

挿入について検出可能な新規検査法(アレイ、全ゲノムシーケンス、濃縮トラップ法等)の開発も望まれる。また、エピソーマルベクターに含まれるプロモーター及びエンハンサー配列はゲノムに挿入された際に内在性遺伝子を活性化させる危険性がある。そのため、初期化遺伝子に加えてプロモーター及びエンハンサー配列の有無についてもPCRで検査することが望ましい。

iPS細胞が樹立された後、基礎的な情報として、核型、及び全エクソンの塩基配列に異常がないか確認しておくべきと考えられる。現時点で発がんへの関与が判明している遺伝子を【表1】に例示する。これらの遺伝子の変異やそれに基づくアミノ酸置換がiPS細胞で生じていないこと(新たな付加変異がないこと)の確認は重要である。ただし、発がんへの関与が報告されている遺伝子は【表1】以外にも存在し、また、がん関連遺伝子に関する知見・情報は日々刷新されている。したがって、【表1】の内容は随時更新する必要があることを付記する。他方、がん遺伝子及びがん抑制遺伝子を網羅的に確認することは実際上困難である。また、確認対象の遺伝子の設定の仕方によっては実際の発がんへの寄与が極めて少ない遺伝子の変異のみを含むようなiPS細胞までも最終製品の製造に用いるには不適切として排除することになり、合理的でなくなるおそれがある。試験に際しては、細胞の種類、製造方法、あるいは対象疾患や使用目的等も踏まえて、COSMIC等の既存のがんゲノム変異データベースも参考にして、合理的な範囲で確認対象とする遺伝子を決める必要がある。

もう一つの大きな問題は「ゲノムの不安定性」である。ゲノムの不安定性により、生体内でがんにとって有利なクローンがセレクションされると考えられている。がん細胞にとってゲノムの不安定性は進化の駆動力であり、一般的に、がんは全てゲノムの不安定性を獲得していると考えられる。長期的にはゲノムの不安定性は発がんに大きく寄与するものと考えられ、このことはiPS細胞に外来性のがん原性遺伝子が残るかどうかとは異なる問題であることに留意する必要がある。また、ES細胞が初期胚由来であるのに対して、iPS細胞は分化細胞を人為的にリプログラミングするため、エピジェネティックな構造も含め、不安定性がより高いことが考えられる。

ヒトにおける多くのがんは、増殖に強く寄与する遺伝子(おそらく数個から20個程度)の変異が蓄積して生じるため、晩発性の発がんが促進されないようにするためには、通常の細胞よりもゲノムの変異率が上がっていないことを確認しておく必要がある。例えば、基礎的なデータとして、iPS細胞を継代培養した際のゲノムの変異率について、通常の細胞レベルと比較してどの程度であるかを確認しておくことは有用と考えられる。確認方法の一例としては、経時的なエクソンシーケンスが挙げられる。例えば、元の細胞と10継代後の細胞の全エクソンを比較し、その変異率を通常の細胞のレベルと比較するというやり方等が考えられる。また、分化誘導を行う場合には、分化誘導後のゲノム(エクソン)の変異率のデータも有用と考えられる。

なお、染色体の構造異常を来すものと、塩基配列異常を来すものは必ずしもオーバーラップしない。したがって、継代培養後のゲノム(エクソン)の配列情報は核型解析の情報の代替にはならない。

また、臨床用ヒトiPS細胞ストック作製においては、幾つかの遺伝子を導入したことに伴う事象と、培養に伴うゲノムの不安定性の2種類の問題が考えられるが、現時点の科学では、両者を

区別することなく、導入操作時及び継代した後のゲノムの不安定性について確認することが現実的である。全エクソン解析は、ゲノム変異におけるサブポピュレーションの解析も行えることから、この目的に使用することが可能と考えられる。

臨床用ヒト iPS 細胞ストックの造腫瘍性に関し、遺伝子レベルでの確認を行う場合、ゲノムの変異や同一人物由来の体細胞の遺伝子配列のある程度の多様性が、健常人にも認められることは注意すべきである。iPS 細胞の作製過程で新たに生じた変異を同定し、それががん関連のアミノ酸変異を起こすものかという視点での検討も必要である。ドナー由来の変異の取扱いについては慎重に対応する必要があるが、同意を取得した範囲を踏まえて、細胞組織加工製品の安全性を確保するよう適切に対応する必要がある。

5. おわりに

本専門部会では、今回、細胞組織加工製品の開発において懸念されるリスクとして「造腫瘍性」を取り上げ、特に iPS 細胞に焦点を絞って議論を行った。その結果、現段階での造腫瘍性リスクに関する知識及びその評価法についての一定の整理がなされた。

本専門部会においては、iPS 細胞等に由来する細胞組織加工製品の造腫瘍性について、そのリスクをゼロにすることは現在の科学技術では困難であること、また、一方で、疾患というリスク及びその時間的経過により増大するリスクを抱えた患者から細胞組織加工製品の实用化が期待されていることについては明確なコンセンサスが得られた。そのことを承知した上で、現時点で活用可能な手段を合理的な範囲で活用し、できるだけリスクを減らすよう努力する必要がある。本報告書は、このような観点で、現時点での見解をまとめたものである。

