次国内標準品が 101~107% の範囲に収まり、特筆すべき施設間差は認められなかった。

一般的に標準品は、10 年以上にわたって同一ロットが使用される場合が多いため、保管管理中における力価の長期安定性が重要である。抗 HBs 人免疫グロブリン国内標準品は、国立感染症研究所において -20°C 以下で保管されており、凍結乾燥品であることから保管管理中の力価の低下は考えにくい。しかしながら、国内標準品の力価の長期安定性は継続的に評価する必要があるであろう。

## 結 論

多施設共同測定の結果より、第2次抗HBs人免疫グロブリン国内標準品の表示力価を314IU/バイアルと定め、使用直前に注射用水1mlに溶解して314IU/mlとして使用することとした。本標準品は2017年9月より国立感染症研究所から国内向けに交付しており、日本国内における抗HBs人免疫グロブリン製剤の力価評価に有用であると考えられる。

著者のCOI開示：大村貞幸と奥山しおりは抗HBs人免疫グロブリン製剤を製造している日本血液製剤機構の社員である。同様に、小西久郎と中村徹はそれぞれ日本製薬とKMバイオロジクスの社員である。その他は本論文発表内容に関連して特に申告なし。

謝辞：本活動の一部は、AMED医薬品等規制調和・評価研究事業（課題番号：18mk0102070, 19mk0201146）の助成によって行われた。

## 文 献

- 1) 生物学的製剤基準 平成30年11月30日改正, 厚生労働省, 2018, 289—296.
- 2) European Pharmacopoeia, 9th Edition, EDQM, 2016, 2684.
- 3) United States Pharmacopoeia, 41th Revision, 2018, 2032.
- 4) Ferguson M, Yu MW, Heath A: Calibration of the second International Standard for hepatitis B immunoglobulin in an international collaborative study. *Vox Sang.*, 99: 77—84, 2010.
- 5) 水落利明, 小高千加子, 山口一成: 国内で販売されている抗HBs抗体定量用体外診断用医薬品の評価: 国内標準品を用いた検討. *臨床検査*, 52: 111—115, 2008.
- 6) 生物学的製剤基準 平成30年11月30日改正, 厚生労働省, 2018, 320.
- 7) Finney D.J.: *Statistical Method in Biological Assay*, 3rd ed, Charles Griffin & Co., London and High Wycombe, 1978.

## CALIBRATION OF THE SECOND JAPANESE NATIONAL STANDARD FOR HEPATITIS B IMMUNOGLOBULIN IN A COLLABORATIVE STUDY

Haruka Momose<sup>1)</sup>, Sahoko Matsuoka<sup>1)</sup>, Masaki Ochiai<sup>2)</sup>, Emi Ikebe<sup>1)</sup>, Sadayuki Omura<sup>3)</sup>, Shiori Okuyama<sup>4)</sup>, Hisao Konishi<sup>5)</sup>, Toru Nakamura<sup>6)</sup>, Takanobu Kato<sup>7)</sup> and Isao Hamaguchi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Safety Research on Blood and Biological Products, National Institute of Infectious Diseases

<sup>2)</sup>Department of Quality Assurance, National Institute of Infectious Diseases

<sup>3)</sup>Kyoto Plant, Japan Blood Products Organization

<sup>4)</sup>Chitose Plant, Japan Blood Products Organization

<sup>5)</sup>Narita Plant, Nihon Pharmaceutical Co., Ltd.

<sup>6)</sup>Kumamoto Plant, KM Biologics Co., Ltd.

<sup>7)</sup>Department of Virology II, National Institute of Infectious Diseases

### Keywords:

Human Hepatitis B immunoglobulins, Potency, National Standard