

る直接支援区域を有し、この細胞調製施設において無菌的に調製される患者自己免疫細胞の種類、及び調製工程に応じ、適切な温度、湿度及び清浄を維持できる構造及び設備を備えていること。

## 第1 空調設備

細胞調製施設は次に定める適切な空調設備を有すること。

- 1 換気は表1に示される基準を満たすよう、HEPAフィルターで濾過された空気供給を行うこと。また、必要に応じてプレフィルター及び中性能フィルターを設置すること。
- 2 一般的に各区域の清浄度レベルは、環境空気の単位体積当たりに含まれる粒径 $0.5\mu\text{m}$ 以上の浮遊微粒子数によって表される。また、粒径 $5.0\mu\text{m}$ 以上の浮遊微粒子数は定期的に測定し、傾向分析を行うことにより、環境条件の劣化を早期に発見するための有効な管理項目となる。
- 3 清浄区域はそこで取り扱われる患者自己免疫細胞及び組織等、及び資材の特性並びに微生物管理の観点から必要な温度及び湿度を管理できるようにすること。
- 4 温度及び相対湿度は、調製従事者の快適性及び微生物汚染の潜在的危険性に直接的な影響を及ぼすため、そのレベルを適切に設定し、維持、管理及びモニタリングすることを考慮すること。

### <具体例>

微生物環境の制御を目的とする場合は、安定時で室温 $20^{\circ}\text{C}$ - $24^{\circ}\text{C}$ 程度、相対湿度は少なくとも70%以下で、可能であれば60%以下に保つことが推奨される。

- 5 清浄度の異なる区域間においては、空気清浄度を維持するために、クリーンルームの大きさや機器、調製従事者の存在、封じ込めの必要性などを考慮して適切な気流と圧力差を設定すること。

### <具体例>

空気清浄度の維持と封じ込めを意図した場合の圧力差は、通常 $10\text{Pa}$ - $15\text{Pa}$ 程度の圧力差が設定される。

- 6 調製施設内で取り扱われる感染性の患者自己免疫細胞及び組織等の種類を考慮し、必要に応じて重要区域に設定されるバイオハザード対策用キャビネット等の1次バリアによる患者間の交差汚染及び作業員への感染防止に加え、外部環境への影響を鑑みて、クリーンルームに及ぶ2次バリアについても外部に空気が漏れいしないような適切な封じ込め対策を考慮すること。

### <具体例>

バイオセーフティーレベル3以上に分類される病原性微生物に感染した、あるいはその可能性のある細胞及び組織等を使用する場合や、ウイルスベクターを用いた細胞調製を行う場合には、他のレベルとは独立させた空調機システムを備え、外部への排気口にもHEPAフィルターを備えることなどが考えられる。また、廃棄物（廃水を含む）は、廃棄物処理法に基づく感染性廃棄物処理マニュアルに従い処理すること。

- 7 設定された室間差圧は、清浄度レベルの維持管理のために高い頻度で定期的にモニターされるべきであり、設定された限界値からの差異が認められた場合は、その原因を調査し、必要な措置および対策を講じることが必要である。異常時に備えて警報システムを備えることが望ましい。

### <具体例>

定期モニタリングに加えて、少なくとも入室前と退室後の安定状態でモニターを行っておくことが必要である。

8 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。

9 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。

＜具体例＞

安定状態下における確認を1回/年の頻度で実施したり、日常点検で得られるHEPAフィルターの圧力損失値や室間差圧のデータ、あるいは清浄度のモニタリングデータを参考にしたりして、妥当な確認頻度を決定すること等が考えられる。

【表1 空気清浄度レベル】

名称		空気の清浄度レベル 注1)	最大許容微粒子数(個/m <sup>3</sup> )			
			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 (ISO5)	3,520	20	3,520	20
	直接支援区域	グレードB (ISO7)	3,520	29	352,000	2,900
その他の支援区域		グレードC (ISO8)	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、作業時の浮遊微粒子数に対応したものである。

(注2) 最大許容浮遊微粒子数を規定しないケースもある。

第2 重要区域（グレードA）

患者自己免疫細胞の調製においては滅菌工程の設定が困難であり、容器に入れられた最終調製物はそれ以上処理されず、また汚染に対して無防備な状態にあるといえる。患者自己免疫細胞の無菌性を維持するためには、無菌操作を行う環境は作業期間を通じて適切な空気清浄度を保たなければならない。また、環境における空気中の浮遊微粒子はそれらが患者自己免疫細胞に入り、物理的もしくは微生物のキャリアとして作用することで生物学的な汚染を引き起こす重要因子である。従って、重要区域の浮遊微粒子数は効果的な空調システムの使用により最小化されなければならない。

- 1 重要区域では、無菌環境を維持し、他の培養系（細胞が接し得る環境）を含む外部環境への汚染拡散や調製従事者及び公衆衛生への影響を最小限にとどめるよう設計された環境下において、患者自己免疫細胞の無菌操作（例えば、チューブの無菌的接続、培養液や薬剤、試薬等の無菌的添加を含む）を行う。

＜具体例＞

患者自己免疫細胞療法においては、通常、バイオハザード対策用キャビネットやアイソレータ等の封じ込め装置が使用される。物理的封じ込めを意図して設計されていないクリーンベンチ等を使用することは、交差汚染防止の観点から好ましくない。

- 2 重要区域における浮遊微粒子測定と環境微生物測定は、適切な方法を定め、定期的を実施し、表2の環境モニタリング基準を満たすことを確認すること。この区域において微生物による汚染は認められるべきではなく、汚染が見られた場合は、徹底的にその原因を調査し、必要な措置および対策を講じなければならない。

- 3 重要区域の定期点検項目は、フィルターの完全性試験、流入風速、吹出風速、フィルター圧力損失等を管理項目として、適切な頻度の設定を考慮すること。  
 <具体例> バイオハザード対策用キャビネットを利用する場合には、最低年1回実施するほか、感染症法に基づく定期点検についても1回/年の頻度で行うこと。点検項目が重複する場合は同時期に実施することでも良い。
- 4 重要区域に設置する必要のない設備は重要区域から離すこと。  
 <具体例> バイオハザード対策用キャビネットの中に常時設置している器具等があることは避けるべきである。
- 5 重要区域への調製従事者の介入は、最小限とすること。

