

PMDA細胞組織加工製品専門部会

2013年12月24日



細胞調製施設の構造設備について

東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野
同・医学部附属病院細胞治療センター



登録証番号：JQA-QMA11047

登録事業者：
東京医科歯科大学医学部附属病院
細胞治療センター
東京都文京区湯島1-5-45

森尾友宏

本日の話題

1) 構造設備要件及び付随する運用・管理要件の検討体制

2) 細胞調製加工施設の構造要件

- 細胞調製加工に必要な作業区域区分と清浄度
- 空調システム及び環境モニタリング
(換気回数, 気流, 差圧, HEPA, 浮遊微粒子, 微生物, 温度, 相対湿度, 風量, …)

3) 製造機器類

- セルプロセッシングアイソレータ
- (機器の故障)

再生医療等の安全性の確保等に関する法律

(構造設備の基準)

第四十二条

細胞培養加工施設の構造設備は、厚生労働省令で定める基準に適合したものでなければならない。

(特定細胞加工物製造事業者の遵守事項)

第四十四条

厚生労働大臣は、厚生労働省令で、細胞培養加工施設における特定細胞加工物の製造及び品質管理の方法、試験検査の実施方法、保管の方法並びに輸送の方法その他特定細胞加工物製造事業者がその業務に関し遵守すべき事項を定めることができる。

(立入検査等)

第五十二条

厚生労働大臣は、許可事業者又は届出事業者が設置する当該許可又は届出に係る細胞培養加工施設の構造設備が第四十二条の基準に適合しているかどうかを確認するため必要があると認めるときは、当該許可事業者若しくは届出事業者に対し、必要な報告をさせ、又は当該職員に、当該細胞培養加工施設若しくは事務所に立ち入り、その構造設備若しくは帳簿、書類その他の物件を検査させ、若しくは関係者に質問させることができる。

日本再生医療学会
(がん免疫関連学会、日本輸血・細胞治療学会等と連携)

細胞調製に関する施設
及び運用に対する考え方

(平成25年9月3日)
・日本再生医療学会
(推進戦略委員会)

免疫細胞療法
細胞培養ガイドライン

(平成25年11月25日)
・日本免疫学会
・日本がん免疫学会
・日本バイオセラピー学会
・癌免疫外科研究会
・血液疾患免疫療法研究会
・日本免疫治療学研究会

再生医療等基準検討委員会

*2ヶ月に1回程度開催(初回:7月10日、第2回:11月22日)
*委員
アカデミア、関連企業、認定・認証機関(NITE)
*オブザーバー
経産省、厚労省医政局・医薬食品局・PMDA、文科省

細胞培養加工施設基準WG

*2週間に1回程度開催(全8回程度)(初回:5月29日)
・細胞加工機関の基準等を検討(～秋頃)
*委員
アカデミア、関連企業、認定・認証機関(NITE)、PMDA
*オブザーバー
経産省、厚労省医政局・医薬食品局、文科省

細胞加工装置・機器基準WG

*1ヶ月に1回程度開催(全7回程度)(初回:11月18日)
*サブWG間での議論の調整等を行う。
*委員案
アカデミア、関連企業、認定・認証機関(NITE、JQA)
*オブザーバー
経産省、厚労省医政局・医薬食品局・PMDA、文科省

再生医療新法研究班

特定細胞加工物製造WG(WG3)(初回:10月7日)

