

201206012A

厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植
による心筋再生治療の実用化研究

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 澤 芳樹

平成25(2013)年 5月

厚生労働科学研究費補助金
再生医療実用化研究事業

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植
による心筋再生治療の実用化研究

平成24年度 総括研究報告書

研究代表者 澤 芳樹

平成25（2013）年 5月

目次

I. 総括研究報告

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の 実用化研究	1
--	---

大阪大学医学系研究科心臓血管外科 澤 芳樹

II. 分担研究報告

1. 重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の 実用化研究	5
---	---

大阪大学医学系研究科心臓血管外科 宮川 繁
大阪大学医学部附属病院未来医療センター 齋藤 充弘

2. 細胞製剤製造施設構造設備にかかる Minimum Consensus Package (MCP)の提案	9
---	---

近畿大学薬学総合研究所 早川 堯夫

III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別紙4）	7 5
--------------------------------	-----

IV. 研究成果の別刷

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）
総括研究報告書（平成24年度）

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の実用化研究

研究代表者 大阪大学大学院医学系研究科 澤 芳樹

研究要旨

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究として実施している、重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による再生細胞治療法の安全性・有効性を検証し、高度医療化、ひいては保険医療化することを究極の目的と見据え、重症心不全に対する新たな治療法として bridge-to-transplantation から bridge-to-recovery の再生治療の確立を目指す。

A. 研究目的

難治性の拡張型心筋症の治療において、これまでの補助人工心臓より心臓移植への橋渡し治療のみでは、限界があるのが現状である。この限界を克服するために、本研究では、筋芽細胞シートの臨床応用の継続を行い、最終的には、その効果の検討と、保険医療化を目指している。

本年度は、拡張型心筋症に対する新規治療の開発のため、筋芽細胞シートの臨床応用を中心に研究を行った。また、ヒト重症心不全に対する筋芽細胞シート治療の可能性、安全性を解析する評価方法の確立を行うとともに、高度医療の申請を行う。また、GMP 対応の細胞培養システムの最適化を行う。

B. 研究方法

1. 拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

当院にて左室補助人工心臓を装着した拡張型心筋症患者に対して、骨格筋採取を行い、当院未来医療センターの Cell processing center にて、GMP 基準を満たす筋芽細胞を単

離し、温度応答性培養皿を用いて、筋芽細胞シートを作成する。新規植え込み型定常流人工心臓を装着し、筋芽細胞シート移植を行い、細胞シートによる人工心臓よりの“Bridge to Recovery”を目指す。また、人工心臓を装着していない拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植を行う。

- 筋芽細胞シート移植治療の可能性、安全性を適切に評価できるようなシステムの開発
- 細胞培養施設（CPC）で製造される細胞製剤の薬事対応を担保する CPC 図書作成に必要な施設・製造・品質保証要件を検討する。

（倫理面への配慮）

筋芽細胞シート移植法に関しては、大阪大学医学部倫理委員会、および大阪大学附属病院未来医療センターにて、本プロトコールの倫理性、妥当性に関して十分な議論が行われている。また、厚生労働省ヒト幹細胞委員会においても、本臨床研究は認可を受けている。まだ認可を受けていない植え込み型定常流人

工心臓は、医師主導のもとに使用されており、既存の体外式補助人工心臓を本人工心臓に入れ替えるプロトコールも、本学倫理委員会にて承認を受けている。患者へのインフォームドコンセントに関しても、各種倫理委員会にて認可を受けた書面にて、承諾を得ている。大動物実験に関しては、大阪大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1. 心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植は

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究で、安全性を主要評価項目として実施している、重症拡張型心筋症及び虚血性心筋症の患者に対する骨格筋芽細胞シート移植臨床研究において、症例数 15 例を完遂し、テルモ社治験において 3 例施行した。平成 24 年度においては、拡張型心筋症 3 例、虚血性心筋症患者 2 例に対して筋芽細胞シート移植を行い、テルモ社治験においては、3 例施行した。全ての症例で手術は完遂し、筋芽細胞シートに関連した有害事象は認めていない。

これまでの、一部の筋芽細胞シート移植患者において左室のリバースモデリングが認められており、症状、運動耐用能の改善を認めている。また、筋芽細胞シート移植を行った患者の術前のデータを参考に、"The Seattle Heart Failure Model"を用いて、予測生命予後を算出し、実際の生命予後と比較した。筋芽細胞シート移植を受けた患者は、予測生命予後と比較して、良好である可能性があり、今後のデータの蓄積により、さらに精度を増した解析が可能であると思われる。

2. 筋芽細胞シート移植治療の可能性、安全性を適切に評価できるようなシステムの開発

臨床研究を行い、様々な心不全に関するパラメーターを集積することができた。最終的に、筋芽細胞シート移植の効果に関するエンドポイントは生命予後の延長であると考えているが、生命予後の解析には時間を要するため、生命予後と相関するパラメーターを検索する必要がある。

3. 細胞培養施設 (CPC) で製造される細胞製剤の薬事対応を担保する CPC 図書作成に必要な施設・製造・品質保証要件の検討

GMP ではハードウェアとソフトウェアの両立が必要で、ハードとしての施設・設備・機器と、ソフトとしての文書・製造・試験方法・清掃・組織・教育訓練を両輪として初めて成り立つ品質保証システムを確立することができた。

4. 心筋症に対する筋芽細胞シートの高度医療評価制度への申請

これまでの人工心臓を装着した拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植 4 例の総括報告書を作成し、高度医療評価制度として、ヒト幹細胞委員会に申請した。現在スタディーデザインに関する議論を行っており、近日中には承認される予定である。