【表2 環境モニタリング基準】

	重要区域	直接支援区域	(単位)
清浄度レベル	グレードA	グレードB	
浮遊微粒子 [粒径0.5マイクロメートル以上]	3520	352,000	(個/m <sup>3</sup> )
浮遊菌	<1	≤10	(cfu/m <sup>3</sup> )
落下菌	<1	≤5	(cfu/plate)
付着菌(表面)	<1	≤5	(cfu/24~30cm <sup>2</sup> )
付着菌(手指)	—	≤5	(cfu/5指)

### 第3 直接支援区域（グレードB）

- 1 直接支援区域における清浄度レベルの分類は、実施される作業の性質に応じてなされるべきである。重要区域に直接隣接するこの区域は、作業時において表1に示すグレードBの基準を満たさねばならない。
- 2 第4章に従い、目的に応じて適切に環境モニタリングの実施頻度を設定し、表2の環境モニタリング基準を満たすことを確認すること。
- 3 直接支援区域を移動する場合の培養容器は、第4章 第1の2（2）に示す、気密または密封容器を用いることが望ましい。  
 <具体例> 直接支援区域に設置しているインキュベーター等で同時期に複数の患者の調製物が存在する場合は、インキュベーター内において容器に生じた結露を介して汚染拡大のリスク回避や、交差汚染防止のために気密または密封容器を用いなければならない。
- 4 細胞調製施設内への入室は、予め定められた手順に従い管理すること。
- 5 直接支援区域とその隣接する区域の間にはエアロック室を設ける等、室間差圧及び気流の逆転が起きないように十分な差圧を設けること。  
 <具体例>  
 差圧の目安として、第1の5に示すように、各室の扉を閉めた状態で10~15Paまたはそれ以上の差圧を維持することが望ましい。
- 6 上記、エアロック室は、インターロックシステムを考慮すること。  
 <具体例>  
 インターロックでない場合には、エアロック室の両側の扉が同時に開かないことを確実にする為の対応を実施すること。
- 7 直接支援区域とその隣接する区域との間には、滅菌済み資材、滅菌が困難な資材等の受渡し、及び必要な場合においては、除染作業等のためのパスルームやパスボックスを設けること。

#### 第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）、室間差圧、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。

##### <補足>

フィルターの圧力損失及び室間差圧の監視頻度に関しては、本章第7の環境モニタリングの目的と頻度を踏まえて決定されるべきである。例えば、ロットを形成しない場合や、開発の初期段階で、ベリフィケーションの結果が優先されるような場合においては、一般的に環境モニタリング頻度は必ずしも高く設定されないことが想定される。そのような場合では、施設の劣化等を検知するために重要な監視指標となるため、本章第1の7に示すように、少なくとも入室前と退室後の安定状態で監視されるべきである。

浮遊微粒子測定は本章第7に従い実施される。

- 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。

<具体例>急な圧力損失の変化が生じた場合などにはリーク試験を実施すべきである。

#### 第5 その他構造設備について

- 1 細胞調製施設は、患者自己免疫細胞を調製するのに適切な設備及び器具を備えていること。
- 2 患者自己免疫細胞の調製作業を行うのに支障のないサイズ・構造・配置であること。
- 3 設備レイアウトは、調製従事者の快適性と動作に配慮し、円滑かつ適切な患者自己免疫細胞の調製作業を行うのに支障のないような構造配置がなされており、かつ、日常の清掃及び定期的な保守が容易なものであって、天井、壁及び床の表面は、消毒液等による噴霧洗浄に耐えるものであること。
- 4 清浄化及び維持管理が容易なものとし、設計意図に見合ったものであることを維持できるように定期的に点検を行うこと。特に部屋の密閉性を維持するために重要なシール部やドアパッキン類に注意すること。また、結露を防止するための断熱材についても有効に機能するように注意すること。
- 5 天井は確実にシールされていること。
- 6 浮遊微粒子あるいは微生物がたまったり気流を妨げたりする可能性のある凹凸構造、窓、扉周り等の横棧の設置は可能な限り避けること。やむを得ない場合は容易に清掃できる構造とすること。特に無菌操作区域にはスライディングドアは好ましくない。

##### <具体例>

天井から給気され、床付近から排気される、ダウンフローの気流設計が望ましいが、直接支

援区域において気密または密封容器が用いられている場合など、汚染リスクによってはその限りでない。

- 7 患者自己免疫細胞の分離及び調製等の作業において、容器の開放を伴う操作を必要とする場合には、原則として上記グレードB（直接支援区域）の環境内に設置したバイオハザード対策用キャビネットやRABS（アクセス制限バリアシステム：Restricted Access Barrier System）等の重要区域（グレードA）で作業を行うこと。アイソレータ等の気密式のシステムで行う場合には、除染バリデーションを適切に実施するために、一定の管理幅にバックグラウンドレベルを維持することが求められ、一般的に少なくともグレードDの環境に設置する必要がある。なお、RABSやアイソレータを使用する場合は、封じ込め機能を具備したものを使用すること。

<補足>

ただし、アイソレータの設置環境や資材等を含む除染レベルに応じて、グレードD以上の環境に設置することも考慮すべきである。

- 8 各清浄度に適切な清浄度が維持できる更衣室を設置すること。また清浄度区域は、便所及び飲食を行う場所から明確に区分すること。
- 9 第5章第1の6に従い、一部独立空調システムを使用する等、他の空調制御環境への交差汚染の排除に配慮した構造とすることを考慮すること。
- 10 飛散しやすく、微量で過敏症反応を示す試薬又は交差汚染することにより、他の調製に重大な影響を及ぼすおそれのある試薬を用いる場合には、調製を行う作業室を分離し、かつ、空気処理システムはコンプレッサー等を含めて完全に独立した系統であること。
- 11 直接支援区域の更衣室は入室と退室で分けることを考慮すること。

<補足>

ただし、入退室の時間をずらすことや退出時の清掃で対応することも考えられる。

- 12 必要に応じて、温度、湿度、酸素濃度、炭酸ガス濃度等について、環境及び調製従事者に悪影響を及ぼす異常な変化を速やかに検出可能な設備や体制整備を考慮すること。

<具体例> プログラムフリーザーや液体窒素保存容器が設置されている部屋等には、警報機能を有する酸素濃度計の設置等を考慮する。

- 13 採光及び照明は、患者自己免疫細胞の調製作業に必要にして十分な照度が得られるように留意すること。
- 14 調製従事者、最終調製物、資材及び廃棄物等の流れ、並びにそれらの管理が容易になるよう、かつ各動線の交錯が少なくなるような設備の配置を考慮すること。

