



kju:

SCAS NEWS

2016 - II

(通巻44号)

テーマ：「再生医療」

提言 P.1

再生医療の産業化に向けて、求められる細胞製剤の品質検査とは

公益財団法人先端医療振興財団 川真田 伸 先生

TALK ABOUT 21 P.3

ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導と毒性評価系への応用

大阪大学大学院薬学研究科 水口 裕之 先生
高山 和雄 先生

規制&標準化の潮流 P.8

- データ・インテグリティについて

FRONTIER REPORT P.9

- 再生医療等製品の品質評価試験（特性解析・安全性評価試験）への取り組み
- 医薬品・食品等への混入異物の傾向と対策について

SCAS NOW P.17

- LIB電極断面の*in situ*ラマンイメージング
- 炭素繊維強化樹脂(CFRP)の構造解析
- 改正労働安全衛生法のリスクアセスメント支援サービス
- 燃料電池車用水素燃料の品質評価～オンサイト分析サービスを開始～

TOPICS P.21

- におい分析の検出成分の拡大と高感度化
- 非臨床アミロイドイメージング試験の受託開始
- 北米CRO inVentiv Health社との業務提携

PICKUP! TOPICS 巻末

- NMRを用いた当社測定サービスの紹介
 1. 定量NMR法による有機化合物の絶対量測定
 2. 微量成分の構造解析(分取・精製及び微量NMR測定)



再生医療の産業化に向けて、 求められる細胞製剤の品質検査とは

医薬品及び生物製剤の開発分野では、国際的な市場を視野に原料調達や治験を推し進めている。各国の規制当局もこの国際化の流れを受け、医薬品の製造工程・製品規格の国際化の観点から PIC/S¹⁾ への加盟を推進しており、我が国も一昨年 PIC/S GMP に加盟した。一方、細胞治療の分野でも製品販売の観点から国際的マーケットを想定した国際治験などの事業展開が始まっているが、細胞治療の市場がまだ小さく、未だ大きなビジネスとして成立していない。この細胞治療の一部が再生医療として利用されるが、それに用いられる細胞製剤の製造について我が国でも法整備がようやく進み、再生医療等に使用される細胞製剤の製造・販売について「改正薬事法」（薬機法）の基に GCTP 省令²⁾ で製造行為が管理されることになった。一方、この薬機法とは別に、医師の“医療行為”という枠組みで臨床研究を推進する「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」が平成26年11月に施行され、臨床研究の枠組みでも“細胞の加工・保存等の工程”が“対価を伴う業務”として企業等に発注できる仕組みができあがった。

これら法律の整備は進んだが、それとは別に出発原料である細胞の品質特性や物質特性なども相まって、再生医療等製品の製造が産業化するに際しては依然多くのハードルが存在している。具体例としては、まず出発原料である細胞や原料となる生物由来原材料の品質が不均一・不安定であり、滅菌工程も適用不可であり、自家細胞を用いる場合は lot 形成もできないこと、さらには手作業を主体とした工程自体に変動があることなどから、工程の Process Validation (PV) の実施ができず、出荷製品の品質の保証は現状では出荷毎に最終製品の破壊検査で品質を確認する前近代的な Quality by Testing (QbT) を行っていることなどである。このような特殊事情が細胞製剤の製造が産業として成長していくことを阻む要因になっており、産業化のためにはこの阻害因子・要因に対する抜本的な対応策が求められている。

このような細胞製剤製造の課題への対応策として、細胞製剤の製造においても医薬品や生物製剤と同様に ICH Q (8-11) の導入が有効であると考えている。不均一である原材料の品質や変動のある製造工程を許容できる変動幅をもって設定し、リスク評価に基づく規格許容幅 Design Space (DS) の設定や製造工程の工程幅 Process Window (PW) の設定を行い、これを Process Analytic Technology (PAT) の技術を用いて、リアルタイムで細胞培養状態を観察・測定できる装置の導入を行う。この PAT により、細胞の培養状態が DS や PW の範囲中にあると観察・測定された場合、この細胞が本当に細胞の品質規格値 Critical Quality Attribute (CQA) を満たしているかどうかを適時細胞の破壊検査で証明し、DS や PW の幅値の信頼性の担保を行う。この検証過程を通じ、PAT で観察・測定した細胞培養の状態が DS や PW の範囲内であれば、製品毎の QbT を行わず、製造工程のデザインそのもので品質を担保し、出荷する Quality by Design (QbD) の達成が可能となる。細胞製剤の製造においては、

川真田 伸

公益財団法人先端医療振興財団
細胞療法研究開発センター長
医学博士

製品の品質保証の在り方が QbT から QbD に移行しないと産業化は難しいのではないかとされる。

一方、品質試験の根幹をなす検査に関しては前述のように薬機法下 GCTP 省令に基づく細胞製造規制と再生医療等安全確保法下での細胞製造規制が並列し、それぞれに求められる検査要件が異なる。特に再生医療等安全確保法下での細胞製造については、医師法下での製造と検査になるため、検査要件（検査種目と頻度と判定基準）については、どこまで日本薬局方に準拠するかは臨床研究を審議する認定再生医療等委員会での議論に委ねられており、明確な法的規範がない。そのため、検査業界としてこの再生医療等の安全確保法の下での検査業務委託を受ける場合には、検査内容、頻度や判定基準について所管する厚労省医政局と相談しながら“自主的”ガイドラインを出すことで、検査内容・頻度の標準化を図り、検査ビジネスの受注促進に繋げることも有用であると考え。一方、薬機法での検査業務で最も愁眉の問題は、第17改正日本薬局方に従い各試薬メーカーが開発している核酸増幅法（NAT法）³⁾による mycoplasma 検査をいかに validate し、検出感度 10cfu 以上の検査手技として規制当局に是認してもらうかである。この検査が validate されれば、並行して行うことが要望されている培養法や指標細胞を用いた DNA 染色法を実施する必要がなく、検査の迅速化、簡便さにつながる。また細胞治療に特異的な条件として（凍結する場合を除き）、再生医療製品の出荷では、48時間以内に患者さんへ移植・投与されることが多いため、万一陽性反応が出た時にも迅速に対処できるよう、できるだけ迅速に無菌検査を実施できるかが重要である。このために開発されている種々の新規無菌検査法も同じく validate し、迅速・鋭敏な検査手技として規制当局に是認してもらうことが必要である。さらに細胞治療では BSA⁴⁾の残留濃度試験や FACS などのフローサイトメーターを使用した品質試験の有用性が高く、これら再生医療製品に特化した品質検査が求められる。これら品質試験のデータを蓄積して標準化・規格化を行うことにより、試験に使用するサンプル量等を減らし、検査価格を引き下げる企業努力も必要となる。このように細胞の検査業務においても、それを規制する法的枠組みの差異も勘案し、種々の新規開発技術の validate を通じて、規制当局とその有用性と試験結果の信頼性保証について情報を共有しながら、細胞製剤製造自体がビジネスとして成立するよう規制所轄部署及び規制当局と継続的に話し合っていくことが肝要である。

注 釈

- 1) PIC/S : The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (医薬品査察協定及び医薬品査察共同スキーム)
- 2) GCTP 省令 : Good Gene, Cellular, and Tissue-based Products Manufacturing Practice (再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準)
- 3) NAT 法 : Nucleic acid Amplification Test (核酸増幅法)
- 4) BSA : Bovine serum albumin (牛血清アルブミン)



略 歴

- 1981年 京都大学理学部物理学科卒業
- 1990年 神戸大学医学部卒業
- 1998年 京都大学博士(医学)病理系授与
- 1999年 米国・スタンフォード大学医学部博士研究員
- 2002年 財団法人先端医療振興財団主任研究員
- 2015年 公益財団法人先端医療振興財団細胞療法研究開発センター長

ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導と毒性評価系への応用

大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野 教授

国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所

肝細胞分化誘導プロジェクト 招へいプロジェクトリーダー 水口 裕之 みずぐち ひろゆき

大阪大学大学院薬学研究科分子生物学分野 特任助教 高山 和雄 たかやま かずお

ヒト iPS 細胞から分化誘導した肝細胞は、再生医療への応用のみならず、創薬過程における毒性評価系や薬効評価系への応用が期待されている。本稿では、著者らが研究開発を進めているヒト iPS 細胞から肝細胞への高効率分化誘導法、および創薬研究、特に医薬品開発研究における毒性試験へのヒト iPS 細胞由来分化誘導肝細胞の応用について、現状と課題、可能性について解説する。



1 はじめに

肝臓（肝細胞）は生体内外の物質の代謝、解毒、排出などに関与する主要な臓器（細胞）であり、体内に投与された医薬品は主に肝細胞でシトクロム P450（CYP）などの薬物代謝酵素により代謝され、抱合系酵素により解毒を受け、トランスポーターにより排出される（図1）。薬物誘発性肝障害（肝

毒性）は、毒性が原因で生じる医薬品候補化合物の開発中止の約2～3割を占め、最も主要な原因の1つである。現行の毒性試験では、主に齧歯類を用いた *in vivo* 試験や、齧歯類由来の初代培養肝細胞やHepG2細胞などのヒト由来の肝がん細胞株、ヒト初代培養（凍結）肝細胞（本稿では、ヒト凍結肝細胞も含めてヒト初代培養肝細胞と

記載する）を用いた *in vitro* 試験が行われている。しかしながら、動物を用いた試験には「種差の壁」の限界があり、ヒト特異的に発生しうる毒性を予測することは困難であり、HepG2細胞などのヒト肝がん細胞株はCYP活性が極めて低く、CYPによる代謝に関連した毒性を評価できない。また、ヒト初代培養肝細胞は培養後急速にCYPを

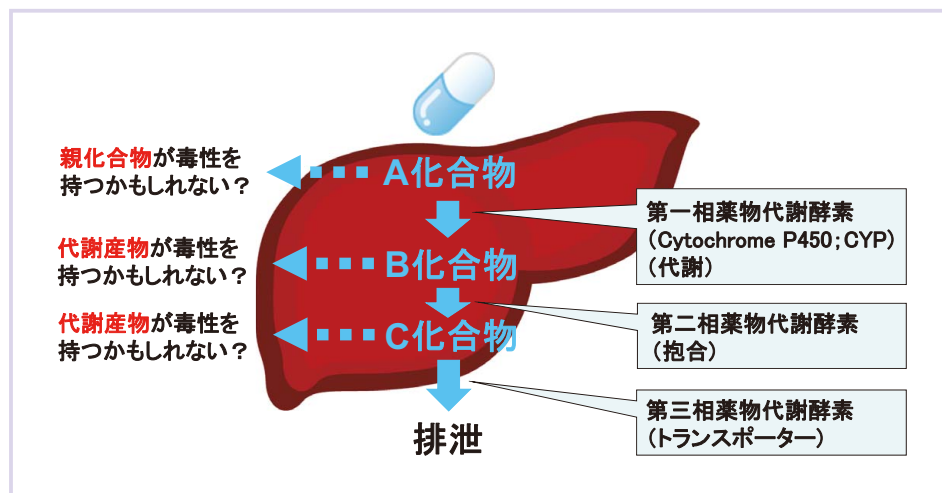


図1 肝臓における薬物代謝酵素とその機能

はじめとする薬物代謝酵素などの活性低下がみられること、安定供給や継続性の観点からその利用には限界がある為（ヒト初代培養肝細胞は *in vitro* では増殖しないため、同じロットの細胞を用いた試験を安定に行うことができない）、より安定に使用できるヒト由来の細胞系を用いた肝毒性評価系の確立が望まれている。ヒトiPS (induced Pluripotent Stem) 細胞から分化誘導した肝細胞は、従来の

毒性評価の問題点の克服が期待でき、(大量生産できれば) 比較的安価に、同一ロットの細胞を安定供給できる可能性を有するといった利点を有し、肝毒性評価のための新しい細胞ソースとして期待されている(図2)。本稿では、ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導法に関する技術開発と、毒性評価系への応用の可能性について著者らの成果を中心に紹介する。

2 ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導

海外においては特に、ヒトES細胞 (Embryonic Stem Cells) から肝細胞への分化誘導に関する研究が先行して進められてきた。2005年、D'Amourらが、アクチビンAがヒトES細胞から内胚葉への分化に有効であることを発表して以来¹⁾、それまで中胚葉や外胚葉系列の細胞と比べて遅れていた内胚葉系列への分化誘導研究が急速に進んできた。なお、ヒトES細胞とiPS細胞は共通の方法で分化誘導できるため、本稿ではこれらを区別せずに解説する。

ヒトiPS細胞は中内胚葉、内胚葉、肝幹前駆細胞を経由して成熟した肝細胞へと分化することが知られており(図3)、それぞれの分化過程で、サイトカインや増殖因子、低分子化合物などを、発生段階を模倣したように添加していくことで、ヒトiPS細胞から肝細胞へ分化誘導する方法が開発されている。ヒト(未分化)iPS細胞から

内胚葉への分化誘導ステップでは、アクチビンAがほぼ全てのプロトコールで使われており、アクチビンAと同時に作用させる形で、Wnt3a (あるいはWnt3aシグナルを刺激する化合物)も用いられることが多い。内胚葉から肝幹前駆細胞への分化過程ではFGF (Fibroblast Growth Factor) シグナルとBMP (Bone Morphogenetic Protein) シグナルが重要であることが知られており、FGF4とBMP2の組み合わせや²⁾、FGF1/2/4とBMP2/4の組み合わせ³⁾によって、内胚葉から肝幹前駆細胞が分化誘導できることが報告されている。また、DMSO (dimethyl sulfoxide) によるヒストンのアセチル化が有効であることも報告されている⁴⁾。肝幹前駆細胞から肝細胞への分化過程においては、HGF (Hepatocyte Growth Factor) やオンコスタチンM (OsM)、デキサメタゾン (DEX) などを用いて分化誘導する方法が一般的である^{5,6)}。さらに各分化ステップで、添加する液性因子

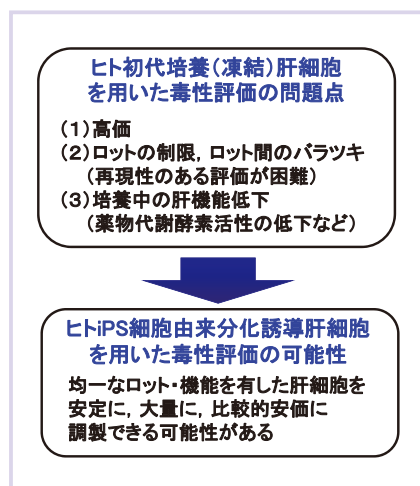


図2 ヒト初代培養(凍結)肝細胞を用いた毒性評価の問題点とヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞への期待

