

シングルユース バッグの 微粒子を理解する

USP Chapter <788> との関係

by Michael W. Johnson

生 物医薬品業界は、多くの課題に直面している。グローバルな経済変化、医療費の増大、期限切れが近づいている特許、ますます患者に応じてカスタマイズ化されている医薬品すべてが、生物学的製剤の製造に使用する生物学的手順、機器、システムに対するメーカーのアプローチ方法に影響を与えている (1)。バッチサイズの小型化、プロセスの柔軟性向上、製造コストの削減、臨床使用までの時間短縮化に対する需要が、この業界でシングルユース システム (SUS: single-use systems、ディスポーザブル) の受け入れを促進した (図 1)。SUS サプライヤーは、継手、チューブ、ポンプ、センサー、フレコンなどの部品を迅速に開発し、それらはあらかじめ滅菌済みでユーザーに出荷され、一連の単品製造ライン、あるいは製造工程ごとにすぐ使用できる状態にした。

フィルターカプセルやプラスチック製バイオコンテナなどのシングルユース部品は、バッファー準備や媒体保管などのアプリケーションで初めて採用された。シングルユース技術は、受け入れられるに従い、ディスポーザブルのバイオリクターや混合システムの実装により上流プロセスに移行した。最近では、SUS は製剤原料の保管や最終的な充填など、下流プロセスで使用されている (2)。

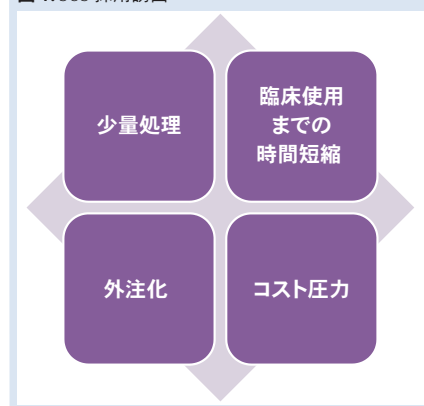
シングルユース システムのメリットは徹底的に調査された。従来の多目的利用システムをしのぐ大きな優位性として、資本支出の削減、より小規模で柔軟性のある製造専有面積、高価な定置洗浄 (CIP: Clean-In-Place) プロセスおよび定置蒸



気滅菌 (SIP: Steam-In-Place) プロセスの廃止、二次汚染の削減、プロセス変更が容易になったことなどが挙げられる。しかし、これらのメリットに付随して、高分子材料とディスポーザブルシステムに関連する新たな懸念分野が生まれた。

そのひとつが SUS の清浄度である。SUS は「現状のまま (as-is)」使用することが前提であるため、その清浄度の説明責任がエンドユーザーからサプライヤーに移行した。浸出性成分や微粒子物質など、あるシステムに存在する汚染物質がプロセス媒体に移っている場合がある。バイオリクターや混合システムなど上流の SUS プロセスの汚染物質はそれほど危険は及ぼさない。なぜならプロセス流体は下流プロセスでろ過および純化ステップを通り、汚染物質を除去できる可能性が

図 1: SUS 採用誘因



あるためである。SUS が最終製剤品に近づくほど、浸出性物質や粒子を除去する必要性は高まる。当然、製剤原料保管や最終充填などの最終プロセス作業は危険性が高く、SUS 中の浸出性物質や微粒子のレベルを最小限に抑える必要がある。

粒子源

粒子源は数が多く、さまざまである。粒子源のひとつは、製剤品が製造される環境、たとえば施設で使用されている冷暖房空調設備 (HVAC) システム、用具、機器や製造プロセスのサポートをする人員である。そうしたプロセスを通して媒体の収容、混合、浄化、移送に使用する部品やシステムが別の粒子源となる。それらには、ガスケットやシール剤、薬瓶、注射器、またSUSを構成する部品であるチューブ、継手、バッグなども含まれる。

SUS 中の粒子をよりよく理解、管理する第一の理由は、臨床面への影響を抑え、患者の安全を保証するためである。生物療法に伴って注入された微粒子物質は血管を塞ぎ、機能している体組織に影