<具体例>

調製従事者の入退室動線と廃棄物の搬出動線を分離することが望ましい。

- 15 汚染や発塵が懸念されるような設備は原則設置せず、可能な限り耐腐食性ステンレス製のものを設置すること。必要があれば表2の基準を満たすことができる対策を施すこと。
- 16 適切な防虫対策を施すこと。

<具体例>

昆虫相調査を実施し、結果を考慮した上で、侵入防止・捕獲（例えば、飛行性昆虫においては窓へ防虫フィルム、歩行性昆虫に対してはトラップ）など適切な対策を講じることが望ましい。

- 17 直接支援区域内に、給水及び排水設備を設置しないこと。その他支援区域に設ける必要があれば、トラップ構造にするなどして排水管が外部の空気と直接接触しない構造をとり、か

つ調製に必要な蒸留水等を供給するパイプ等の設備は、異物又は微生物による蒸留水等の汚染を防止するために必要な構造であること。床に溝を設ける場合は浅く、清掃が容易な構造とすることを考慮すること。

- 1 8 直接支援区域内のスプリンクラー及び排煙設備の設置は、消防署の許可を得て、可能な限り避けること。
- 1 9 廃液を含む廃棄物の処理方法（オートクレーブ処理等）を定め、廃棄物が適切に処理される設備・機器を備えていること。
- 2 0 微生物を含む廃液又は微生物に直接接触した廃液については、閉鎖系のタンク等において、適切な薬品消毒又は加熱滅菌の処理後に排水する。
- 2 1 感染性廃棄物は、次のいずれかの方法で適切に処理すること。
  - ① 適切な薬品消毒又は加熱滅菌等の処理後に細胞調製施設外へ搬出し、自施設内あるいは外部委託により焼却処理する。
  - ② 移動の途中で内容物が飛散・流出する恐れのない容器に入れ、当該容器の外部を消毒後、細胞調製施設外へ搬出し、自施設内あるいは外部の専門業者への委託により焼却処理する。
  - ③ 閉鎖系の適切に管理された方法により細胞調製施設内から直接焼却炉へ搬送するか、又は直接滅菌機へ搬送・滅菌し、自施設あるいは外部の専門業者への委託により焼却処理する。
- 2 2 設備の滅菌や消毒などにより、もし有毒ガスを発生する過程が含まれる場合は、適切な処理方法を確立した上で使用すること。

＜具体例＞専門業者による実施や、調製物や資材に対する影響を考慮する必要がある。
- 2 3 防虫の観点から、漏光を避けるため、屋外に直接面する出入口や窓は設置しないことが望ましい。

＜具体例＞

屋外に直接面する窓がある場合は、防虫フィルム等を活用することなども考えられる。
- 2 4 施設内のセキュリティー確保や施設の異常発生時の記録の観点から、必要に応じて適切な場所へのビデオカメラの設置を考慮すること。ただし、他の方法で対応できる場合や、対象が限定的である場合はその限りではない。
- 2 5 取り違え防止のために、必要な設備の設置を考慮すること。

＜具体例＞

バーコード管理システム、遺伝子検査システム等が挙げられるが、開発初期段階において、同時期に複数の細胞を取り扱うことがなく取り違えの恐れがない場合等においてはその限りでない。
- 2 6 圧縮ガスは、直接支援区域の環境に影響を与えないことを確認した上で使用すること。
- 2 7 防じん目的で清浄区域への入口にエアシャワーを設けることは避けることが望ましい（エアシャワーは塵埃を周囲に飛散させ、コンタミネーションの原因となる可能性がある）。
- 2 8 原料、資材、最終調製物を区分して、衛生的かつ安全に貯蔵するために必要な設備を有すること。
- 2 9 原料、培養工程中及び最終調製物の試験検査に必要な設備及び器具を備えていること。無菌試験を行う試験室の環境は、患者自己免疫細胞及び組織等を調製する環境と同等レベルとすべきである。

＜補足＞

ただし、他の試験検査設備又は試験検査機関を利用して調製実施医療機関の責任において当

該試験検査を行う場合であって、適切な試験検査を行うのに支障がないと認められるときは、この限りでない。

30 指標菌を使用する検査やケミカルハザードが想定される検査は、必要に応じて別区域に検査室を設置するなど、交差汚染を確実に防止する構造を考慮すること。

31 施設の設計やバリデーション等を、エンジニアリング会社やメーカー等の協力を得て行う場合は、その役務範囲を明確にし、評価項目、目的、方法、判定基準等について十分協議した上で実施すること。

＜具体例＞定期的なバリデーションを実施する場合においては、それまでの実績や利用頻度、取り扱う細胞の種類等を基に目的等を適宜見直し、過剰な対応になっていないかも考慮すること。

32 品質に直接的な影響を及ぼすような設備等は、必要に応じて日常的及び定期的に必要な項目を定め、適切に点検すること。

## 第6 細胞調製施設の清浄化及び消毒

細胞調製施設は、以下に示す項目を参考に、予め定めた手順に従って清浄化及び消毒を行い、その記録を作成し保管すること。必ずしも未知のウイルス等の失活を目的にした対応を求めるものではないことに留意すること。

1 妥当性が確認された洗浄剤及び消毒剤のみを使用すること。

＜具体例＞

定期的な（消毒後の）環境モニタリングにおいて把握された菌数及び菌種の状況から、使用している消毒剤の妥当性を確認することが出来る。

2 直接支援区域及び重要区域において使用する洗浄剤及び消毒剤は、有効性を確認した上で販売されている物をそのまま用いるときのほかは、事前にろ過等により無菌化処理を行い、かつ微生物による汚染を受けないように管理すること。

3 洗浄剤及び消毒剤を自家調製する場合においては、予め定めた手順に従って行うこと。またその調製の記録を作成し、保管すること。

＜具体例＞

販売されている洗浄剤及び消毒剤を希釈して使用する場合は、その希釈液、希釈濃度、有効期限、保管方法、及び必要な場合は滅菌方法、その他の必要な事項を予め定めておくこと。

4 薬品の使用、清浄化及び消毒のスケジュール、消毒剤の適用法、必要に応じて消毒後の清浄化、調製従事者の安全に関する諸注意並びに清浄用具の手入れ及び保管方法について、予め定めておくこと。

5 最終調製物と接触する表面の消毒又は洗浄を行った場合においては、消毒剤及び洗浄剤が除去されたことを適切な評価法を用いて確認するか、最終調製物に影響がないことの確認を考慮すること。

6 消毒剤は、適切な有効期限を設定し、期限内のものを使用すること。

7 消毒剤は、原則として清浄化の後に適用すること。使用した洗浄剤の残留が懸念される適用部位は、その洗浄剤は、消毒剤の効果に悪影響を及ぼさないことを予め確認しておくことが望ましい。