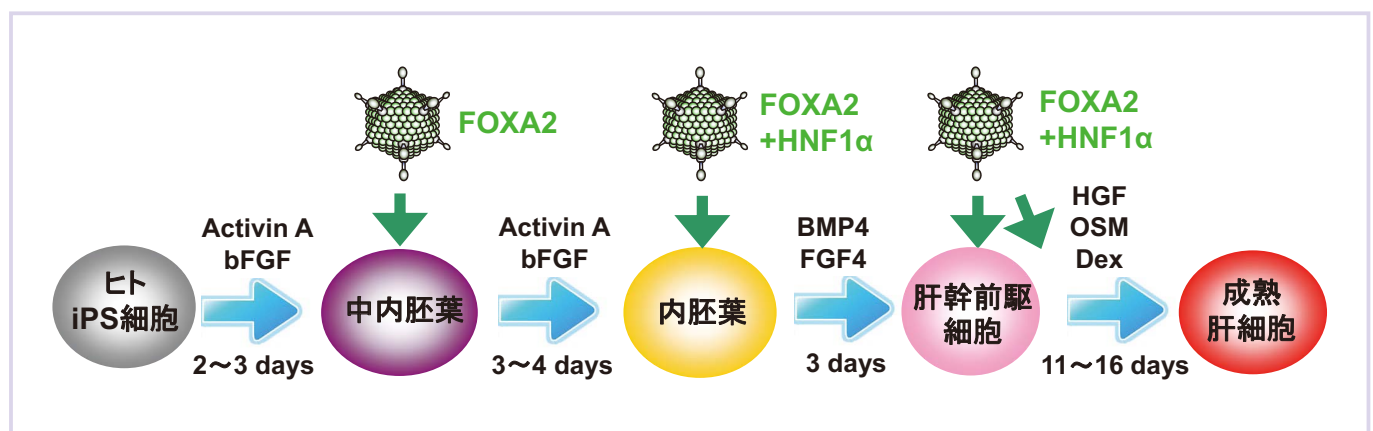


図3 液性因子と転写因子の導入の組み合わせによるヒトiPS細胞から肝細胞への高効率分化誘導

ヒトiPS細胞をアクチビンAで培養することによって得られた培養2-3日目の中内胚葉に対してFOXA2発現アデノウイルスベクターを作用させた。さらに、アクチビンAで3-4日間培養した後、培養6日目の内胚葉に対してFOXA2およびHNF1 α 発現アデノウイルスベクターを作用させた。BMP4とFGF4を用いて3日間培養した後、培養9日目の肝幹前駆細胞に対してFOXA2およびHNF1 α 発現アデノウイルスベクターを作用させた。その後、肝幹前駆細胞をHGF、オンコスタチンM (OsM)、デキサメタゾン (DEX) を用いて11~16日間培養することによって(培養12日目にFOXA2およびHNF1 α 発現アデノウイルスベクターをさらに作用)、高い薬物代謝機能やアルブミン産生能等を有した肝細胞へ分化させることができる。

に加え、基本培地や細胞外マトリックス（マトリゲルやI型コラーゲン、ラミニンが汎用される）の種類、血清やフィーダー細胞の有無などが各プロトコルで工夫されている。

3 高機能なヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の作製を目指した試み

ヒトiPS細胞から分化誘導した肝細胞を創薬の毒性試験に利用するためには、薬物代謝酵素の活性がヒト初代培養肝細胞に匹敵するレベルであることが最重要事項となる。一方で、上述の分化誘導法で作製されたヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞は、薬物代謝酵素の活性がヒト初代培養肝細胞と比較して依然として低いものであり、より一層の技術開発が必要となっている。

ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の更なる機能向上を促す方法としては、肝発生のメカニズム解明に関するより一層の基礎研究の成果を、*in vitro*での分化誘導研究に応用することが最も有効である。他の方法として、分化関連遺伝子を導入することや、三次元培養

や支持細胞との共培養により肝機能を高めること、肝細胞だけを純化・濃縮していくこと、肝細胞分化に適したiPS細胞を作製・選択すること、などが考えられる。我々は、肝細胞分化に重要な役割を果たす転写因子（FOXA2、HNF1 α など）を、ヒトiPS細胞から肝細胞への分化途中の細胞に、一過性に高効率遺伝子導入が可能なアデノウイルスベクターを用いて遺伝子導入することによって、ヒトiPS細胞から肝細胞への分化効率を高めることに成功した（図3、4）⁷⁾。また、肝細胞は生体内で肝細胞同士、あるいは他の細胞との相互作用のもと機能を発揮していると考えられ、そのような細胞同士の相互作用を、三次元培養や、繊維芽細胞や血管内皮細胞などとの共培養を行うことで*in vitro*で一部模倣し、機能向上が得られることが報告されている^{8,9)}。一方、iPS細胞は株間で分化指向性が異なることが知られており、肝細胞分化に適したヒトiPS細胞株を選択することも重要である。さらには、細胞表面マーカーを用いたソーティング、あるいは特定の細胞外マトリックスへの接

着能など、何らかの方法を用いて、目的の細胞を純化・濃縮させることも高機能なヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の作製に極めて有効と考えられる。

4 ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の毒性評価系への応用と将来展望

ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞が毒性試験に利用できるか否かの指標としては、薬物が薬物代謝酵素で代謝されて生じる反応性代謝物による毒性を検出できるかどうかがあげられる。筆者らは、CYP3A4で代謝されることによって毒性を生じるAflatoxin B1や、CYP2C9で代謝されることによって細胞障害性を示すBenzbromaroneを用いることで、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞が反応性代謝物による細胞毒性を検出可能なことを実証した（図5）⁹⁾。本細胞が、毒性試験に使用するための最低限の特性は保持していると言える。

興味深いことに、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞は、iPS細胞の樹立に使用された個人の遺伝的背景を

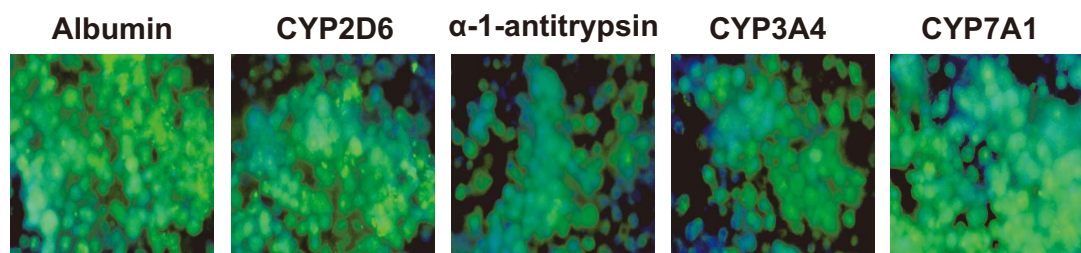


図4 ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞

様々な肝細胞特異的のマーカータンパク質の発現が陽性である。（文献7より転載）

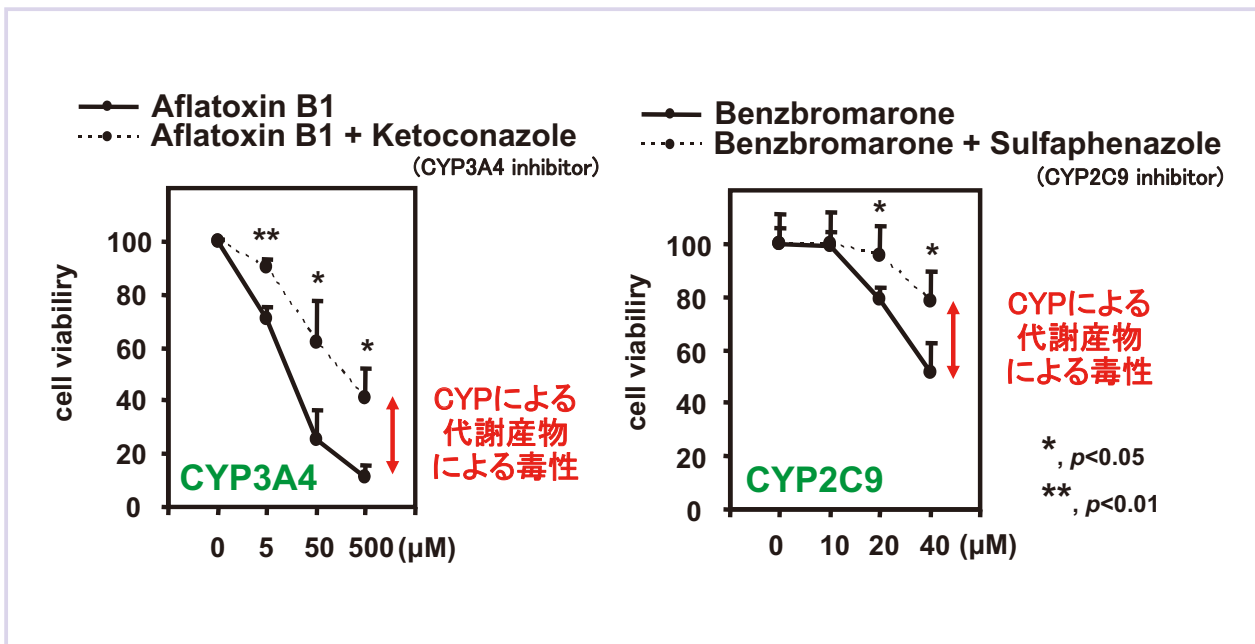


図5 Aflatoxin B1, BenzbromaroneによるヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の細胞毒性

それぞれCYP3A4, CYP2C9で代謝されることによって細胞障害性を示すAflatoxin B1, BenzbromaroneをヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞に作用させたとこ、濃度依存的な細胞毒性を示した。ここに、CYP3A4, CYP2C9の阻害剤(それぞれKetoconazole, Sulfaphenazole)を作用させたとこ、細胞毒性が減弱し、本細胞を用いて薬物代謝酵素によって代謝された代謝産物(反応性代謝物)による細胞毒性が検出可能なことが示唆された。(文献9より改変転載)

引き継ぎ、それぞれ個人差を反映した細胞になっていることを確認した(図6)¹⁰⁾。例えば、CYP2D6のpoor metabolizer由来のヒトiPS細胞(CYP2D6遺伝子座のSNPのためにCYP2D6タンパク質自体が産生されない遺伝的背景を有したヒトiPS細胞)やextensive metabolizer由来のヒトiPS細胞(通常のCYP2D6遺伝子座を有したヒトiPS細胞)から肝細胞を分化誘導し、CYP2D6による代謝によって毒性の有無が決まるdesipramineやperhexilineを作用させると、その細胞毒性が、ヒト初代培養肝細胞を用いた場合と同様にCYP2D6活性の有無によって反映されること確認した(図7)¹⁰⁾。このような特異な遺伝的背景を有した肝細胞は、従来安定的に入手することが困難であり、ヒト初代培養肝細胞を用いた

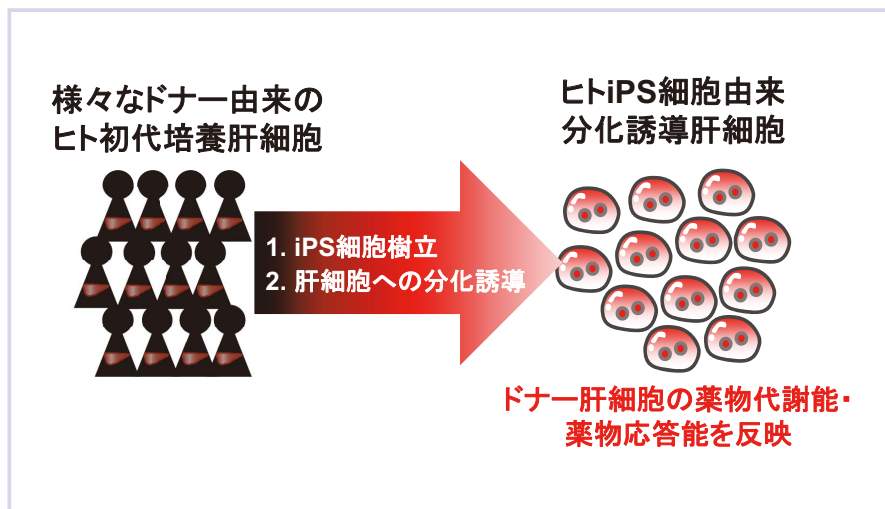


図6 ヒト初代培養肝細胞における薬物代謝能

薬物応答能の個人差がヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞においても確認できる。

場合には、これらの肝細胞を用いた毒性試験を実施することは不可能であった。iPS細胞技術を利用することで、これまで安定供給が困難であった特異な薬物代謝酵素の遺伝子座を有した個

人由来の肝細胞の安定供給が可能となり、従来技術では解析が困難であった毒性試験も可能になる道が開けてきたと言える。

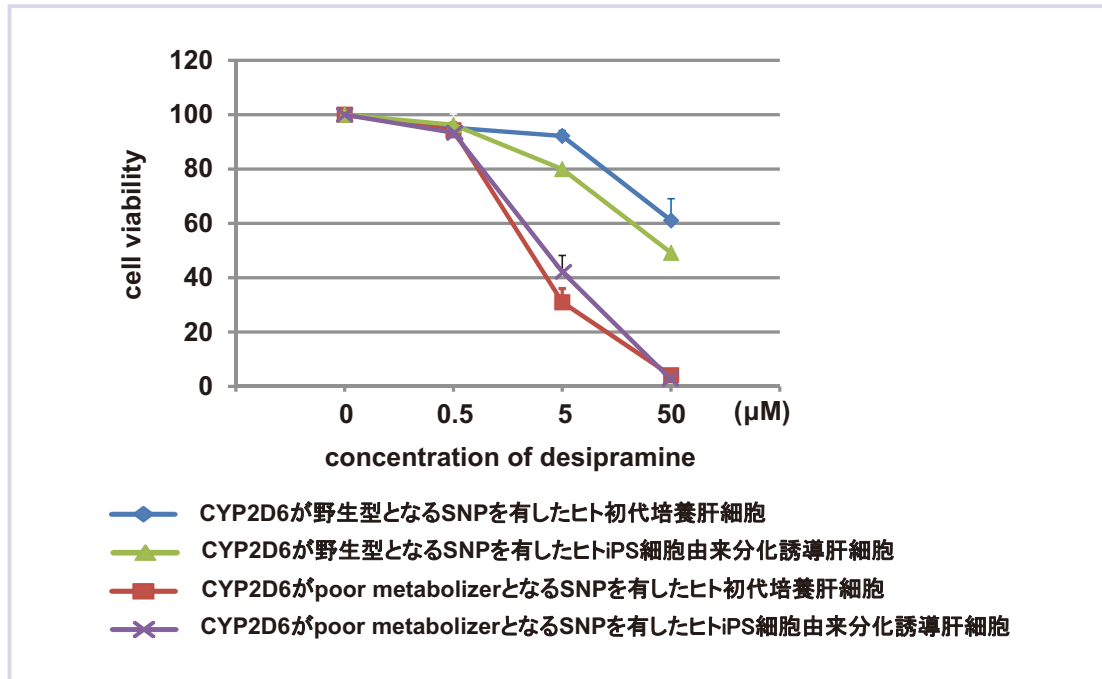


図7 Desipramineによる細胞毒性に及ぼすCYP2D6の影響

CYP2D6により代謝されることで解毒化されるdesipramineの細胞毒性を検討したところ、CYP2D6がpoor metabolizerとなるSNPを有しているヒト初代培養肝細胞あるいはヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞においては、CYP2D6が野生型のヒト初代培養肝細胞あるいはヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞と比較して強い細胞毒性が確認された。(文献10より転載)

5 おわりに

本稿でも述べたように、ヒトiPS細胞から肝細胞への分化誘導技術は劇的な進歩をとげている。一方で、依然として特に単離直後のヒト初代培養肝細胞と比較すると、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞の薬物代謝酵素活性は大きく劣るのが現状である。また、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞は、胎児型の薬物代謝酵素として知られているCYP3A7も発現しており、胎児型と成人型の肝細胞が混在した状態になっている。従って、現状では、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞がヒト初代培養肝細胞に取って代わって、全ての試験（創薬研究）に使用できるわけではない。今後、このような課題が克服され、ヒトiPS細胞由来分化誘導肝細胞が毒性試験をはじめとする様々な創薬研究で広く活用されることを期待している。

文献

- 1) K.A. D'Amour et al., Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm. *Nat. Biotechnol.*, **23**, 1534-1541 (2005)
- 2) J. Cai et al., Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells. *Hepatology*, **45**, 1229-1239 (2007)
- 3) G. Brolen et al., Hepatocyte-like cells derived from human embryonic stem cells specifically via definitive endoderm and a progenitor stage. *J. Biotechnol.*, **145**, 284-294 (2010)
- 4) D.C. Hay et al., Efficient differentiation of hepatocytes from human embryonic stem cells exhibiting markers recapitulating liver development in vivo. *Stem Cells*, **26**, 894-902 (2008)
- 5) K. Si-Tayeb et al., Organogenesis and development of the liver. *Dev. Cell*, **18**, 175-189 (2010)
- 6) S. Snykers et al., In vitro differentiation of embryonic and adult stem cells into hepatocytes: state of the art. *Stem Cells*, **27**, 577-606 (2009)
- 7) K. Takayama et al., Generation of metabolically functioning hepatocytes from human pluripotent stem cells by FOXA2 and HNF1α transduction. *J. Hepatol.*, **57**, 628-636 (2012)
- 8) Y. Nagamoto et al., Promotion of hepatic maturation of human pluripotent stem cells in 3D co-culture using type I collagen and Swiss 3T3 cell sheets. *Biomaterials*, **33**, 4526-4534 (2012)
- 9) K. Takayama et al., 3D spheroid culture of hESC/hiPSC-derived hepatocyte-like cells for drug toxicity testing. *Biomaterials*, **34**, 1781-1789 (2013)