表 1: これらの分野の一部の薬局は、注射剤中の粒子に関する基準を作成した

団体	基準
米国薬局方 - 国民医薬品集	<1> Injections (注射剤)、<787> Subvisible Particulate Matter in Therapeutic Protein Injections (タンパク質注射治療における肉眼で見えない粒子)、<788> Particulate Matter in Injections (注射剤中の粒子)、<790> Visible Particulates in Injections (注射剤中の肉眼で見える粒子)、<1788> Methods for the Determination of Particulate Matter in Injections and Ophthalmic Solutions (注射剤および点眼薬中の粒子判断法)
ヨーロッパ薬局方	2.9.19 肉眼で見えない、2.9.20 肉眼で見える
日本薬局方	6.06 肉眼で見える、6.07 肉眼で見えない

表 2: USP <788> 光遮断法および顕微鏡による粒子カウント法の両方法による粒子限界

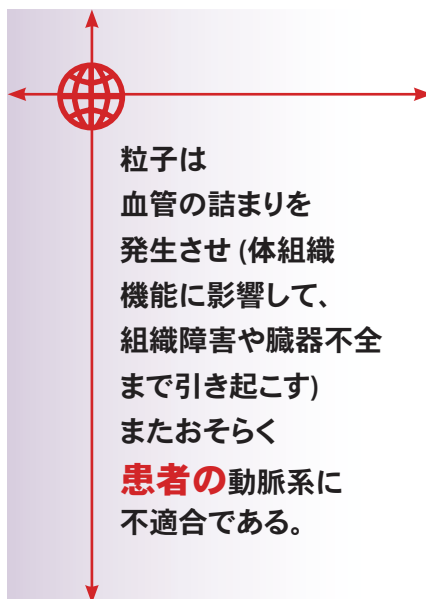
USP <788> 大量非経口薬 (Large-Volume Parenterals) (100 mL 超)	粒子限界
光遮断法	10 μm 以上 25 粒子/mL 以下、かつ 25 μm 以上 3 粒子/mL 以下
粒子カウント法	10 μm 以上 12 粒子/mL 以下、かつ 25 μm 以上 2 粒子/mL 以下
USP <788> 少量非経口薬 (Small-Volume Parenterals) (100 mL 以下)	粒子極限
光遮断法	10 μm 以上 6,000 粒子/mL 以下、かつ 25 μm 以上 600 粒子/mL 以下
粒子カウント法	10 μm 以上 3,000 粒子/mL 以下、かつ 25 μm 以上 300 粒子/mL 以下

表 3: サンプルセットおよび滅菌法に対応する内面接液表面材質のリスト

サンプルセット	内面接液表面材質	滅菌法
A	A	加圧滅菌処理
B	B	γ (ガンマ) 線
C	C	γ (ガンマ) 線
D	C	γ (ガンマ) 線
E	D	非滅菌
F	D	加圧滅菌処理

響して、組織障害や臓器不全まで引き起こすおそれがある。また粒子は患者の動脈系と相性が悪く、実質的に患者の状態を悪化させることになりかねない。その他考えられる影響には、免疫系に過大な負担をかけ、薬効を弱めることが挙げられる。製剤中の粒子が患者に影響を与えるかどうか判定する要素には、存在する粒子の大きさ、形状、量、それら粒子の組成、投薬量、頻度、薬物送達経路、また年齢や健康状態など患者の特質 (3) が含まれる。

臨床面への影響の可能性に続き、商業面への影響がある。微粒子は歩留まり



の低下やバッチの廃棄につながることもある。売上原価 (CoGS: Cost of Goods Sold) にもマイナスの影響を及ぼし、それはリスク緩和限界や品質保証 (QA: Quality Assurance) 検査の要求を増加させる。さらに、企業に対する規制当局からの監視が強まることも考えられる。最近の事例として、薬瓶にガラス粒子が見つかったとして製剤品 19 ロットがリコールされた (4)。米国食品医薬品局 (FDA: US

Food and Drug Administration) による警告書が何度か発行された後にこの事例が発生したため、複数の施設に多額の改善投資が行われた (4)。