8 消毒剤容器の継足し使用は、耐性菌の発生、及び滅菌効果の減少を予防するために原則として行わないこと。

9 消毒剤の選択及び使用に当たっては、少なくとも以下のことを考慮すること。

- ① 保管及び使用に関しては消毒剤の供給者の指示事項に従うこと。
  - ② 消毒剤及び消毒手順の選択に当たっては、調製従事者の安全性を考慮すること。
  - ③ 環境モニタリングの結果等から、使用している薬剤の有効性に問題が疑われる場合は、必要に応じてその有効性を再評価し、消毒剤の変更や複数の消毒剤を交互に使用することなどを考慮すること。
  - ④ 環境モニタリングにおいて、直接支援区域あるいは重要区域で芽胞形成細菌又は真菌の常在が示唆された場合においては、必要に応じて殺芽胞剤又は殺孢子剤の使用を考慮すること。
  - ⑤ 消毒剤の使用は、消毒方法、消毒の適用箇所、及び消毒作用を発現させるのに必要な時間を考慮すること。
  - ⑥ 洗浄剤及び消毒剤は、それを適用する表面への性質（腐食性など）を考慮して決定すること。
- 1 0 調製施設において殺芽胞剤又は殺孢子剤を非定常的に使用する可能性がある場合においては、使用する薬品の種類、使用濃度、適用方法等を予め定めておくこと。
- 1 1 燻蒸剤（エアゾールを含む。）を使用する場合においては、その使用する薬品の性質に応じて上記の項目を準用すること。
- 1 2 消毒剤、洗浄剤及びそれらに使用するための器具類は、重要区域に保管しないこと。
- <補足>
- ただし、手袋を消毒するためのハンドスプレーなどの、管理された状態にある必要最小限のものは重要区域内に保管してもよい。それらの重要区域内に保管する消毒剤、洗浄剤は、その理由及び管理方法を予め定めておくこと。

## 第7 環境モニタリング

### 1 目的

環境モニタリングの一般的な目的は、環境の清浄度を維持する上で、重要区域及びその他支援区域において、微生物数及び浮遊微粒子数が要求される基準を超えないよう管理すること、環境の悪化を事前に把握し最終調製物の汚染を防ぐこと、及び清浄度維持のための清浄化及び殺菌又は消毒の効果を継続的に評価することにある。

#### <具体例>

患者自己免疫細胞の調製においては、一般的にロットが構成されず、通常は投与単位ごとの全数に無菌試験が設定され、最終調製物あるいは工程内に設定された直近の無菌試験の結果を踏まえて投与の可否が判定される。このような場合にあっては、最終調製物の無菌性保証を目的とした環境モニタリングが必ずしも適当であるとは言えない場合も考えられる。

例えば、そのような場合の環境モニタリングは環境の悪化を事前に検知すること、及び清浄化及び消毒方法の効果の評価を主な目的として実施することも考慮されるべきである。

環境モニタリングは、微生物管理と浮遊微粒子管理の二つに分けられ、微生物管理は、環境に存在する全ての微生物を解明することではなく、必要に応じた環境維持操作（消毒等）を行うことを目的としている。

また、患者自己免疫細胞を取り扱う施設であることから、交差汚染については厳密な管理が求められるため、環境モニタリングに係る方法や手順が、封じ込め対策よりも優先されないように考慮すべきである。

環境モニタリングに関する記録は、第4章 第14に従い、作成・保管すること。



## <具体例>

重要区域において浮遊微粒子測定のために、エアロゾルの発生が想定される作業区域に測定プローブを設置することは、プローブを介した交差汚染のリスクが想定される。また、測定器に吸引した空気を完全性が保証されたフィルターでろ過するなどの適切な処理を施さずに封じ込め装置から外へ排出することや、封じ込め装置としての性能保証を損なう改造等は避けなければならない。

## 2 一般要求事項

### 1) 適用

環境モニタリングは、重要区域（グレードA）及び直接支援区域（グレードB）並びにその区域に隣接する、その他の支援区域（グレードC及びグレードD）に適用する。ただしグレードDについては本ガイドラインを参考にして、必要に応じて適用すること。

### 2) 環境モニタリングプログラム

環境モニタリングプログラム及び実施するための手順を予め定めること。また実施に当たって適切な記録が作成されるようにすること。

#### <具体例>

環境悪化の事前検知、清浄化及び消毒方法の効果を適切にモニタリングすることができるよう、対象物、頻度、サンプリング場所、及び処置基準などを考慮し作成する。

ロットを構成する場合で、ロットの無菌性保証を目的にモニタリングをする場合の頻度については、表3を参考にすることもできる。

【表3 微生物管理に係る環境モニタリングの頻度の例】

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	----

### 3) モニタリングの対象物

モニタリングの対象物は微生物及び浮遊微粒子とする。

- ① 空気の清浄度レベルを測定する場合の浮遊微粒子は、粒径  $0.5\mu\text{m}$  以上の浮遊微粒子とする。環境の悪化を事前に把握する目的で、環境モニタリングを行う場合には、粒径  $0.5\mu\text{m}$  以上の浮遊微粒子に加え、必要に応じて、適宜他の粒径の浮遊微粒子の測定を行う。

#### <具体例>

清浄区域にはHEPAフィルターで濾過された空気が供給されるため、非作業時において  $5\mu\text{m}$  以上の粒径の浮遊微粒子が多く検出されることは通常起こりえない。そのため、この粒径の浮遊微粒子を定期的にモニタリングすることは、施設の劣化等による環境の悪化を事前に検知する観点から有効といえる。

- ② モニタリングの対象微生物は細菌及び真菌とする。  
 ③ モニタリングの対象微生物は浮遊微生物、壁、床、建具及び調製設備並びに作業衣等に付着している付着微生物とする。

### 4) 環境モニタリングプログラム作成

環境モニタリングプログラムは、一般的に稼働性能適格性評価の実施に先立ち策定し、稼

働性能適格性評価終了後に最終版とする。この最終版とは、稼働性能適格性評価で設定した環境モニタリングプログラムを再度評価し、日常的な管理プログラムの手順書に定め運用に移行することをいう。稼働性能適格性評価においてはワーストケースの設定も含むため、試料採取箇所及び測定頻度は多くなりがちであるが、稼働性能適格性評価の終了後に日常管理として制定するプログラムにおいては、その目的に応じた簡略化も可能である。また、アイソレータ、RABS、ブローフィルシールなど、無菌汚染リスクの堅牢な設備を採用している場合、患者ごとに適切に除染することと、設備の適切な定期・非定期の点検整備監視により、微生物測定を簡略化も可能である。

