

Technical Note テクニカルノート No.TKsd-01/1 2025-05-27

Title: Accelerated Predictive Stability for Vaccines 迅速化されたワクチンに対する安定性予測



このテクニカル・ノートNo.TKsd-01は2020年7/8月に発行された**STP PHARMA PRATIQUES**に掲載された記事についての情報を和訳しています。 SFSTP(フランス薬学会)は製薬業界の専門家が関心を持つ質問に答える科学的、実践的、運用上のガイドラインを作成しています。読者が研究所、サプライヤー、または研究や教育に関与しているかどうかにかかわらず、科学を進歩させるために対処する必要がある問題や課題に対して集合的な対応を提供します。

STP PHARMA PRATIQUES RENDEZ-VOUS SFSTP OF CONTINUOUS IMPROVEMENT

Accelerated Predictive Stability for Vaccines

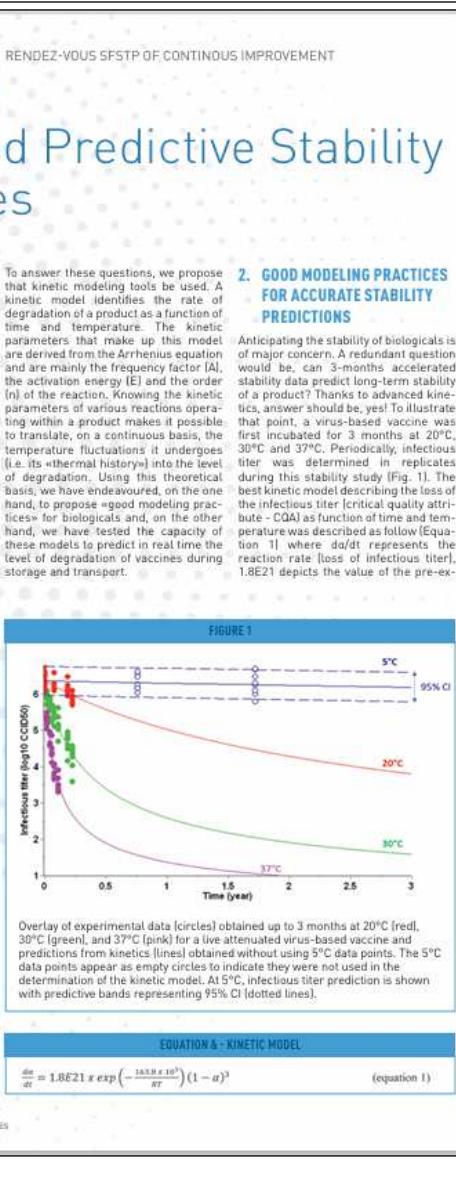
1. INTRODUCTION

The main challenge for the formulation of biologically derived products is to control the rate of degradation of their constituents to ensure an acceptable lifetime during storage and transport around the world [1-3]. The concept of stability of biological compounds (proteins, viruses, bacteria) is complex to understand, involving theoretically, concepts of both thermodynamics and advanced kinetics. One way of estimating protein stability is to study the denaturation when a protein is subjected to chemical stress (denaturing agents, pH) or physical stress (temperature, pressure, etc.). The temperature to which a compound of biological origin is exposed is a key parameter that directly impacts its degradation rate and therefore its stability. Owing to their sensitivity to temperature, many vaccines are stored in refrigerated conditions (between +2°C and +8°C). Their exposure to higher temperatures may cause a more or less rapid alteration of their key properties (antigenicity, infectious titer, structure, oligomeric state, etc.). Thus, there are some obvious questions: At what temperature should a biological be stored? How long can it be kept in unrefrigerated conditions? At what rate does this product degrade depending on the temperature to which it is exposed? What is the impact of one or more temperature excursions during storage or transport (breaking of the «cold chain») on the quality of the product?

