

技術や、厳しい工程管理によって絞り込み、出荷の際に毎回行っていた品質検査を必要最小限にしつつ、高い品質を保証することが可能となる。

(quality by design : QbD, ICH Q8)

さらには、工程の変更等による一変申請の対象も、科学的根拠に基づいた変更プロセスを説明することによって、その情報を規制当局と企業が共有し適切に判断することによって、現段階の科学に合致した製品仕様の変更手順を容易 (design space : DS, ICH Q8) にすることができる。

- 2) 再生医療等製品はある程度のリスクを伴うことを理解し、リスクマネジメントプロセスを活用する。すなわち、原材料の品質の幅、各工程におけるプロセス内容の幅、製造施設の清浄度などの変動幅、職員の技能の幅などから潜在的なハザード、危害に関する情報を収集し、頻度と重大性を考慮にいれたリスク評価を行う。そのうえで、リスクが受容レベルを超えていないか、リスクの低減方法、利益・リスク・資源の間のバランスのとり方、残留リスクの受容性、リスク低減措置にて新たなリスクが発生しないかなど、リスクコントロールを行う。ゼロリスクは達成されないので受容できるリスクレベルを科学的な設定根拠と共に判断し、規制当局とも共有しておく (ICH Q8, Q9, Q10, Q11, Q12)。

従前は一度決められた品質規格を変更しないように最大限の努力を払っていた。しかし、今後の製造工程及び品質

規格は、現行の科学や技術水準を反映させた適切なリスク管理及び十分な科学的理解に基づく工程管理によって設定され、品質及び安全性が担保されるべきである。この概念や容易な変更手順の合理性の考え方を Q8-12 はガイドラインとして示している。

3. 再生医療等製品の特異性を考慮した品質保証の提言

GMP の概念で規制される「再生医療等製品」については、GMP の省令で規制されている医薬品と同様の規制の考え方が適用されるが、医薬品と比べた再生医療等製品の特異性を抽出しておく必要がある。下記にその特徴を示す。

- 1) 出発原材料を (目的外集団も含め) 個体差のあるヒトから採取する。
- 2) そこから目的となる細胞だけを増殖させ、製品となる細胞に加工する。
- 3) 自分の細胞も出発原材料となる。個別医療となりロットを構成できない。
- 4) 原料の培地や出発原材料に細菌が存在していても、無菌化処理は出来ない。
- 5) 製造の細胞培養工程で、細菌増殖の危険があるが、無菌化処理を設定できない。
- 6) 製造工程自体手作業で、human error があり、process validation の設定が難しい。
- 7) 製造施設での交叉汚染の危険がある。などが挙げられる。

医薬品の製造黎明期においても、上記のうちの何項かは、当てはまる事例があったと考えられるが、今後の科学技術の進歩や

自動製造装置の導入などにより、品質保証のポイントが、従来の Quality by Testing (QbT) から、プロセス重視の Quality by Design (QbD) に転換した。GAMP5 で規定される computerized automated cell culture system の導入がこの傾向をさらに推進した。

上記の特徴を示す再生医療等製品における現行の製造は、製品毎、ロット毎に工程管理試験を行っている。

今後の再生医療等製品の製造は、変動要因や不確実要因が多い分野であるからこそ、最先端の科学技術を用いた厳しいリスク評価・管理、及び QbD (Quality by Design)、DS (Design Space) の概念の導入が重要ではないかと考えている。すなわち、最先端の科学技術を用いて、医薬品以上に設計、製造工程 (原材料の受け入れ、設備装置のクオリフィケーション・バリデーション、工程内管理、出荷等) の想定されるあらゆるリスクに対して、影響度や頻度が望ましいレベルかどうかを評価し、許容できるレベルと変動範囲を設定し、医薬品で確立している QbD、DS の概念を導入することで、現行の受け入れ試験、工程内管理試験、出荷試験項目を必要最小限に抑えることができる。これによって、品質や安全性が担保された形での再生医療等製品の事業化に現実として結びつくのではないかと考える。