また、ISO DIS 14644-1 に掲載されているサンプリングポイント数など、ISO 規格に掲載されている情報を参考にしてもよい。

#### 5) モニタリングの対象物及び箇所

モニタリングを実施する対象には、作業室、調製機器（必要に応じて工程制御装置）、調製従事者、無菌環境に接触する空気、無菌環境を維持するための空気及び接触する圧縮空気又はガスを含むこと。

<補足>

ただし、調製機器や工程で用いる圧縮空気やガスなどは、ろ過滅菌フィルターの完全性試験等により保証される場合は、その限りでない。例えば、容器の開放を伴う操作を行うバイオハザード対策用キャビネット内へ供給されるガスが無く、気密または密封容器が培養に用いられる場合においては、日常の環境モニタリングで求められる管理幅に制御されていることを条件に不要とすることも考えられる。

#### 6) モニタリングの方法： 試料採取方法及び検出方法

調製区域毎のモニタリングポイントは、作業室の大きさやレイアウト、作業内容、材料や最終調製物の工程フロー、気流方向などを考慮して、環境モニタリングの目的に応じた適切な分布と採取箇所数を定めること。及び、最終調製物汚染評価に重要と考えられるポイントは適宜追加すること。

<具体例>

環境悪化の事前検知を目的とした場合、吸気口付近でサンプリングすることが、当該室内の環境悪化を最も感度良く検知することが可能な場合もある。

- ① 浮遊微粒子の測定装置及び浮遊微生物の採取装置は、少なくとも1年以内に校正されている装置を使用すること。浮遊微粒子のサンプリング量は $1\text{m}^3$ あたりに換算できる量とすること。
- ② 浮遊微生物のサンプリングには落下法、衝突法又はろ過法、表面付着微生物のサンプリングにはコンタクトプレート法、拭取り法等適切な方法を1つ又は複数用いる。

<具体例>

表面付着微生物のサンプリングの対象とする面積は採取する対象物の形状や状態により適宜選定すべきであり、原則として装置、器具等の表面のサンプリング対象面積は $24\sim 30\text{cm}^2$ とする。浮遊菌数測定のサンプリング量は、モニタリング対象区域の清浄度やモニタリング頻度などの総合的な根拠考察により、適切なサンプリング量とする。グレードAでは、浮遊菌の1回のサンプリング量は $1\text{m}^3$ とする。落下菌の測定は通例、直径90mmのプレートを用い、最大曝露時間は4時間とする。

- ③ 浮遊菌又は付着菌の検出及び測定に用いる培地は好気性菌、真菌（酵母及びカビ）、嫌気性菌等の検出対象菌に適した培地を用いる。使用する培地については、必要に応じて発育阻

害物質の確認等を行い、培地として必要な性能を有し、適切なモニタリングの実施に支障のないものを用いる。発育阻害物質の確認とは、培地での菌の捕集や培養行為において、アルコール、抗菌物質等が付着することにより、モニタリングの成績に影響を及ぼさないことを確認することである。

④培養温度は検出対象微生物の増殖に適した温度とすること。

#### 7) モニタリングの警報基準値及び処置基準値

モニタリングの対象物及び箇所について、警報基準値及び処置基準値を設定すること。

①警報基準値は稼働性能適格性評価の結果や、定期モニタリングの結果やその解析結果に基づき設定する。

②設定した警報基準値及び処置基準値に達した場合における原因究明の必要性の調査、調製停止等採るべき措置について定めておくこと。原則として、警報基準値からの逸脱は、調製を中止する必要はないが、必要な措置及び対策を講じる。

<具体例>

ロットを構成する場合で、ロットの無菌性保証を目的にした場合の処置基準値からの逸脱は、該当箇所に関連する調製工程において調製された最終調製物が投与される前に、無菌試験を追加する等して最終調製物の無菌性を確認すること。投与後に逸脱が判明した場合は、投与された最終調製物の無菌試験結果の再確認や、保管サンプルの再試験を行う等、最終調製物への影響と患者への影響を適切に評価した上で必要な対策を講じること。

③逸脱の原因の究明を行い、必要に応じて是正措置及び回復の検証を行う。

<具体例>

この回復の検証は、浮遊微粒子のように即座に測定し判断可能なものもあるが、調製従事者の付着菌のように再現性が容易に得られない場合もある。そのような場合は、一定期間の入室禁止や再教育、あるいは作業内容の見直し等の措置も含めた総合的要素により回復とする判断を行うことが考えられる。

### 3 日常管理要求事項

#### 1) モニタリングプログラムの実施

モニタリングプログラムに従って、目的に応じた適切な頻度を定め、日常的に微生物及び浮遊微粒子のモニタリングを実施すること。

#### 2) 微生物管理

微生物汚染は目的に応じて日常的にモニタリングすること。微生物管理に係る環境モニタリングプログラムには、目的に応じた評価を可能にする環境菌叢及び分離菌の特性についての定期的な調査を含むこと。

#### 3) 日常調査

調製環境の維持のため、日常のデータに基づく傾向分析を行い、傾向分析基準値を設定すること。調製環境の変化が基準値内（警報基準内）であっても通常域（傾向分析基準）から外れる傾向を事前に検知し、その要因の調査を実施することにより、環境維持を適切に行い、空調設備等環境維持装置の維持管理、施設の清浄化及び消毒の方法の是正にも活用する。

<具体例>

施設の劣化を事前に検知することを目的にした清浄度モニタリングにおいては、適切な手法を用いた傾向分析は有効であると考えられる。また、清浄化及び消毒方法の効果確認を目的にした微生物モニタリングにおいては、消毒後のモニタリングが適切と考えられる。何れの場合も、日常的なモニタリングから得られたデータとその分析結果を基に、その頻度などを

下げていくことも考慮されるべきである。

#### 4 環境モニタリング判定基準例

環境モニタリングの評価基準を表4に例示する。ただし、最終調製物の種類、ロット形成の有無、無菌汚染リスクの堅牢性（重要区域や資材等の除染レベル、及びバックグラウンドレベル等）、自動化のレベル等により最終調製物への汚染リスクは異なるため、必要性や目的に応じ、以下の各項を考慮した上で適切なモニタリングプログラムを確立し、運用すること。