2

D. 考察

筋芽細胞シート移植手術は全て安全に完遂されており、術後筋芽細胞シート移植に関連した有害事象は認められていない。また、生命予後の延長の可能性、症状、運動耐用能の改善等の可能性が示唆された。これらのデータをもとに、心不全に対する有効性の評価指標の確定と、再生医療特有のスタディーデザインを考案することが必要

である。

E. 結論

本研究にて、筋芽細胞シート移植術の安全性を確認することができ、また、有効性の可能性を探索することが可能であった。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Myoblast sheet can prevent the impairment of cardiac diastolic function and late remodeling after left ventricular restoration in ischemic cardiomyopathy. Saito S, Miyagawa S, Sakaguchi T, Imanishi Y, Iseoka H, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. *Transplantation*. 2012 Jun 15;93(11):1108-15.
2. Moriyama M, Moriyama H, Ueda A, Nishibata Y, Okura H, Ichinose A, Matsuyama A, Hayakawa T. Human adipose tissue-derived multilineage progenitor cells exposed to oxidative stress induce neurite outgrowth in PC12 cells through p38 MAPK signaling. *BMC Cell Biol*. 2012 Aug 7;13(1):21.
3. Takayama K., Inamura M., Kawabata K., Sugawara M., Kikuchi K., Higuchi M., Nagamoto Y., Watanabe H., Tashiro K., Sakurai F., Hayakawa T., Furue MK., Mizuguchi H. : Generation of metabolically functioning hepatocytes

from human pluripotent stem cells by FOXA2 and HNF1 α transduction. *J. Hepatol.*, 2012 Sep;57(3):628-36.

4. Nagamoto Y., Tashiro K., Takayama K., Ohashi K., Kawabata K., Sakurai F., Tachibana M., Hayakawa T., Hayakawa H., Furue MK., Mizuguchi H.: Promotion of hepatic maturation of human pluripotent stem cells in 3D co-culture using Type I collagen and Swiss 3T3 cell sheets. *Biomaterials*, 2012 Jun;33(18):4526-34.
5. Shudo Y, Miyagawa S, Nakatani S, Fukushima S, Sakaguchi T, Saito A, Asanuma T, Kawaguchi N, Matsuura N, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Myocardial layer-specific effect of myoblast cell-sheet implantation evaluated by tissue strain imaging. *Circ J*. 2013;77(4):1063-72.

2. 学会発表

1. Sawa Y. Regenerative Cell Sheet Technology to Repair the Heart. AHA アメリカ 2012.11.3-7
2. Sawa Y. It's a Whole New Ball Game: Human Clinical Stem Cell Issue Engineering. AHA アメリカ 2012.11.3-7
3. Kainuma S. Effects of Pedicle Omentum Flap Combined With Cell Sheet Implantation on Vessel Stability, Myocardial Perfusion, and Left Ventricular Reverse Remodeling in Rat Myocardial

- Infarction Model. AHA アメリカ
2012.11.3-7
4. 宮川 繁。重症心不全における細胞シートを用いたトランスレーショナルリサーチ。日本再生医療学会総会 横浜 2012.6
 5. 宮川 繁。Transitional Research of Cell Sheet-based Myocardial Regeneration Therapy。日本循環器病学会 福岡 2012.3.16-18
 6. 宮川 繁。重症心不全に対する自己細胞シート移植と左室補助人工心臓を用いた集学的心筋再生治療。日本人工臓器学会 福岡 2012.11.22-24
 7. 宮川 繁。重症心不全における細胞シート移植治療の基礎研究及びその臨床応用。日本外科学会 千葉 2012.4.12-14
 8. 宮川 繁。細胞シートを用いた新しい心不全治療の現状と展望。日本老年医学会 学術集会 東京 2012.6.28-30
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得 特記事項なし
 2. 実用新案登録 特記事項なし
 3. その他 特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金（再生医療実用化研究事業）

分担研究報告書

重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による心筋再生治療の実用化研究

研究分担者

大阪大学医学系研究科心臓血管外科 宮川 繁

大阪大学医学部附属病院未来医療センター 齋藤 充弘

研究要旨

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究として実施している、重症心不全に対する骨格筋筋芽細胞シート移植による再生細胞治療法の安全性・有効性を検証し、高度医療化、ひいては保険医療化することを究極の目的と見据え、重症心不全に対する新たな治療法として bridge-to-transplantation から bridge-to-recovery の再生治療の確立を目指す。

A. 研究目的

難治性の拡張型心筋症の治療において、これまでの補助人工心臓より心臓移植への橋渡し治療のみでは、限界があるのが現状である。この限界を克服するために、本研究では、筋芽細胞シートの臨床応用の継続を行い、最終的には、その効果の検討と、保険医療化を目指している。

本年度は、拡張型心筋症に対する新規治療の開発のため、筋芽細胞シートの臨床応用を中心に研究を行った。また、ヒト重症心不全に対する筋芽細胞シート治療の可能性、安全性を解析する評価方法の確立を行うとともに、高度医療評価制度の申請を行う。

B. 研究方法

1) 骨格筋筋芽細胞シート移植による臨床研究の実施（継続）

平成24年度に実施した重症拡張型心筋症及び虚血性心筋症の患者に対する骨

格筋芽細胞シート移植臨床研究の総括報告書を元に、有効性を主要評価項目として高度医療評価制度への申

請と承認後に臨床研究を実施する。

（倫理面への配慮）

1. 臨床試験の実施に際しては、研究計画書（プロトコール）に関して医学部医学倫理委員会での承認を受け、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に基づき厚生労働大臣の意見を聴いた後、医学系研究科長の責任のもと実施することとし、本人の書面による informed consent を取得した患者のみを研究対象とする。
2. 基礎的研究において、遺伝子改変動物、プラスミドDNAあるいは遺伝子導入ウイルス等を用いる場合は、使用に