なお、iPS 細胞等に由来する細胞組織加工製品については、分化誘導過程での造腫瘍性の増強の有無やエピジェネティックな要因による造腫瘍性等、今回、議論していない課題も存在し、今後の議論が必要と考えられる。また、臨床適用される最終製品は多様な形態となることが想定され、その特性を踏まえて適用すべき試験を適切に選択した上で、臨床適用においてはできるだけ長期フォローを行うことが必要と考えられる。

細胞組織加工製品の開発は日進月歩である。先端的な分野であるほど、「誰もが未経験」であるために、品質や安全性確保は困難になる。その克服には、既存の評価技術の活用を諮ると共に新規評価法の開発を継続的に推進する努力が必要である。本専門部会では、今後も細胞組織加工製品の品質、有効性及び安全性をいかに評価するか、について最新の知識を収集し、かつ叡智を集めて議論をつくしながら、現時点で利用可能な科学技術の可能性と限界について科学的コンセンサスを醸成する努力を継続して行く所存である。

表1 がん関連遺伝子の例(Gene Symbol で表示)

ABL1	CBFA2T3	ERCC4	GATA1	MEN1	NUP214	SH3GL1
ABL2	CBLB	ERCC5	GATA3	MET	NUP98	SMAD4
ACVR1B	CBLC	ERCC6	GNA11	MITF	PALB2	SMARCA4
AFF3	CCND1	ETV4	GNAQ	MLH1	PAX8	SMARCB1
AKAP9	CCND2	ETV6	GNAS	MLH3	PBRM1	SMO
AKT1	CCND3	EVI1	GOLGA5	MLL	PDE4DIP	SOCS1
AKT2	CDC73	EWSR1	GOPC	MLL2	PDGFB	SRGAP3
ALK	CDH1	EXT1	GPC3	MLL3	PDGFRA	SRSF2
APC	CDH11	EXT2	H3F3A	MLLT3	PDGFRB	SS18
ARHGEF12	CDK6	EZH2	HMGA1	MPL	PIK3CA	STAT3
ARID1A	CDKN2A	FAM123B	HMGA2	MSH2	PIK3R1	STK11
ARID2	CDKN2C	FANCA	HNF1A	MSH6	PIM1	SUFU
ASXL1	CDX2	FANCB	HRAS	MUTYH	PLAG1	SUZ12
ATF1	CEBPA	FANCC	IDH1	MYB	PML	SYK
ATM	CHEK1	FANCD2	IDH2	MYC	PMS2	TCF3
ATR	CHEK2	FANCE	IKZF1	MYCL1	POLE	TCL1A
ATRX	CIC	FANCF	IL2	MYCN	POLH	TET2
AXIN1	COL1A1	FANCG	IL7R	MYD88	PPARG	TFG
AXIN2	CREB1	FANCI	IRF4	MYST3	PPP2R1A	TLX1
BAP1	CREBBP	FANCI	JAK2	NCOA2	PRKAR1A	TNFAIP3
BCL11A	CTNNB1	FANCL	JUN	NCOA4	PTCH1	TP53
BCL11B	CYLD	FANCM	KDM5C	NF1	PTEN	TPR
BCL2	DAXX	FANCP	KDM6A	NF2	PTPN11	TSC1
BCL3	DDB2	FBXW7	KDR	NFE2L2	RAD51C	TSC2
BCL6	DDIT3	FEV	KIT	NFKB2	RAF1	TSHR
BCOR	DDX5	FGFR1	KRAS	NIN	RB1	USP6
BCR	DDX6	FGFR1OP	LCK	NONO	REL	VHL
BHD	DEK	FGFR2	LMO2	NOTCH1	RET	WRN
BLM	DICER	FGFR3	MAF	NOTCH2	RNF213	WT1
BMPR1A	DNMT3A	FH	MAFB	NPM1	ROS1	XPA
BRAF	EGFR	FLCN	MAML2	NR4A3	RUNX1	XPC
BRCA1	ELK4	FLT3	MAP2K4	NRAS	SDHB	ZNF521
BRCA2	EP300	FOXL2	MDM2	NSD1	SDHD	
CARD11	ERBB2	FOXP1	MDM4	NTRK1	SETD2	
CARS	ERCC3	FUS	MED12	NTRK3	SF3B1	

がん関連遺伝子に関し、Cancer Research 72:636-644, 2012 及び外部有識者(柴田龍弘先生)提出資料(※)より作成。

※:外部有識者提出資料は、家族性腫瘍の原因遺伝子として報告されているもの(米国 NCBI の OMIM(Online Mendelian Inheritance in Man)(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>))、これまでの報告からがんにおいて最初の体細胞変異と想定されるもの及びがん変異データベース(英国サンガーセンターの COSMIC(<http://cancer.sanger.ac.uk/cancergenome/projects/cosmic/>))等において高頻度に認められる(上位20位)遺伝子(全てのがん種についての全体集合)をリスト化した資料。