- 1) ロットを構成する場合で、ロットの無菌性保証を目的にした場合の頻度は、作業の内容、作業時間等に応じて表3に示す頻度を増減してもよいが、最終調製物への汚染状況を適切に評価することができる頻度である必要がある。
- 2) 調製従事者の習熟度レベルにより、調製従事者の付着菌測定頻度を設定することも必要である。経験の浅い調製従事者については、特に測定頻度を増やすことを推奨する。調製従事者のレベルは、作業への従事頻度、付着菌モニタリングの結果等を追跡し判断することも考慮すべきである。
- 3) 一般的にグレードA及びグレードBのバックグラウンドとなるグレードC及びグレードDについては、表4の判定基準を参考にして品質に与えるリスクを評価し、最終調製物、その区域で実施される工程、作業内容、及びリスク対象の大きさ等によりモニタリング頻度を設定すること。

<具体例>

アイソレータ等の無菌汚染リスクが比較的少ない重要区域が採用される場合は、ある一定の管理レベルにバックグラウンドを保つことで、除染バリデーションが可能な場合もある。また動線の設計や清浄化及び消毒頻度等によって、グレードBへ与える影響は施設ごとに異なり、このような場合は、必ずしも表4に示す判定基準を一律に要求する必要はないと考えられる。

- 4) 施設の運転開始直後、長期運転停止後又は一部変更後においては、モニタリング頻度等の強化を考慮すること。

<具体例>

モニタリング頻度を強化して一定期間傾向分析を行い、安定状態（ベースライン）を明らかにした後、適宜頻度を下げること考えられる。

【表4 環境微生物の許容基準（作業時）】<sup>注3)</sup>

グレード	空中微生物		表面付着微生物	
	浮遊菌	落下菌 <sup>注4)</sup>	コンタクトプレート	手袋
	(CFU/m <sup>3</sup> )	(CFU/plate)	(CFU/24~30cm <sup>2</sup> )	(CFU/5指)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	----
D	200	100	50	----

(注3) 許容基準は平均値評価とする。

(注4) 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。

## 第6章 職員及び組織並びに管理体制等

### 第1 職員及び組織

- 1 細胞・組織等の保管、調製プロセスにおける各操作並びに試験検査等は、細胞の取扱い、細胞調製技術又は試験検査技術等について、適切な専門的知識、技術及び経験を有する者の管理及び責任のもとに実施すること。
- 2 細胞調製と品質管理の責任者の兼務は避け、調製結果及び試験検査結果の客観的な判断がなされる体制を構築すること。

<補足>

開発初期段階にあつては、開発者自身である責任医師が細胞調製に直接従事する場合も少なくなく、そのような場合では適切に責任医師のレビューが実施される体制を構築することで良いと考えられる。対象患者数なども考慮した上で、客観的な判断がなされるために必要な現実的な体制構築が望まれる。

- 3 品質管理を担当する部門は、細胞調製を担当する部門から独立していることが望ましい。
- 4 各責任者の役割と責任を明確にし、連絡及び報告体制を整備すること。
- 5 患者自己免疫細胞の調製にあたって知り得た患者に関する個人情報や安全性等に関する情報を適切に取扱うために、必要に応じて責任者を任命し、管理にあたらせること。
- 6 細胞・組織等の調製を実施する直前に、細胞に対して感染及び汚染の可能性のある微生物やウイルス等の取扱いに従事した者等、細胞の安全性や純度に望ましくない影響を与える可能性のある者の細胞調製施設等への入室を禁止すること。

<補足>

ただし、更衣を変更するなどして適切に対応している場合はその限りでない。

### 第2 教育訓練

調製作業に従事する前に、調製従事者に対し本ガイドラインの内容を熟知させるとともに、次に掲げる教育訓練の実施を考慮すること。教育訓練については、定期的な実施も考慮すること。

<補足>

ただし、第4章4に示すように、例えば、ロットを構成しないもので、開発初期段階にあるものについては、開発者自身である責任医師が細胞調製に直接従事する場合も考えられる。そのような場合には、教育対象が限定的であることも想定されるため、開発段階に応じて必要な教育内容について検討すべきである。

また、調製従事者の習熟度レベルによって、衛生面に影響を与える場合も考えられ、そのような場合は第5章 第7の4の2)に示すように、環境モニタリングの対象として頻度を増やすなどして教育訓練の効果を確認することなども考えられる。

- 1 衛生面
- 2 更衣手順
- 3 調製細胞に関する知識
- 4 調製に用いる細胞・組織の安全な取扱いに関する知識及び技術
- 5 試験検査に関する知識及び技術
- 6 分子生物学・免疫学等の基本的な知識
- 7 細菌学・ウイルス学等バイオセーフティ技術に関する知識
- 8 設備・装置に関する知識及び技術
- 9 事故発生時の措置に関する知識及び技術

## 10 取り違え防止に関する知識及び技術

### 11 その他安全性確保に関する知識及び技術

## 第3 健康管理

- 1 調製従事者に対し、定期的に健康診断を行い、病原性ウイルス等の感染について確認することが必要である。

＜具体例＞

実地医療段階にあり対象患者数が多い場合や、従事が長期間に亘る場合は考慮すること。

- 2 必要に応じて、入室前にチェックを行い、入室の適格性を判断すること。
- 3 患者自己免疫細胞の調製にあたって、予め作業区域内における感染の予防について検討すること。

＜具体例＞

針刺しあるいはその類の事故への対策は最も重要と考えられ、針や鋭利な器具等が不要な作業手順を確立しておくことも考えられる。

- 4 作業区域内において感染のおそれが生じた場合は、直ちに調製従事者に対し健康診断を行い、適切な措置を講ずること。なお、必要に応じて調製従事者について、調製従事前同意を得て血清を予め採取し、当該調製従事者が調製に従事している期間中及び従事することを終えた日以降も適切な期間これを保管すること。
- 5 調製従事者に対する健康診断の実施、血清の採取、保管にあたっては個人情報の保護等、調製従事者の人権に配慮すること。
- 6 作業時間  
製造作業従事者の連続作業時間について、その作業の質を確保する為にも、一定の時間を設ける事が望ましい。

## 第4 内部監査等

- 1 患者自己免疫細胞療法については、治療実施医療機関の責任において、その品質及び安全性を担保し、科学技術の進歩に応じて調製プロセス、品質規格等を見直すべきものであり、それらの観点から自主的な監査の実施を検討すること。

＜補足＞

ただし開発初期の段階にあっては対象が限定的であることも想定されるため、必ずしも一律に内部監査の実施を求めるものではないが、患者への適用後に得られる情報を基に、細胞調製プロセスへのフィードバックを試みることなどは検討すべきと考えられる。