Author
Didier CLÉNET
Bioprocess Research & Development
Sanofi Pasteur, Marcy l'Étoile, France

Key words
stability predictions of products
good modeling practices
real-time shelf-life monitoring

36 | JULY/AUGUST 2020 • N°96 | STP PHARMA PRATIQUES



この文書はAKTS“Technical comments”に参考文献として掲載されています。

この文献の著者であるDidier Clénet 氏は Bioprocess Research & Development Sanofi Pasteur, Marcy l'Étoile, France に所属されています。

AKTS社は反応速度論解析ソフトウェアTKの一部の機能として使用されていたTKsdソフトウェアをEUのバイオ製薬会社とバイオ医薬品の保管時間の予測機能を強化と改良を進めてきました。2025年7月にTKsdソフトウェアは Version7.0として登場します。

AKTS社のTK(反応速度論解析)ソフトウェアは熱量計示差走査熱量計(DSC)のように、測定データが数1000点以上の連続データを対象としています。一方のTKsdは加速試験データのように非連続データで、データ数が数個あるいは数10個の加速試験データを対象としていました。

TKsdのsはsparse(間引き)、dはdataで間引きデータの意味になります。

加速試験データは寿命推定を解析対象として劣化反応の活性化エネルギーや前指數因子および反応次数の反応速度論パラメータを算出します。劣化反応式を探索することにより、さまざまな温度、時間における劣化状態を予測することができます。

なおこの文献のオリジナル（PDFファイル）をご希望の方は info@palmetrics.co.jp にご連絡ください。

The abbreviations used are: - E, energy of activation; - A, frequency factor;

- n, order of the reaction; - AIC, Akaike information criteria;
- BIC, Bayesian information criteria; - RSS, residual sum of square;
- CQA, critical quality attributes;
- ICH, international conference of harmonization

TKsdソフトウェアは応用分野をバイオ医薬品の寿命評価ツールとして大幅に機能強化されます。これに伴い、TKsdの応用データに限定したテクニカルノートを独立させて掲載するようにします。
(2025_05_28)

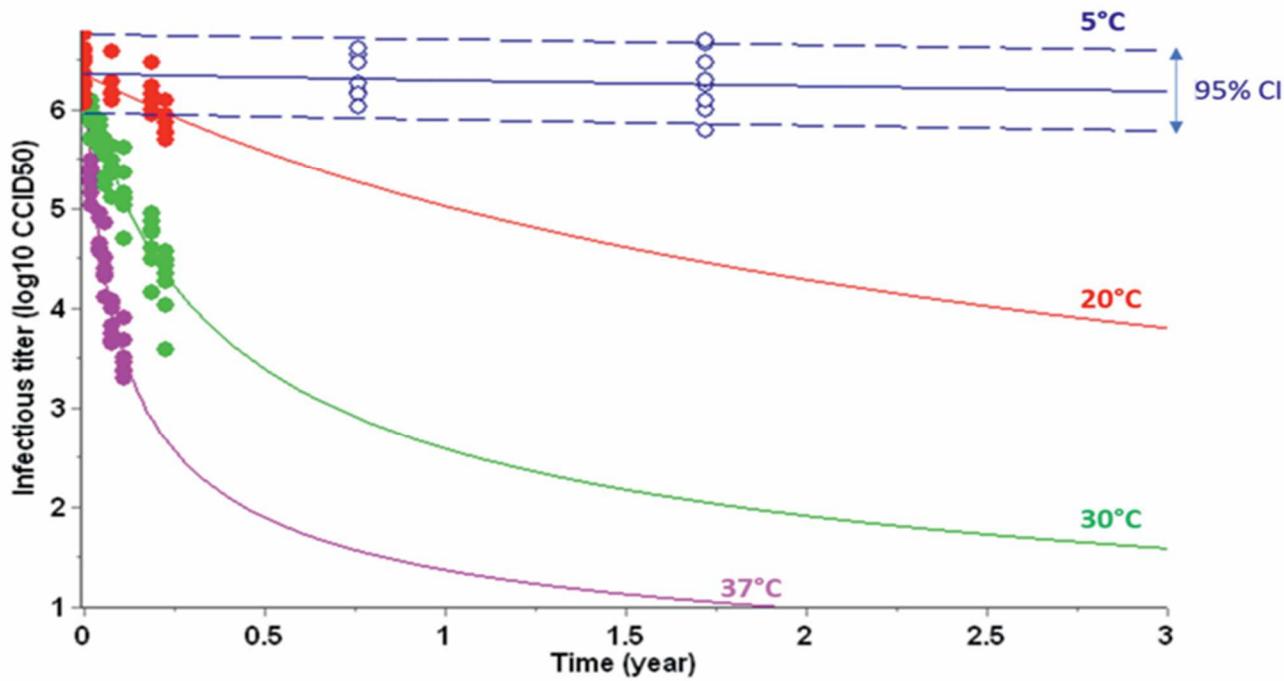
Technical Note テクニカルノート No.TKsd-01/2 2025-05-27