注1:細胞組織加工製品の品質・安全性確保に関しては、既に厚生労働省より「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(同種)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 9 月 12 日薬食発第 0912006 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ついて」(平成 24 年 9 月 7 日薬食発 0907 第 2 号)、「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)、「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)、「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)、「ヒト ES 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 6 号)などの指針が発出されている。現在、細胞の造腫瘍性試験に関する国際的なガイドラインとして唯一存在するのは、世界保健機関(WHO)の生物薬品標準化専門委員会第 47 次報告(1998)(Technical Report Series No. 878, TRS 878)Annex I「生物薬品製造用の *in vitro* 基材としての動物細胞の使用の要件」である。WHO TRS 878にある造腫瘍性試験の内容は、極めて大雑把に言えば、「ヌードマウス等の動物 10 匹に 10^7 個の細胞を投与して 16 週間観察し、陽性対照としては HeLa 細胞などを用いる」というものであり、この試験の目的は、生物薬品用細胞基材となる細胞株の均一なバンク(セル・バンク)の造腫瘍性の程度又は有無を正確に把握することにある。造腫瘍性の程度的大幅な変化又はその有無に変化が生じた場合、細胞特性に何らかの異常が起こった指標となる。つまり、既知あるいは未知のウイルス感染、変異原性物質やストレスによる遺伝子変異・発がん遺伝子活性化など、原因はいずれにせよ、セル・バンクの安定性上の異常が発生したことを検出するための方策として、セル・バンクの造腫瘍性を細胞特性指標の一つとして評価し、品質管理に活用することが WHO TRS 878 では必要とされている。ここで注意しなければならないのは、その適用対象である。WHO TRS 878 の適用対象は、あくまでワクチンやタンパク質製剤など、ヒトに投与される生物薬品を製造する際に *in vitro* 基材として用いられるヒト又は動物由来の細胞であって、「患者に移植する細胞」及び「治療を目的に患者に移植する細胞株の原料となる細胞」は、対象外とされている。

注2:iPS 細胞等加工製品中の未分化 iPS 細胞ないし造腫瘍性細胞の混入の評価の最終的な目的は、製品中の細胞の増殖異常の検出にある。したがって、iPS 細胞等加工製品の場合、厚生労働省の指針である「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)及び「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)に例示されている非臨床安全性試験に関する確認事項の中でも「培養期間を超えて培養した細胞について、目的外の形質転換を起こしていないことや目的細胞以外の細胞が異常増殖していないことを明らかにすること」が重要となる。

<参考> 委員名簿・開催日程等

1. 委員名簿（敬称略）

飯原 弘二	国立循環器病研究センター 脳血管部門長・脳神経外科部長
○岡野 栄之	慶應義塾大学医学部 生理学教室 教授
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科 教授
澤 芳樹	大阪大学大学院医学系研究科 外科学講座心臓血管外科学 教授
榛村 重人	慶應義塾大学医学部 准教授
末盛 博文	京都大学 再生医科学研究所 胚性幹細胞研究分野 准教授
高田 英俊	九州大学大学院医学研究院 成長発達医学 准教授
高橋 和利	京都大学 iPS 細胞研究所 講師
豊田 雅士	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター 研究副部長
◎中畑 龍俊	京都大学 iPS 細胞研究所 副所長
中村 利孝	独立行政法人国立国際医療研究センター 総長特任補佐
松井 茂之	名古屋大学大学院医学系研究科 教授
間野 博行	東京大学大学院医学系研究科 教授
森尾 友宏	東京医科歯科大学大学院 発生発達病態学分野 准教授
※佐藤 陽治	国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 部長