粒子の削減に継続して取り組むなか、複数の規制団体が基準を作成し、同団体により常時見直しが行われ、改定されている。表 1 はそうした基準の一部である。一般的に参照されている基準は USP Chapter <788> である。ここでは粒子を定量化する方法を定義し、注射剤中の許容できる微粒子極限を示している。USP Chapter <788> で定義された限界は、使用されている方法 (光遮断法または顕微鏡による粒子カウント法) および大量 (100 mL 超) または少量 (100 mL 未満) 非経口薬投与量のサンプルかどうかにより異なる。表 2 にこれらの限界を示す (5)。

規制基準は、製剤に使用する部品や機器ではなく、最終製剤品の品質および粒子含有量に重点を置いている。その粒子源の隙間を埋めるのは、ASME-BPE (Bioprocess Equipment group of the American Society of Mechanical Engineers)、BPSA (Bio-Process Systems Alliance)、国際製薬技術協会 (ISPE)、非経口製剤研究協会 (PDA) などの業界団体である。2012 ASME-BPE バイオプロセス機器 (2012 ASME-BPE Bioprocessing Equipment) 規格 (6) が、シングルユース部品中の微粒子に関する項を追加して 2014 年向けに改定されている最中である。同様に、BPSA はシングルユース プロセス機器の粒子の管理、テスト、評価を扱うホワイトペーパーに取り組んでいる。

材料と方法

SUS が製剤品の粒子含有量にどの程度関わっているかよりよく理解するため、我々は複数のさまざまなシングルユースバッグを評価し、それぞれの中に存在する粒子の数と大きさを定量化した。この評価では、5 つの異なるメーカーから 6 種類の 1 リットル、二次元 (2-D) 型バッグを選定した。それら 6 つのバッグは、内部接液面が 4 種類の異なる高分子基材からできている。6 つのうち 3 種はガンマ線滅菌し、2 種はオートクレーブ滅菌処理、1 種は滅菌処理せずに評価した (表 3)。

図 2: 暗い色の画素はフローセルを流れる粒子 (撮影: JM Canty Inc.)

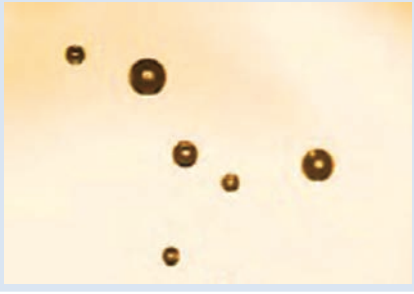


図 3: ソフトウェアで各粒子の主軸、短軸、呼び径、外周を計算 (撮影: JM Canty Inc.)

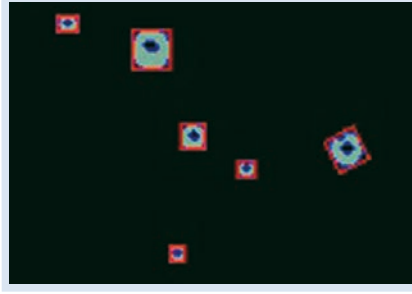
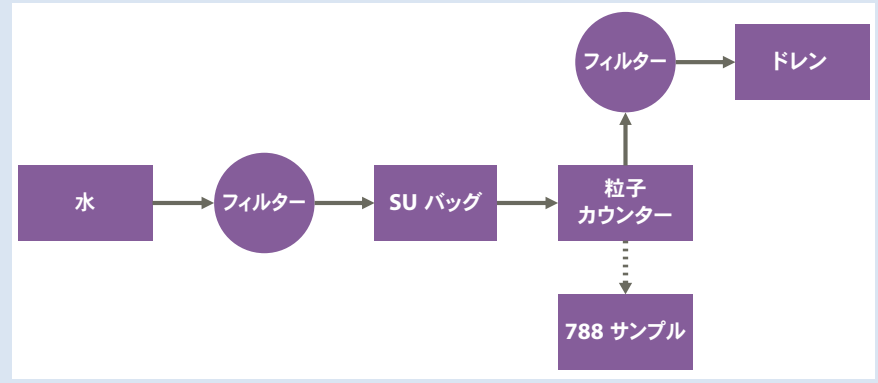