・細胞培養加工施設の構造設備、遵守事項
・特定細胞加工物製造事業者が作成すべき記録内容、保存期間
・届出/許可/認定の申請/変更申請書の記載事項、定期報告事項

サブWG(仮)
消耗品・材料

サブWG(仮)
培養容器

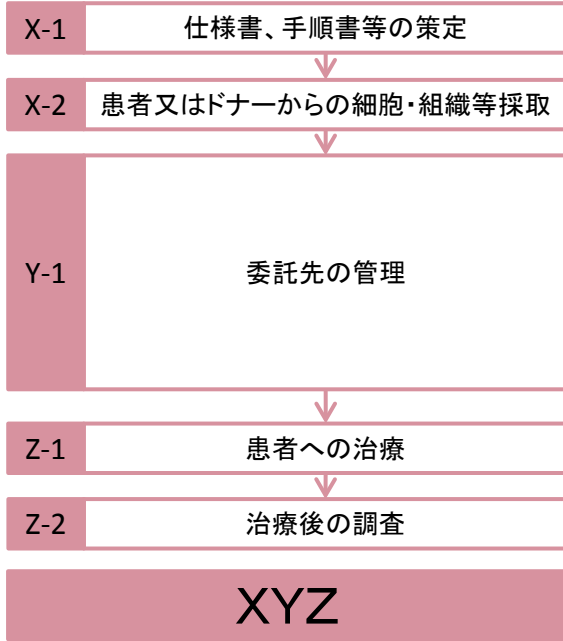
サブWG(仮)
培養機器
評価機器

サブWG(仮)
サービス
(物流等)

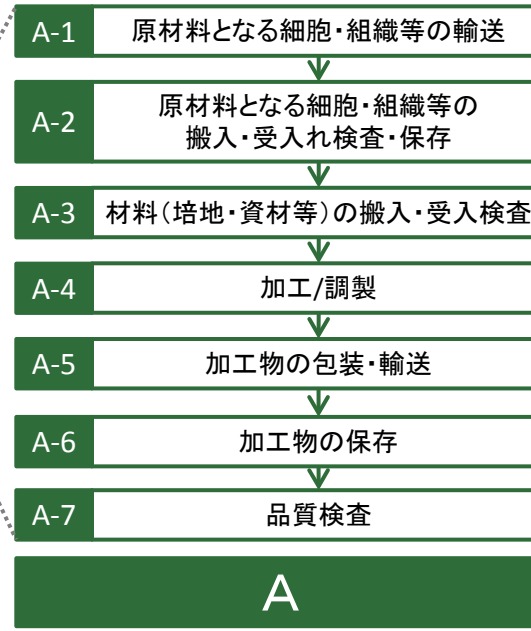
再生医療の安全性確保と
推進に関する専門委員会

細胞培養加工プロセスマップの構造

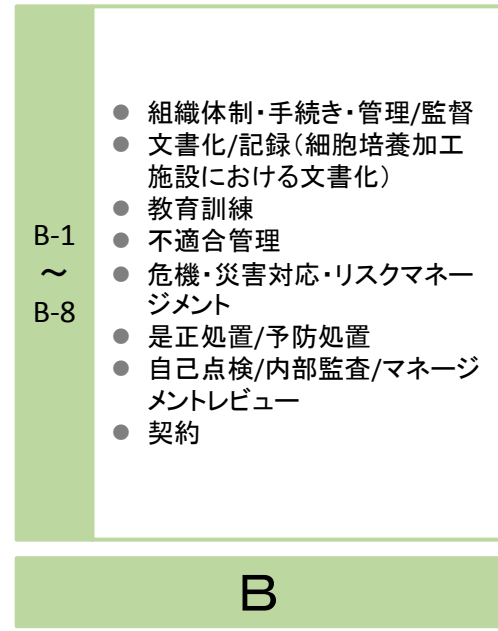
医療機関側のプロセス



細胞培養加工機関のプロセス



細胞培養加工機関の一般管理要求事項



(機関ごとに考慮すべき項目を網羅)
縦軸

(整理内容を情報の粒度で整理)
横軸

医療機関、細胞培養加工機関における各項目 (X-1、X-2、Y-1、Z-1、Z-2、A-1～A-7、B-1～B-8) について、議論の細かさによって「オレンジ枠」「青枠」に分け、それぞれに求められる内容・論点を整理

【オレンジ枠】

- ※既存の省令・指針及びcGTP、EMA Bioを参照し抽出した最大公約数的要件。項目によりさらに議論と絞り込みが必要
- ※個別の要件に左右されない上位概念であり、個別のケースによって変わる内容は下記の青枠で整理
- 哲学 ⇒ 項目ごとに必ず達成すべきと考えられる上位概念
- ハード面 ⇒ 哲学を達成する上で考慮すべきハード面(設備等)での要件
- ソフト面 ⇒ 哲学を達成する上で考慮すべきソフト面(手順等)での要件