（◎：部会長 ○：副部会長 ※：臨時委員）

2. 開催日程等

○第三回細胞組織加工製品専門部会

開催日時：平成 24 年 12 月 26 日

検討事項：提供された話題を踏まえ討議

話題提供：高橋和利委員 iPS 細胞の品質評価について

○第四回細胞組織加工製品専門部会

開催日時：平成 25 年 2 月 6 日

検討事項：提供された話題を踏まえ討議

話題提供：間野博行委員 発がんメカニズムとその検証法

○第五回細胞組織加工製品専門部会

開催日時：平成 25 年 4 月 25 日

検討事項：提供された話題を踏まえ討議

話題提供：佐藤陽治臨時委員 再生医療製品（細胞組織加工製品）の造腫瘍性評価

○第六回細胞組織加工製品専門部会

開催日時：平成 25 年 5 月 15 日

検討事項：提供された話題を踏まえ討議

外部有識者からの話題提供：公益財団法人先端医療振興財団 松山晃文氏
再生医療とレギュラトリーサイエンス

○第七回細胞組織加工製品専門部会

開催日時：平成 25 年 7 月 16 日

検討事項：提供された話題を踏まえ討議及び造腫瘍性について取りまとめ

外部有識者からの話題提供：国立がん研究センター 柴田龍弘氏
iPS 細胞における造腫瘍性リスク評価に関して
日本医科大学 島田隆氏
遺伝子治療の現状と課題

**細胞調製に関する施設及び運用
に対する考え方**

一般社団法人日本再生医療学会

2013年9月3日

はじめに

本考え方は、ヒト由来の細胞を調製することで得られる細胞単体や組織化された細胞調製品の品質及び安全性を確保するため、基本的な調製についての考え方を示したものである。また、細胞調製品の品質の担保に当たっては、ヒトから直接細胞・組織を採取し培養を行うため、必要最低限の検体でその品質管理を行う必要があるとともに、調製品の特性や処理工程の特殊性等を踏まえた工程管理及び品質管理を行うことが必要である。細胞調製品の種類や特性は多種多様であり、また、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩である。本考え方は、「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)、「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」(医政発 0330 第 2 号)、「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の製造管理・品質管理の考え方について」(薬食監麻発第 0327025 号)、及び「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」(薬食発 0907 第 2 号)で提示された内容を踏まえて、特に重要な事柄を示したものである。本考え方を一律に適用したり、本考え方が必要事項すべてを包含しているとみなしたりすることは必ずしも適切でなく、細胞調製品を治療に用いる医師ならびに細胞調製を行う細胞調製従事者の教育が十分なされたいうえでの活用を望む。さらに、今後も、原料入荷から細胞調製品出荷までの一連の工程や施設間搬送を含めた種々の考え方について、適時更新を行うものである。

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。つまり、本考え方に記述された調製に関する事項、試験方法、基準、その他の技術・構造要件は、それぞれの目的に合う内容と程度をもとに考慮、選択、適用、及び評価されるべきことを意図しており、必ずしも常に同一水準での解釈、運用を求めている訳ではない。したがって、個々の細胞調製に際しては、上述の考え方及び目的を踏まえ、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースで柔軟に対応することが必要である。このような観点から、本考え方では、細胞調製施設における細胞の調製等に当たって踏まえるべき、工程管理・施設要件の考え方を以下に示し、実施者の細胞調製施設運営の一助となることを期待する。

目次

第1章 総則	3
第1 目的	3
第2 適用範囲	3
第3 定義	3
第2章 製造方法	5
第1 製造管理	5
1. 混同防止	5
2. 汚染防止	6
3. 適切な調製等	8
4. その他	8
第2 調製工程	8
1. ロット構成の有無とロットの規定	8
2. 調製方法	9
3. 最終調製品の構成要素となる細胞の特性解析	9
4. 最終調製品の形態, 包装	9
5. 調製品の保存及び運搬	10
6. 調製方法の恒常性	10
7. 調製方法の変更	10
別添 構造設備の例	11
第1 空調設備	11
第2 管理区域 (図1 細胞調製区域の例を参照)	12
1. 重要区域	13
2. 直接支援区域	13
第3 HEPA フィルター	14
第4 その他構造設備について	15

第1章 総則

第1 目的

ヒト細胞を利用する医療は、臓器機能再生等を通じて、国民の健康の維持並びに疾病の予防、診断及び治療に重要な役割を果たすものである。ここで示す考え方は、こうした役割に鑑み、再生医療等が社会の理解を得て、適正に実施及び推進されるよう、個人の尊厳及び人権を尊重し、かつ、科学的知見に基づいた有効性及び安全性を確保するために、細胞調製するすべての者が遵守すべき事項（工程管理・施設要件）を定めることを目的とする。

第2 適用範囲

本考え方の適用範囲は、以下のとおりとする。

- (1) 細胞調製品の調製に係る一連の調製工程。
- (2) 細胞調製品の調製に係る一連の調製工程に、複数の者が関与している場合は、調製品の調製に係る作業に従事するすべての調製従事者。

第3 定義

本考え方における用語の定義は、以下のとおりとする。

- (1) **アイソレータ(isolate)**: 環境及び調製従事者の直接介入から物理的に隔離された細胞調製区域を有する装置であって、除染した後に **HEPA フィルター(high efficiency particulate air filter)**又は **ULPA フィルター(ultra low penetration air filter)**により無菌的環境を実現することで外部環境からの汚染の危険性を防ぎ、また、内部から外部への封じ込めを実現できる装置をいう。
- (2) **エアロック(air lock)**: 通例異なる空気の清浄度レベルを有する隣接した部屋の気流を維持することを目的とした、インターロックされた扉をもつ小さな部屋をいう。無菌操作のエアロックは、清浄度レベルの低い区域から異物や微生物が侵入しないように、また封じ込め施設においては室圧の低い区域から高い区域に病原体等が侵入しないようにすることを目的とする。この部屋において、更衣室を兼ねることがある。
- (3) **環境モニタリング(environmental monitoring)**: 調製環境の清浄度を維持する上で、細胞調製区域及びその他支援区域において、微生物数及び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調製品の汚染を防ぐこと、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。環境モニタリングは微生物管理と微粒子管理の二つに分けられる。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、環境のバイオバーデンを科学的に推定すること、細胞調製品が適切な管理状態におい