図 4: プロセスフローチャート



インライン粒子ビジョンシステムを利用して、サンプル中の粒子を測定した。高輝度照明を使い、フローセル液流を照らす。照明システムの向かい側の液流にはリアルタイム電荷結合素子 (CCD) カメラがあり、液流の高品質デジタル画像を連続して撮影。独自のソフトウェアが画像を解析し、個別のピクセルに分解。フローセルを流れる微粒子は各画像で暗い色のピクセルとして発現している (図 2)。ソフトウェアで各粒子の主軸、短軸、呼び径、外周を計算 (図 3)。呼び径に基づき、粒子は積分サイズグループに割り当てられる。それぞれ、液体量がフローセルを流れるにつれて計算される。この分析では、ビジョンシステムの検出限界を $0.7 \mu\text{m}$ に設定したため、 $0.7 \mu\text{m}$ 以上の粒子のみ集計した。

「手順」欄に、各サンプルバッグで使用した手順を示した (図 4)。

結果

図 5 は、各サンプルセットの 3 つの同型バッグにおける、ミリリットル当たりの平均粒子数を示す。データはバッグセット F の最低 10 粒子/mL からバッグセット D の最高 447 粒子/mL まで及んでいる。各バッグの総容量とその粒子密度を乗算すると、10,000 粒子/バッグ (バッグセット F) から 447,000 粒子/バッグ (バッグセット D) の範囲の総粒子数となる。バッグセット A、E、F は総じて 100 粒子/mL 未満であった。バッグ B および C は両方とも 200 粒子/mL 未満、バッグセット D は 400 粒子/mL を超えていた。

図 5: バッグタイプ別平均粒子数

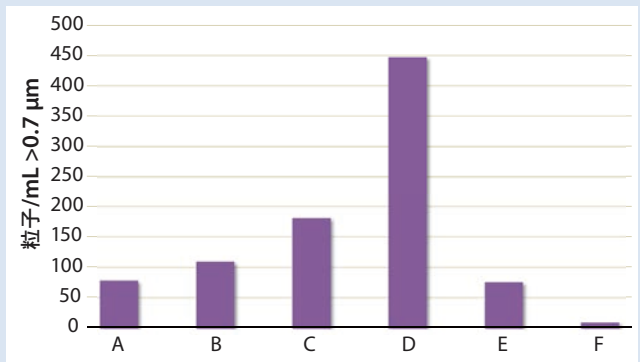
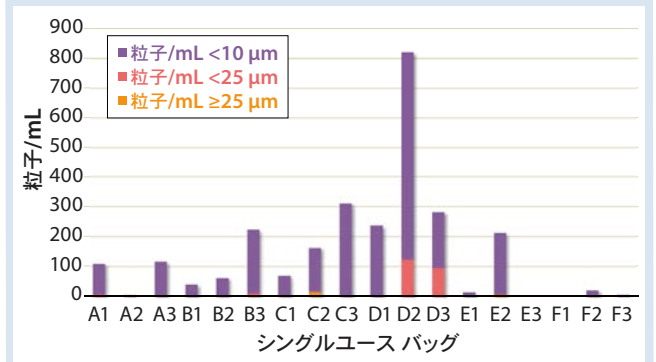


図 6: 含有流体のミリリットル当たり粒子の内訳



バッグテスト手順

バッグをテストシステムの配管に接続する。シングルユース バッグを迂回し、プロセスラインを $0.45\text{-}\mu\text{m}$ フィルターから超純水で洗浄する。

$0.45\text{-}\mu\text{m}$ フィルターからシングルユース バッグに超純水を引き込む。

バッグを 15 回回転させ手動で攪拌 (かくはん) する。

アナライザーフローセルを通してシングルユース バッグから水を出し、粒子の数を記録する。

USP <788> テストに従って、排水流から 2 つの 50-mL サンプルを取る。

排水流を $0.45\text{-}\mu\text{m}$ フィルターから排水する経路で送る。

次のサンプルも同様に繰り返す。

図 6 は我々の評価における各バッグの粒子密度とともに、USP <788> 基準に沿ったカテゴリーの粒子サイズ範囲の内訳を示している。またデータは、バッチ内のばらつきも表している。2 つのバッグ (D2 および D3) は $10\text{-}\mu\text{m}$ ~ $25\text{-}\mu\text{m}$ の範囲で高い粒子密度を示した一方、これらのデータは、シングルユース バッグで見られたほとんどの粒子の大きさが $10 \mu\text{m}$ 未満であることを示している。