Title: Accelerated Predictive Stability for Vaccines 迅速化されたワクチンに対する安定性予測

1. Introduction

バイオ医薬品の製剤分野における主な課題は、貯蔵および製薬会社から世界各地への輸送中に、許容できる寿命を確保することであり、そのためにバイオ医薬品の構成成分の分解速度を制御することです。生物化合物（タンパク質、ウイルス、細菌）の安定性の概念は理解するのが複雑であり、理論的には熱力学と高度な動力学の両方の概念を含みます。タンパク質の安定性を推定する一つの方法は、タンパク質が化学的ストレス（変性剤、pH）や物理的ストレス（温度、圧力など）にさらされたときの変性を観察することです。生物由来の化合物が曝露される温度は、その分解速度およびしたがってその品質の安定性に直接影響を与える重要なパラメータです。温度に対する感受性のため、多くのワクチンは冷蔵条件（+2°Cから+8°Cの間）で保管されます。高温にさらされると、抗原性、感染力量、構造、オリゴマー状態などの重要な特性がより速い、あるいは遅い変化を引き起こす可能性があります。したがって、以下に示すように ①生物製品はどの温度で保管すべきか？ ②冷蔵されていない条件でどのくらいの期間、保存が可能か？ ③この製品は曝露される温度に応じてどのくらいの速度で分解するのか？ ④貯蔵または輸送中の一回以上の温度変動（「コールド・チェーン」の品質破損）が製品の質にどのように影響を与えるか？などの疑問点を明らかにする必要があります。

Fig_01



弱毒ウイルス・ベースのワクチンに関して、20°C(赤●), 30°C(緑●), 37°C (紫●)での最大3ヶ月間取得された実験データの重ね書きと、5°Cデータポイント (○)得られた動態(実験データ)を示します。

なお5°Cのデータポイントは、動的モデルの決定に使用されなかったことを示すために空白の円 (○)として表示されています。5°Cにおける感染力の予測は、95%信頼区間を表す予測バンド（点線）とともに示されています。

これらの質問に答えるために、動的モデル化ツール(*01)の使用を提案します。

動的モデルは、製品の劣化速度を時間と温度の関数として特定します。このモデルを構成する動的パラメータは、アレニウス方程式から導出され、主に頻度因子 (A)、活性化エネルギー (E)、反応の次数 (n) で構成されています。 製品内で動作するさまざまな反応の動的パラメータを知ることで、それが受ける温度の変動（つまり「熱履歴」）を継続的に劣化レベルに変換することが可能になります。この理論的基盤を使用して、私たちは一方で生物製剤の「良いモデル化の実践」を提案し、他方で、ストレージと輸送中のワクチンの劣化レベルをリアルタイムで予測するためのこれらのモデルの能力をテストしてきました。

* 01：動的モデル化ツールは AKTS社のThermokineticsの非連続データモードを利用しています。この機能は2023年に TKsd_Version5.6としてThermokinetics (TK) とは切り離され、さらに2025年7月にはTKsd_Version7になります。

Technical Note テクニカルノート No.TKsd-01/3 2025-05-27

$$\frac{d\alpha}{dt} = 1.8E21 \times \exp\left(-\frac{163.8 \times 10^3}{RT}\right) (1 - \alpha)^3$$

Equation 1

2. 正確な安定性予測のための良好なモデル化の実践

生物製剤の安定性を予測することは大きな関心事です。冗長な質問ですが、3ヶ月の加速安定性データは製品の長期安定性を予測できるでしょうか？先進的な動力学ソフトウェアのおかげで、答えは「YES」となるはずです！

この点を示すために、ウイルスベースのワクチンを20°C、30°C、37°Cで3ヶ月間、恒温槽に保存されました。この安定性研究の間、感染性力価は定期的に複製することで測定されました。

感染性力価（重要な品質属性 -CQA）の損失の時間と温度の関数として最も良い動力学モデルは上段の(Equation 1)で示されます。ここで $d\alpha/dt$ は反応速度（感染性力価の損失）を表し、1.8E21は前指数因子の値、指数項164.8E3は、この3次反応の活性化エネルギー(kJ/mol)の値を示しています。この方程式は、20°C、30°C、37°Cの3年間の反応の進行をシミュレーションするために使用されました。この製品の推奨保存温度である5°Cでも行われました。