際して遺伝子組み換え生物などの使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施する。

3. 動物操作に当たっては、本学の動物実験規定に従って行なう。

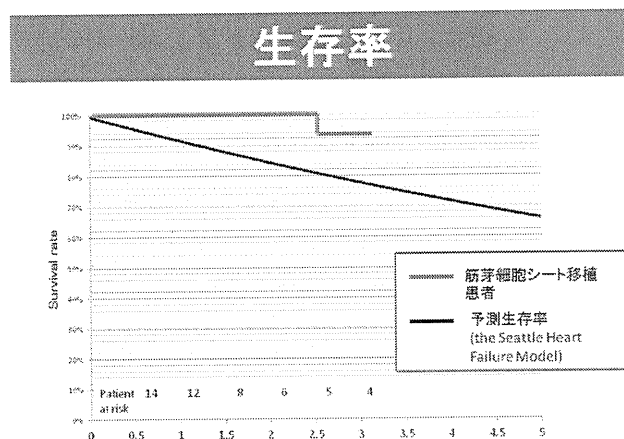
C. 研究結果

1. 心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究で、安全性を主要評価項目として実施している、重症拡張型心筋症及び虚血性心筋症の患者に対する骨格筋芽細胞シート移植臨床研究において、症例数 15 例を完遂し、テルモ社治験において 3 例施行した。平成 24 年度においては、拡張型心筋症 3 例、虚血性心筋症患者 2 例に対して筋芽細胞シート移植を行い、テルモ社治験においては 3 例施行した。全ての症例で手術は安全に完遂し、術後筋芽細胞シートに関連した有害事象は認めていない。今年度の経験では、僧帽弁閉鎖不全症を合併した患者で、運動負荷エコーにて僧帽弁逆流が増加し、肺高血圧症が合併する患者は、僧帽弁の外科的治療の介入を行ったのち、筋芽細胞シート移植を施行するほうが、QOL の改善、運動耐用能の改善の度合いが高いことが推測された。

これまでの臨床研究にて、一部の筋芽細胞シート移植患者において左室のリバースレモデリングが認められており、症状、運動耐用能の改善を認めている。また、筋芽細胞シート移植を行った患者の術前のデー

タを参考に、"The Seattle Heart Failure Model"を用いて、予測生命予後を算出し、実際の生命予後と比較した。筋芽細胞シート移植を受けた患者は、予測生命予後と比較して、良好である可能性があり、今後のデータの蓄積により、さらに精度を増した解析が可能であると思われる（図 1）。



2. 筋芽細胞シート移植治療の可能性、安全性を適切に評価できるようなシステムの開発

臨床研究を行い、様々な心不全に関するパラメーターを集積することができた。最終的に、筋芽細胞シート移植の効果に関するエンドポイントは生命予後の延長であると考えているが、生命予後の解析には時間を要するため、生命予後と相関するパラメーターを検索する必要がある。

また、本臨床研究にて、対象となる患者は全て、薬物治療、CRTD、外科的治療が行われたにもかかわらず、症状の改善を認めない患者を対象としているため、無治療のコントロール群の設定が倫理上難しい臨床研究であり、対象患者の様々なパラメーターを利用した生命予後予測と実際に筋芽細胞シートを移植した患者の生命予後を比較し、シングルアームにて細胞シートの有効性を探索する等の方法が必要であると思われる。

3. 心筋症に対する筋芽細胞シートの高度医療評価制度への申請

これまでの人工心臓を装着した拡張型心筋症患者に対する筋芽細胞シート移植 4 例の総括報告書を作成し、高度医療制度として、ヒト幹細胞委員会に申請した。我々は、これまでの臨床研究をもとにした観察項目をエンドポイント、セカンドエンドポイントにおいたシングルアームによる有効性の探索研究を提案しているが、コントロールをおいたダブルアームの提案がなされ、現在スタディーデザインに関する議論を行っており、近日中には承認される予定である。

D. 考察

本臨床研究に参加する患者は、既存の心不全治療を全て行っている、No option の患者であり、ほとんどの患者が筋芽細胞シート治療を希望している。本来、有効性評価の際、心不全患者のランダムスタディーが妥当であるが、倫理的にコントロールをおいたランダムスタディーは不可能であり、当臨床研究のような特異な特徴を持つ再生医療研究には、コントロールを置かなくても、有効性を統計学的に検証できるようなスタディーデザインの構築が必要である。また、本臨床研究終了後、高度医療制度に移行するが、今後の筋芽細胞シートの保険医療化を考慮すると、医師主導型治験への移行が妥当であると思われる。

E. 結論

本プロジェクトにより、筋芽細胞シート移植の安全性を検証することが可能であり、有効性を探索可能であった。本グラントに支援された臨床研究をもとに、高度医療制

度に申請することが可能となり、良質な臨床研究が施行可能となるものと考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

6. Saito S, Miyagawa S, Sakaguchi T, Imanishi Y, Iseoka H, Nishi H, Yoshikawa Y, Fukushima S, Saito A, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Myoblast sheet can prevent the impairment of cardiac diastolic function and late remodeling after left ventricular restoration in ischemic cardiomyopathy. *Transplantation*. 2012 Jun 15;93(11):1108-15.
7. Sawa Y, Miyagawa S. Cell sheet technology for heart failure. *Curr Pharm Biotechnol*. 2013 Jan;14(1):61-6.
8. Shudo Y, Miyagawa S, Nakatani S, Fukushima S, Sakaguchi T, Saito A, Asanuma T, Kawaguchi N, Matsuura N, Shimizu T, Okano T, Sawa Y. Myocardial layer-specific effect of myoblast cell-sheet implantation evaluated by tissue strain imaging. *Circ J*. 2013;77(4):1063-72.