そのリスク評価・リスク管理を実効あるものにするための組織体制である quality management system (QMS)、すなわち製品の品質リスクについて適切な手続き

に従い評価、管理等を行い、製造される製品の原料・製造手順及び品質の継続的改善を促進する組織的継続的な組織の取り組みが、再生医療等製品の製造と事業化に必須である。

具体的には、製造所全体における品質管理監督システムを確立し、製造所の立場での再生医療等製品の製造工程の検討から原料の受入、出荷管理、逸脱、変更管理、自己点検、教育訓練、品質情報の管理、回収などの製造及び品質管理において、品質に係るリスク、その頻度、重み、許容範囲についてのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューからなる系統だったプロセスを活用し、構造設備 (ハード)、品質システム (ソフト) の両面から、達成レベルを設定し、継続的に管理し改善することが必要である。これら全てに対し手順書を作成し標準化することと、全てを記録として残すことで、システム全体で品質と安全性の確保を行うことに意義がある。そして科学の進歩に照らしあわせたリスク評価・許容リスク範囲の内容とプロセス全体の理解を QMS を通じて深化させ、その内容を規制当局と常時共有しておくことが、再生医療等製品を事業化するための必要な要件であると考えている。

【結論及び考察】

再生医療等製品を安全かつ高品質に製造するに当たり、「医薬品医療機器等法」下にて、科学とリスクマネジメントに基づいた医薬品のライフサイクル全般に適用可能な品質保証体系として ICH に基づいた QMS の考え方を取り入れ、システム全

体で品質と安全性の確保を行うことの意義について述べた。

今後の再生医療等製品の製造は、変動要因や不確実要因が多い分野であるからこそ、最先端の科学技術を用いた厳しいリスク評価・管理、及び QbD (Quality by Design)、DS (Design Space) の概念の導入が重要ではないかと考えている。

そして科学の進歩に照らしあわせてリスク評価・許容リスク範囲の内容とプロセス全体の理解について、QMS を通じて深化させ、その内容を規制当局と常時共有しておくことが重要である。

以上

2. CPC稼働時の差圧と担保できるクリーン度の関係を明示する為の模擬操作実施と解析

担当責任者：鹿村 真之

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

研究要旨

最終滅菌ができない再生医療等製品は、製造施設である CPC での作業に関して、第十六改正日本薬局方、ISO14644 及び GCTP 省令に基づき、構造設備のバリデーションを実施する際の清浄度や室間差圧は、非作業時のモニタリングデータであることから、細胞処理室（グレード B）における作業時の清浄度と室間差圧の情報を得ることを目的として、入室時と退室時の浮遊微粒子数の変化を検討した。

入室時の浮遊微粒子数の変化に関しては、作業者が更衣直後にその場で静止待機せずに細胞処理室に入室すると、浮遊微粒子数が顕著に上昇することが確認され、1 分間待機及び 2 分間待機後入室した際にはその数は減少した。

また、退出時の浮遊微粒子数の変化に関しては、ドアの開閉により浮遊微粒子数の上昇が認められた。

従って、細胞処理室（グレード B）が、直前の着衣室と比較して陰圧管理となっている CPC401 の構造において、下記 2 点が確認できた。

1. 着衣後の細胞処理室への入室は、着衣後すぐに移動せず、1 分間その場で静止待機動することが適当である。
2. 細胞処理室からの退室は、ドアの開閉により微粒子が増えるため、他の作業員が作業をしている場合は注意が必要である。特にグレード A の安全キャビネットへの影響を考慮し、こまめにドアを閉めることが必要である。

【目的】

最終滅菌ができない再生医療等製品は、製造施設である細胞培養センター（CPC：Cell Processing Center）での作業に関して、ISO14644 シリーズである“Cleanrooms and associated controlled environments”に従い、空気の清浄度レベルに合わせた区域の環境モニタリングを通して、汚染の影響を受けやすい活動を

適切に管理している。また、第十六改正日本薬局方にも、無菌医薬品製造区域の空気清浄度が規定されており、ISO14644 との読み替えが可能である。

また、「再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（以下、GCTP 省令）」にも、再生医療等製品関連の構造設備規則に「清浄の程度を維持管理できる構造及び設備を有すること」並びに