【青枠】

- 細胞の種類、生産規模、開発段階、加工施設(医療機関・企業)など、個別のケースに即して考慮すべき要件・論点を整理

細胞培養加工施設基準WG検討事項

1. 構造設備要件

2. 運用・製造管理・品質管理要件

サブWG

- ・環境モニタリング
- ・チェンジオーバー
- ・交差汚染

3. 特定細胞加工物の製造委託に当たっての留意点

- **安全・品質確保のための哲学**は、再生医療新法も改正薬事法も同じ又は近い。しかし、その運用には最終製品の性質等に応じた差があってしかるべき。
- 施設及び製造・品質管理の基準には、共通して**最低限守るべき部分**と細胞の種類等の状況・条件により**上乘せすべき要求事項**がある。
- 特定細胞加工物では、**感染因子の混入、細胞の取り違い、クロスコンタミネーション、（感染の伝播）、プロトコルの混同**などは、特に留意すべきリスク。
- **何が必要な基準かを論理的に考える必要がある**。コストがかかるから行わないという観点はない。
- 目的を達成する方法・やり方に関しては**柔軟性**を持たせるべきである。ただし、その際はリスク評価を伴った**正当化**が必要である。

構造要件の3原則 (細胞製剤調製の原則) 感染性因子

“FDA believes that, together with establishment registration, HCT/P listing, donor screening and donor testing requirements, requirements for current good tissue practice will increase the safety of HCT/Ps, and public confidence in their safety, by preventing the introduction, transmission and spread of communicable disease. The agency's actions are intended to improve protection of the public health while minimizing regulatory burden.”

<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/TissueTissueProducts/QuestionsaboutTissues/ucm102994.htm>

+取り違え防止(ドナー識別、動線、手順書、教育)

構造要件(細胞製剤調製の原則)

細胞調製施設は、無菌環境維持による雑菌汚染の防止、封じ込めによる汚染拡大の防止、チェンジオーバーにおける適切な運用による交叉汚染の防止を考慮する必要がある、構造（ハード）と管理（ソフト）の両者の対応により、安全な運用が成り立つ。

(再生医療学会・考え方)

薬局等構造設備規則

(昭和三十六年二月一日)

(厚生省令第二号)

平成22年度厚生労働科学研究(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
医薬品の微生物学的品質確保のための新規試験法導入に関する研究

主任研究者：室井正志(武蔵野大学薬学部, 環境衛生学)

無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針

構造要件(細胞製剤調製の原則)

「微生物汚染(持ち込み)」、「交差汚染」、「作業者等への感染伝播」を防ぐために

構造要件

1. ゾーニング・動線計画
2. 空調システム
(温度, 湿度, 風量, 換気回数, 気流, 差圧, HEPA, 浮遊微粒子, 微生物…)
3. 各清浄度維持(清掃)に適した構造, 給排水構造

運用(清浄環境の維持)

1. 環境モニタリング
2. チェンジオーバー(作業毎の手順)
3. 環境維持
4. 作業者訓練及び手順書
(5. 取り違え防止)

構造要件(細胞製剤調製の原則)

「微生物汚染(持ち込み)」、「交差汚染」、「作業者等への感染伝播」を防ぐために

特定細胞加工物(あるいは再生医療・細胞治療用調製細胞)の特殊性

- 原材料は非無菌である：内在性ウイルス、細菌・真菌
- 細胞培養を伴い、長期的・継続的に行っている。
- 多くの場合細胞は、抗菌薬を含む培養液内にて培養される。
- 重要区域には、作業者の腕のみが侵入する。