- 10) K. Takayama et al., Prediction of inter-individual differences in hepatic functions and drug sensitivity by using human iPS-derived hepatocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **111**, 16772-16777 (2014)

著者略歴

【水口裕之】(写真左)
 1996年 大阪大学大学院薬学研究所博士課程修了博士(薬学)
 その後、大阪大学微生物病研究所研究員、米国ワシントン大学医学部Senior Fellow、国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部研究員・主任研究官・副プロジェクト長、独立行政法人医薬基盤研究所プロジェクトリーダーを経て、
 2008年 大阪大学大学院薬学研究所分子生物学分野教授(現在に至る)
 現在 国立研究開発法人 医薬基盤・健康・栄養研究所 招へいプロジェクトリーダーを併任
 大阪大学国際医工情報センター教授、大阪大学大学院医学系研究科教授を兼任
〈受賞歴〉
 2012年 第10回産学官連携功労者表彰(厚生労働大臣賞)
 2014年 平成26年度科学技術分野文部科学大臣表彰 科学技術賞(研究部門)

【高山和雄】(写真右)
 2010年 大阪大学薬学部卒業
 2015年 大阪大学大学院薬学研究所博士課程修了(薬科学博士)
 同年4月 大阪大学大学院薬学研究所分子生物学・特任助教
 同年11月 K-CONNEX研究者(京阪神次世代グローバル研究リーダー育成コンソーシアム)としても勤務
〈研究テーマ〉
 ヒトiPS細胞由来内胚系細胞を用いた創薬・再生医療応用

データ・インテグリティについて

大分ラボラトリー 松元 康法

1 はじめに

日本の製薬市場は、少子化による人口減と高齢化社会を見据えたいわゆる「骨太方針」によるジェネリック医薬品の使用促進に伴い、徐々に縮小していくことが予想されています。このため、日本の製薬企業は、海外販売に活路を見出そうとしていますが、これに伴い、アメリカ食品医薬品局（FDA）¹⁾をはじめとした海外の規制当局の査察を受ける機会が年々多くなってきています。

今回は、海外の規制当局による査察において、今、最も注視されているデータ・インテグリティ（Data Integrity）について紹介いたします。

2 データ・インテグリティとは？

データ・インテグリティ（データ完全性）は、元々、ITの分野で使われ始めた用語で、データが全て揃っていて内容に欠けや不整合がないことを保証することを意味します。その歴史は古く、ハッキングの成否が第二次大戦の勝敗を分けた1940年代にまで遡ります。不正なアクセスにより情報が漏洩したり、改ざんされたり、ハードディスクのクラッシュによってデータが消失すると、完全性が損なわれるので、これを防ぐ必要が出てきます。さらに、試験結果を正当に評価するためには、試験の過程で異常値が出る等、手順通りに進まない場合に行う検証も含め、実施したすべてのデータ・記録を残すことが必要です。

3 なぜ、今、データ・インテグリティなのか？

インドは世界第4位の医薬品生産国で、世界のジェネリック医薬品の約5分の1を製造しているだけでなく、その多くを海外に輸出している医薬品大国です。しかし近年、FDAや欧州医薬品庁（EMA）²⁾から不適合報告書を相次いで受け、一部の製品が販売停止の事態となるなど、懸念が広がっています。不適合の理由は、いずれもデータ・インテグリティに関するものでした。これがかねてから懸案であったことも受けて、2015年に英国医薬品庁

（MHRA）³⁾と世界保健機関（WHO）⁴⁾が、さらに2016年4月にはFDAがこれに関するガイダンス（WHOとFDAの版はドラフト）を相次いで発出させ、規制当局はデータ・インテグリティに関する規制を強化して患者を保護しようと注力しているのです。

4 データ・インテグリティの要件

医薬品に限らず現在の分析業務において、データはそのほとんどが紙と電子媒体を併用したいわゆるハイブリッドシステム（電子記録を紙で印刷し、署名）で運用されているのではないのでしょうか？

FDAやEMAの医薬品メーカーに対するデータ・インテグリティに関する指摘を見ると、電子データのセキュリティ、監査証跡、バックアップに関するものが目立ちますが、これらと前述の規制当局の出したガイドラインを併せて考えると、規制当局の望むデータ・インテグリティの要件が浮かびあがってきます。

一つ目はALCOAの原則です。すなわち、すべてのデータは、A（Attributable：帰属・責任の所在が明確であること）、L（Legible：判読・理解できること）、C（Contemporaneous：作業と同時に記録、あるいは出力すること）、O（Original：原本であること、また、複製を用いる必要がある場合は、原本と同一であることを証明できること）、A（Accurate：正確であること）でなければなりません。これはGDP（Good Documentation Practice）そのものであり、GMPの基本中の基本です。

続いて監査証跡（Audit Trail）です。これは、作業者が行なった操作内容を時系列に記録したデータで、これと機器の解析条件・測定条件・測定順序等のファイルを合せてメタデータと言います。監査証跡は、査察官が電子データの改竄を発見できる唯一のツールであると同時に完全性を証明する唯一のツールでもあります。これらを所定の期間（日本の場合、承認日から5年間、血液製剤は30年間）保存し、さらに品質部門が定期的に照査する必要があります。

セキュリティについては、パスワードを

共有せず、アクセス権限を階層別を与えてリスト化して管理しなければなりません。

また、データのバックアップにおいては、メタデータも含めて所定の期間保存し、定期的に読み込めることを確認しなければなりません。

5 最後に

以上、データ・インテグリティについて簡単に説明しましたが、内容自体は取り立てて真新しい事ではなく、既存のGMPの要件（特にPIC/S GMP CHAPTER4 DOCUMENTATION及びANNEX11）に留意して試験管理を行えば、問題ないと思われれます。しかし、何よりも大事なのは、Integrityという単語の意味にもあるように、各人が常に誠実な姿勢で業務に取り組み、問題があればこれを真摯に受け止め、即座に改善してより良いシステムを構築するスタンスを確保することだと思われれます。

参考資料

- ・MHRA GMP Data Integrity Definitions and Guidance for Industry March 2015-Revision
- ・Data Integrity and Compliance With CGMP Guidance for Industry DRAFT GUIDANCE
- ・21 CFR Part 211 CURRENT GOOD MANUFACTURING PRACTICE FOR FINISHED PHARMACEUTICALS
- ・21 CFR Part 11. Electronic Records ; Electronic Signatures
- ・Guidance for Industry. Part 11, Electronic Records ; Electronic Signatures - Scope and Application
- ・PIC/S GMP GUIDE (PART I: BASIC REQUIREMENTS FOR MEDICINAL PRODUCTS)
- ・PIC/S GMP GUIDE (ANNEXES)
- ・医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律施行規則（昭和三十六年二月一日厚生省令第一号）

注 釈

- 1) FDA : Food and Drug Administration
- 2) EMA : European Medicines Agency
- 3) MHRA : Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency
- 4) WHO : World Health Organization



松元 康法
(まつもと やすのり)
大分ラボラトリー

再生医療等製品の品質評価試験 (特性解析・安全性評価試験) への取り組み

大分ラボラトリー 藤井 清治 / 技術開発センター 泉川 健・高橋 昭博

国内における再生医療の臨床応用、再生医療等製品の研究開発推進の機運を受けて、周辺産業の将来市場の拡大への期待が高まっており、有効性と安全性の確保を目的とした法的枠組みの整備も同時に進められている。再生医療等製品の評価試験には、従来、低分子医薬品やバイオ医薬品に用いられてきた手法に加え再生医療等製品に対応した種々の分析手法も求められる。細胞生存率評価試験やフローサイトメーターを用いた細胞純度試験、感染性物質の存在を否定するためのマイコプラズマ否定試験やウイルス否定試験、製品中の不純物や目的外生体活性物質など、当社で実施している評価試験を紹介する。

1 はじめに

近年、再生医療周辺産業へ参入する国内外の企業が急増しており、国内における再生医療産業を推進するために種々の施策が行われている。

経済産業省は再生医療の将来市場を以下のように予測しており、2020年に950億円、2030年に1.0兆円、2050年には2.5兆円の市場規模が見込まれている。疾患別で見ると、がん免疫分野の再生医療が最も盛んに実施され、次いで腎臓、神経、血液といった多岐に渡る疾患分野で成長が予測されている(図1)。また、周辺

産業の将来市場についても準じた拡大が期待されている(図2)。国内では2015年9月に再生医療等製品2品目の製造販売が承認された。JCRファーマ株式会社のテムセルHS注は通常承認を、テルモ株式会社のハートシートは医薬品医療機器等法で新たに取り入れられた早期承認制度である条件および期限付き承認を取得した。

このように国内での再生医療等製品の上市が達成されたことで、周辺産業への期待が高まっているが、製品の品質評価は従来の低分子医薬品やバイオ医薬品で用い

られてきた分析手法だけでなく、細胞製品に対応した種々の分析手法も求められる。本稿では、当社がこれまでの医薬品開発の支援業務で培った分析技術と経験を活かして実施している再生医療等製品の品質評価について、各種試験の概要を紹介する。

2 特性解析試験

製品の構成要素である細胞について各種指標を解析することにより、目的とする細胞固有の特性を管理項目として設定しておく必要がある。ここでは特性解析試験の一例を紹介する。

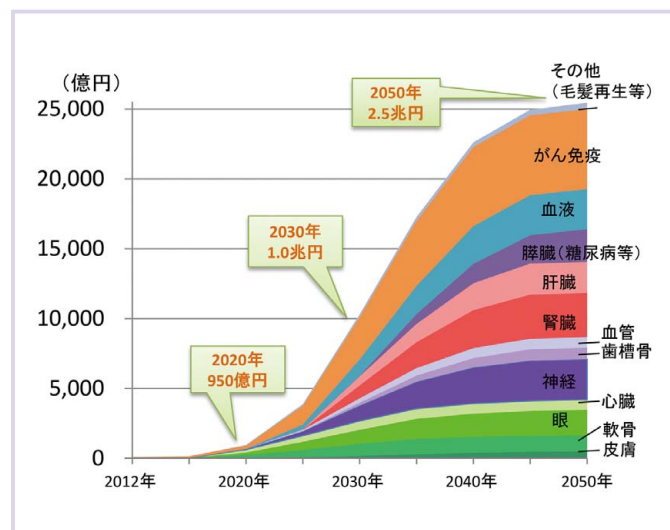


図1 再生医療の将来市場予測 (国内)¹⁾

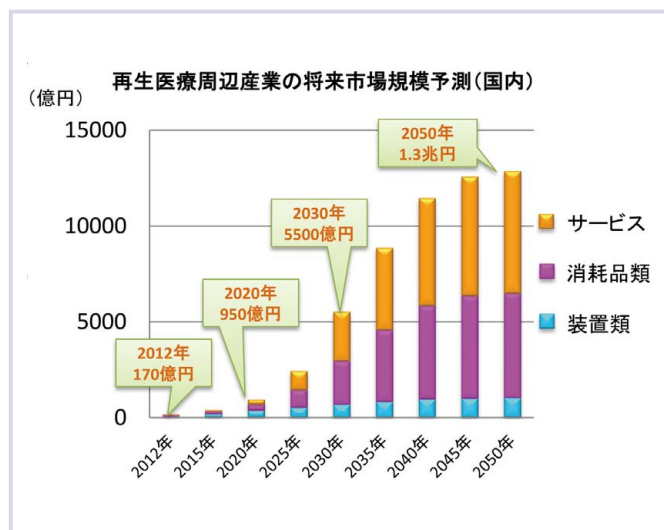


図2 周辺産業の市場規模 (国内)¹⁾

2.1 生細胞数・細胞生存率評価試験

最終製品中には生細胞および死細胞が含まれる。生細胞は、生理活性物質を分泌するなど製品の有効性を左右する可能性があるため、最終製品中の生細胞数は重要な管理項目である。また、死細胞は、製品や人体へ影響を及ぼす可能性があるため、最終製品の細胞生存率も重要な管理項目である。

評価方法は、一般的にトリパンブルーで死細胞を染色後、血球計算盤を用いて人が目視で生細胞および死細胞を計数するが、人為的なエラーが発生する可能性がある。そのため当社では、客観的に評価可能な自動細胞計数装置を利用している。

2.2 細胞純度試験

目的細胞の純度は最終製品の有効性を左右する可能性が高い。一方、最終製品中に未分化細胞、異常増殖細胞、形質転換細胞のような目的外細胞が混入している場合、製品や人体へ影響を及ぼす可能性がある。したがって、最終製品の細胞純度を規格として組み入れることが重要である。当社では、目的細胞の表面抗原に対する蛍光標識抗体を反応させ、フローサイトメーターを用いる評価を実施している。

ヒト脂肪由来間葉系幹細胞 (AdMSC) の細胞表面抗原である CD73 および CD90、細胞表面抗原でない CD45 の表面抗原解析をフローサイトメトリー法で実施した例を図 3 に示す。(A) に示すように、抗体未標識の細胞集団をネガティブセル (97.7%) およびポジティブセル (2.3%) として領域を定めた。蛍光標識抗体として抗 CD45 抗体を添加した細胞集団はネガティブセル領域に 97.3% 分布した (B)。この結果から AdMSC の

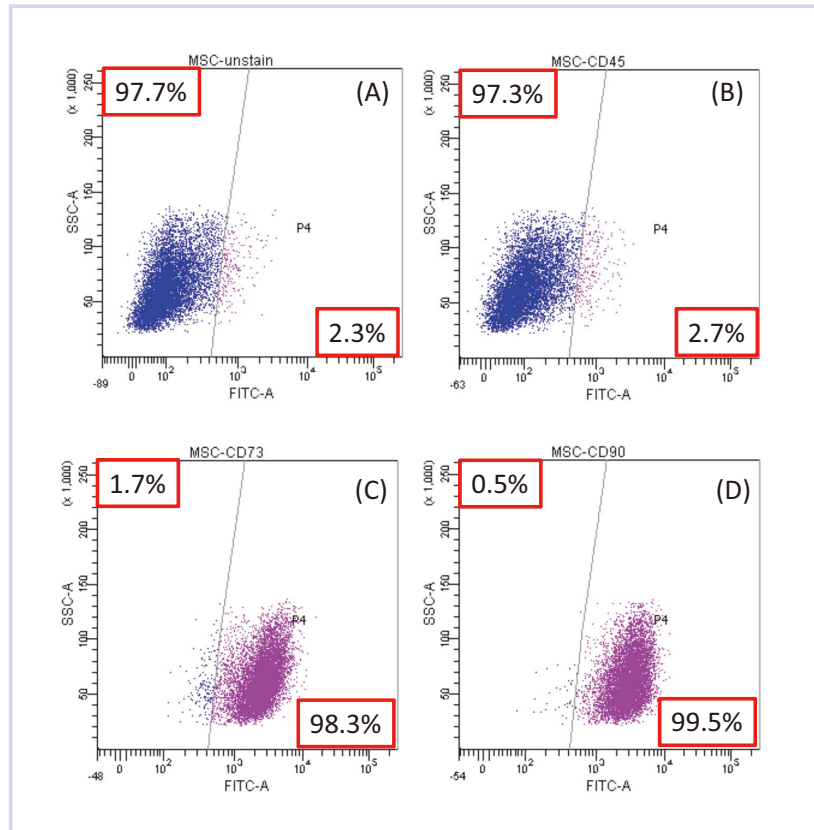


図3 フローサイトメトリー法による細胞表面抗原の測定
(A) 抗体未添加の細胞集団
(B) FITC標識抗CD45抗体と反応させた細胞集団
(C) FITC標識抗CD73抗体と反応させた細胞集団
(D) FITC標識抗CD90抗体と反応させた細胞集団