またブートストラップ分析を使用して、長期予測に予測バンドが追加されました (Fig_01)。

5°Cで1年半以上にわたって得られた実験的安定性データは主に予測バンドに含まれており、短期安定性データで以前に構築されたEquation1が、このワクチンに対する時間と温度の関数として感染力損失を正確に表すことができたことを示しています。これらの結果と以前の公表された研究[4-7]に基づいて、「良好なモデル化慣行」が4つの段階で提案され、生物学的製品のための動的モデルの体系的な決定を目指しています。

第1段階では、便利な予測安定性研究を行うためのルールが定義されています。

それには、少なくとも3つの培養温度（通常は5°C、25°C、37°Cまたは40°C）で得られた20～30個の実験データポイントが必要であり、より過酷な条件（例：40°Cでの数週間または数ヶ月）下で**20%を超える**反応の進行（すなわち、劣化）が達成される必要があります。無制限の数の動的モデル式を最小二乗回帰分析に従ってスクリーニングすることが、良好なモデル化慣行の**第2段階**を定義します。ゼロおよび一次の経験モデルや、より複雑な多段階の動的モデルが、実験的加速安定性データにフィットするようにスクリーニングされなければなりません。

この段階では、動的パラメータ（A, E, n, m）の調整が体系的に行われます。あらゆる種類の反応は、劣化経路の複雑さに関係なく、動的モデルによって説明できることが示されました[4]。

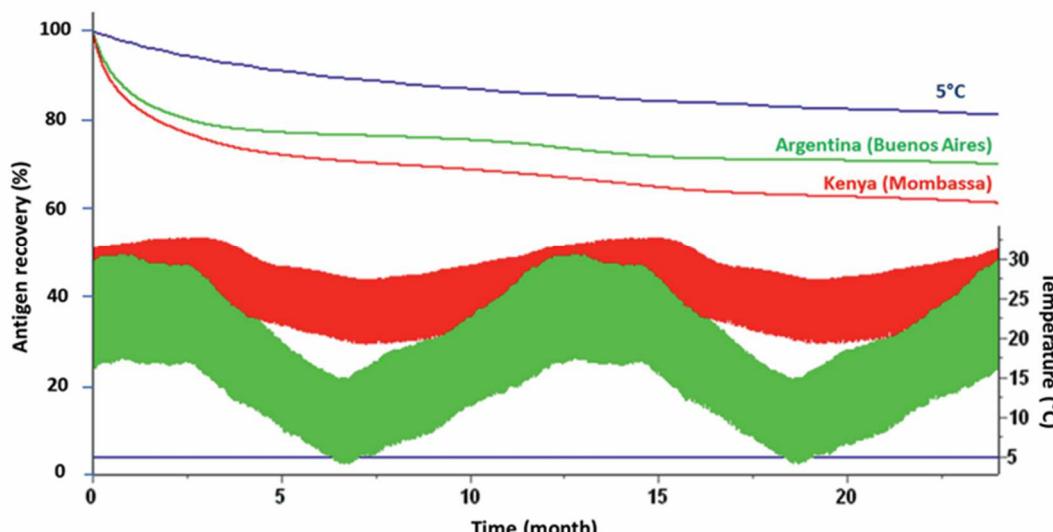
第3段階は、最適なモデルの選択を目指します。

反応の進行（すなわち、抗原性、純度などの喪失）を最もよく説明するモデルが、モデル比較スコア(AIC、赤池情報量規準；BIC、ベイズ情報量規準) や適合度の質（RSS、残差平方和）などの統計的パラメータに基づいて特定されます。

この時間と温度の関数として反応速度を説明する動的方程式は、したがって、どんな保存条件（長期安定性）や出荷中における温度変動により、反応の進行をシミュレーションするために使用されます。

第4段階は予測バンド（すなわち95%の信頼区間）の決定することです。実験データセットにブートストラップ分析を使用して予測バンドを定義します。このように動的モデルが開発されると、ワクチンの適切な保存条件の推奨や、保存期間および出荷中のリアルタイムの消費期限モニタリングなど、多くの応用が生まれます。

Fig_02



24か月間、アルゼンチンのブエノス・アイレスとケニアのモサン・ピークの気象温環境温度にバイオ・ワクチンが保存されたと仮定します。このワクチンがこれらの町の気候温度条件で保存された場合、継続的に抗原性が喪失する状況を2年にわたってシミュレートしています。冷蔵庫の外の気候条件温度で保存されたサンプルに対して抗原回収の有意な喪失が予測されました。冷蔵保存条件と比較すると、気候温度条件の2年間では抗原性が10～20%減少する追加的な喪失が予想されました。