清浄環境の維持→無菌的操作

細胞培養加工施設の構造

製造所

トイレ、居住区域等

作業所

作業管理区域

廊下等

作業室

一般

保管室、QC試験室等

清浄区域

グレードC/D

その他の支援区域

無菌区域

重要区域:重要操作区域

グレードA

アイソレーター等

無菌操作区域

グレードB

直接支援区域

無菌区域

重要区域:重要操作区域

グレードA

安全キャビネット等

清浄区域設定と環境モニタリング

1. 浮遊微粒子、微生物

清浄区域の分類

名称		空気の 清浄度レベル ^{注1)}	最大許容微粒子数(個/m ³)			
			非作業時		作業時	
			≥0.5 μm	≥5.0 μm	≥0.5 μm	≥5.0 μm
無菌操作 区域	重要区域	グレード A (ISO 5)	3,520	20	3,520	20
	直接支援区域	グレード B (ISO 7)	3,520	29	352,000	2,900
その他の支援区域		グレード C (ISO 8)	352,000	2,900	3,520,000	29,000
		グレード D	3,520,000	29,000	作業形態 による ^{注2)}	作業形態 による ^{注2)}

注 1) 括弧内の ISO クラスは、作業時の微粒子数に対応したものである。

注 2) 最大許容微粒子数を規定しないケースもある。

(無菌操作法指針、再生医療学会・考え方、免疫細胞培養ガイドライン)

微生物管理に係わる環境モニタリング頻度

グレード	空中浮遊 微粒子	空中微生物	表面付着微生物		
			装置, 壁など	手袋, 作業衣	
A	作業中	作業シフトごと	作業終了後	作業終了後	
B	作業中	作業シフトごと	作業終了後	作業終了後	
C, D	製品や容器が 環境に曝露さ れる区域	月 1 回	週 2 回	週 2 回	----
	その他の区域	月 1 回	週 1 回	週 1 回	----

環境微生物の許容基準(作業時)

グレード	空中微生物		表面付着微生物	
	浮遊菌	落下菌 ^{注)2}	コンタクトプレート	手袋
	(CFU/m ³)	(CFU/plate)	(CFU/24~30cm ²)	(CFU/5 指)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	----
D	200	100	50	----

注)1 許容基準は平均値評価とする。

注)2 1枚あたりの測定時間は、最大4時間までとし、作業時間中測定を行う。

(無菌操作法指針、再生医療学会・考え方、免疫細胞培養ガイドライン¹⁴⁾)

表 3 クリーンルームの面積に対応した最少サンプリング数

クリーンルームの面積(m ²)※1	最少ポイント数
1	1
2	1
4	2
6	3
8	4
10	5
24	6
28	7
32	8
36	9
52	10
56	11
64	12
68	13
72	14
76	15
104	16
108	17
116	18
148	19
156	20
192	21
232	22
276	23
352	24
436	25
500	26

直接支援区域での測定（作業中や作業ソフトごと）が負担（スペース，労力）になる。

※1 面積は、表示された数値未満又は等しい値である。

無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法

本法は、無菌医薬品製造区域の清浄度評価方法及び評価基準値を示す。本法の主な目的は、①無菌医薬品製造区域がそれぞれ設計された清浄度、微生物制御を達成し、維持していることを確認すること、及び②無菌医薬品製造環境中の微粒子数、微生物数が適切に制御されていることを確認することである。

本法に示す評価方法及び評価基準値を参考に、製造設備ごとにリスクアセスメントを実施し、リスクに応じた基準値を設定すること。また測定方法については、合理的な根拠に基づき代替法を用いることができる。

http://www.pmda.go.jp/public/pubcome_201106_2.html

細胞培養加工施設の環境モニタリング法 (問題意識)

重要区域における環境モニタリング：

- 作業中の管理：浮遊微粒子測定および落下菌測定の必要性
(安全キャビネット内の一方流により、機器の点検を行う意味でグレードCレベルでの管理でも良いか)
- 作業シフトの定義：チェンジオーバーごと（消毒・除染操作？、検体交代ごと？、重要区域内に入る作業者ごと？）