「無菌操作を行う区域は、フィルターにより処理された正常な空気を供し、かつ、適切な差圧管理を行うために必要な構造及び設備を有すること」と規定されている。

CPC には上記規制に則った構造設備が備えられており、バリデーションにてその機能が担保されている。通常、構造設備のバリデーションを実施する際の清浄度や室間差圧は、非作業時のモニタリングデータであることから、作業時における清浄度と室間差圧の情報を得ることを目的として以下の検討を行った。

【内容】

1. 実施日

2015年2月19日

2. 実施場所

先端医療センターCPC 401（着衣室、細胞処理室、脱衣室）

3. 実施方法

CPC401は、通常のCPCとは異なり、製造作業を行う安全キャビネット(グレードA)が設置されている細胞処理室(グレードB)が、直前の着衣室と比較して陰圧管理となっている。これは、CPC401では生体試料を扱うことから、作業者の安全性

を考慮した設計になっているためである。そのため、気流が着衣室から細胞処理室の方向に流れており（図1）、着衣室から細胞処理室に入室する際、着衣室の浮遊微粒子が処理室に流入し、清浄度が乱れる可能性がある。そこで、細胞処理室への空中微粒子の流入が最小限となるように、着衣を終了した後、1分間静止してから入室することとしている。

上記の状況を踏まえて、更衣終了後0分間、1分間、2分間着衣室内にて静止後に細胞処理室に入室し、入室時（ドア開閉時）及び1分後の浮遊微粒子数を測定する。測定場所は、ドア近辺（ドアから90cm離れた場所）とし、細胞処理室への浮遊微粒子流入の程度と、着衣室内にて静止した後に入室することの妥当性を検証する。

また、脱衣室に関しても着衣室と同様にドアの開閉による清浄度の変化を検討する。CPC401の脱衣室は、処理室と比較して陰圧管理となっており、退室する際に脱衣室の空気が処理室に流入しないことになっている（図1）。そのことを検証するために、退出時に処理室ドア近辺（ドアから90cm離れた場所）で浮遊微粒子数を測定する。

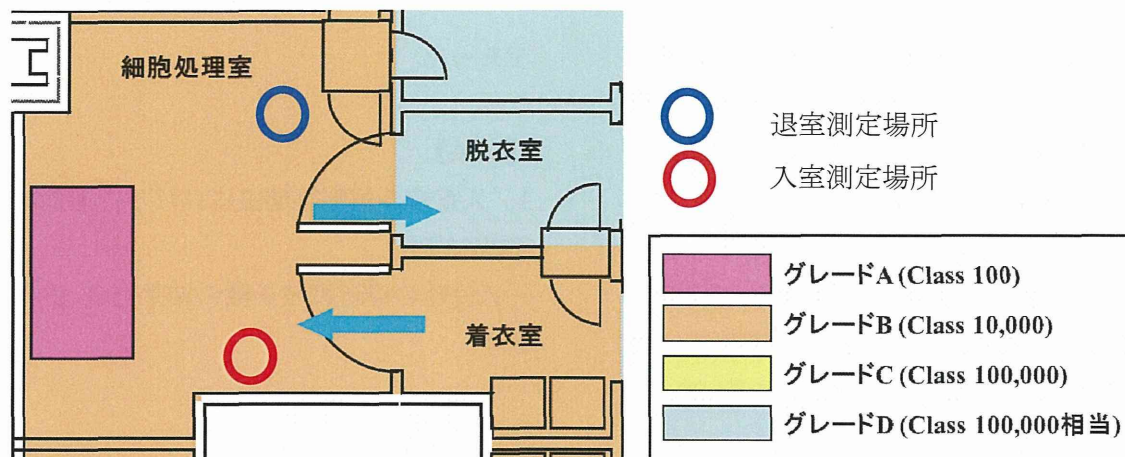


図 1 CPC401 気流方向

浮遊微粒子は校正済みのマニュアル式パーティクルカウンターを用いて測定する。測定する粒子径は第十六改正日本薬局方 参考情報 G4 「無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法」空気の清浄度許容基準（表 1）に従って、0.5 μm 以上の浮遊微粒子及び 5.0 μm 以上の浮遊微粒子とす