細胞表面には CD45 が発現していないことが示唆された。一方、抗 CD73 抗体を添加した細胞集団および抗 CD90 抗体を添加した細胞集団はそれぞれポジティブセル領域が 98.3% および 99.5% を示した (C および D)。

3 安全性評価試験

製品の投与による細菌感染、ウイルス感染あるいはエンドトキシンによる発熱の惹起を未然に防止するため、無菌試験 (一般細菌および真菌の否定)、マイコプラズマ否定試験、エンドトキシン試験およびウイルス否定試験等を実施し安全性を評価する必要がある。ここでは各試験の概要を紹介する。

3.1 無菌試験

再生医療等製品は生きた細胞を用いていることから、注射剤等の製造で用いられる最終滅菌が適用できない。そのため製造においては一貫した無菌操作による工程を経て最終製品が製造される。無菌性保証のためには、最終製品の他、工程管理における無菌試験が求められている。

無菌試験法は日米欧の薬局方で国際調和された試験法であり、試験環境については高度な清浄度環境が要求され、従来の無菌試験室での実施から高度な清浄度環境を実現できるアイソレータシステムでの実施に移行が進んでいる。こうした状況に対応するため当社では、アイソレータシステムによる無菌施設を導入し、工程管理および最終製品の安全性評価を目的とし

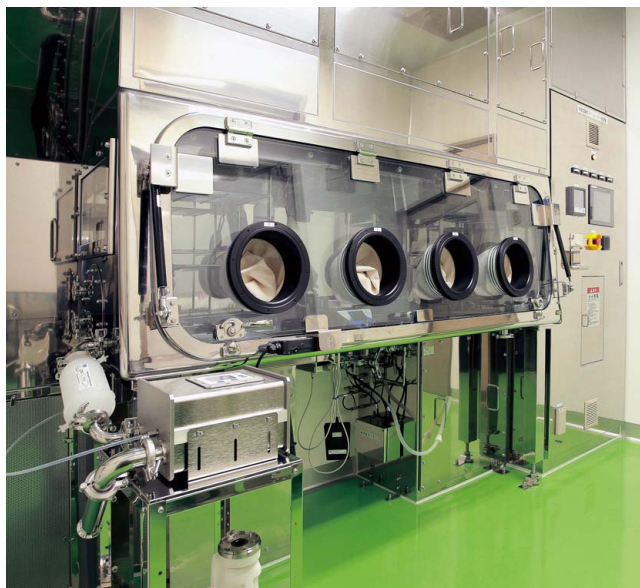


図4 無菌試験用アインレータシステム

た再生医療等製品の無菌試験を実施している（図4）。

3.2 マイコプラズマ否定試験

マイコプラズマは一部の菌種に病原性が確認されており、安全性の観点から製品への混入を防止する必要がある。また、培養細胞がマイコプラズマ感染することにより細胞の増殖や特性に影響を与える可能性があることから、再生医療等製品の製造においてはマイコプラズマ汚染の防止が必須と考えられる。マイコプラズマ汚染は培養液の濁りとして検出されない特徴があり、一般細菌などと比べて感染の発見が遅れる恐れがあることから、原料や中間製品についても十分な管理を行う必要がある。

マイコプラズマ否定試験法は日本薬局

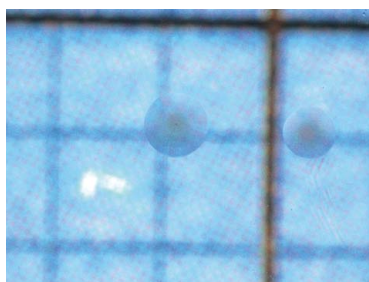


図5 A法観察例（マイコプラズマコロニー）

方参考情報「バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験」にA. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法、C. 核酸増幅法（NAT）の3つの手法が規定されている（図5および図6）。A法およびB法は増殖可能なマイコプラズマを検出できる反面、培養に時間を要する欠点がある。一方、C法は迅速に検出できる反面、増殖不能なマイコプラズマを検出する欠点がある。こうした各手法の特性を踏まえ、目的に応じた手法を選定する必要がある。当社では、従来のA. 培養法、B. 指標細胞を用いたDNA染色法に加え、第17改正日本薬局方に準拠したC. 核酸増幅法（NAT）に対応している。

3.3 エンドトキシン試験

エンドトキシンはグラム陰性桿菌に由来する発熱性物質であり、血中に入った場合、微量でも強い発熱を引き起こす。一旦、製品に混入したエンドトキシンは除去や不活化が困難であることから、最終製品のみでなく原料や工程管理におけるエンドトキシ

ンの管理が必要である。

エンドトキシン試験はライセート試薬の酵素反応を利用した検出法である。試料に含まれる成分によっては反応経路に影響を及ぼし、結果として偽陰性や偽陽性などの反応干渉作用を起こす場合がある。再生医療等製品では培養液や細胞保存液等に含まれる種々の成分により反応干渉作用が現れる可能性が高い。当社では、反応干渉作用を受けにくいライセート試薬の選定や試料溶液の希釈倍率の検証などを事前に検討して試験条件を設定している。

3.4 ウイルス否定試験

再生医療等製品は生体試料を原材料とするため、製造工程におけるウイルス混入の可能性を考慮する必要がある。厚生労働省の指針²⁾ではB型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）、成人T細胞白血病ウイルス（HTLV）、パルボウイルスB19（B19V）の存在の有無を特定し、核酸増幅法などによりウイルスの混在を否定することが要求されている。また、必要に応じてサイトメガロウイルス（CMV）、エプスタイン・バール・ウイルス（EBV）、ウエストナイルウイルス（WNV）などのウイルス否定も実施する必要がある。当社では、核酸増幅法（NAT）によりウイルス特異的なプライマー・プローブを用いたウイルス検出を実施している。

図7にAdMSCのウイルスチェックを実施した例を示す。ポジティブコントロールでは各ウイルス由来の核酸増幅が認められたが（A）、AdMSC由来のサンプルでは内因性コントロールであるβ-アクチンを除き、各ウイルス由来の核酸増幅は認められず（B）、AdMSC中の各ウイルス量は検出下限未満の結果であった。

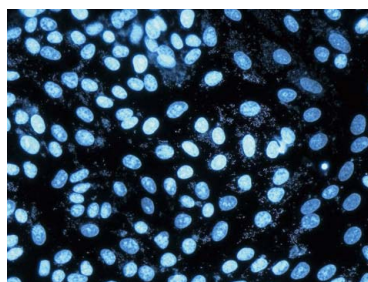


図6 B法観察例（DNA蛍光染色像）

3.5 製造工程由来不純物試験

製品となる細胞には、原材料(細胞)や製造工程にて使用される資材や試薬等(例えば、培地成分等)に由来し、最終製品中に残留物として存在する可能性のあるものがある。品質および安全性の面より好ましくない物質(例えば、抗生物質やウシ胎児血清由来アルブミン等)については、当該物質の除去に関するプロセス評価よりその存在を否定するか、あるいは適切な試験を設定することで存在許容量を規定することが重要となる³⁻⁶⁾。当社では、抗生物質等の低分子化合物に関しては液体クロマトグラフィー/質量分析法を、またウシ胎児血清由来アルブミン等のタンパク質成分に関してはELISA法を用いて最終製品中の存在量を評価している。

3.6 細胞由来の目的外生理活性物質に関する試験

再生医療等製品は、主にヒト由来の細胞・

組織より得た生きた細胞を用いており、それらより産生される生理活性物質がシグナル伝達の促進・抑制を介し相互に作用し合うことで、その治療効果(目的作用)を発揮する。一方、人体に対して有害な作用(目的外作用)を生じさせることもある。現在、細胞加工医薬品等の品質管理項目の一つとして、生理活性物質を作用機序とする最終製品に関しては、目的外の生理活性物質が安全性に影響を及ぼす可能性がある場合、出荷規格として許容量限度試験を設けることが重要となる³⁻⁶⁾。当社では、細胞より産生される炎症関連物質や増殖因子(例えば、サイトカイン)、その他成長因子等の生理活性物質に関してELISA法やメンブレン抗体アレイ法等を用いて評価している。

4 おわりに

当社では、再生医療等製品の特性解析、安全性評価に関する各種試験を、従来の低

分子医薬品やバイオ医薬品と同様、GLP/GMP体制下で実施している。今後は、さらに再生医療等製品の開発の活発化が予測されることから、品質評価に求められるより広いニーズに応え、分析技術の面から再生医療の普及に貢献したいと考えている。

文献

- 1) 経済産業省 再生医療の実用化・産業に関する研究会 再生医療の実用化・産業化に関する報告書(平成25年2月)
- 2) 「再生医療等の安全性確保に関する法律」, 「再生医療等の安全性確保に関する法律施行令」及び「再生医療等の安全性確保に関する法律施行規則」の取扱いについて 平成26年10月31日 医政研発1031第1号
- 3) ヒト(自己)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について 平成24年9月7日薬食発0907第2号
- 4) ヒト(同種)体性幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について 平成24年9月7日薬食発0907第3号
- 5) ヒト(自己) iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について 平成24年9月7日薬食発0907第4号
- 6) ヒト(同種) iPS(様)細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保について 平成24年9月7日薬食発0907第5号

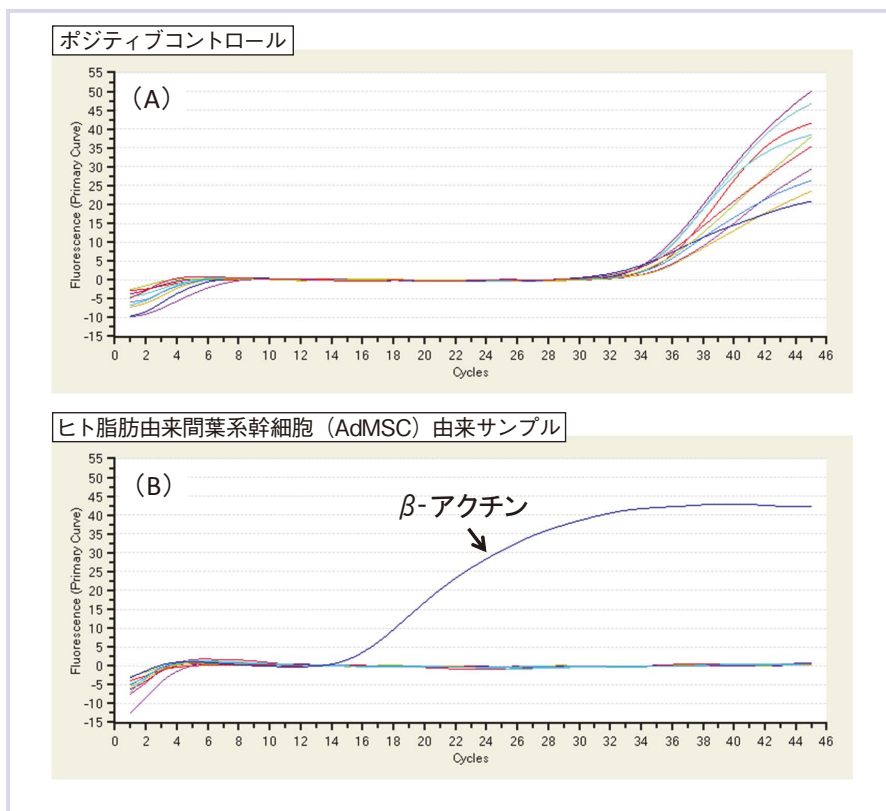


図7 リアルタイムPCR法によるウイルス由来核酸の検出



藤井 清治
(ふじい せいじ)
大分ラボラトリー



泉川 健
(いずかわ たけし)
技術開発センター



高橋 昭博
(たかはし あきひろ)
技術開発センター

医薬品・食品等への 混入異物の傾向と対策について

大阪ラボラトリー 組成解析グループ 末広 省吾・有賀 のり子

各種製品への異物混入は昔から見られるが、特に医薬品・食品分野においては、近年 SNS (Social Networking Service) の普及により、異物が発見されるとインターネットを通じて発信される事で、瞬く間に大きな問題に発展する傾向にある。製造現場では、インライン検査装置の導入や作業員への教育徹底などの混入防止対策が進んでいるにもかかわらず、根本的解決に繋がっているとは言い難い。本稿では、このような異物混入の原因や本質的課題を明らかにすると共に、被害を最小限に抑えるための要となる異物分析技術とその結果から導き出される原因究明への処方について解説する。

1 はじめに

当社では、あらゆる分野の産業で発生した混入異物の受託分析を行っている。参考までに、2015 年度に分析依頼を受けた数

百検体の異物分析結果(組成内訳)を図 1 に示す。異物は一般に、「普通とは違ったもの、奇異なもの」「体の中に入ったり、体の中でつくられたりしたもので、組織に

本レポートでは、医薬・食品分野における異物混入の一般的傾向、混入異物の分析技術ならびにケーススタディについて紹介する。

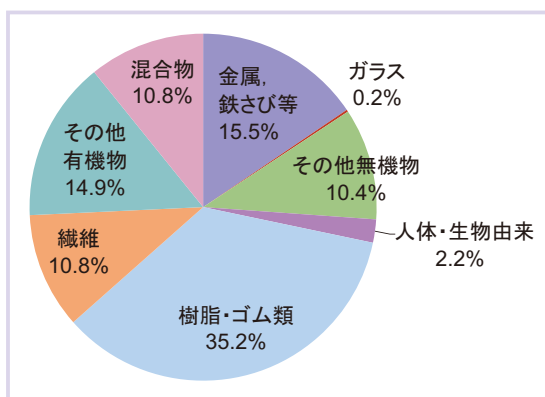


図1 住化分析センター異物分析結果の分類 (2015年度)

なじまないもの」(広辞苑)とされ、その対象は非常に曖昧でかつ広範なものに及び、図 1 に示した分析の結果から、実際に当社に分析試料として依頼された異物のほとんどはカビ、昆虫、毛髪などではなく、製造現場では直ぐに同定が難しい微小な樹脂・ゴム類、鉄さびを含む金属系ならびに繊維類であることがわかる。

2 医薬・食品分野における混入異物の傾向

独立行政法人医薬品医療機器総合機構によりまとめられた、異物混入や付着、原料の変質物や析出物を原因とする医薬品等の回収事例を表 1 に示す¹⁾。同 Web サイトによると、医薬品等の回収事例は、2014 年度は 28 件、2015 年度は 19 件が報告され、異物の種類は製品の原料由来(変性物、析出物等)、カビ菌、プラスチック片、金属片、毛髪の順に多かった。

製造販売業者は、異物発生・発見により市場からの回収が必要となった場合には、製造または取り扱いの医薬品・医薬部外品・化粧品について、保健衛生上の被害の発生や拡大を防止するため、迅速かつ適切に対応する必要がある。薬事法第 77 条の 4 の 3 の規定に基づく医薬品等の回収に関する監視指導要領によると、回収の要否及び回収対象に掛かる基本的考え方は、①有効性及び安全性への影響、②混入した異物の種類及び製品の性質、③不良範囲の特定に関する判断の 3 点から総合的に判断することとされている。異物混入と製品回収に関しては、異物が混入また