2. 学会発表

9. Sawa Y. Regenerative Cell Sheet Technology to Repair the Heart. AHA アメリカ 2012.11.3-7
10. Sawa Y. It's a Whole New Ball

- Game: Human Clinical Stem Cell Issue Engineering. AHA アメリカ 2012.11.3-7
11. Kainuma S. Effects of Pedicle Omentum Flap Combined With Cell Sheet Implantation on Vessel Stability, Myocardial Perfusion, and Left Ventricular Reverse Remodeling in Rat Myocardial Infarction Model. AHA アメリカ 2012.11.3-7
12. 宮川 繁。重症心不全における細胞シート移植治療の基礎研究及びその臨床応用。日本外科学会 千葉 2012.4.12-14
13. 宮川 繁。重症心不全における細胞シートを用いたトランスレーショナルリサーチ。日本再生医療学会総会 横浜 2012.6.12-14
14. 宮川 繁。重症心不全に対する自己細胞シート移植と左室補助人工心臓を用いた集学的心筋再生治療。日本人工臓器学会福岡 2012.11.22-24
15. 宮川 繁。細胞シートを用いた新しい心不全治療の現状と展望。日本老年医学会 学術集会 東京 2012.6.28-30
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
1. 特許取得 特記事項なし
 2. 実用新案登録 特記事項なし
 3. その他

細胞製剤製造施設構造設備にかかる
Minimum Consensus Package (MCP)の提案

研究分担者 近畿大学薬学総合研究所 早川 堯夫

研究要旨

細胞製剤製造施設は、GMP管理され、細胞を培養・増殖・製剤化する施設である。現在、各種幹細胞から作製する再生医療で扱う細胞・組織工学製品を製造するためには欠かせない施設となっており、本調査研究では、その構造設備（ハード）と管理等について説明し、品質管理にむけた情報収集の一助とした。

A. 研究目的

重症心不全は予後不良な難治性疾患であり、特に end-stage の心不全にあつては1年死亡率が75%とされている。本症重症例に対しては心臓移植が究極の治療法であるが、臓器移植法の改正に伴いの心臓移植は増加しているが、以前としてドナー不足の現状は解決されていない。移植待機日数も1000日を超え、待機死する患者さんも多く、重症心不全に対する新たな治療法の開発・我が国での保険医療化は喫緊の課題である。

すでにヒト幹細胞臨床研究指針に適合した臨床研究として実施している、重症心不全に対する骨格筋芽細胞シート移植による再生細胞治療法の安全性・有効性を検証し、高度医療化、ひいては保険医療化することを究極の目的と見据え、重症心不全に対する新たな治療法として bridge-to-transplantation から bridge-to-recovery の再生治療の確立を目指す。

B. 研究方法

GMP 対応の細胞培養システムの最適化にむけ製品標準書、製造手順書、製造指図書等に反映するための基礎情報を収集すべく、細胞製剤製造施設に関し、MCP(最低限要求される事項)を下記の項目に沿って調査取りまとめた。

1 製造施設

1. 1 汚染防止
1. 2 作業室の清浄度区分
1. 3 CPCの内装
1. 4 内装部分に係る消毒液・塵埃・昆虫

対策

1. 5 殺菌灯管理
1. 6 パスボックス・パスルームの管理
1. 7 特殊ガス供給設備の管理

2 空調システム

2. 1 原理
2. 2 フィルトレーションシステム
2. 3 陽圧のクリーンルーム
2. 4 陰圧のクリーンルーム
2. 5 温湿度制御
2. 6 換気回数と清浄度
2. 7 差圧
2. 8 空調設備と作業室の環境に影響する

要因

- 2. 9 日常管理とメンテナンス
- 2. 10 HEPA フィルターの目詰まり管理
- 2. 11 プレフィルタ-と中性能フィルタ-及びび廃棄フ
ァンVバルトの取替え
- 2. 12 ドレン排水ピットとストレーナ-の
メンテナンス
- 3 防虫防鼠対策 . . .
- 3. 1 防虫対策
- 3. 2 防鼠対策
- 4 清掃・消毒 . . .
- 4. 1 清掃・消毒手順について
- 4. 2 消毒剤
- 4. 3 清掃・消毒後の環境測定
- 5 清浄度に応じた作業衣 . . .
- 5. 1 清浄度別の作業衣
- 5. 2 使用済み作業衣等の処理
- 6 緊急時の対応 . . .
- 6. 1 災害発生後のCPC性能維持確認項
目
- 6. 2 停電発生時の対応
- 6. 3 製造施設のパニックオープン

(倫理面への配慮)

1. 非臨床試験(研究)において遺伝子改変動物、
プラスミドDNA あるいは遺伝子導入ウイル
ス等を用いる場合は、使用に際して遺伝子組
み換え生物などの使用等の規制による生物
多様性の確保に関する法律、カルタヘナ条約
等各種法令・告示・通知に基づき研究を実施
する。
2. 動物操作に当たっては、国立大学法人大阪大
学の動物実験規定に従って行なう。
3. 臨床試研究の実施にあつては、計画書(プロ
トコール)に関して医学倫理委員会での承認
を受け、本人の書面によるinformed consent
を取得した患者のみを対象とする。