て製造されたことを保証すること、及び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。

- (4) 空気の清浄度レベル(cleanliness level)：作業所の空気の品質を1 m³ 当りに含まれる粒径0.5μm以上の微粒子数の最大許容値によって日本薬局方等に規定されたものをいう。
- (5) 空調システム(HVAC system)：空気の温度・湿度の調整，換気等の空気調節を行う設備をいう。
- (6) 最終調製品(final preparation)：患者に移植を行う最終的に調製された細胞調製品をいう。
- (7) 細胞・組織の調製(cell and tissue processing)：ヒト幹細胞等に対して，最小限の操作及び加工（ヒト幹細胞等の人為的な増殖，細胞の活性化等を目的とした薬剤処理，生物学的特性改変操作，非細胞成分との組合せ又は遺伝子工学的改変操作等）を施す行為をいう。なお，最小限の操作とは，組織の分離，組織の細切，ヒト幹細胞又はヒト分化細胞の分離・単離，抗生物質による処理，洗浄，ガンマ線等による滅菌，冷凍又は解凍等の当該細胞の本来の性質を改変しない操作をいう。
- (8) 細胞調製区域(cell processing area)：微生物及び微粒子を許容レベル以下に制御するために，供給する空気，原料及び資材，構造設備並びに細胞調製従事者を高度に管理した環境をいう。細胞調製区域は，さらに重要区域と直接支援区域とに分けられる。
- (9) 細胞調製施設(cell processing facility)：調製に係る一連の工程を行なうための施設をいい，本考え方の定める諸要件を満たす施設をいう。
- (10) 細胞調製従事者(cell processing professional)：細胞調製部門において責任者（医師法・医療法下では責任医師）の指示下で細胞調製，試験検査，搬送等の調製プロセスに係る作業を担当する者をいう。
- (11) 重要区域(critical area)：重要操作区域(critical processing area)ともいう。細胞や滅菌された資材（プラスチック容器，培地など）並びにこれらと直接接する面が環境に曝露される調製作業を行う限定された区域をいう。
- (12) 消毒(disinfection)：対象物の表面に付着した微生物を安全なレベルまで減少させ又は除去すること。
- (13) 除染(decontamination)：再現性のある方法により生存微生物を除去し，又はあらかじめ指定されたレベルまで減少させることをいう。
- (14) 清浄区域(clean area)：あらかじめ定められた微粒子及び微生物に係る清浄度レベルの基準を有し，異物汚染及び微生物汚染の防止が図られている区域をいう。本考え方においては，「清浄区域」を「細胞調製の作業所」と同意語的に使っている。

- (15) その他の支援区域(indirect support area): 直接支援区域を保持するための区域であり、無菌操作に使用する器具、装置等を洗浄したり、細胞を凍結保管する区域等からなる。
- (16) 直接支援区域(direct support area) : 重要区域のバックグラウンドとなる区域をいう。この区域において調製工程にある細胞・組織が環境に直接曝露されることはない。
- (17) ドナー(donor) : 細胞調製品の原料となる細胞又は組織を提供するヒトをいう。ヒト(自己)由来細胞・組織調製医薬品等及び細胞・組織調製治験製品にあつては、患者はドナーである。
- (18) 微生物(microorganism) : 通例、細菌、真菌、原虫、ウイルス等を総称するものであるが、本考え方においては細菌及び真菌を指す。
- (19) 封じ込め(containment) : 内在の微生物やウイルスを含む細胞・組織を取り扱う際に、微生物を施設及び設備内に物理的に、あるいは運営方法により閉じ込めることにより、外界への拡散を防止する措置のことをいう。
- (20) HEPA フィルター(high efficiency particulate air filter) : 一定の大きさの浮遊微粒子を一定の効率で除去することを目的に設計された微粒子捕捉フィルターをいい、粒径 $0.3\mu\text{m}$ 以上の微粒子を少なくとも 99.97%以上の効率で捕捉する空気用フィルターをいう。
- (21) 無菌(sterile)と無菌操作(aseptic processing) : 無菌とは、生育可能な微生物が存在しないことをいい、無菌操作は微生物及び微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料及び資材、構造設備並びに細胞調製従事者を管理した環境下において細胞調製に係る作業を行うことをいう。無菌及び無菌操作を区別して使用する。

第2章 製造方法

第1 製造管理

1. 混同防止

- (1) ドナー識別情報による識別 : 調製品を調製するためにドナーから採取した細胞・組織であつて、調製機関において調製工程にある細胞・組織に係るドナーの識別については、ドナーを判別でき、かつ、混同を確実に防止するために適切な情報(以下「ドナー識別情報」という。)により行うこと。ドナー識別情報は、その情報から氏名、住所等の個人情報が特定できない記号、番号等であること。また、異なるドナーから採取した細胞・組織と混同を起こす可能性のある紛らわしい記号、番号等の使用は避けること。
- (2) ドナー識別情報の表示及び移動 : ドナー識別情報は、培養容器に直接表示すること。また、製造工程にある細胞・組織は、混同を確実に防止するために最低限度必要なドナー識別情報が表示された状態で移動させること。