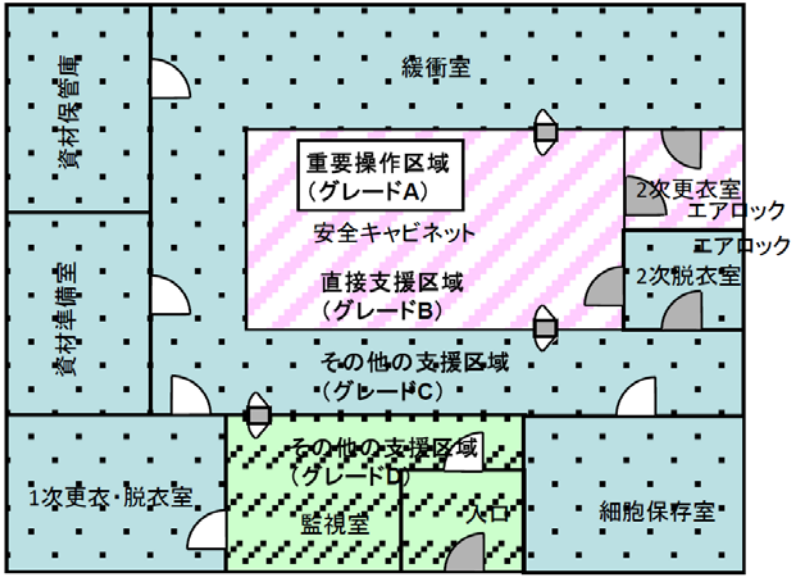
空中微生物（浮遊菌, 付着菌, 落下菌ごと）の測定基準

- 直接支援区域では測定頻度はグレードCと同等とし、サンプリングポイントを減らすことは可能か？

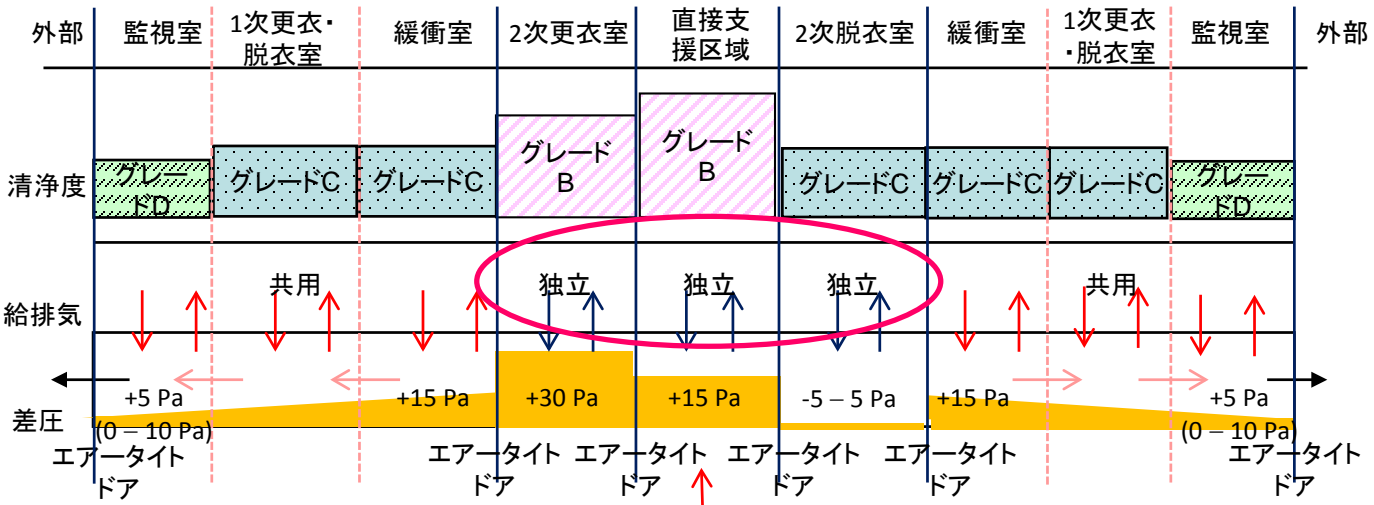
**製造設備ごとにリスクアセスメントを実施し、
リスクに応じた基準値を設定**

細胞培養加工施設における清浄区域設定(例1)

操作者(着衣)が重要区域に入る場合 (安全キャビネットを利用)