図 7 は、各バッグセットの平均粒子密度が $10 \mu\text{m}$ 以上であることを示している。これらの結果は、各バッグの力が USP <788> の要件に対応できることを示している。USP <788> の要件は、大量非経口製剤品 (100 mL 超) では $10 \mu\text{m}$ 以上の粒子でわずか 25 粒子/mL しか許容できないと規定している。チャートの赤色の破線は、その限界を定義している。これを各バッグセットに当てはめると、バッグセット D のみ USP <788> で規定されている限界に対応していない。

図 7: 10 μm 以上の粒子数

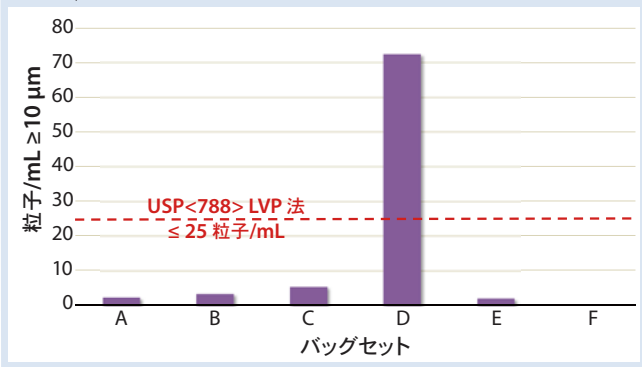
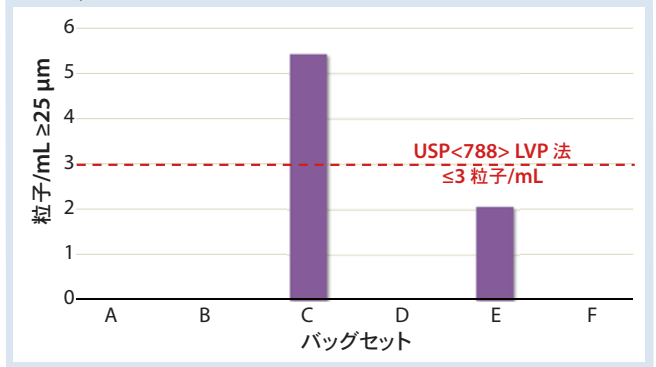


図 8: 25 μm 以上の粒子数



次に、大量非経口薬について 2 番目の USP <788> 粒子限度を適用した。これは、大きさが 25 μm 以上の粒子がわずか 3 粒子/mL しか許容されないと規定している。我々のテストデータ (図 8) によれば、6 つのうち 5 つのバッグがこの USP <788> 基準を満たしていたが、バッグ C は限界を超えていた。

データと最終製剤品への影響の相関関係を示すため、2 つの 50-mL サンプルを各バッグの廃水流から引き抜き、USP <788> 手順に沿ってテストするため、サンプルをまとめて研究室に提出した。それらは、大量非経口薬ソリューションの基準を適用し、光遮断法で評価された。表 4 はこの分析結果をまとめたもので、6 つのバッグすべてから引き抜いたサンプルが USP Chapter <788> の合格基準を満たしていたことを示す。

最後に、表 5 はシングルユース バッグの粒子データをまとめている。材料と滅菌法のサンプルセット変数、ビジョンシステムの結果で示されたインラインフローセルの粒子密度、USP <788> 光遮断法で決められた粒子密度、また各サンプルの粒子密度の USP <788> 基準に対する合否を文書にしている。

進化する知識セット

バイオプロセス業界と SUS の利用が継続的に適応し、進化し、監督官庁が関連する基準を磨き続けるにつれ、微粒子に対する SUS の役割がますます注目を浴びるだろう。我々のこの評価の目的は、シングルユース バッグ中の微粒子の現状、また微粒子と USP <788> との関係を理解することであった。