- (3) 人為ミス防止措置：調製工程における細胞・組織については、異なるドナーから採取した細胞・組織との混同を確実に防止するために、細胞調製従事者への教育訓練等必要な措置を採ること。
- (4) 作業区域等での管理：同時に複数の異なるドナーから採取した細胞・組織を取り扱う場合においては、細胞・組織と当該細胞・組織に係るドナー識別情報とが、常に適正な対応関係で移動することを担保し、混同を確実に防止するために、以下に掲げる事項に留意し、必要な措置を採ること。
- ・ 培養装置等の培養設備での管理：細胞調製従事者だけが取り扱うことができる構造であること。
 - ・ 識別情報の表示：細胞・組織の培養に係る作業を開始する前に、培養装置ごと（同一培養装置内に複数の容器がある場合はその容器ごと）に、それらを間違いなく識別する情報（ドナーの識別や採取部位の識別に係るものなど）を分かりやすく表示すること。この識別情報の表示は、混同の原因とならないように適切な時期に廃棄すること。
 - ・ 培養装置の使用記録：培養装置の使用に際しては、混同を確実に防止するために必要な情報の記録を作成し、これを保管すること。
- (5) 患者情報の管理：細胞調製機関等は、調製工程にある細胞・組織又は一連の調製工程を経て調製品となったものについて、最終調製品の移植、埋込み、注入、投与等（以下「移植等」という。）を受ける予定である患者を識別するために必要な情報（以下「患者情報」という。）を、細胞・組織又は調製品に表示すること。なお、細胞・組織又は調製品にドナー識別情報が表示されている場合においては、患者情報として「自己」の表示を行うことで差し支えない。
- (6) 出荷先施設情報：細胞調製施設等は、調製品について、調製品ごとに、調製品の移植等を受ける患者へ当該調製品が確実に提供されるよう、当該患者が移植等を受ける医療機関等の出荷先施設名、診療科名、主治医の氏名等（以下「出荷先施設情報」という。）の必要な情報を把握するとともに、その記録を作成すること。
- (7) 直接の容器・被包への表示：細胞調製施設から出荷された調製品について、医療機関等への到着後における混同の発生を防止するために、調製品の直接の容器・被包に患者情報及び出荷先情報を適正に表示すること。直接の容器にこれらすべての情報を表示することが技術的に困難な場合においては、これに代えて混同の発生を防止するために必要な措置を採ること。

2. 汚染防止

- (1) 構造設備等の管理：調製品の調製機関の構造設備については、以下の点に留意し、雑菌汚染、汚染拡大及び交叉汚染の防止措置を採ること。
- ・ 日常管理として、また、調製品に係る一連の調製工程において作業が完了するごと（チェンジオーバーごと）に、細菌、真菌及びウイルスに対する消毒を行

う等、不活化又は除去が不可能な調製品等による汚染を防止するために必要な措置（以下「汚染防止措置」という。重要区域や直接支援区域における接触部位の消毒または除染を行うことなど。）を採ること。

- ・ 交叉汚染防止に努めるため、細胞調製従事者は、適切な措置を採ること。
- ・ 原料である細胞により持ち込まれた内在性のウイルス等の汚染拡大の可能性がある場合には、必要に応じた、適切な措置を採ること。
- ・ 細胞調製従事者以外の者による感染性因子の持ち込みにより調製品が汚染されることを防止するため、細胞調製施設については、細胞調製従事者以外の者の立ち入りを制限する構造を有し、かつ、滅菌設備等を備えていること。
- ・ 細胞調製機関における細胞調製施設は、研究施設と兼用しないこと。

(2) 原料・工程の管理：調製品又はその原料の特性により、除去（濾過滅菌等）又は不活化（最終滅菌等）のいずれも行いうことが出来ない場合には、原料の管理又は調製工程に係る管理において、以下の点に留意し、雑菌汚染、汚染拡大及び交叉汚染の防止措置を採ること。

- ・ 培地添加成分等の原料については、微生物等又は他の細胞・組織の混入がないことを確認する等、調製工程における汚染等の発生を防止するために、必要な措置を採ること。
- ・ 細胞・組織の混同及び交叉汚染を防止する観点から、安全キャビネット内などの同じ重要区域内で同時に複数の異なるドナーから採取した細胞・組織を用いた作業を行わないこと。
- ・ 結露が発生するなど汚染リスクを有する装置庫内（例えば、インキュベータ）では、異なるドナーから採取した細胞・組織を個々の密閉容器（例えば、ディッシュなど）にて培養する際、同一庫内にて保管しないこと。気密容器（例えば、フィルター付きフラスコ、バッグなど）及び密封容器（例えば、アンプル容器など）にて個々に培養する際には、同一庫内にて、必要な措置を講じて保管すること。
- ・ 誤作業の防止及び交叉汚染の防止に努めること。
- ・ 医療機関から細胞調製施設への細胞・組織の受入れに当たっては、細胞・組織の混同及び交叉汚染を防止するために必要な措置が適切に講じられるよう、ドナーの病原体検査その他の必要な措置を採ること。なお、細胞・組織の検査結果判定前に、ドナーの病原体検査の結果等に基づき細胞・組織の調製を行う場合においては、細胞・組織を取り扱う者がその事実を判別できるよう適切な措置を採ること。