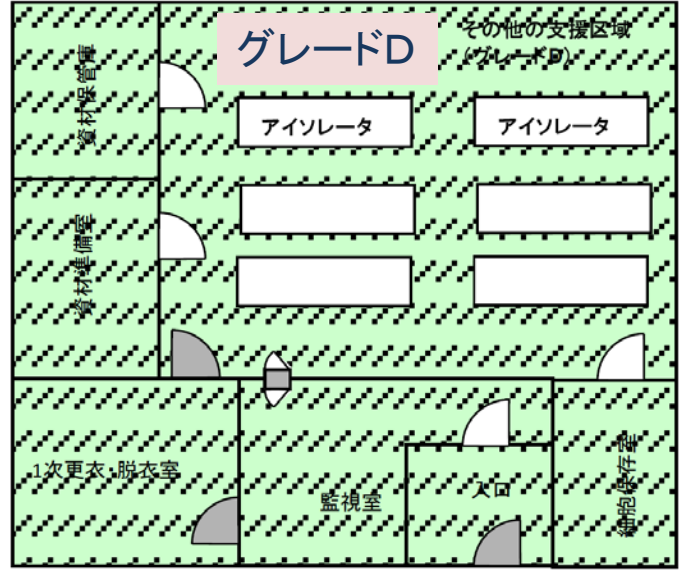
ドア
 タイトドア
 パスボックス



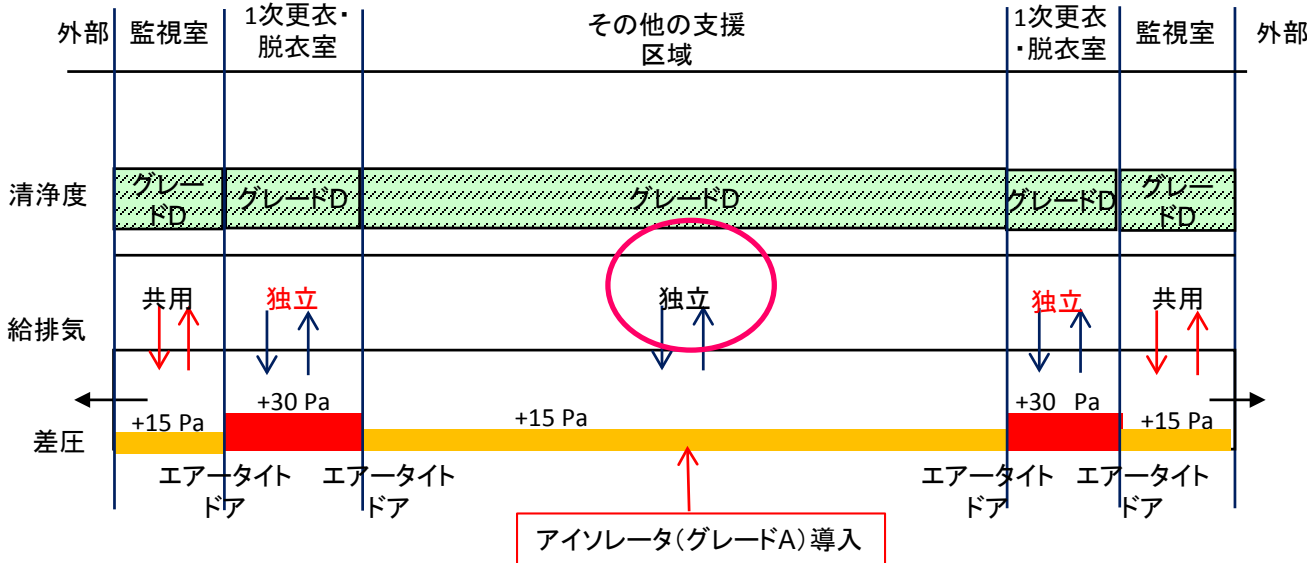
安全キャビネット(グレードA)導入

細胞培養加工施設における清浄区域設定(例2)