- 2 内部監査にあたっては、品質及び安全性確保の観点から、患者に対して実施されるスクリーニングの内容（検査項目や検査方法を含む）、調製プロセス中の細菌、真菌、ウイルス等の不活化／除去処理等が、現在の科学技術水準に照らして感染症の伝播防止の観点から適切に行われていることを、調製実施医療機関の責任において確認すること。
- 3 複数の医療機関で実施する場合においては、調製実施医療機関だけでなく、治療実施医療機関も監査対象に加えることも考慮すべきである。
- 4 内部監査に際しては、調製細胞の投与経路や適用部位等も勘案し、材料を含めた適切な管理が行われていることを確認すること。

## 第5 個人情報の保護

細胞・組織等の採取を行う者、倫理審査委員会の委員、監査を行う者及び患者自己免疫細胞を取り扱う者等、関係者は細胞・組織等の採取や当該患者自己免疫細胞を取り扱う際に知り得た患者に関する個人情報を漏らしてはならない。また、これらの職務を離れた後でも同様であること。

## 第7章 本ガイドラインの見直し

本ガイドラインは、科学技術の進歩、細胞・組織の取扱いに関する社会情勢の変化等を勘案して、定期又は必要に応じて見直すこととする。

## 【参考資料】

ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について  
(平成12年12月26日 医薬発第1314号)

ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針  
(平成20年2月8日 薬食発第0208003号)

ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方  
(平成20年3月28日 薬食監麻発第0327028号)

医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令  
(厚生労働省令第百七十九号)

無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針(平成23年4月20日)

第16改正日本薬局方

医療機関における自家細胞・組織を用いた再生・細胞医療の実施について  
(平成22年3月30日 医政発0330第2号)

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関する指針  
(平成24年9月7日 薬食発0907第2号)

ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針  
(平成22年厚生労働省告示第380号 平成22年11月1日)

先進医療センター等における細胞治療・再生治療開発のためのGMP準拠細胞プロセッシング施設がもつべき構造設備基準(GMP細胞プロセッシング施設基準)について  
(平成14年、京都大学医学部附属病院分子細胞治療センター)

本ガイドラインについての問い合わせ先：

日本免疫治療学研究会事務局 (JRAI) [info@jrai.gr.jp](mailto:info@jrai.gr.jp)



## 初版作成委員会

### 【委員長】

木村 秀樹 千葉県済生会習志野病院 呼吸器外科

### 【委員】

池田 裕明 三重大学大学院医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学講座 准教授  
岡 正朗 山口大学大学院医学系研究科 消化器・腫瘍外科学 教授  
鈴木 弘行 福島県立医科大学 呼吸器外科/臓器再生外科学講座 教授  
谷 憲三朗 九州大学生体防御医学研究所 ゲノム病態学研究分野 教授  
徳久 剛史 千葉大学大学院医学研究院分化制御学教室 教授  
中面 哲也 国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター 免疫療法開発分野長  
森尾 友宏 東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・発生発達病態学分野 准教授  
山口 佳之 川崎医科大学附属病院 臨床腫瘍科 教授

### 【アドバイザー】

阿曾沼 元博 順天堂大学 客員教授  
河上 裕 慶應義塾大学大学院医学研究科生理系専攻先端医科学 教授  
紀ノ岡 正博 大阪大学 大学院工学研究科 生命先端工学専攻生物プロセスシステム工学領域 教授  
澤 芳樹 大阪大学 大学院医学系研究科 心臓血管外科学 教授  
清水 則夫 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 フロンティア研究室ウイルス治療学 准教授

委員会設立 2012年 2月17日  
第1回委員会 2012年 10月14日  
第2回委員会 2012年 12月21日  
第3回委員会 2013年 5月17日  
第4回委員会 2013年 9月27日

平成25年8月20日

## iPS 細胞等をもとに製造される細胞組織加工製品の造腫瘍性に関する議論のまとめ

細胞組織加工製品専門部会 部会長 中畑龍俊  
細胞組織加工製品専門部会 副部会長 岡野栄之

### 1. はじめに

独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)科学委員会細胞組織加工製品専門部会(以下、本専門部会と略)は、細胞組織加工製品に関し、iPS 細胞等の安全性に関する大きな懸念事項である「造腫瘍性」について、科学的見地から議論を重ね、とりまとめを行った。

細胞組織加工製品の開発を適切に推進するためには、科学的に想定される懸念事項に対し、現時点で認識し得る問題をできる限り整理した上で、実施可能性をも考慮した対応がなされるべきである。ただし、細胞組織加工製品の開発に関しては、今まさに様々な研究が進行中であり、現時点での知見は限られている。したがって、本専門部会は、可能な限りの現状分析と対応を提示するものの、近い将来関連データが集積された段階で随時検討を重ねる必要があることを併せて提言するものである。

「造腫瘍性(tumorigenicity)」とは、動物に移植された細胞集団が増殖することにより悪性または良性の腫瘍を形成する能力をいう。ヒト iPS 細胞やヒト ES 細胞は、元来、奇形腫形成という造腫瘍性を有しており、この点がヒト体細胞・体性幹細胞とは大きく異なる。これらの多能性幹細胞に由来する細胞組織加工製品においては、未分化の多能性幹細胞の残留・混入等により異所性組織や腫瘍が形成されるおそれがあるため、最終製品の造腫瘍性の評価と適切な管理が重要な課題である。

細胞組織加工製品の安全性を確保するために、今回、本専門部会は、「造腫瘍性」に焦点を当て関連する課題を整理した。具体的には、現時点でどのような科学的試験方法が存在するか、さらに、個別の試験方法の実力と限界についての現状をまとめ、考え得る対応案を提示した。したがって、本報告は細胞組織加工製品の開発に関する科学的見地からのまとめであって、細胞組織加工製品の薬事承認のための要件等を示すものではない。

### 2. 細胞組織加工製品における造腫瘍性

細胞組織加工製品の由来細胞の種類(体細胞、体性幹細胞、iPS 細胞等)は多様である。また、最終製品ごとに必要な細胞数は、例えば、網膜色素上皮細胞製品では  $10^4$ 個、心筋細胞製品では  $10^8 \sim 10^9$ 個と様々である。さらに、由来する細胞についても、自己、同種、及び HLA ホモ