3. 適切な調製等

- (1) 適切な調製に必要な構造・設備：細胞・組織の生存能力を保ちつつ無菌的環境を保ちながら細胞調製できる構造及び設備を有すること。ここで、構造設備要件については、「別添 構造設備要件の例」を参照。また、使用する設備等について、必要に応じて、事前に適格性評価を行うとともに、運転が適切に行われていることの確認をすること。異常発生時には、調製に影響が生じないように、速やかな対処を行うために必要な措置を採ること。
- (2) 適切な加工条件・期間：細胞・組織の種類等に応じ、適切な管理条件の下で調製を行うこと。また、原料、調製品の搬送は、細胞・組織の寿命、特質等を考慮して、損傷、劣化又は死滅しない期間で行うこと。
- (3) 工程内試験、最終出荷試験：ロットを構成しない細胞調製品の場合については、一般的な製造管理及び品質管理の手法において製品のロットごとに行うこととされる事項について、調製品の特性に鑑みあらかじめ定めておくこと。調製品及び原料の試験検査、その記録並びに参考品の保管について、ドナーへの侵襲性が高く採取可能な検体が少ない場合や必要な検体採取が困難な場合においては、採取した検体の増殖を行うこと、又は、検体の試験検査に代えて工程管理での確認によることとして差し支えないこと。また、このとき代替する工程管理手法の妥当性が、バリデーション等の適切な方法により確認されている場合には、調製品の規格試験以外の品質管理の工程においても適用して差し支えないこと。
- (4) 搬送容器：搬送に使用する容器、車両等は、目的地に到着するまで調製品の品質保持を担保するために、必要な性能を備えていること。

4. その他

- (1) 調製品標準書の調製手順について、あらかじめ逸脱事例に関する対応を定めておくこと。
- (2) 既に移植された調製品の回収については、患者のリスクとベネフィットを十分検討し、回収が適切であると判断される場合には行うこと。
- (3) 個人情報の漏洩を防ぐため、関係法令を遵守するとともに、コンピューターのパスワード管理やネットワーク管理を十分行うなどの措置を採ること。

第2 調製工程

ヒト細胞調製品等の調製に当たっては、調製方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を以下の項目で検証し、品質の一定性を保持すること。

1. ロット構成の有無とロットの規定

最終調製品及び中間調製品がロットを構成するか否かを明らかにすること。ロットを構成する場合には、ロットの内容についてあらかじめ定めておくこと。

2. 調製方法

原材料となる細胞・組織の受け入れから最終調製品に至る調製の方法の概要を示すとともに、具体的な処理内容及び必要な工程管理、品質管理の内容をあらかじめ定めておくこと。

- (1) 受入検査：原材料となる細胞・組織について、細胞・組織の種類や使用目的に応じて実施する受入のための試験検査の項目(例えば、目視検査、顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞・組織の特性解析及び微生物試験等)と各項目の判定基準をあらかじめ定めておくこと。
- (2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去：原材料となる細胞・組織について、その細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲で、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。当該処理に関する方策と評価方法について明らかにすること。
- (3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等：採取した細胞・組織から製品を製造する初期の過程で行われる組織の細切、細胞の分離、単離及びそれらの洗浄等の方法を明らかにすること。細胞の単離を行う場合には、その確認方法を設定すること。
- (4) 最終調製品の構成要素となる細胞の作製：ヒト細胞・組織の採取から細胞の培養等の調製を経て、最終製品の構成要素となる細胞を取得するまでの方法（分化誘導方法、目的とする細胞の分離・培養の方法、培養の各段階での培地、培養条件、培養期間及び収率等）を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすること。
- (5) 細胞のバンク化：細胞調製品等の調製のいずれかの過程で、細胞をバンク化する場合には、その理由、セル・バンクの作製方法及びセル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について明らかにし、妥当性を示すこと。
- (6) 調製工程中の取り違い及び交叉汚染の防止対策：細胞調製品等の調製にあたっては、調製工程中の取り違い及び交叉汚染の防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすること。