C. 研究結果

CPCとは、Cell Processing Center = 細胞培養
センターのことである。CPCは、GMP管理さ
れ、細胞を培養・増殖する施設である。
現在、各種幹細胞から作製する再生医療で扱う細

胞・組織工学製品を製造するためには欠かせない
施設となっており、ここでは、その構造設備と管
理等について説明する。

1 製造施設

1. 1 汚染防止

細胞製剤に対する汚染防止の原則は、次の3つ
に尽きる。

- 持ち込まない
- 拡散させない
- 増加させない

これら3つの原則を満足させるには、構造設備
の完備、衛生管理、作業員の教育と作業管理を確
立し、遵守していく以外、方法はない。

- 1) 構造設備の完備として、動線を考慮した作業
室の配置、製造機器の配置・管理、空調設備
の適切管理がある。
- 2) 衛生管理としては、施設の消毒方法の確立、
消毒効果の確認方法及び原材料の搬入方法
の確立、感染性廃棄物の適切な処理方法の確
立がある。
- 3) 作業員の教育訓練と作業管理は、教育の年間
スケジュールに基づき、衛生管理教育及び製
造管理教育を行い、適切な作業方法を確立・
遵守する。

1. 2 作業室の清浄度区分

CPC内のゾーニング(エリア分け)を決定す
る上で重要な項目として、清浄度区分がある。こ
の清浄度区分により、人と物品(製品や原材料等)
の動線や気流方向も左右されるため、適切に設定
する必要がある。

CPCにおける一般的な清浄度区分の例を下記
に示す。

CPC内 作業室	清浄度クラス※		
	FED-STD-209D	EU-GMP・日本薬局方	ISO14644-1
居室（管理室）	一般空調～10万相当	一般空調～グレードD	ISOクラス8～9
前室	10万相当～10万	グレードD～グレードC	ISOクラス8
パスルーム	10万相当～10万	グレードD～グレードC	ISOクラス8
一次更衣室	10万相当～10万	グレードD～グレードC	ISOクラス8
二次更衣室	10万～1万	グレードC～グレードB	ISOクラス7～8
脱衣室	10万相当～10万	グレードD～グレードC	ISOクラス8
処理室	1万	グレードB	ISOクラス7
陰圧系バッファゾーン	10万～1万	グレードC～グレードB	ISOクラス7～8

清浄度区分で、清浄度が高い方が良いからと言って、全エリアをクラス1万にした場合、クラス1万を維持するための換気回数は、40回～50回と、他のクラスに比べ、20回～30回多い。この換気回数を維持するための電気量や室温、湿度を維持するための冷水、温水等の使用量を考えると、コスト高になる。また、環境測定を行う場合、クラス1万エリアと、クラス10万エリアとでは、クラス1万エリアの方が、測定頻度や測定ポイント数が増え、管理基準も厳しくなり、維持

管理するには、技術的にも経済的にも負担が増すため、製品の品質を維持しながら、用途に応じた適切なクラス設定を行う必要がある。

※ 清浄度のクラスの規格については、下記の清浄度クラスの規格及び4.4.3 清掃・消毒後の環境測定の規格を参照のこと。

清浄度クラスの規格

清浄度クラス 規格		指定粒径以上の許容粒子濃度 (個/m ³)					
FED-STD-209D	ISO14644-1	0.1 μm	0.2 μm	0.3 μm	0.5 μm	1 μm	5 μm
—	ISOクラス1	10	2	—	—	—	—
—	ISOクラス2	100	24	10	4	—	—
クラス1	ISOクラス3	1,000	237	102	35	8	—
クラス10	ISOクラス4	10,000	2,370	1,020	352	83	—
クラス100	ISOクラス5	100,000	23,700	10,200	3,520	832	29
クラス1,000	ISOクラス6	1,000,000	237,000	102,000	35,200	8,320	293
クラス10,000	ISOクラス7	—	—	—	352,000	83,200	2,930
クラス100,000	ISOクラス8	—	—	—	3,520,000	832,000	29,300
—	ISOクラス9	—	—	—	—	8,320,000	293,000

1. 3 CPCの内装

CPC内での製造では、作業室内の浮遊塵埃、浮遊菌、付着菌からの汚染を防ぐため、機器、天井、壁、床等の消毒を行う。CPC施設の内装は、

消毒剤に耐え、発塵の少ない建材を選択し、使用しなければならない。

場所	下地	表面仕上げ
天井	化粧珪カル板 石膏ボード 塩ビ板	耐水性ビニール系塗装
壁	30mmカラー鋼板 化粧珪カル板 石膏ボード ステンレス	樹脂焼付け塗装・フッソ樹脂焼付け塗装 耐水性ビニール系塗装
床	フリーアクセスフロアー コンクリート・モルタル	塩ビ長尺シート エポキシ・ウレタンライニング
窓	アルミ枠・ガラス	耐水性ビニール系塗装
ドア	鋼板・アルミ	樹脂焼付け塗装

1. 4 内装部分に係る消毒液・塵埃・昆虫対策

[天井・壁・床部分]

天井及び壁と床の接合部分は、清掃が容易なようにR（アール）を付ける。また、建材に鉄や木材の使用を避ける。これは、鉄による錆の発生や、木材からの発塵・異物発生及び昆虫の発生を防ぐためである。天井や壁の接合部分は、防腐剤入りのコーキング材で消毒液が浸み込まないように処理する。床のシートも、塩ビシート等の溶接を行い消毒液の侵入を防ぐ。

[点検口]