接合型の同種のものが想定される。その上、細胞組織加工製品の臨床利用に際しては、その様態(例:細胞懸濁液や細胞シート等)、適用の経路、適用部位、免疫抑制剤の使用の有無、患者の病状の緊急性等、様々なケースが想定される。したがって、このような多様性に基づき、造腫瘍性の評価においては、総合的な考察が求められる。実際、このような考え方は、米国・EUの規制当局のガイドライン及び厚生労働省指針でも見て取れるが、現時点では細胞組織加工製品及びその由来細胞に関する造腫瘍性評価の公的ガイドラインは存在しない。(注1)

細胞組織加工製品の造腫瘍性を評価する上で、「製造に用いる(幹)細胞の造腫瘍性と最終製品の造腫瘍性との相関・因果関係は未解明である」という点は重要であり、多能性幹細胞をもとに製造される細胞組織加工製品に関して、ことに iPS 細胞由来細胞組織加工製品の場合、その由来する iPS 細胞ストック等における造腫瘍性と最終製品としての iPS 細胞等加工製品の造腫瘍性は区別して検討しなければならない。

### 3. iPS 細胞等に由来する細胞組織加工製品における未分化細胞・造腫瘍性細胞の混入及び造腫瘍性の評価

iPS 細胞等に分化を誘導して製造した最終製品が造腫瘍性を有する場合、その原因として、未分化な iPS 細胞等の混在、及び分化誘導の過程で造腫瘍性を有する細胞が生じた可能性が想定される。これらを実評価する方法としては幾つかの試験系が存在する。

造腫瘍性を持つおそれのある未分化 iPS 細胞等の混入を実評価する試験系としては、未分化多能性細胞特異的なマーカーの発現を指標にしたフローサイトメトリーや定量的 RT-PCR (qRT-PCR) が挙げられる。しかし、いずれも一定の頻度以下の未分化多能性幹細胞の混入は検出できず、最終製品を未分化多能性幹細胞培養条件に戻して培養して iPS 細胞等のコロニーが出現しないことの確認など新たな検査法の確立が重要である。

一方、これらの試験方法は、使用した未分化細胞マーカーを発現していない(すなわち想定外の)造腫瘍性細胞を検出することはできない。したがって、製造工程中において意図しない形質転換により生じる造腫瘍性を有する細胞をいかに検出するかは、重要な課題である。

悪性形質転換細胞を検出するための試験系としては、軟寒天コロニー形成試験、フォーカス形成試験、成長因子非依存性増殖アッセイ、ヌードマウスへの皮下移植による造腫瘍性試験(注1 WHO TRS878 を参照)等が挙げられるが、これらの方法はもともと細胞株ないしセル・バンクのような比較的均一な細胞集団の特性解析を目的としており、ごく少数の造腫瘍性を有する細胞に起因する造腫瘍性を評価するためには、ヒトへの外挿性も含め、十分な感度があるかどうかには注意する必要がある。

造腫瘍性細胞を包括的かつ高感度で検出する試験法としては、NOG マウスもしくは NSG マウス等の重度免疫不全マウスへの皮下移植による造腫瘍性試験が考えられる。ただし、これらの系における定量化の方策・標準化は未整備である。

細胞組織加工製品に関する上記の試験系はすべて、最終製品における造腫瘍性を有する細胞の混入量あるいは有無を試験するものである。上述の通り最終製品は多様な要素を持つと想定されるので、個々の最終製品ごとに、許容される造腫瘍性細胞の混入量を考察し、それを検出する試験法を確立した上で、カットオフ値を定める必要がある。(注2)

iPS 細胞等加工製品の造腫瘍性に関する一つの懸念として、「生着する微小環境が腫瘍形成に影響を及ぼすか否か」が挙げられる。これを非臨床で検証する系としては、重度免疫不全マウス等を用い、ヒトでの適用部位に相当する部位に当該製品を適用して造腫瘍性を試験する方法が考えられる。ただし、その臨床への外挿性は未だ検証されておらず今後の課題である。

#### 4. iPS 細胞等に由来する細胞組織加工製品の製造に用いるヒト(同種)由来 iPS 細胞の造腫瘍性の評価と管理

iPS 細胞ストックは、特定の最終製品の製造を想定して開発されているものではなく、多様な最終製品の製造に用いることを想定したヒト(同種)由来 iPS 細胞のコレクションである。米国NIH等、海外でもヒト iPS 細胞コレクションが樹立されつつある。そこで、本専門部会では、一般論として、このようにコレクションされた臨床用ヒト iPS 細胞の造腫瘍性をどのように評価、管理すべきかについて議論した。

最終製品の造腫瘍性の評価は、上述の通り、重要であるが、最終製品の造腫瘍性は、その由来 iPS 細胞コレクションにおける個々の iPS 細胞の造腫瘍性及び最終製品に至る分化誘導のプロセス(製造工程)に依存する可能性がある。共通の iPS 細胞からそれぞれ固有の特性を持つ多様な最終製品が製造されると同時に、多数の患者に同一の最終製品が適用される可能性も想定される。最終製品中の細胞の分化度・増殖性等の特性によって、または適用される母集団が大きくなることによって腫瘍を発症する患者が出現してくるおそれがある。したがって、この場合、製造に用いる iPS 細胞について造腫瘍性の評価を厳密に行う必要がある。ヒトの iPS 細胞が発がんに関与するとした場合、主な懸念事項として、「継続的な細胞増殖を誘導する遺伝子異常」と「ゲノムの不安定性」が考えられ、これらについて討議した。

「継続的な細胞増殖を誘導する遺伝子異常」は、いくつかの発がんに関与する遺伝子変異の積み重なりによる異常と考えられている。したがって、発がんに関与する遺伝子変異を持つ細胞が患者に導入された場合、がんの発症リスク上昇が懸念される。iPS 細胞の遺伝子異常誘発に関して、レトロウイルスを用いた遺伝子導入では必ずホストのゲノムに遺伝子が組み込まれるが、それに比べ、現在行われているプラスミド(エピソーマルベクター)による遺伝子導入ではホストのゲノムに遺伝子が導入される確率は低い。しかしながら、ホストのゲノムに遺伝子やプラスミド断片が導入される可能性は否定できないため、導入の手法は問わずに iPS 細胞の作製に用いた初期化遺伝子がホストのゲノムに組み込まれていないことを検証することが重要となる。初期化遺伝子等の残留が、PCR によって検出できるような場合には、その細胞の造腫瘍性が高まっていることが懸念される。PCR については、検出感度を把握した上で実施することが重要であり、実施可能性にも留意した上で、できるだけ高感度であることが望ましい。なお、プラスミド断片の