表1 最近の混入異物等による医薬品等の回収事例

事例	原因	内容
事例 1	入浴剤から金属片	当該製品を使用した際に、金属異物の混入があったとの報告を受け、異物を確認したところ、ステンレス鋼であることが判明した。
事例 2	分包品に異物	漢方の分包品に異物が混入しているとの連絡を受け、調査したところ、異物は製造工程で入り込んだ結束バンドに由来する樹脂片であることが判明した。
事例 3	カプセル表面に繊維状異物	表面に異物が付着したカプセルを発見したとの品質情報を受け、当該異物について調査したところ、長さ約 8 mm の繊維状異物がカプセルに挟まれており、詳細な観察の結果、人毛であることが判明した。
事例 4	豆乳に手袋破片の混入	当該製品に異物が混入している可能性があることが判明し、異物は製造の際に使用する手袋(ゴム製)の破片であり、製造工程で誤って混入したものと考えられた。
事例 5	クレンジングミルクのにおい変化	当該製品の一部においてにおいの変化が確認され、調査の結果、社内基準を上回る菌が検出された。検出された菌は、外部機関において同定検査の結果、青カビであることが判明した。
事例 6	シャワーゼルの白濁化	形状変化(白濁)する商品が発見され、成分分析の結果、社内基準を上回る一般細菌が検出された。微生物の同定を行ったところ、緑膿菌であることが判明した。
事例 7	バイアル製品中に金属異物	当該製品を溶解した際に、製剤 1 バイアル中に金属異物が混入しているとの報告を医療機関から受けた。拡大観察及び元素分析をした結果、SUS316 であることが判明した。
事例 8	石鹸に樹脂片	製品を使用した際に異物が入っていたとの連絡を受け、分析したところ、製造工程でプラスチック片(ポリエチレン)が混入した可能性が高いことが判明した。

は付着している医薬品・医療機器等であって、保健衛生上問題が生じないことが明確に説明できない場合は回収すること、また無菌製剤は原則的に無菌性保証が確実か否かを回収の重要な判断基準としている。

一方、食品分野での混入異物の傾向としては、ウインナー中の豚の小骨や野菜および果物の缶詰に混入した植物の葉や根一部に代表されるような、除去しきれなかった主成分中の夾雑物や小石等が多いのが実情である²⁾。食品衛生法第6条では「不潔、異物の混入又は添加その他の事由により、人の健康を損なうおそれがあるもの」が不衛生食品等の販売等の禁止項目として挙げられているが、基準が明確とは言い難い。製造現場では、HACCP (Hazard Analysis And Critical Control Point) 制度ならびに様々なインラインでの検査装置導入による対策が進み、悪意を持った外部者または性悪説に基づく内部関係者による意図的な混入に対しては、フードデフェンスという概念が導入され、職場全体での防御対策がなされている。にもかかわらず、衛生環境の向上やアレルギー体質の増加等によって消費者はわずかな異物混入に対しても敏感になっており、それ故に異物に絡む事件が大きく報道された年は、食品クリームや異物混入を申し出る人の数が増える傾向にある³⁾。

3 混入異物の分析技術

3.1 分析前の情報収集

異物分析の本質的な目的は、製造者が抱えている何らかのトラブルを解決することである。したがって、短時間で「異物の組成分析結果から混入原因の解明と対策」まで行わなければならないという点に尽きる。そのため、機器分析による定性同定だけでは不十分で、分析担当者は、どの原料、装置、部材ならびに作業・作業員等に由来するのかという“個別化”まで求められる。問題解決のためには、異物が発生した製造現場の状況に関して、できるだけ詳細な情報を収集すべきである。事前

情報と分析結果の組み合わせから考察する解析能力こそ、異物分析上重要なポイントである。分析前に必要な、あるいは確認すべき情報として、以下に示す項目が挙げられる。

- ①本当に異物が混入しているのか？（問題個所が小さい場合、他の欠陥現象（ひび割れ・剥がれ等）と混同しやすい）
- ②異物発生を誘発するような諸変更が無いのか？（製造プロセス変更・設備の変更・原料の変更等に起因する場合が多い）
- ③発生状況に傾向はあるか？（特定の時期や製造ロットに集中していないか等の情報も参考となる）
- ④どのように異物が混入していたか？（製品内に埋没したり、液中に浮遊したりして確認に手間取る場合がある）
- ⑤ある程度原因が想定から絞り込める場合、参照試料を入手できるか？
- ⑥異物やサンプルの状態を撮影した写真があれば可能な限り提供して頂く（特に多数の異物を分析する場合、ID管理の参考となり、サンプルを確実に特定するためにも重要である）。

3.2 異物の観察

外観観察は、異物分析において重要な役割を担っている。ここから、異物の大きさ・色調といった情報はもちろん、異物が製品表面に付着しているのか、内部に存在するのか、均一組成か、または数種類の混合物か等、様々な情報が得られる。さらに、観察技術は、原因究明の要となる個別化のためにも重要である。例えば、消費者に与える印象が良くない毛髪の混入を挙げると、観察結果から毛髪等と同定する事までは容易である。そこから混入原因の特定を行うには、それが①人毛であるか獣毛であるか（⇒作業員由来か、工場内に潜むネズミなどの由来か）、②人毛であればどの部位由来か（⇒作業服等に問題は無い）、③誰の毛か（⇒特定の作業員に集中していないか）といった個別化が欠かせない（図2参照）。参照試料との比較観察

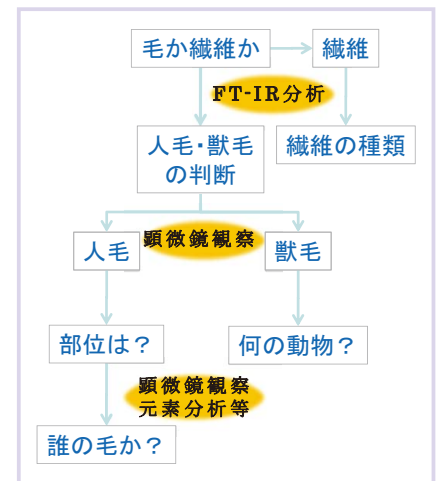


図2 混入異物における毛および繊維の同定フロー例

と機器分析による同定結果を組み合わせ、いかに原因究明に繋げることが出来るかは、分析装置の高度化が進んだ現在でも分析者の経験によるところが大きい。

3.3 分析手法

図3に微小異物分析のフローチャートを示す。ここで挙げた分析手法は、いずれも試料を溶媒に溶解することなく、異物をマイクロツール等で直接取り出し測定に供するものである。異物分析において「呈色試験」「溶解試験」「燃焼試験」「比重試験」など、機器分析に依存しない方法は昔から行われてきた⁴⁾。迅速かつ低コストで異物の組成および発生源に関する情報が得られるのであれば、手法は何でも良いはずであるが、一方で微小な混入異物に対しては適用可能な分析手法が限定されるため、前項に記載した観察結果による情報から、適切な手法を選択し組み合わせる事がポイントとなる。

有機物の定性には、顕微 FT-IR、熱分解ガスクロマトグラフ質量分析計 (Py-GC/MS) が、無機元素の定性・定量には、電子線マイクロアナライザ (EPMA)、元素分析機能付き走査電子顕微鏡 (SEM-EDX) または蛍光 X 線装置 (XRF) が、無機化合物の定性には、X 線回折装置 (XRD) が一般的に用いられる。前記した試料に関する分析前の情報収集ならびに

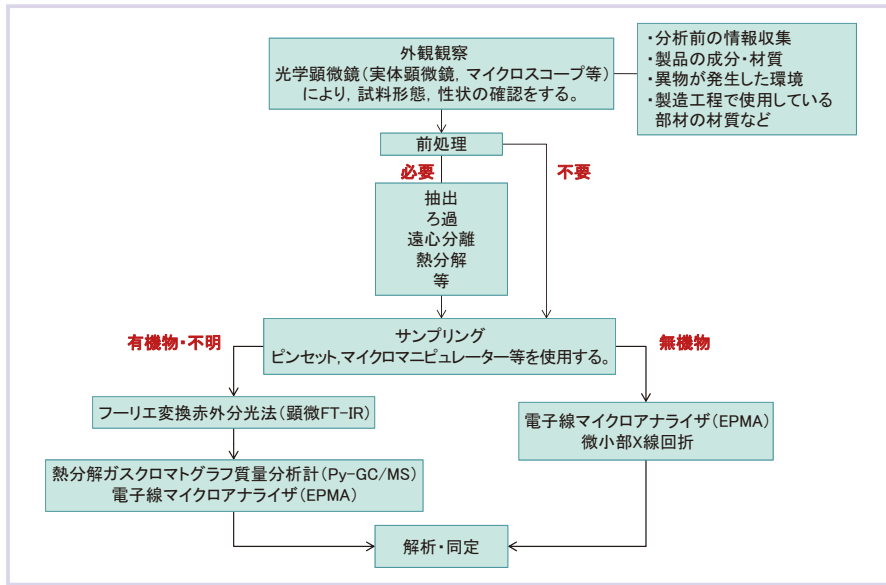


図3 異物分析のフローチャート例

観察結果を勘案しつつ、これら分析手法の組み合わせにより設計の最適な評価・検証を検討する。次項から実際の事例をあげる。

4 異物分析事例

4.1 錠剤表面の灰色異物

対象は図4丸印に示した、錠剤表面の一部が僅かに灰色に着色したシミ状異物

であり、治具にて確認すると錠剤内部まで着色していることが判明した。EPMAを用いて着色部の元素分析を行った結果、着色部では図5に示すように錠剤の構成元素である炭素 (C)、窒素 (N)、酸素 (O)、ケイ素 (Si) 以外に、鉄 (Fe)、クロム (Cr)、ニッケル (Ni) が検出されたことから、異物による着色原因は、オーステナイト系ステンレス粉に由来すると考えられた。分析

結果を踏まえた現場での対策として、同一組成の配管や製造設備をリストアップし、欠陥等が無いかが確認する事が挙げられる。錠剤への付着状態に関する情報 (内部まで着色している点) も重要な手掛かりである。異物が打錠機 (錠剤機) 由来の場合、錠剤表面のみが汚染されている可能性が高いからである。

異物に由来する着色・変色の類の異常は製品回収等の問題に発展する可能性が高く、医薬品のみならず様々な工業製品において問題となる。本事例は金属粉による着色異物であったが、有機色素成分が原因の場合、微量であっても消費者に視認されやすく、クレーム原因になりやすい。微量ゆえに色素成分の特定が困難なケースが多く、対策として色情報を手掛かりに原因を推定して、参照物質との比較分析によって原因究明する事が有効である。

4.2 飲料製品中に混入した茶色片

異物は、図6に示した大きさ数100 μ mの茶色の半透明物質であり、治具にて確認すると硬くて脆い性状の物質であった。顕微FT-IRにより異物を分析したところ、

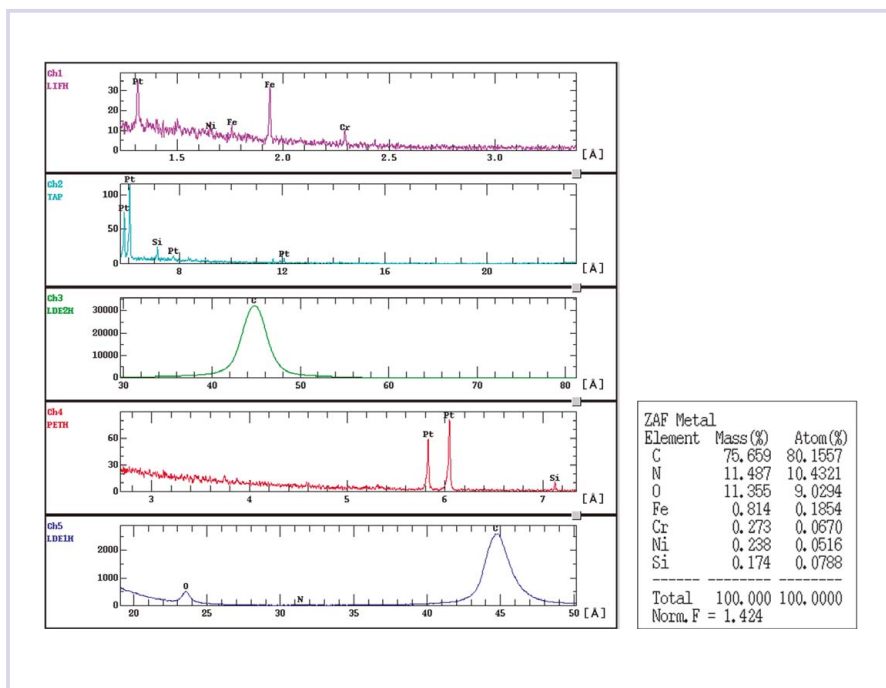


図5 灰色異物のEPMAによる元素分析結果

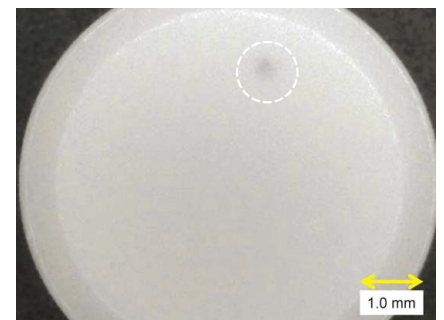


図4 灰色異物の実体顕微鏡像

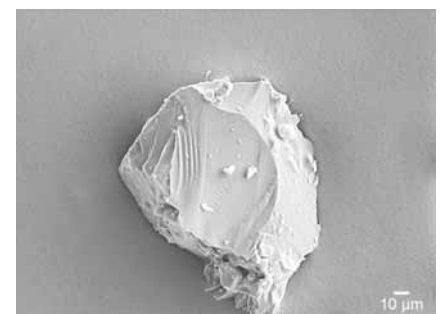


図6 茶色片のSEM観察像

図7に示すようにケイ酸塩の存在を示唆する特性吸収(1030 cm⁻¹付近)が観察され、さらにEPMAを用いた元素分析では、図8に示すように主に酸素(O)、ケイ素(Si)、カルシウム(Ca)、ナトリウム(Na)、スズ(Sn)、アルミニウム(Al)が検出された。これらの検査結果から、異物の材質はソーダ石灰ガラスと推定された。また、飲料容器も同じ色であったため、参照試料として同様の試験を行った結果、異物と全く同様の組成であったことから、異物は何らかの原因で飲料容器の欠片が混

入したものと考えられた。消費者が気付かずに飲み込んでしまうと負傷するケースが考えられるため、最も混入を防止しなくてはならないタイプの異物である。

5 まとめ・提案

医薬品・食品等への混入異物の傾向と対策について、分析事例と共に紹介した。ここまで述べてきた混入異物に対する後追いの対応だけではなく、事前の情報蓄積によるトラブル防止にも分析技術を役立てて

いただきたい。例えば、生産ラインの設備、配管、その他部材に使われている材料のリスト化を行うことである。カタログやSDSなどから材料を特定し、不明分については事前に分析を行い、スペクトルデータベースを構築しておくことで、いざという時の迅速な原因究明に大いに役立つ^{5), 6)}。更にこのようなデータベース構築にひと手間加え、加熱等で変質した成分を

あらかじめ測定しておくことも好ましい。例えば、リストアップされた有機化合物等の原料や樹脂製配管等を製造環境に近い条件で加熱その他の方法で強制劣化させ、どのように変質するかをFT-IRスペクトルで確認する⁷⁾。このような一連の対策から得られた情報は、異物に関するデータベースとしての活用だけではなく、設備・部材の寿命予測にも繋がるため、製造現場全体での積極的な予防措置の一つとして有効と思われる。

文献

- 1) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構：“医薬品医療機器情報提供ホームページ 医薬品等の回収に関する情報” http://www.info.pmda.go.jp/kaisyuu/menu_kiki.html
- 2) 一般財団法人食品産業センター：“食品産業PL共済での事故事例” http://www.shokusan.or.jp/index.php?mo=topics&ac=TopicsDetail&topics_id=244
- 3) 西島基弘ら“情報社会における食品異物混入対策最前線”，NTS, p5 (2016)
- 4) 紙パルプ技術協会 編：“紙パルプの試験法”，p.242 (1995)
- 5) 米森重明“化学分析・評価の現場実務”，日刊工業新聞社, p84-85 (2015)
- 6) 末広省吾, GMPeople, 1(8), 30-39 (2015)
- 7) 末広省吾, クリーンテクノロジー, Vol.24 (8), 46-52 (2014)