天井や床に設置されている点検口は、気密を確保するため、エアータイト仕様のものを設置するのが望ましい。エアータイト仕様でないものが設置されていれば、防腐剤入りのコーキング材で目張りを行う。これにより、天井や床からの塵埃、昆虫の侵入を防ぐと共に、空気の漏れを防ぎ、室圧の維持を図る。

[電源コンセント及び消防設備等]

CPC内に設置されているコンセント及び消防設備であるスプリンクラー、煙感知器、熱感知器、スピーカーは、建材に穴を開けて取り付け、CPC側からカバーを設置し、この穴を塞いでいる。コンセントに関しては、施工業者にもよるが、

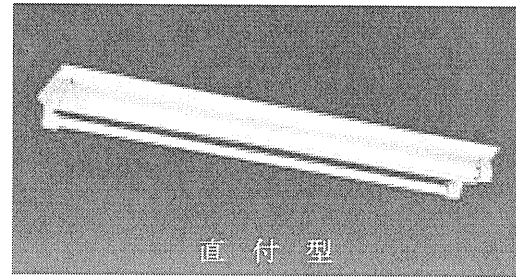
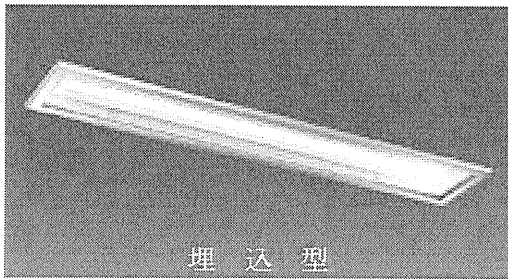
この部分が不完全に施工されている事が多い。一般用で、カバーにパッキンが無く、2箇所止めをされているものが使用されていれば、ゴムパッキン又は、シリコンパッキン入りで、4～6箇所止めのカバーに変更するか、防腐剤入りのコーキング材でカバーと建材との隙間を塞ぎ、塵埃、昆虫の侵入を防ぐと共に、空気の漏れも防ぐ。また、消毒液による漏電の危険性があるコンセントには、蓋付きのコンセントか、シャッター付きのコンセントを設置するのが望ましい。他消防設備に関しては、比較的穴が大きいため、天井裏部分から、防腐剤入りのコーキング材で隙間を塞ぐ等、対応する。

[照明器具]

CPC内に設置される照明器具は、クリーンルーム対応のもので、埋込型と直付型の2つのタイプがある。埋込型は器具本体を天井に埋め込むタイプで、比較的密閉度が高く、クラス100～クラス1000程度のクリーンルームに使用され、直付型は、本体が天井に露出するタイプで、クラス1万～クラス10万のクリーンルームに使用されることが多い。埋込型は、本体と同じ大きさの開口部を天井に開けて、はめ込むため、本体と天井部分との隙間が出来やすい。直付型は、天井とCPC内との貫通部の取り付け部分と電源引き込み部分にパッキンを設置し、気密させている

が、完全ではなく、埋込型、直付型共に、防腐剤入りのコーキング材で隙間を塞ぎ、異物の流入や

空気の漏れを防止する必要がある。

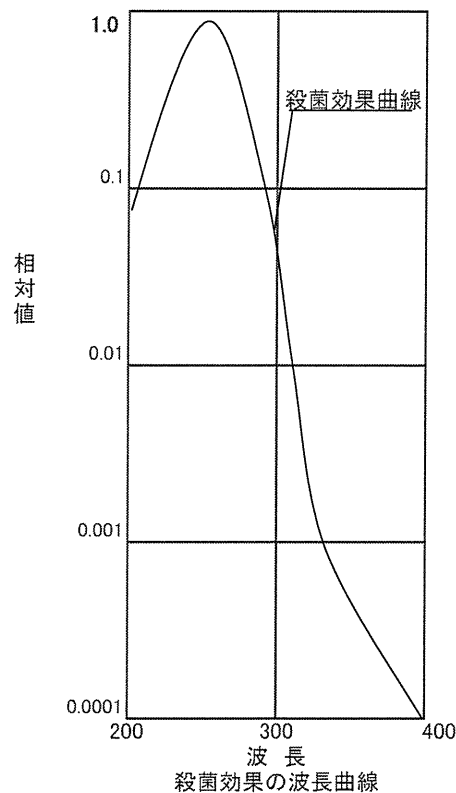


1. 5 殺菌灯管理

製造環境や製造工程において、器具や資材等に付着している微生物を死滅又は、減少させる手段の一つとして、殺菌灯が使用されるが、殺菌灯は使用時間と共に、殺菌力が低下する。そのため、殺菌灯の使用に際して、殺菌効果が十分に発揮されるように検討すると共に、効力の維持・管理に

努めなければならない。

CPCで使用されている殺菌灯の主要な波長は、253.7nmで、紫外線の中で殺菌効果の強い紫外線で、この波長を「殺菌線」という。この「殺菌線」は目に見えないが、市販されている殺菌灯は、「殺菌線」以外に若干の可視光線を出すため、点灯時に紫色に見える。



紫外線によって、微生物が死滅する原理は、微生物の原形質である核酸に作用して、変質破壊させるとされている。一般的には、グラム陰性細菌、グラム陽性細菌、カビの順に死滅しやすいが、カビは殺菌灯に対して、耐性があるものが多く、芽

胞は死滅しにくいとされている。

殺菌灯で製造機器や資材等を殺菌する場合は、直接照射を行う。この他、作業室の空気の殺菌は、作業室の上層部分を照射し、気流の流れを利用したの殺菌、ダクト内部照射による空気の殺菌と、

水槽や水の配管に設置する、水の殺菌がある。

[殺菌灯の利点・欠点]