る。

パーティクルカウンターは 1 分間の空気を吸引して測定し、吸引速度は 2.8 L / min で実施する。空気量としては実質 2.8 L の吸引であるため、1 m^3 （1,000 L）に換算した値（累積値）を浮遊微粒子数として採用する。

表 1 空気の清浄度

第十六改正日本薬局方	ISO 14644-1	許容空中浮遊微粒子数 非作業時（個/ m^3 ）		許容空中浮遊微粒子数 作業時（個/ m^3 ）	
		0.5 μm 以上	5.0 μm 以上	0.5 μm 以上	5.0 μm 以上
重要区域（グレード A）	クラス 5	3,520	20	3520	20
重要区域に隣接する 清浄区域（グレード B）	クラス 7	3,520	29	352,000	2,900
その他の清浄区域（グレード C）	クラス 8	352,000	2,900	3,520,000	29,000
その他の清浄区域（グレード D）		3,520,000	29,000	作業形態により異なる	

4. 実施環境

測定は製造作業中の CPC401 において実施した。CPC401 細胞処理室内には安全

キャビネットでの作業員 1 名、作業補佐 1 名、入退室実施者 1 名及びパーティクルカウンター操作者 1 名の計 4 名が入室し

ている環境下で検証を行った。細胞処理室内は作業時の環境を維持するために同時入室を 4 名までと規定しており、ワーストケース下での検証とした。

また、室圧に関しては、着衣室は 30 Pa、細胞処理室は 20 Pa に設定されており、安全キャビネットを作動中の実測値は着衣室で約 35 Pa、細胞処理室で約 20 Pa

であった。

【結果】

1. 入室時の細胞処理室における浮遊微粒子数の変化

入室時の浮遊微粒子数の結果を表 2 に示す。

表 2 入室時（着衣室→細胞処理室）の待機時間による浮遊微粒子への影響（個 / m³）

0.5 μm以上		
	入室時	入室1分後
更衣終了後0分間待機	38869.3	8127.2
更衣終了後1分間待機	10954.1	9540.6
更衣終了後2分間待機	12014.1	15547.7
5 μm以上		
	入室時	入室1分後
更衣終了後0分間待機	3886.9	353.4
更衣終了後1分間待機	1060.1	706.7
更衣終了後2分間待機	1766.8	1766.8

入室時のドアの開閉による浮遊微粒子数は、更衣後の待機静止時間が 0 分間の場合が最も高く、入室時に測定した 0.5 μm 以上の浮遊微粒子が 38869.3 個、5.0 μm 以上が 3886.9 個であった。

一方、1 分間待機及び 2 分間待機後入室した際に測定した 0.5 μm 以上の浮遊微粒子数は、それぞれ 10954.1 個、12014.1 個で、5.0 μm 以上の浮遊微粒子数は、そ

れぞれ 1060.1 個、1766.8 個であった。

細胞処理室に入室して 1 分後の浮遊微粒子数に関しては、更衣室に待機せずに入室した数の方が更衣後待機して入室した場合より少なかった。なお、待機時間 2 分間では入室 1 分後も浮遊微粒子が多く測定されたが、製造作業中であり、入室者がドア付近で待機していた影響があると考えられる。

2. 退室時の細胞処理室における浮遊微粒子数の変化

退室時の浮遊微粒子数の結果 (3 回測定) を表 3 及び図 1 に示す。

表 3 退室時の浮遊微粒子数の結果 (個 / m³)