3. 最終調製品の構成要素となる細胞の特性解析

最終調製品の構成要素となる細胞については、遺伝型あるいは表現型等の適切な特性を解析すること。

4. 最終調製品の形態、包装

最終調製品の形態、包装は、調製品の品質を確保できるものでなければならない。

5. 調製品の保存及び運搬

中間調製品又は最終調製品を保存及び運搬する必要がある場合には、保存方法や期間及び運搬容器、運搬手段（温度管理等を含む）を定め、その妥当性を明らかにすること。

6. 調製方法の恒常性

細胞調製等の調製に当たっては、使用目的及び適用法等から見た特徴が調整品間で本質的に損なわれないことを評価すること。

7. 調製方法の変更

調製方法の重要な変更においては、目的とする細胞の特徴を保持していることや微生物汚染がないことを示すこと。なお、手作業と装置による自動作業の比較を容易にするために、手作業において実施されていた工程を培養装置等での自動工程とする場合、機械化に伴う作業に対する類似性の検証については、再現性のある細胞にて比較することでも構わない。

別添 構造設備の例

細胞を取り扱う細胞調製施設に対して、細胞・組織など非滅菌原料を使用するに当たり、内在性細菌・ウイルス等の封じ込めや細胞調製従事者による操作に伴う汚染源の持ち込みの排除が不可欠である。無菌環境の維持は、施設構造の設備要件と運用により可能となる。一般的に、薬品製造における指針では「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」(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)に示されるように、清浄区域は、重要区域とそれに隣接する直接支援区域を有し、さらに、直接支援区域はその他の支援区域を隣接させることで維持できる。本考え方にて示した構造設備要件は、細胞調製従事者に対する教育があつて成り立つものである。同時に、科学技術の進捗や細胞調製従事者の教育による運用の方策によっては、清浄区域構造要件を緩和できる可能性がある。一方、ヒト細胞には、内在性の細菌・ウイルスを含む可能性があり、バイオセーフティーレベルは、国立感染研究所「病原体等安全管理規程」の付表1-1「病原体のリスク群による分類」に提示されたリスク群に従うと、リスク群2以上と考え、低くてもBSL2以上が要求される。さらに、移植適用頻度の程度や採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症(B型肝炎(HBV)、C型肝炎(HCV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症、成人T細胞白血病(HTLV)、その他の感染症)に応じて、患者、製造従事者及び医療従事者の安全性を確保する観点等から、追加の封じ込めなどの汚染防止措置を採るなど、十分な議論をもって構造設備要件を構築すること。

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、高性能(HEPA)フィルターで濾過された空気供給を行うこと。また、調製区域においては、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細胞、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、細胞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を行うこと。
- (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、細胞調製従事者の存在、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。

- (6) 設定された室間差圧は、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、改善する必要がある。異常時に備えて警報システムを備えることが望ましい。
- (7) 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。

表 1 空気清浄度分類

名称		空気の 清浄度レベル <small>注1)</small>	最大許容微粒子数 (個/m ³)			
			非作業時		作業時	
			≥0.5μm	≥5.0μm	≥0.5μm	≥5.0μm
細胞調製 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。

第 2 管理区域 (図 1 細胞調製区域の例を参照)

細胞調製等の作業において、環境に直接曝露される無菌操作が必要とされる場合には、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等の重要区域で作業を行うこと。また、直接支援区域は、その他の支援区域を置くことによって管理されること。その清浄度は、目的に応じて適切に環境モニタリング頻度を設定し、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。さらに、調製環境の維持のため、細胞調製区域の清掃及び消毒については定期的あるいは必要時に実施し、設定した製造環境基準を満たしていることを確認すること。また、あらかじめ定められた、適格性評価やバリデーションに基づき設定した保守点検プログラムを実施すること。

アイソレータ等の気密式のシステムで行う場合には、管理された区域に設置すること。なお、管理された区域とは、例えば、清浄度がグレード D またはそれ以上のその他の支援区域などを指し、リスク等を鑑み運用により適切な清浄度を保つこと。

各区域において、以下の点に留意し、雑菌汚染、汚染拡大、及び交叉汚染の防止措置を採ること。

1. 重要区域

- (1) 重要区域では、グレード A の清浄度にて無菌環境を維持し、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細胞調製従事者及び公衆衛生への影響を最小限にとどめることができるよう設計された環境下において、細胞の無菌操作を行う。例えば、バイオハザード対策用キャビネットを使用すること等が挙げられる。なお、封じ込めを意図して設計されていないクリーンベンチを使用することは、エアロゾルを発生させる無菌操作を行う際には、交差汚染防止の観点から好ましくないことがある。
- (2) 細胞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品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。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微粒子はそれらが細胞に入り、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。
- (3) 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、その原因を調査しなければならない。環境モニタリングは、品質管理項目や製品のリスクにより適切な頻度にて実施すること。
- (4) 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、定期的実施すること。また、バイオハザード対策用キャビネットを利用する場合においては、感染症法に基づく定期点検を 1 回／年の頻度で行うこと。
- (5) 重要区域に設置する必要のない装置は重要区域から離し、重要区域への細胞調製従事者の介入は、最小限とすること。

2. 直接支援区域

- (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、動的条件においてグレード B 以上の基準を満たさねばならない。
- (2) 直接支援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。環境モニタリングは、品質管理項目や製品のリスクにより適切な頻度にて実施すること。