1) 利点

- ① 殺菌灯を照射するだけで殺菌ができ、使用が簡便である。
- ② 広い範囲の殺菌が可能である。
- ③ 作業員に直接照射するのを避ければ、作業中でも空気の殺菌が可能である。
- ④ 微生物に耐性を生じない。
- ⑤ 照射物に変化・変質を残すことが少ない。

2) 欠点

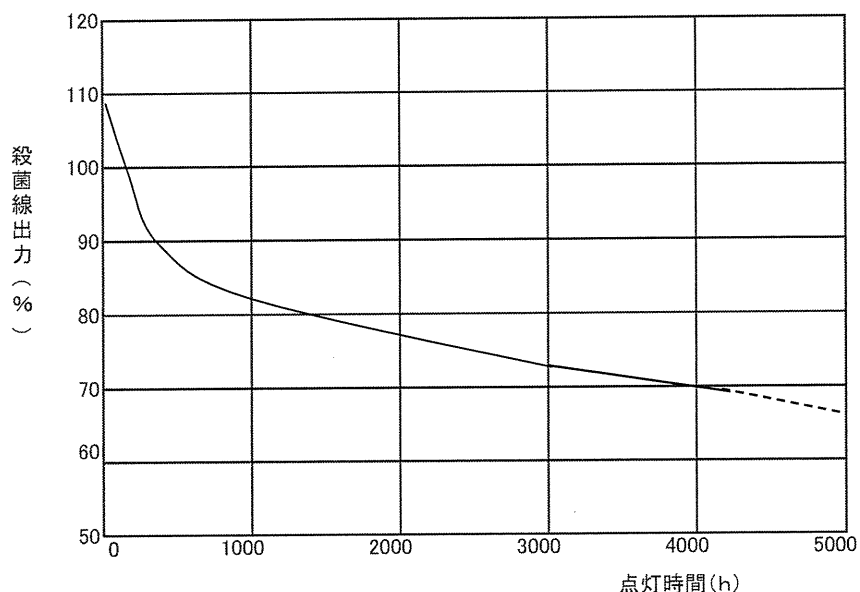
- ① 短時間の照射では、カビや芽胞のように、死

滅しない微生物が存在する。

- ② 直接、殺菌灯が照射されている部分は、殺菌効果が期待されるが、影になっている部分は、殺菌効果が期待できない。
- ③ 殺菌灯を直接又は間接的に、皮膚や目にあたると炎症の原因になる。
- ④ 殺菌灯の照射は、対象物の菌数を減少させるには有効であるが、完全な殺菌は困難である。

[殺菌灯の交換管理]

殺菌灯は、点灯時間が多くなれば、殺菌線の出力が減退し、殺菌効果が低下する。メーカーの仕様では、100時間点灯後の定格出力が、70%まで低下すれば、定格寿命としている。



殺菌灯の交換は、次の2つの方法がある。

1) 点灯時間による方法

メーカーの仕様に記載されている定格寿命に従い、交換する。

4～8W で3000時間

15～30Wで4000時間

一日の平均点灯時間から、定格寿命を計算し、交換・管理することが出来る。

2) 紫外線強度計による方法

殺菌灯直下1mの距離の照射強度を定期的に測定し、初期値の70%以下になれば交換する。

(15Wの殺菌灯直下1mの距離の、初期照射強度は、 $30 \sim 31 \mu\text{W}/\text{cm}^2$)

また、市販されている紫外線強度測定用ラベルで確認する方法もある。

[殺菌性能のマイナス要因]

殺菌灯の殺菌性能は、次の項目により影響される。

- 1) 電源の電圧
- 2) 点灯時間
- 3) 殺菌灯本体のガラスの汚れ
- 4) 反射板の汚れ

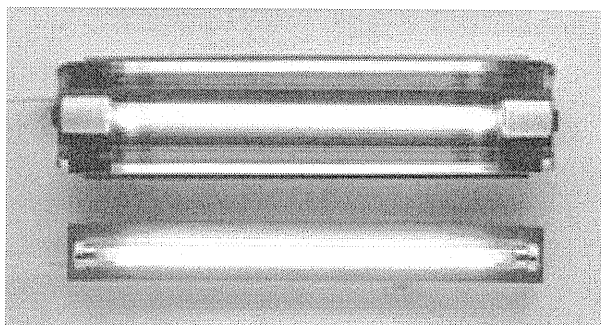
5) 設置環境の温湿度

[殺菌灯使用上の注意]

殺菌灯の欠点の項でも記載したが、目に許容量以上の殺菌線を受けると、角膜炎や結膜炎を起す

ことがある。作業開始時には、殺菌灯を消灯し、点検や測定のため、殺菌線を暴露する場合は、紫外線用保護メガネを着用すること。

露出している皮膚に殺菌線を受けると、皮膚の炎症が起こることがあるので、注意すること。



殺菌灯

[手洗い器の殺菌灯管理]

あまり知られていないが、手洗い器の送水口に、殺菌灯が装着されている。手洗いが終わった後、送水口には少量の水が溜まり、時間経過と共に、雑菌が繁殖し、手洗い時に指手が汚染を起すことがある。これを防止するために、溜まり水を殺菌

する殺菌灯が装備されている。この殺菌灯の出力は小さく、外部からも見え難いため、交換することを忘れがちであるが、殺菌灯の効力維持やコンタミネーション防止のため、照射時間を管理し、交換時期を明記して、定期的に交換することが重要である。



殺菌灯設置箇所

1. 6 パスボックス・パスルームの管理

パスボックス・パスルームは、クリーンルームへの搬入搬出に際し、一定量以上の空気の流入・流出を防ぎ、クリーンルーム内の室圧の異常な変化を防止する機能を有する。扉は密閉度の高い、エアータイトのものが使用される。