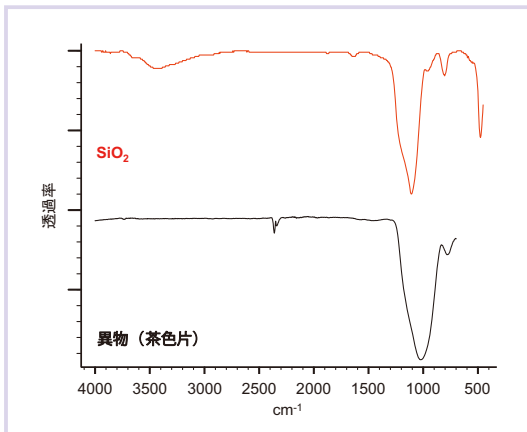


図7 茶色片のIRスペクトルおよびデータベース検索結果

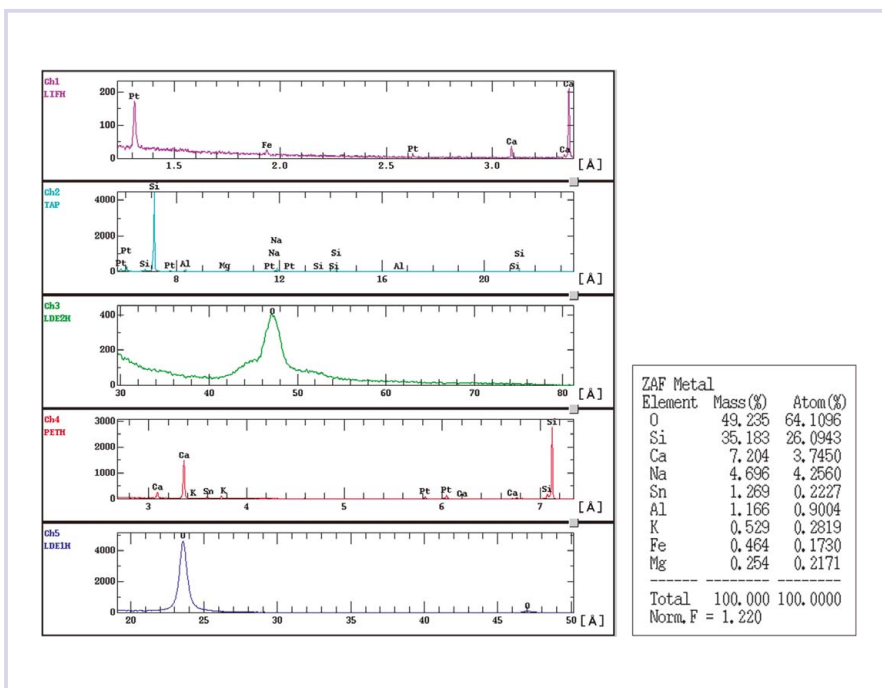


図8 茶色片のEPMAによる元素分析結果



末広 省吾
(すえひろ しょうご)
大阪ラボラトリー
組成解析グループ



有賀 のり子
(あるが のりこ)
大阪ラボラトリー
組成解析グループ

LIB 電極断面の *in situ* ラマンイメージング

技術開発センター 大森 美穂

1 はじめに

近年エネルギーの安定供給や環境問題への取り組みなどの観点から、リチウムイオン二次電池 (Lithium-Ion Secondary Batteries : LIB) の更なる高性能化が求められています。LIB電極は活物質、導電助剤、バインダなど複数の部材が混合した複雑な構造を持っており、正極、負極の活物質間をLiイオンが行き来することで充放電反応が起こります。活物質が効率的に充放電に寄与するよう電極構造を最適化することは電池性能を向上させる手段の一つとなっていることから、充放電中の活物質の挙動を知ることは、電極製造プロセスの改善において重要です。本稿では、充放電中の化学状態を測定できる *in situ* ラマンイメージング測定法を用いてLIB電極断面における活物質の反応分布解析を行った事例を紹介します。

2 ラマン分光分析の特徴

ラマン分光分析は、分子振動に由来するスペクトルを検出することで物質の化学結合や結晶状態を解析する分析手法です。LIB電極の活物質は充放電反応に伴い結晶構造が変化するものが多く、ラマンスペクトルの変化を解析することで充放電反応の推移を捉えることができます。当社はラマン測定用充放電セルを作製し、高速イメージング測定可能なレーザーラマン顕微鏡と組み合わせることで電極断面の *in situ* ラマンイメージング測定法を開発しました。

3 電極断面からの反応分布解析

一般的な正極活物質であるLiCoO₂は、放電状態では596 cm⁻¹にラマンピークが検出され、充電反応の進行とともにそのピークが570 cm⁻¹付近までシフトしていくことが知られています。検出されたLiCoO₂のピーク波数位置から各電位における電極断面のラマンイメージングを作成しました¹⁾。満充電状態は赤色、放電状態は青色になるようグラデーションで表示しています。満充電状態である4.2 Vのイメージング画像から、青色の活物質粒子が一部存在していることがわかります。これらの活物質粒子は電池反応に寄与しておらず、電極内の不良箇所となっていることが予想されます。また、図2には図1と同色でプロットした活物質粒子のピーク波数位置の経時変化を示します。グラフ中の黄色の領域に着目すると、青枠の活物質粒子は、赤枠、緑枠の活物質粒子と比較してピークシフトが遅れて起こっており、電極内部で活物質粒子ごとに反応速度に差異があることがわかります。

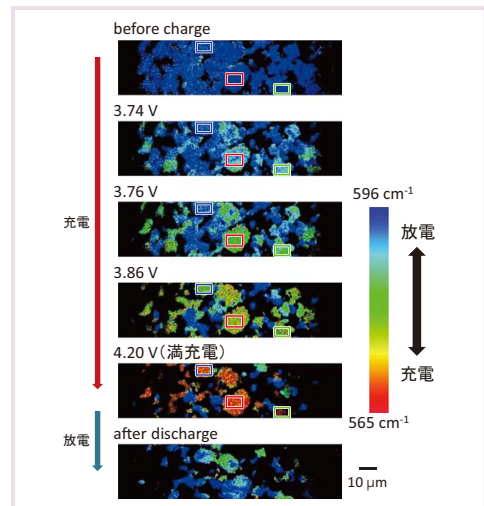


図1 各電位におけるLiCoO₂正極断面のラマンイメージング

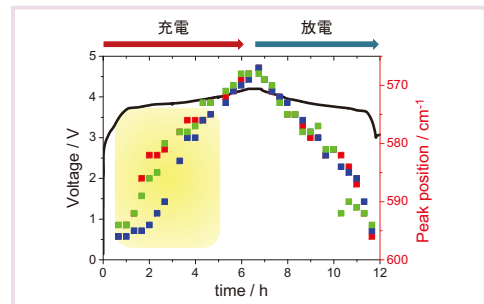


図2 LiCoO₂粒子ごとのラマンピーク波数位置の経時変化

4 おわりに

本技術を活用することで、電池製造工程の改善や不良原因の特定を行うための重要な情報が得られます。さらに、電子顕微鏡や走査プローブ顕微鏡などを用いて *in situ* 測定後の試料の組成、形態変化を解析することも可能です。当社では、お客様の電池開発における課題解決に貢献するため、各種分析手法を組み合わせた総合解析サービスを提供しています。

文献

- 1) Hitoshi FUKUMITSU, Miho OMORI, Kenji TERADA, Shogo SUEHIRO, *Electrochemistry*, **83** (11), 993 (2015)
- 2) T. Nishi, H. Nakai, A. Kita, *J. Electrochem. Soc.*, **160**, A1785 (2013)
- 3) M. Inaba, Y. Iriyama, Z. Ogumi, Y. Todzuka, A. Tasaka, *J. Raman Spectrosc.*, **28**, 613 (1997)



本稿の内容はNEDO「次世代蓄電池材料評価技術開発」の助成を受けて実施しました。また、成果について *Electrochemistry* 誌に「Development of In Situ Cross-Sectional Raman Imaging of LiCoO₂ Cathode for Li-ion Battery」として投稿し、平成28年度電気化学会論文賞を受賞しました。



大森 美穂
(おおもり みほ)
技術開発センター

炭素繊維強化樹脂 (CFRP) の構造解析

電子事業部 藤原 豊 / 千葉ラボラトリー 中原 庸裕

1 はじめに

製品部材を軽量化するため、金属製部材の代替として炭素繊維強化樹脂 (Carbon Fiber Reinforced Plastics : CFRP) への期待が日々高まっています。特に自動車の燃費向上のため、車体・部品への採用に向けた開発が加速されています。CFRPの本格的な普及には、CFRP自身の力学・疲労特性の向上に加え、他の異種軽量化材料との接合技術の開発が重要です。これら特性の発現は、空隙や繊維配向等のCFRP内部構造が大きく起因していることから、当社は内部構造解析をさまざまな角度から提供することで皆様の開発を支援しております。

2 内部構造 (空隙, 繊維配向) の評価

成形品中の空隙、繊維充填不良、繊維配向状態ならびに炭素繊維長さ等の内部構造によってCFRPの物性は大きく異なります。X線CT (X-ray computed tomograph) では、空隙や繊維の状態を非破壊で観察することが可能です。さらに取得した3次元画像をコンピュータ解析することで空隙の分布や繊維配向を数値化して把握することも出来ます。図1には、空隙の存在箇所を示すとともにCFRP体積あたりの空隙率を0.9%と算出した事例を紹介しています。図2に示す事例では、繊維配向を示す迂回数から若干X方向に配向が偏っていることが示唆されました。

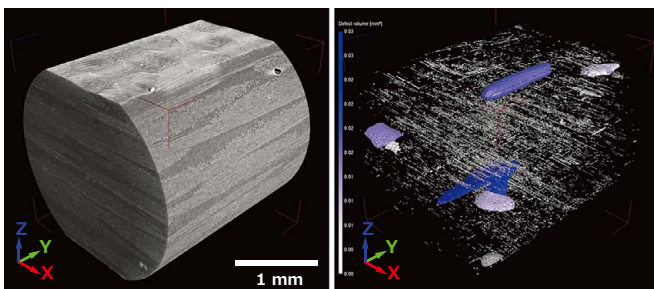


図1 CFRPのX線CT画像
左: CFRP全体, 右: 内部空隙

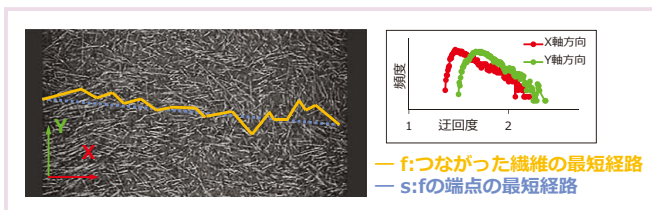


図2 炭素繊維の迂回数 *迂回数 = $f / s (\geq 1)$

3 CFRP接合界面の評価

熱可塑性CFRPは成形性やコストの点から溶着による接合が検討されています。しかし、CFRPでは強化繊維が異物として働くため

に、最適な手法と条件の選択が重要になっています。溶着部の強度は接合界面の状態が要因となっている場合が多く、接合界面の各種解析により強度の要因を把握することが必要です。図3に示すX線CTによる非破壊観察では、低強度品では接合界面に剥離が発生していることが分かります。強度の違いは強度試験後の剥離破面にも現れており、この剥離破面を走査型電子顕微鏡観察 (SEM) で観察すると、接合に寄与する樹脂がほとんど確認されませんでした。また、示差走査熱量計 (DSC) から得られる約216°Cの融解ピーク大きさから、破面近傍の樹脂の結晶性 (緻密性) が若干小さくなっており、これが強度を低下させている要因の一つであることが確認できました (図4)。

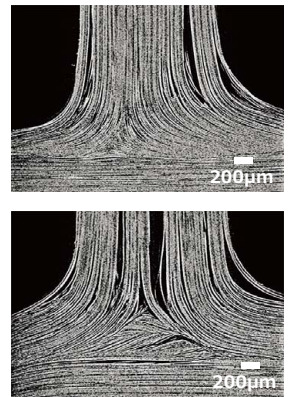


図3 熱可塑性CFRP溶着部のX線CT観察像
上: 高強度品, 下: 低強度品

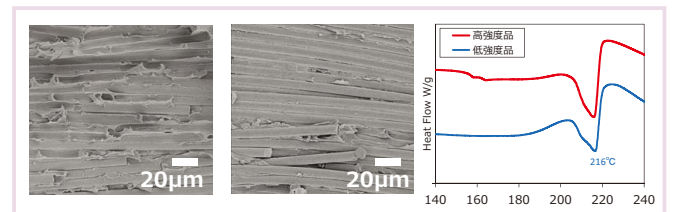


図4 CFRP溶着部の強度試験後の剥離面解析結果

左: 高強度品の破面SEM像, 中: 低強度品の破面SEM像, 右: 破面近傍の樹脂DSC測定結果

4 おわりに

当社では、CFRPの内部構造を各種分析手段にて解析し、強度特性とその要因となる構造を複合的に評価しています。また、CFRPの長期信頼性を担保するための劣化診断も手掛けており、今後お客様の課題解決を支援するサービスを充実してまいります。



藤原 豊
(ふじわら ゆたか)
電子事業部



中原 庸裕
(なかはら ようすけ)
千葉ラボラトリー

改正労働安全衛生法のリスクアセスメント支援サービス

環境事業部 長谷川 あゆみ・保坂 典男

2016年6月1日、改正労働安全衛生法が施行され、安全データシート公布義務対象640物質についてリスクアセスメントの実施が義務づけられました。当社はこのリスクアセスメントを実施されるお客様を支援する、新たなサービスを開始いたしました。

●改正労働安全衛生法の概要

労働安全衛生法ではこれまで、リスクの明らかな物質は製造取扱いの制限や、特定規則（特定化学物質障害予防規則、有機溶剤中毒予防規則、鉛中毒予防規則など）で規制してきました。また、一定の危険有害性のある物質については安全データシート（SDS: Safety Data Sheet）を交付し、有害性などの情報を伝達する事を義務としていました。しかし、一定の危険有害性のある物質について、胆管がんなどの問題が発生したことを受け、リスクアセスメントが義務化されることになりました（図1）。

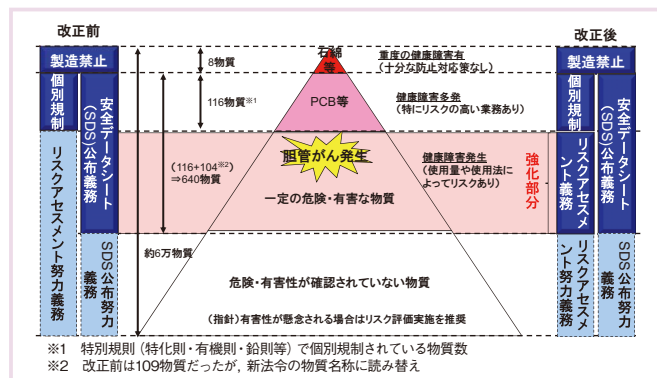


図1 化学物質管理に関する改定の内容（厚生労働省発表資料からの引用）

リスクアセスメントとは、化学物質の持つ有害性を特定し、それによる労働者への危険または健康障害を生じるおそれの程度を見積もり、その結果に基づきリスクの低減対策を検討することを言います。

対象となる事業場は、業種、事業場規模にかかわらず、対象となる化学物質を製造・取扱うすべての事業場となります。製造業、建設業だけでなく、清掃業、卸売・小売業、飲食店、医療・福祉業・教育など、さまざまな業種で化学物質を含む製品が使われており、健康障害のリスクがあります。

改正により、安全データシート（SDS）交付義務対象物質は640物質に拡大され、これらについてリスクアセスメントの実施が義務付けられました。

対象の640物質は厚生労働省のホームページ¹などに公開されています。

●当社が提供する支援サービス

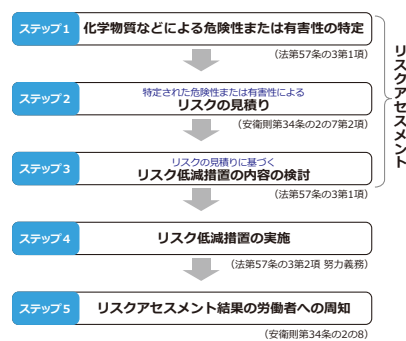
改正された化学物質管理の手順を図2に示します。ステップ1からステップ3までがリスクアセスメントとして実施が義務づけられた部分です。