Technical Note テクニカルノート No.TKsd-01/4 2025-05-27

3. 製品のリアルタイム保存期間モニタリング

不活化ウイルスベースのワクチンに含まれる変異体A、B、Cの動的モデルは、良好なモデリング・プラクティスに従って定義され、その後、さまざまな状況下での製品安定性を予測するために使用されました。動的モデルはワクチンの劣化に関する時間と温度の変動の関係を統合することを知っているため、抗原回収に対するワクチンの保存条件の影響が評価されました。

アルゼンチンのブエノスアイレスとケニアのモンバサの公式な気候温度の変動データが、変異体Aの動的モデルを定義する方程式に組み込まれました。このワクチンがこれらの町で気候温度条件で保存された場合、継続的に抗原性が喪失する状況を2年にわたってシミュレートしています (Fig_2)。

シミュレーションの結果によれば保存条件による強い影響が示され、冷蔵庫の外の気候条件温度で保存されたサンプルに対して抗原回収の有意な喪失が予測されました。冷蔵保存条件と比較すると、気候温度条件の2年後では抗原性が10~20%減少する追加的な喪失が予想されました (Fig_2)。

このようなシミュレーションにより、この実験的ワクチンの熱感受性の評価が可能となり、適切な保存条件として冷蔵室を使用することが正当化されました。動的モデルは、任意の時間/温度条件下での製品の劣化の程度を予測できますが、劣化のメカニズム的な基礎情報がなくても劣化予測が可能であることを強調すべきです。

これらは、反応の進行をフィッティングするために適用される現象論的数学モデルを示しているに過ぎません。

保存および発送中の温度の変動がワクチンの品質に与える影響は、適切な動的モデルを用いて正確に推定できます。

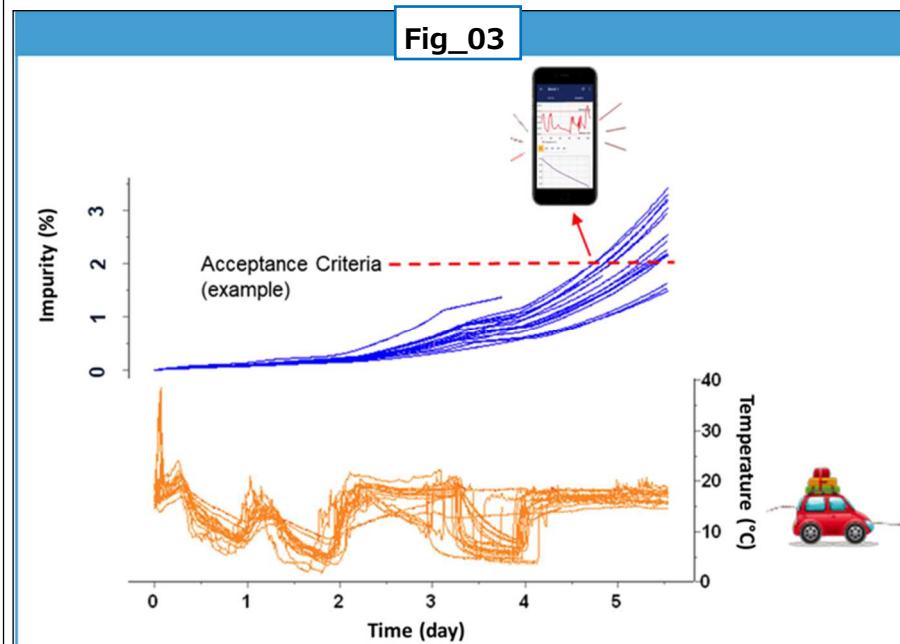
リヨンからバルセロナまで、夏季に周囲温度で輸送され、フランスからカナダに飛行機で到達するために大西洋を横断する実験的ワクチンのための最初の有望な結果が得られました。これらのサンプルの抗原性回復は、出荷中に継続的にシミュレートされ、実験データと10%未満の誤差で一致する最終値に至りました。

現在の製品の劣化の程度を知るにはデータロガーによって記録された温度変動を直接変換し、製品の保存期間をリアルタイムでモニタリングすることが提案されました。さらに、製品の出荷中の温度変動を監視することは別に、データロガーに動的パラメータを実装することにより、製品の品質のリアルタイムモニタリングも可能になります。