0.5 μm以上				(N=3)
	1分前	退室時	1分後	2分後
1回目	3180.2	9187.3	2826.9	-
2回目	10247.3	12014.1	2473.5	-
3回目	2826.9	4240.3	3533.6	353.4
微粒子平均値(個/m ³)	5418.1	8480.6	2944.7	-
SE	1973.3	1854.9	254.5	-
5 μm以上				(N=3)
	1分前	退室時	1分後	2分後
1回目	0.0	1766.8	0.0	-
2回目	1060.1	1413.4	353.4	-
3回目	0.0	353.4	706.7	0.0
微粒子平均値(個/m ³)	353.4	1177.9	353.4	-
SE	288.5	346.7	166.6	-

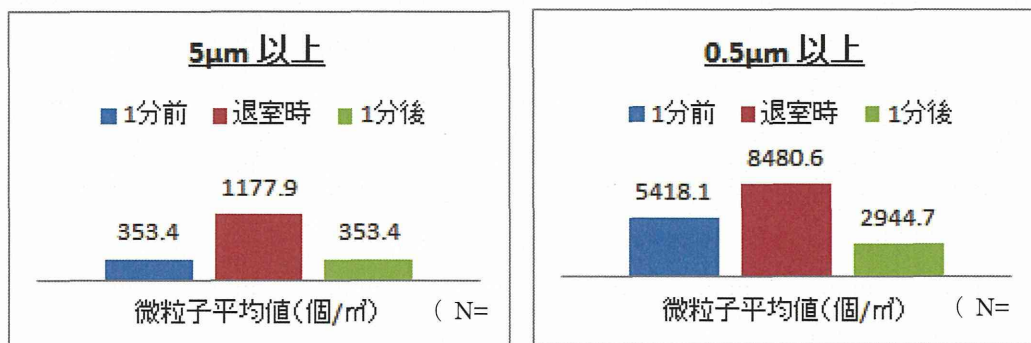


図 1 退室時前後の浮遊微粒子数平均値 (個 / m³)

上記の結果より、退室時にはドアを開閉した直後に浮遊微粒子数が上昇していることが確認された。浮遊微粒子数は一時的に上昇するものの 1 分後、2 分後には減少していることが確認された。

【考察】

作業者が細胞処理室に入室する際に、更

衣後その場で待機静止する時間の差によって、細胞処理室の浮遊微粒子数が変化するかを検討したところ、更衣直後に入室する場合に顕著に上昇することが確認され、1 分間待機及び 2 分間待機後入室した際にはその数は減少した。従って、細胞処理室での浮遊微粒子数の上昇を抑えるために更衣室にて待機静止する時間が必要であ

り、「細胞処理室への空中微粒子の流入が最小限となるように、着衣を終了した後1分間静止してから入室する」という、現在の入室手順が妥当であることが確認された。

また、細胞処理室入室1分後の浮遊微粒子数に関しては、更衣室に待機せずに入室した浮遊微粒子の数の方が更衣後待機して入室した場合より少ない数であったため、作業員の移動による浮遊微粒子の流入は移動直後が大きく、1分後にはほぼ収まっているものと考えられた。

なお、待機時間2分間では入室1分後も浮遊微粒子数が多く測定されたが、製造作業中であり、入室者がドア付近で待機していた影響があると考えられたため、CPC401の環境では安全キャビネット稼働中に入室する際は、安全キャビネットの前面シャッターを閉めることとしている。

作業員による退室時の細胞処理室における浮遊微粒子数の変化に関しては、気流方向が細胞処理室から脱衣室へとなっているものの、ドアの開閉により浮遊微粒子数の上昇が認められた。処理室と脱衣室の

差圧は約10 Paと設定されているが、安全キャビネットを稼働させることが室圧に影響する可能性もあることから、CPC401において安全キャビネット稼働中に退出する際は、安全キャビネットの前面ガラス扉を閉めることとしている。事実、浮遊微粒子数の上昇が認められたものの1分後、2分後には浮遊微粒子数は減少しており、上記対応をすることでドア開閉時の影響が少なくなると考えられた。

上記より、細胞処理室(グレードB)が、直前の着衣室と比較して陰圧管理となっているCPC401の構造において、

- 1) 着衣後の細胞処理室への入室は、着衣後すぐに移動せず、1分間その場で静止待機することが適当である。
- 2) 細胞処理室からの退室は、ドアの開閉により浮遊微粒子が増えるため、他の作業員が作業をしている場合は注意が必要である。特にグレードAの安全キャビネットへの影響を考慮し、こまめにドアを閉めることが必要であることが分かった。