①リスクアセスメント及び低減措置をサポート

化学物質の労働安全にかかる法規は複雑さを増しております。当社はお取扱いの物質がいずれの法規に対象となるかの確認から支援いたします。法令に定められた管理濃度が無い物質への措置（管理目標の調査等）は、当社の環境評価・化学品評価の取扱い部署が連携し、対象成分の危険性又は有害性の国内外の既知見レビューを行い、

ご提案します。具体的には、コントロールバンドニング等の定性的なリスクアセスメントや、作業環境濃度と物質の毒性値の比較による定量的アセスメントなど、お客様の状況に応じたリスクアセスメントを提供します。低減措置目標値と測定濃度等の結果を比較することで、リスクに基づく管理ができれば、作業者のばく露保護に具体的に貢献します。

図2 リスクアセスメントの流れ（厚生労働省発表資料からの引用）



②作業環境測定を強化

今回の改正で新たにリスクアセスメントの対象となった物質の多くは管理濃度がなく、作業者のばく露限界などの管理が困難なのが現状です。当社では管理目標の提案と共に作業環境測定を実施してリスクに基づく管理を可能にいたします。従来より当社では未規制物質の個別濃度測定に対応して参りましたが、今回の改正を受けて、作業環境測定を大幅に強化して多様なご要望にお応えいたします。お客様の現状に適合した提案をすることで、信頼性は確保しつつ費用を抑えたサービスを目指します。

●高い専門性で法規対応・測定までをサポートします

化学物質管理・労働衛生は、リスクアセスメントの義務化だけでなく、特定化学物質の指定の増加、「労働安全衛生法第28条第3項の規定に基づき厚生労働大臣が定める化学物質による健康障害を防止するための指針」（いわゆる「がん原性指針」）の追加など、次々と強化されています。複雑さを増す法規制に対し、混乱されている事業場も大変多いように見受けられます。当社では、高いレベルの法規・技術の専門知識で、お客様のコンプライアンスとリスクに基づくばく露管理をお手伝いします。

改正労働安全衛生法のリスクアセスメントについて、当社では、お客様を継続的にサポート致します。お客様を取り巻く状況の変化により新たなご相談が生じた際にも、お気軽にお問い合わせください。

¹ 例) <http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11200000-Roudoukijunkyoku/0000093767.pdf>



長谷川 あゆみ
(はせがわ あゆみ)
環境事業部



保坂 典男
(ほさか のりお)
環境事業部

燃料電池車用水素燃料の品質評価 ～オンサイト分析サービスを開始～

千葉ラボラトリー 坂本 保子・藤井 博史・河西 明

1 はじめに

我が国では2015年の燃料電池自動車（Fuel Cell Vehicle：FCV）発売開始に伴い、その燃料である水素を充填するための水素ステーションの建設が着実に進展しています。2016年4月現在、首都圏から北部九州圏を結ぶ幹線沿いに77箇所の水素ステーションが営業・運用されていますが、水素ステーションがFCVの普及に必須のインフラであることから、官民が協力して設置を進めています。経済産業省が2016年3月22日に公表した「水素・燃料電池戦略ロードマップ改訂版」では、水素ステーションを2020年度までに160箇所程度、2025年度までに320箇所程度とする整備目標が掲げられています。

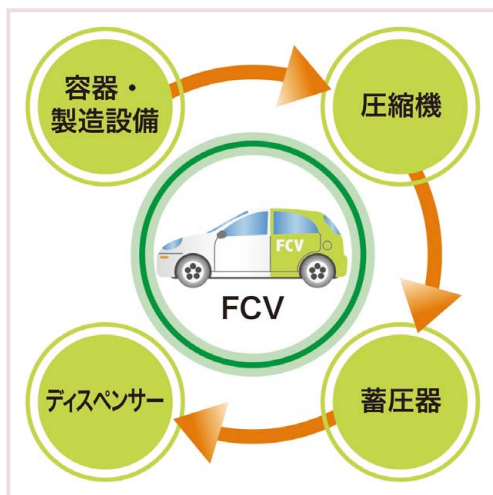


図1 定置式水素ステーションの基本構成

2 燃料用水素に対する要求事項

FCVに充填する水素燃料は、2012年に発行されたISO14687-2 “Hydrogen fuel - Product specification - Part2: Proton exchange membrane (PEM) fuel cell applications for road vehicles”において、表1に示す不純物を最大許容濃度以下にすることが要求されています。この項目には燃料電池触媒への吸着・反応や電解質膜の劣化な

表1 水素燃料の評価項目と最大許容濃度

物質名	最大許容濃度	標準的な分析手法
全炭化水素	2 ppm	GC - FID
水分	5 ppm	露点計
酸素	5 ppm	微量酸素濃度計
ヘリウム	300 ppm	GC - TCD
窒素 + アルゴン	100 ppm	GC - TCD
二酸化炭素	2 ppm	GC - FID (メタン化炉)
一酸化炭素	0.2 ppm	GC - FID (メタン化炉)
硫黄化合物	0.004 ppm	GC - FPD, IC
ホルムアルデヒド	0.01 ppm	DNPH 捕集 - HPLC
ギ酸	0.2 ppm	インピンジャー捕集 - IC
アンモニア	0.1 ppm	インピンジャー捕集 - IC
ハロゲン化合物	0.05 ppm	インピンジャー捕集 - IC
粒子	1 mg/kg	フィルタ採取 - 天秤

引用 ISO/IS14687-2

ど、燃料電池の性能に悪影響を及ぼす成分も含まれることから、品質の維持管理に高感度・高精度な分析が必要とされています。水素燃料中の不純物の分析・管理は定期的な法定検査のみならず、水素ステーション建設時においても部材からの汚染や建設工程での混入などを評価するために、迅速な分析結果の報告が求められています。

当社は水素ステーションの定期検査や建設時において要求される水素燃料中の不純物の高感度・高精度分析法を確立するとともに、迅速な結果報告のための現地（オンサイト）分析を開始しました。

3 オンサイト分析の特徴

ステーションの建設時における水素ガスの品質評価は、水素製造設備や供給設備の運転条件を変更しながらリアルタイムで結果が確認できるオンサイト分析が有効です。当社では、ご依頼内容の分析に必要な機器を搭載したラボカーで水素ステーションまで移動し、現地で機器を稼働させて不純物濃度を分析することが可能です。また、水素ステーションの普及エリアに近い関東～九州の各地に当社のラボラトリーが立地しており、最寄りのラボラトリーを拠点とした機動力あるオンサイト分析体制を構築しています。

4 まとめと今後の展開

以上、当社が開始したオンサイト分析による水素燃料の迅速な評価について概要を紹介しました。

現在、水素製造の原料は天然ガスや石油などの化石燃料が主流ですが、将来的には二酸化炭素を排出しないクリーンエネルギーを目指し、様々な製法が研究されています。原料が異なると水素燃料に残存する不純物も異なるため、当社では、ISO14687-2要求項目以外の不純物も含め製法に合わせた不純物評価法も提案いたします。

また、今後の水素ステーションの普及に寄与する技術開発として、当社は国立研究開発法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の委託を受けて、「水素利用技術研究開発事業／燃料電池自動車及び水素供給インフラの国内規制適正化、国際基準調和・国際標準化に関する研究開発／水素ステーションにおける水素ガス品質管理方法の国際標準化に関する研究開発」を実施しています。

これから本格的な普及期を迎える水素ステーションの建設および維持管理に分析技術で貢献いたします。



坂本 保子
(さかもと やすこ)
千葉ラボラトリー



藤井 博史
(ふじい ひろふみ)
千葉ラボラトリー



河西 明
(かさい あきら)
千葉ラボラトリー

▶ におい分析の検出成分の拡大と高感度化

当社はにおい嗅ぎ-GC-MSを用いて、におい成分の受託分析業務を行っております。2016年1月に多機能加熱脱着装置（TDU：Thermal Desorption Unit）と、分取切替システム（Single-PFC：Preparative Fraction Collector）を新たに加えた「におい嗅ぎ-GC-MS」装置を導入し、より幅広いご要望にお応えできるようになりました。TDUを用いることにより、従来装置では検出困難であっ

たシナモン等香料成分の検出が可能となりました。また、検出感度が低いにおい成分については、Single PFCを用いた濃縮システムにより、高感度検出が可能となりました。今後も、本機能を利用して、におい成分として重要な高極性成分への適用拡大を図り、お客様のニーズに的確にお応えできるように努めてまいります。



新規導入した「におい嗅ぎ-GC-MS」

▶ 非臨床アミロイドイメージング試験の受託開始

アルツハイマー病は認知症の中でも患者数が最も多く、年々増加する傾向にあります。しかしながら現時点では根治可能な治療薬はなく、世界中で創薬研究が行われています。当社は2016年1月より、アルツハイマー病等認知障害の創薬研究支援を目的に、日本メジフィジックス株式会社と協働で^[19F]

フルテタモルをトレーサーとするβアミロイドの非臨床PET（陽電子放射断層撮影）イメージング試験の受託を開始いたしました。

βアミロイドは、アルツハイマー病患者の脳内に見られる老人斑の主成分となるタンパク質で、モデル動物を用いてPETアミロイドイメージング試験を

行うことにより、試験前（治療開始前）、治療中、治療後と継続的な脳内のβアミロイドの沈着を生きた状態のまま個体毎に確認することが出来、より精緻な創薬研究が可能となります。

本サービスを通じてアルツハイマー病や他の認知障害の創薬研究を支援し、お客様のご要望にお応えしてまいります。

▶ 北米 CRO inVentiv Health 社との業務提携

当社は2015年、北米を拠点に臨床試験サービス及び医薬品市販・マーケティングサービスをワールドワイドに展開しているinVentiv Health社（以下「IVH社」）との共同拡販によるバイオアナリシス分野及び他の補完的サービスの市場開拓を目的とした業務提携契約を締結し、サービスを開始しました。

IVH社は、世界70か国でクリニカ

ル事業（CRO¹⁾）及びコマースナル&コンサルティング事業（CCO²⁾）の複合的な支援サービスを製薬企業へ提供するグローバル企業です。

当社とIVH社が協働することにより、北米にてバイオアナリシスを必要とする国内製薬企業に対して、臨床試験サービスやその他の補完サービスを提供します。また、日本に進出する海外製薬企業に対

して、バイオアナリシス、日本規制当局への承認申請の準備、CMC³⁾サービスやその他の補完するサービスを提供します。

本提携により、グローバル化が進む製薬業界の動向に沿った様々なニーズへの的確にお応えしていきます。

注釈 1) Clinical Research Organization
注釈 2) Contract Commercial Organization
注釈 3) Chemistry, Manufacturing and Control

編集後記

住化分析センターの技術誌SCAS NEWS 2016-II号（通巻第44号）をお届けします。今号のテーマは、産業化に向けて日進月歩の研究開発が進められている「再生医療」です。再生医療はご病気やお怪我をされた方にとって新たな治療の選択肢となるだけでなく、動物やヒトによらない医薬品試験法の

開発や、より健康に生きようとする「予防・未病」という未来のライフスタイルにも繋がっていきます。その実現に向けて、当社も確かな品質評価技術を通じてお役に立ちたいと願っております。

豊かな社会の実現に向けて、当社がどんな技術開発を行っているのか、その分析技術はどのように役に立つのか、できるだけ多くの方に知っていただけるよう、また他分野の

方にもわかりやすいことを心がけて本誌を企画・編集致しました。今号も、再生医療以外に、医薬品、食品、労働衛生、電池、水素ステーション、新素材や規制等、多種多様な記事を掲載いたしました。当社の幅広い技術・事業に興味を持っていただき、皆様のお仕事にご活用頂いたら幸いです。ご愛読の程よろしくお願い申し上げます。

[Y.Y]

主な投稿論文・口頭発表等

2015.12→2016.5

投稿論文

【環境分野】

Development of quantitative immunochromatographic kit and visual screening immunoassay strip for cadmium
[Analytical & Bioanalytical Chemistry] (Springer 発行) Topical Collections: Immunoanalysis for Environmental Monitoring and Human Health, First online: 02 April 2016
新井秀和, 中村勝雄, 吉田寧子, 俵田啓* (技術開発センター, *関西電力㈱)

2006年, Codex 委員会はコメ中カドミウムの国際基準値を 0.4mg/kg と制定した。この基準値への対応を目的として, 迅速・簡便・オンサイトで実施できる「定量用イムノクロマトキット」, 「スクリーニング評価向け目視判定テストストリップ」, 及びコメや水試料に適用可能な新たな前処理法を開発した。本稿では, これらの原理・使用方法を解説すると共に, 実試料を用いた検証試験で得られた機器分析法との良好な相関について報告した。

【工業支援分野】

Electron Beam Sterilization of Cyclo Olefin Polymer Leads to Polymer Degradation and Production of Alkyl Radicals
[Journal of Applied Polymer Science] (John Wiley & Sons) Vol. 133, Issue 23, Page 43498 (2016)
今泉康文, 高橋永次, 韋 宏 (大阪ラボトリー)

Hideaki Kiminami*1, Yasufumi Imae*2, Eiji Takahashi*2, Hong Wei*2, Satoshi Oomura*1, Yoshihiko Abe*1 (*1 Terumo Corporation, *2 Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.)
シクロオレフィンポリマーは, 安定性や透明性の高さから, 医療材料として多く用いられる樹脂である。シクロオレフィンポリマー製の注射筒を電子線滅菌すると, 樹脂中でアルキルラジカルが発生し, 樹脂が分解することを各種分析手法 (NMR, LC-PDA-MS, GC-MS, ESR) によって明らかにした。

Quantitative analysis of cation mixing and local valence states in LiNi_{1-x}Mn_{2x}O₄ using concurrent HARECCXS and HARECES measurements
[Microscopy] (Oxford Journals 発行), 65 (3), 253-262, (2016)
Yu Yamamoto*1,*2, Kunimitsu Kataoka*3, Junji Akimoto*3, Kazuyoshi Tatsumi*2, Takashi Kousaka*1, Jun Ohnishi*1, Teruo Takahashi*1, and Shunsuke Muto*2 (*1 Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., *2 Nagoya University, *3 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST))
分析電子顕微鏡に付随する EDX・EELS 法はナノスケールの空間分解能をもつ組成解析法であるが, 結晶中の原子サイトごとの測定は困難だった。しかし, 結晶の原子面を選択的に励起できる電子チャンネルング効果を組み合わせることで, 原子サイトを特定した組成解析が可能となる。

本稿ではリチウムイオン二次電池材料にこの手法を適用し, 遷移金属元素の価数と占有サイトの関係を明らかにした。

【医薬分野】

Survey on the tiered approach for Japanese bioanalysts operated by Japan Bioanalysis Forum DG2014-09
[Bioanalysis] (Future Science 発行) Vol. 8, No. 2, Pages 93-98 (2016)

Makoto Niwa*1#, Nozomu Koseki*2, Yoshitaka Hashimoto*3, Tsuyoshi Mayumi*4, Naohiro Nishimura*5, Masahiro Satsukawa*6, Takahide Uchimura*7, Yutaka Yasuda*8 and Hiroyuki Yokoi*9 (*1 Nippon Kayaku Co., Ltd.*2 Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd.*3 Ono Pharmaceutical Co., Ltd.*4 Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation*5 Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.*6 Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.*7 Chugai Research Institute for Medical Science, Inc.*8 Toray Research Center, Inc.*9 Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.)