1) パスボックスは、入口と出口の扉が同時に開

かないように、インターロック機能を有し、パスボックスの底板は、物品の搬入搬出の際に、発塵の少ない素材を使用する。一般的には、殺菌灯付きのパスボックスもあり、発塵対策と耐紫外線対策を兼ねて、ステンレスを使用することが多い。また、底板や側面にステンレスを使用することで、パスボックスの天井部分に取り付けられた殺菌灯の反射を

利用し、殺菌力は低下するが、殺菌灯の光が直接当たらない部分の殺菌も期待できる。

2) パスルームは、比較的大きな物品や機器の搬入搬出に使用され、パスボックス同様、クリーンルームへの一定量以上の空気の流入・流出を防ぎ、室圧の異常な変化を防止する機能を有する。扉はエアータイトのものが使用されることが多い。パスボックスと違い、人がパスルームに入り、消毒作業等を行うことから、パスルーム内をダーティゾーンとクリーンゾーンに分け、クリーンアップ前の物品や機器の置き場と、クリーンアップ後のものを置く場所を区別する必要がある。また、パスルームの清浄度と室圧は、隣接しているクリーンルームより低く設定され、扉は、インターロック機能を有し、自動的に閉じられるようにする。

3) パスボックスやパスルームを物品置き場を使用している施設が見受けられるが、清浄度管理の視点から、好ましい状態ではない。パスボックスやパスルームの機能維持のため、定期的に次の項目を行い、清浄度を維持管理する必要がある。

1. 7 特殊ガス供給設備の管理

特殊ガス供給設備は、培養に使用する炭酸ガス及び窒素ガスをインキュベーターに供給する設備で、一次圧力計、二次圧力計、圧力調整器の機器で構成されている。

配管材は、SUS304のステンレス鋼継目無鋼管が使用されることが多い。管の接合は、2圧縮リング継手が使用され、外れにくくなっている。各ボンベを設置する架台は、一般構造用軽量形鋼を使用し、焼付け塗装されることが多い。圧力調整器は、気体が小さな間隙を通る際

共通項目

- ① インターロック機能の確認
- ② 扉部分のゴムパッキンの亀裂や劣化の確認
- ③ 床・天井・壁・扉の清掃・消毒

パスボックス

- ① 底板等、付着菌の測定
- ② 殺菌灯の取替え

パスルーム

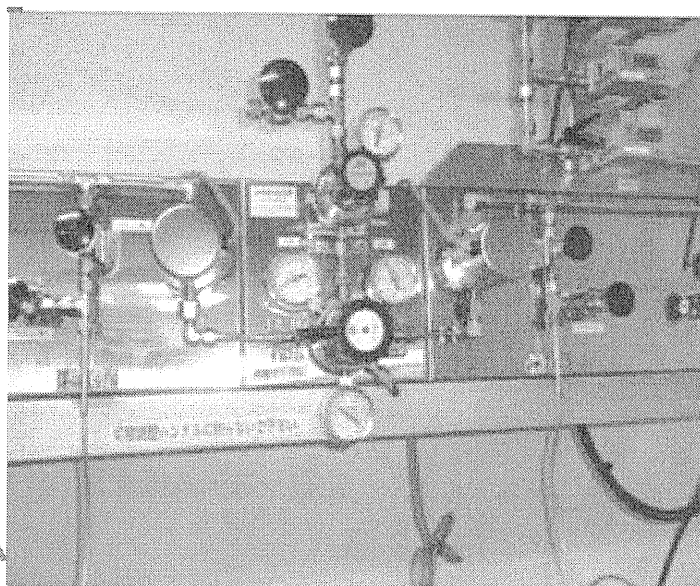
- ① 室圧・浮遊塵埃・付着菌・浮遊菌・落下菌の測定
- ② 昆虫相調査の実施

に、凍結することがあるため、この部分を加温するヒーターが設置されている。ボンベを設置する架台は、ボンベの転倒防止のため、壁等にボルトで固定するか、安全なラックを設置し、チェーンでボンベの上下2箇所以上を固定する。

CPCの付帯設備として、ガスを使用する作業室に、酸素濃度計を設置し、ガス漏れを感知し、作業員の安全を守る。また、酸素濃度計と連動させたパトライトをCPC外に設置し、外部にもガス漏れを知らせるシステムを構築するのが望ましい。



ボンベラック設置例



圧力計・ヒーター・圧力調整器



酸素濃度計



パトライト設置例

特殊ガス供給設備の項目を点検・校正する。

- ① 配管の気密検査
- ② 圧力計の校正
- ③ 酸素濃度計の校正
- ④ 各接合部分のガス漏れ検査
- ⑤ ヒーターの断線やコンセント抜け確認
- ⑥ 架台とチェーンの設置状態の確認

2 空調システム

細胞製剤は、その特徴として滅菌工程がないことが挙げられる。滅菌工程がない細胞製剤の無菌性、安全性については、製造工程での影響が大きく、構造設備における工夫や配慮が必要となる。CPCの構造設備は、薬事法のみならず、建築法や消防法等の数々の法規を満足させると共に、品質の良い製品を製造する施設とし

て、GMP上、重要な位置づけとなっている。原材料の搬入から製品の出荷に至る全工程において、異物の混入、微生物汚染、他製品からのクロスコンタミネーションを防止できる構造設備とすることが重要である。CPCの構造設備の中で、クロスコンタミネーション防止を考える時、最も重要な設備として、空調システムが挙げられる。