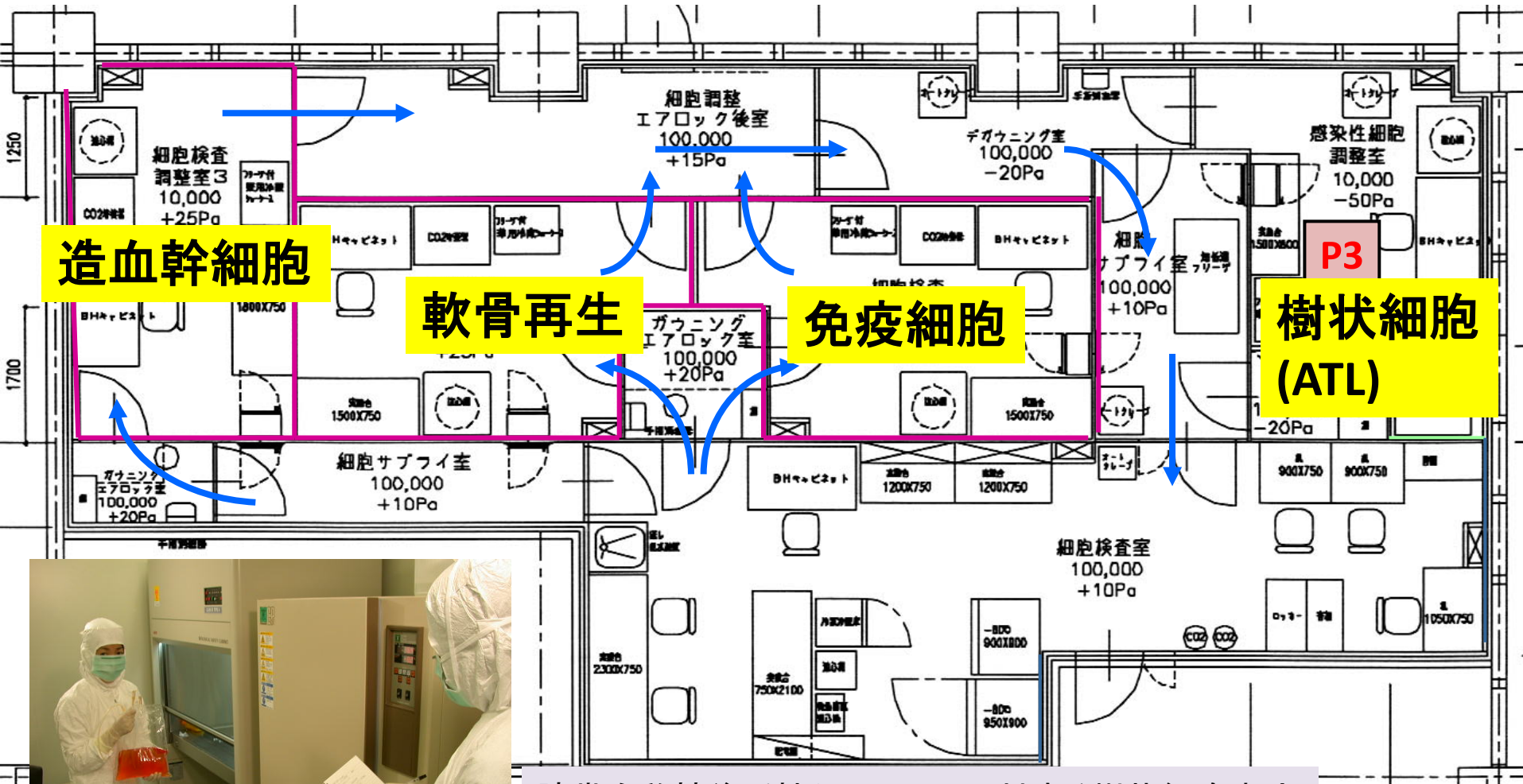
操作者(着衣)が重要区域に入らない場合(アイソレータ技術の利用)



セルプロセッシングアイソレータ



東京医科歯科大学医学部附属病院 細胞治療センター(施設:例3)