段階的アプローチは, 医薬品の開発初期段階では分析法の検証を限定的にのみ行い, 順次検証項目を充実させていく手法であり, EBF 及び GBC で検討され, その概念は日本の BMV ガイドラインにも取り入れられている。今回, 段階的アプローチ活用の現状分析として, アンケート調査とその結果からの考察を行った。

口頭発表等

【環境分野】

Cadmium ~ Cadmium monitoring test kit
長谷川あゆみ (環境事業部)
Indonesia National University, 2015年12月2日

封じ込め性能評価における代替試料の特性

長谷川あゆみ, 長崎健一* (環境事業部, *日揮㈱)
2016年 ISPE 日本本部年次大会 (タワーホール船堀 東京), 2016年4月15日

【電子分野】

GCIB および XAS を用いた Ir(ppy)₃:TPBi 混合薄膜の深さ方向評価
福澤仁志, ○高橋永次, 山内大輔, 今西亮也, 末広省吾, 村松康司* (技術開発センター, *兵庫県立大学)
第35回表面科学学術講演会 (つくば国際会議場), 2015年12月1日-3日

分析技術・委託分析商品紹介

藍原弘行 (千葉ラボトリー)
台湾住化分析中心股份有限公司主催セミナー (台湾工業技術研究院), 2016年1月15日

過渡吸収分光法によるエレクトロニクスデバイス・材料評価

東 遼介 (技術開発センター)
文部科学省ナノテクノロジープラットフォーム事業 微細構造解析プラットフォーム 平成27年度 第2回 ANCF 設備利用講習会 (産業技術総合研究所), 2016年2月3日

有機エレクトロニクスの開発及び製造で有用となる分析評価技術

行嶋史郎, 高橋永次* (電子事業部, *技術開発センター)
第9回 有機光エレクトロニクス産業化研究会 (九州大学権木講堂), 2016年4月15日

Development of a new method of analyzing molecular orientation by soft X-ray absorption spectroscopy (XAS)

○高橋永次, 今西亮也, 末広省吾, 榎里善幸*1, 村松康司*2, Eric M. Gulikson*3 (住住化分析センター, *1山形大学, *2兵庫県立大学, *3 Lawrence Berkeley National Laboratory)
Eiji Takahashi¹, Katsuya Imanishi¹, Shogo Suehiro¹, Yoshiyuki Suzuri², Yasuji Muramatsu³, Eric M. Gulikson⁴ (*1 Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., *2 Innovation Center for Organic Electronics, Yamagata University, *3 Graduate School of Engineering, University of Hyogo, *4 The Center for X-ray Optics within Lawrence Berkeley National Laboratory)
XOPT 2016 (International Conference on X-ray Optics, Detectors, Sources, and their Applications 2016) (パシフィコ横浜), 2016年5月18日~20日

【工業支援分野】

化学プラントの防護層解析 [LOPA]

菊池史史 (工業支援事業部): プラント安全講座
第37回安全工学セミナー (化学会館 東京), 2015年11月19日

【次世代蓄電池材料評価技術開発】プロジェクトの詳細

末広省吾 (技術開発センター)
次世代蓄電池材料評価技術開発 (事後評価会) (産業技術総合研究所・関西センター), 2015年11月30日

医療機器の生物学的安全性評価

亀田尚司, 吉岡孝文 (工業支援事業部)
「医療機器の生物学的評価」セミナー (浜松商工会議所), 2015年12月1日

可燃性粉じん危険性

田中利幸 (工業支援事業部)
炭素材料学会1月セミナー (日本教育会館 東京), 2016年1月22日

事例を交えて解説! 異物混入の発生要因から効果的な分析手法

原因究明・防止策まで
末広省吾, 有賀のり子 (大阪ラボトリー)
病情情報主催セミナー (きゅりあん 東京), 2016年2月24日

化学プラントの半定量的リスクアセスメント手法: 防護層解析 (LOPA)

菊池史史 (工業支援事業部)
第38回 2016 産業安全対策シンポジウム (三田 NN ホール (東京)), 2016年2月24日

先端蓄電池評価技術の紹介

八木一彦 (工業支援事業部)
第7回国際二次電池展 (東京ビッグサイト), 2016年3月2日-4日

【電子分野&工業支援分野】

住住化分析センターにおけるリチウムイオン電池分析の取り組み - 電極の構造解析ならびにその場分析の事例を中心に -
末広省吾 (技術開発センター)
第7回国際二次電池展 (東京ビッグサイト), 2016年3月2日

【電子分野&医薬分野】

バイオロジカルクリーンルーム及びアインシロタ空間内の清浄度実態調査
○池田 慧, 飯川隼子, 内原有紀, 藤井博史, 峰岸正倫* (千葉ラボトリー, *大分ラボトリー)
第33回空気清浄とコンタミネーションコントロール研究大会 (早稲田大学国際会議場), 2016年4月19日-20日

【医薬分野】

薬物動態における LC/MS 解析
上田和広 (大阪ラボトリー)
第38回回量分析講習会 (千里ライフサイエンスセンター), 2015年12月24-25日

ICH M7 ガイドラインをふまえた医薬品中の変異性不純物分析 実践

小西 太 (大阪ラボトリー)
衛サイエンス&テクノロジー主催セミナー (エクセレントビル 東京), 2016年1月29日

DG ポスター発表及びポスターセッション

生体試料中薬物濃度測定における疑問・難問/キャリアオーバー/内因性物質の定量 (2) / Scientific Validation について考える / マイクロサンプリング - 実施状況と運用上の問題点 - / 抗薬物抗体 (ADA) 分析
西村直浩, 仁井一夫, 牟田口国利, 松井誠一, 橋本有樹, 宮本裕恵 (大阪ラボトリー)
第7回 バイオアナリシスフォーラムシンポジウム (タワーホール船堀 東京), 2016年3月9日-10日

小動物 Plasma Micro-Sampling (PMS) 技術の活用

○仁井一夫, 斧研雅子* (大阪ラボトリー, * ㈱イナリサーチ)
第7回 JBF シンポジウムランチョンセミナー (タワーホール船堀 東京), 2016年3月9日-10日

細胞加工医薬品の品質及び安全評価性に向けた細胞分泌物の網羅的半定量的解析

○高橋昭博, 寺井織枝, 丸谷隆子, 岡崎孝太郎, 上田千晶, 十亀祥久, 柳 和則 (技術開発センター)
第15回日本再生医療学会総会 (大阪国際会議場), 2016年3月18日

細胞外小胞体「エクソソーム」の単離精製に関する比較検討

○高橋昭博, 丸谷隆子, 岡崎孝太郎, 十亀祥久, 柳 和則 (技術開発センター)
第64回回量分析総合討論会 (ホテル飯倉エクス泊パーク), 2016年5月18日

【化学品安全分野】

米国 TSCA (有害物質規制法)
笠岡裕子 (化学品安全事業部)
化学工業日報社主催 (米国法規制セミナー) [TSCA の現状] (アイビーホール 東京), 2016年3月1日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月4日

米国 TSCA PMN 申請フォームについて

清水英之 (化学品安全事業部)
化学工業日報社主催 (米国法規制セミナー) [TSCA の現状] (アイビーホール 東京), 2016年3月1日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月4日

カリフォルニア州規制

笠岡裕子 (化学品安全事業部)
化学工業日報社主催 (米国法規制セミナー) [カリフォルニア州規制の動向] (アイビーホール 東京) 2016年3月1日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月4日

ロシア・スイスの化学物質規制動向

林まき子 (化学品安全事業部)

㈱化学工業日報社主催 (海外規制セミナー) [スイス・ロシア・トルコ・インド・ブラジル・メキシコの化学物質規制の現状とラベル・SDS 作成実務] 第1講 (アイビーホール 東京) 2016年3月8日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月11日

トルコ・インドの化学物質規制の現状

片江 等 (化学品安全事業部)
㈱化学工業日報社主催 (海外規制セミナー) [スイス・ロシア・トルコ・インド・ブラジル・メキシコの化学物質規制の現状とラベル・SDS 作成実務] 第2講 (アイビーホール 東京) 2016年3月8日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月11日

メキシコ・ブラジルの化学物質規制の現状

中島 望 (化学品安全事業部)
㈱化学工業日報社主催 (海外規制セミナー) [スイス・ロシア・トルコ・インド・ブラジル・メキシコの化学物質規制の現状とラベル・SDS 作成実務] 第3講 (アイビーホール 東京) 2016年3月8日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月11日

トルコ・スイス・ロシア・インド・メキシコ・ブラジルのラベル / SDS 作成動向

中谷圭吾 (化学品安全事業部)
㈱化学工業日報社主催 (海外規制セミナー) [トルコ・スイス・ロシア・インド・メキシコ・ブラジルの化学物質規制の現状とラベル / SDS] 第4講 (アイビーホール 東京) 2016年3月8日 / (ヴァーアール大阪) 2016年3月11日

世界の化学物質規制の潮流 - アジア (中・韓・台)・日本・欧州・米国を中心に -

林まき子 (化学品安全事業部)
第23回化学安全講習会 (化学品安全事業部), 2016年5月19日

住住化分析センター主催セミナー

【工業支援分野】

【材料解析セミナー】兼分析技術相談会 (文京シビックセンター), 2015年12月7日
無機元素分析のご紹介 明鏡伸介 (愛媛ラボトリー)
ESR を中心とした高分子材料の劣化評価
有賀のり子 (大阪ラボトリー)
異物分析の事例のご紹介 藤原 豊 (千葉ラボトリー)
最新透過電子顕微鏡による評価技術のご紹介
真家 信 (京波ラボトリー)

【日本中国自動車部品向け分析セミナー (RCC 文化センター 広島), 2016年3月3日

自動車部材の VOC 評価 / 車載用機器の耐環境試験 / 中国現地での各種分析サービス
小谷智弘, 田嶋康宏, 近藤和貴* (千葉ラボトリー, * 事業推進室)

【化学品安全分野】

【韓国・台湾 化学物質規制セミナー (文京シビックホール スカイホール 東京), 2015年12月8日 / (大阪産業創造館), 2015年12月14日
化学物質管理の世界の潮流 最近の技術的課題と留意点 (特に欧米の動きについて)
齋藤昇二 (化学品安全事業部)

韓国の化学物質規制の最新動向
野口貴子 (化学品安全事業部)
台湾の化学物質規制の最新動向
中島 望 (東京会場), 片江 等 (大阪会場) (化学品安全事業部)

【化学物質のリスクアセスメントセミナー (福岡ビル), 2016年1月27日

化学物質の安全管理の基礎 - 安全性情報とリスクコミュニケーションツールとしての SDS-
吉岡孝文 (化学品安全事業部)
韓国および台湾における化学物質規制の最新動向
片江 等 (化学品安全事業部)

【化学物質管理と医療機器開発支援オープンセミナー (延岡市中小企業振興センター), 2016年2月24日

医療機器・材料の生物学的安全性評価 - 材料の化学的キャラクタリゼーションと生体適合性試験 -
吉岡孝文 (化学品安全事業部)

▶ NMR を用いた当社測定サービスの紹介

▶▶1 定量 NMR 法による有機化合物の絶対量測定

1. 定量 NMR (qNMR) は、国際単位系 (SI) でのトレーサビリティが確保された基準物質を用いて信頼性の高い純度値を測定する方法です。最小必要試料量は 1 mg で、クロマトグラフィーによる定量分析とは異なり、分析対象と同一成分の基準物質は不要であることが定量 NMR の最大の特徴です。そのため、定量 NMR は日本薬局方、食品添加物公定書や試薬メーカーにおける試薬の純度の値付けにおいて採用される等、近年急速に普及してきています。

定量 NMR がその有用性を発揮するケースを 2 例紹介します。1 つ目は、同時に 1 つの分析法 (検出法) で検出できない夾雑物が含まれている場合です。例えば水分や無機塩は、UV 検出器では検出できません。

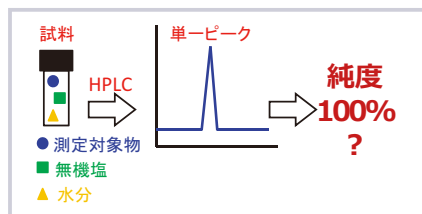


図1 UVで検出されない不純物がある場合

クロマトグラフィーにおいて、単一ピークしか検出されなかった場合には、誤って純度 100% とする恐れがあります (図 1)。2 つ目は、同一成分の標準品の調製が困難な場合です。例えば天然物から単離・精製する化合物の場合、標準品の調製が困難なため、クロマトグラフィーでは正確な定量ができない場合があります。

このようなケースにおいては定量 NMR が有用です。当社が提供する定量 NMR の測定では、測定条件設定に加え、測定法のバリデーション試験も実施しております。1,4-BTMSB- d_4 を基準物質としてマグノロール (図 2) を測定した例を図 3 に示します。このように、基準物質や溶媒と重ならない試料のシグナルを測定対象としています。

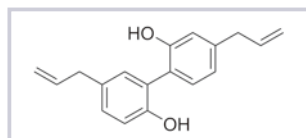


図2 マグノロールの構造式

2. 「新有効成分含有医薬品のうち原薬のガイドライン Q3A)」では、1 日最大投与量が 2 g 以下の原薬に対して、0.10% 以上 (原薬 1.0 g 中に 1.0 mg 以上) 含まれる不純物の構造決定が必要とされています。このような微量の不純物の構造解析では、分析に必要な量の確保のための分取・精製に時間を要します。

当社は、高感度測定が可能なクライオプローブローブ搭載の NMR を用いた測定サービスを提供しております。分取・精製の時間が削減でき、微量の試料にも対応可能です。お客様にご満足いただけるサービスを提供いたします。

測定試料量 ¹³ C NMR, HMBIC, etc.	ノーマルプローブ測定 30 mg	クライオプローブ測定 0.5 mg
分取に必要な最低試料 (原薬等) 量	約 30 g	約 0.5 g
単離・精製	長時間	短時間

図4 クライオプローブの有用性 (構造決定が必要な閾値: 0.1% (=1 mg/g) を取得する場合)

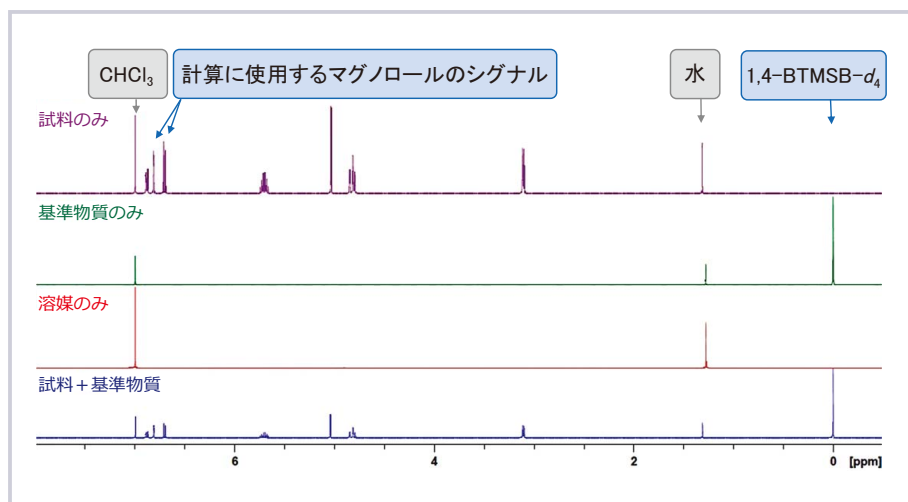


図3 定量NMRの測定法バリデーション例 (特異性)



図5 クライオプローブ搭載NMR

分析サービス・製品に関するお問合せ

Web <http://www.scas.co.jp/inquiry/>
 ■ お問合せフォーム ■ 依頼票ダウンロード

☎ 電話 03-5689-1219

☎ FAX 03-5689-1222

✉ メール marketing@scas.co.jp

企業情報

Web <http://www.scas.co.jp/company>
 ■ 所在地案内 ■ グループ会社案内 など

SCASNEWS誌に関するお問合せ

✉ メール scasnews@scas.co.jp

☎ 06-6202-1807 ☎ 06-6202-0116

SCAS NEWS 2016-II (通巻44号)

発行 2016.8.26

発行者 株式会社住化分析センター

〒541-0043 大阪市中央区高麗橋4-6-14 住化不動産横堀ビル

編集担当 技術室

SCAS Sumika Chemical
Analysis Service

はインシュタインの疑問符です。彼のあくなき好奇心と探求心こそが、宇宙真理発見の原動力だったのかも知れません。

[無断転載禁止]