このような技術を使用することで、製品の品質受入基準が悪影響を受けた場合に、警告を発することができます (Fig_03)、警告がある場合は製品がもはや品質が良くないことを意味します。さらに、このような技術は、製品が「コールドチェーン」(すなわち+2°C~+8°C)を超えて、保管温度の軽微な逸脱を受けた場合でも、製品の無駄を回避するのに役立ちます。

ここで説明されている運動に基づくモデリングアプローチは、製品の保管期限を推定し、さまざまな温度変化における製品の劣化レベルを予測し、製剤をランク付けし、長期的な安定性予測においてバッチを比較し、保管期間や出荷時の製品のリアルタイム賞味期限を監視するために有利に使用することができます。

Fig_03



製品の輸送中における不純物の継続的な増加現象(上部、青色曲線)は、車両による輸送中の周囲温度の変化(下部、オレンジ色曲線)によるものです。反応の程度(不純物濃度の増加)は、データロガーによって記録された温度変動を劣化反応を説明する動力学モデルを取り入れることによって継続的な増加現象を予測して決定することができます。

許容される不純物の濃度を、説明のために例えば2%以下の受入基準(オレンジ色の破線)に固定したとします。2%の受入基準を超過したとき、ユーザーはスマート・フォンのアプリケーションにより、アラート信号を受け取ることができます。

Technical Note テクニカルノート No.TKsd-01/5 2025-05-27

Title: Accelerated Predictive Stability for Vaccines 迅速化されたワクチンに対する安定性予測

数年前から、このようなモデリングによる予測結果は、ワクチンの有効期限の延長をサポートすることや、ワクチンが有効期限の最後まで保管される際に標準保管条件からの短期間の温度逸脱を特定することを目的として、様々な健康当局に定期的に提出されてきました。この経験に基づき、ほとんどの規制機関は、書類提出におけるこれらのモデリングアプローチの貢献に対して現在オープンです。

このような動的モデリング手法が提供する機会を利用して、ワクチンを含む生物製品の有効期限推定に関するICHガイドラインのさらなる改善が期待されます。

謝辞 :

著者は、Fig_01のために提供された安定性データに対してEMILIE BAZINとALEXIS PARISOTに感謝し、Fig_03を作成するために転送された実験温度プロファイルに対してAZRA JEGADOに感謝します。

References:

- [1] O.S. Kumru, S.B. Joshi, D.E. Smith, C.R. Middaugh, T. Prusik, D.B. Volkin, Vaccine instability in the cold chain: mechanisms, analysis and formulation strategies, *Biologicals*, 42 (2014) 237-259.
- [2] U. Kartoglu, J. Milstien, Tools and approaches to ensure quality of vaccines throughout the cold chain, *Expert Rev Vaccines*, 13 (2014) 843-854.
- [3] N. Dumpa, K. Goel, Y. Guo, H. McFall, A.R. Pillai, A. Shukla, M.A. Repka, S.N. Murthy, Stability of Vaccines, *AAPS PharmSciTech*, 20 (2019) 42.
- [4] **B. Roduit**, M. Hartmann, P. Folly, A. Sarbach, R. Baltensperger, Prediction of thermal stability of materials by modified kinetic and model selection approaches based on limited amount of experimental points, *Thermochimica Acta*, 579 (2014) 31-39.
- [5] D. Clenet, F. Imbert, P. Probeck, N. Rahman, S.F. Ausar, Advanced kinetic analysis as a tool for formulation development and prediction of vaccine stability, *J Pharm Sci*, 103 (2014) 3055-3064.
- [6] D. Clenet, T. Vinit, D. Soulet, C. Maillet, F. Guinet-Morlot, A. Saulnier, Biophysical virus particle specific characterization to sharpen the definition of virus stability, *European journal of pharmaceutics and bio pharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 132 (2018) 62-69.
- [7] D. Clenet, V. Hourquet, B. Woinet, H. Ponceblanc, M. Vangelisti, A spray freeze dried micropellet based formulation proof-of- concept for a yellow fever vaccine candidate, *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 142 (2019) 334-343.
- [8] D. Clenet, Accurate prediction of vaccine stability under real storage conditions and during temperature excursions, *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 125 (2018) 76-84.
- [9] **B. Roduit**, C.A. Luyet, M. Hartmann, P. Folly, A. Sarbach, A. Dejeaifve, R. Dobson, N. Schroeter, O. Vorlet, M. Dabros, R. Baltensperger, Continuous Monitoring of Shelf Lives of Materials by Application of Data Loggers with Implemented Kinetic Parameters, *Molecules*, 24 (2019) 2217.