我々の評価結果は、さまざまなサプライヤーのシングルユース バッグの粒子密度が多岐にわたり、バッチ内でも一貫してい

表 4: 大量非経口薬基準を適用した、光遮断法で評価された排水流サンプル

	USP <788> 限界	サンプル					
		A	B	C	D	E	F
総粒子/mL		7	23	45	40	29	6
量 ≥ 10 μm	25	0	1	0	3	0	0
量 ≥ 25 μm	3	0	0	0	0	0	0

表 5: シングルユース バッグ粒子データのまとめ

サンプルセット	材質	滅菌法	インライン粒子/mL	オフライン粒子/mL	インライン USP 788 (合格/不合格)	オフライン USP 788 (合格/不合格)
A	A	加圧滅菌処理	78	7	合格	合格
B	B	γ (ガンマ) 線	109	23	合格	合格
C	C	γ (ガンマ) 線	181	45	不合格	合格
D	C	γ (ガンマ) 線	447	40	不合格	合格
E	D	なし	75	29	合格	合格
F	D	加圧滅菌処理	9	6	合格	合格

ないことを示した。合計 18 個のバッグをテストしたなかで、ほとんどの粒子の大きさは 10 μm 未満であった。USP <788> 合格基準を我々のインライン粒子データに適用した場合、6 つのうち 2 つのバッグが不合格となったが、オフライン光遮断法によるサンプルはすべて注射剤に規定された基準に合格した。さらに、インラインフローセル分析法は、光遮断法の場合よりも各サンプルの粒子密度は高く、場合によっては、10 倍の違いがあることを明らかにした。

エンドユーザーにとって、これらのバッグ中の測定微粒子密度に関連したリスクの程度は、特定の用途のニーズとその合格基準に基づいてのみ決定できることになる。業界全体にとって、最終製剤品中の微粒子に影響する要因をよりよく理解できるように取り組みが行われなければならない。そのひとつとして、微粒子に対する各種滅菌法の効果があるかもしれない。ガンマ線滅菌にさらされた 3 つのバッグセットは 3 つとも最も高い粒子密度であった。構成材料もさらに調査すべきもう

ひとつの要因である。最も粒子密度が高かった 2 つのバッグは、内部接界面は同じ高分子材で製造されていた。

我々は、総力を挙げて引き続き SUS 一式から粒子レベルを定量化し、適切な管理手順を作成する必要がある。これが、医療業界全体に恩恵をもたらす、SUS ユーザーさらには最終的に患者のリスクを最小限に抑えることにつながるだろう。

参考文献

- Freissmuth J. Facing the Pharmaceutical Future. *Pharm. Manuf.* February 2013.
- Martin J. Single-Use Technology. *BioProcess Int.* 8(6) 2010: 64-65.
- Langille SE. Particulate Matter in Injectable Drug Products. *PDA J. Pharm. Sci. Tech.* 67, 2013: 186-200.
- Palmer E. Hospira Blames Supplier's Bad Vials for Latest Recall. *Fierce Pharma Manuf.* 16 July 2012.
- Chapter <788> Particulate Matter in Injections Standard. *US Pharmacopeia- National Formulary* 2011.
- Standard BPE-2102. *Bioprocessing Equipment.* American Society of Mechanical Engineers: New York, NY, 2012. 🌐

Michael W. Johnson: Entegris, Inc. のグローバル バイオプロセス アプリケーション マネージャー (連絡先: 3500 101 Peavey Drive, Chaska, MN 55318, 1-952-556-4085, mike_johnson@entegris.com)

Entegris は Entegris, Inc. の登録商標です。ASME は、American Society of Mechanical Engineers Corp. の登録商標です。ISPE は International Society of Pharmaceutical Engineering, Inc. の登録商標です。

日本インテグリス株式会社

東京 | TEL (03)5442-9718 FAX (03)5442-9738 〒108-0073 東京都港区三田1-4-28 三田国際ビルディング
大阪 | TEL (06)6390-0594 FAX (06)6390-3110 〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-1-1 新大阪プライムタワー
九州 | TEL (092)471-8133 FAX (092)471-8134 〒812-0013 福岡市博多区博多駅東1-13-9 博多駅東113ビル
<http://www.entegris.com/nihon>