臍帯血移植後活性化DLI, ATLに対する樹状細胞療法
血管再生医療、間葉系幹細胞による神経再生医療
滑膜由来間葉系幹細胞による軟骨再生医療
腸管上皮再生医療

横浜市立大学再生細胞治療センター(施設:例4)



http://www.yokohama-cu.ac.jp/sensin/reg_cell/index.html

細胞培養加工施設構造と環境モニタリング（微生物）

2. 層流と乱流

3. 換気回数

無菌操作区域の製造作業室及び更衣室においては、作業内容の製品に対する汚染リスクを評価し、定められた清浄度レベルを維持するために適切な換気回数を設定すること。通常、直接支援区域では30回／時間、その他の支援区域の内、グレードcに相当する作業室では20回／時間を確保することが望ましい。所定の換気回数が維持されていることを定期的に検査すること（無菌操作法指針）

適正な換気回数は空気清浄度に応じて設定されなければならない。また、適切な換気回数及び気流制御は、クリーンルームの大きさや機器、細胞調製従事者の存在等に依存する為、妥当な換気回数を検討・設定すること。所定の換気回数が維持されていることを定期的に検査すること。（再生医療学会・考え方）

- 空気清浄度に応じた適正な換気回数の設定を考慮しなければならない。

<具体例>

グレードBに相当する直接支援区域では1時間当たり30回以上、グレードCのその他支援区域では1時間あたり20回以上の換気回数の設定が一般的な許容レベルである。また、調製室内のレイアウト等によって可能であれば下方気流を設定することが望ましい。ただし、適切な換気回数及び気流制御は、クリーンルームの大きさや機器、調製従事者の存在等に依存する為、妥当な換気回数を検討・設定すること。

- 所定の換気回数が維持されていることを定期的に確認することを考慮すること。（免疫細胞培養ガイドライン）

4. HEPAフィルター

- 1 重要区域に空気を供給するHEPAフィルター及び排気するHEPAフィルターは、据付時のフィルターの完全性試験によるリーク試験後、最低でも1年に1回の頻度で試験されなければならない。
- 2 直接支援区域に空気を供給するHEPAフィルターは、据付時のリーク試験後、定期的にフィルターの圧力損失（フィルターの上流側と下流側の差圧）、空間差圧、及び浮遊微粒子測定等により監視されなければならない。
- 3 重要区域のリーク試験の方法と頻度については、HEPAフィルターの設置環境や使用目的に応じて、適切に定めなければならない。
- 4 HEPAフィルターの完全性試験でエアロゾルを使用する場合には、PAO（ポリアルファオレフィン）を使用することが望ましい。その他のエアロゾルを使用する場合は、微生物の発育を助長しないことを確認した上で使用すること。
- 5 HEPAフィルターの完全性に影響を及ぼしかねない事象若しくは状況が生じた場合、又は空気の品質が劣化していると判断された場合においては、HEPAフィルターのリーク試験の実施を考慮すること。
(免疫細胞培養ガイドライン)

セルプロセッシングアイソレータ



・過酸化水素蒸気発生装置を搭載し
チェンジオーバー時に高レベル除染が
可能

・細胞培養モジュールは着脱式で、台
数の追加により複数ドナーの細胞・組
織を取り扱い可能

・除染パスボックスを装備し、ワーク
エリアに持ち込む試薬・器具類の外装
を過酸化水素蒸気により除染

・細胞培養モジュール、遠心分離モ
ジュールがドッキングし、セルプロ
セッシングの一連の工程を無菌を維持
したまま実現

・ジョイントボックスの採用により、
ワークエリアの無菌を維持しながら、
細胞培養モジュールの入替が可能



細胞培養モジュール



細胞観察モジュール



遠心分離モジュール



除染パスボックス

セルプロセッシングアイソレータ

- 適切に設計されたアイソレータは高度な無菌性環境が達成されるが、完全に密閉された空間ではない。通常の無菌医薬品に係る製品の製造においては、内部が陽圧に保持されたアイソレータが用いられる。また、製品の無菌性を高度に保証するためには、HEPAフィルター、グローブ、ハーフスーツ及び各種シール部の保守・点検を含む包括的な予防保全プログラムが必要である。
- 無菌医薬品に係る製品の製造を目的とするアイソレータを設置する環境の空気の清浄度レベルは、少なくともグレードDとすること。

(無菌操作法指針)