以上

3. 施設での耐性菌出現を防ぐための薬剤選定とrotation、monitorの方法

担当責任者：近藤 恵子

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

研究要旨

先端医療センターCPC（細胞培養施設）の施設管理における清掃・消毒の実績を基に、施設での耐性菌出現を防ぐための薬剤選定（消毒剤）と rotation、monitor の方法について、先端医療センターにおける実績を基にまとめた。

すなわち、手順書に従った環境バリデーションの蓄積された結果と、耐性菌の出現がないことを確認した上で、下記を決定した。

- ・非作業時は次亜塩素酸ナトリウム 6% の 0.1%希釈液と加速化過酸化水素 6%を 2 か月毎にローテーションする。
- ・作業時はグレード A・B は作業日毎の作業終了時に無菌エタノール 70%、グレード C・D は 2 週間に 1 回エタノール（76.9~81.4vol%）を使用する。

【目的】

最終滅菌ができない再生医療等製品を製造する細胞培養センター（CPC：Cell Processing Center）は、微生物汚染、浮遊微粒子及び発熱物質の汚染リスクを最小限にするため、第十六改正日本薬局方では示されている空気の清浄度レベルに合わせた区域を維持管理することが必要である。そのひとつである作業区域の清浄化（清掃を含む）に関して、日本薬局方、PIC/S_GMP Annex1 “Manufacture of Sterile Medicinal Products”、FDA “Guidance for Industry, Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing”、PIC/S_GMP “Recommendation on the Validation of Aseptic Processes”、

「無菌操作法による無菌医薬品の製造に関する指針」などで規定され、作業区域の清浄化（清掃を含む）を適切に管理することが求められている。

この章では、先端医療センターCPC（細胞培養施設）の施設管理における清掃・消毒の実績を基に、薬剤選定（消毒剤）についての方法をまとめる。

【内容】

1. 薬剤の選定とローテーション

USP の “<1072> Disinfectants and Antiseptics” に記載されている消毒及び除染に関わる名称を下記に挙げる。

- ・清浄化剤（Cleaning Agent）
- ・生体消毒剤（Antiseptic）
- ・消毒剤（Disinfectant）

- 除染 (Decontamination)
- サニタイズ剤 (Sanitizing Agent)
- 殺芽胞剤 (Sporicidal Agent)
- 滅菌剤 (Sterilant)

CPC の管理区域では、第十六改正日本薬局方の清浄度区域に従いグレード A,B,C,D で分けられた区域ごとに、消毒剤

(必要に応じサニタイズ剤、殺芽胞剤を考慮する) を規定して使用する。

使用薬剤は、文書化された手順に従い環境バリデーションを実施し、データの蓄積を図り、耐性菌の出現がないこと、及び適用材質に対する腐食性、残留性を確認した上で、表 1 の消毒剤の選定とローテーションを決定した。

表 1 使用薬剤と頻度

	頻度	製品名	組成・成分
非作業時	①、②の消毒剤を 2 か月毎にローテーションして使用	①ピューラックス	次亜塩素酸ナトリウム 6% の 0.1%希釈液
		②ハイプロックス アクセル	加速化過酸化水素 6%
作業時	グレード A・B 作業日毎の作業終了時に③を使用	③芽胞菌フリー無菌ろ過済みアルコール	70%エタノール
	グレード C・D 2 週間に 1 回④を使用	④日局 消毒用エタノール	エタノール 76.9~81.4vol%

グレード A,B,C,D 区域の非作業時の消毒は、定期的なものとして、清掃・消毒の専門業者に委託することが多い。

消毒剤を使用し、清掃・消毒作業を実施することで、年間を通じて菌による汚染を防止する。

2. 清掃・消毒に関する手順と実施

- (1) CPC における清掃・消毒作業は、衛生管理基準書の下位文書として定める「清掃・消毒作業手順書」により実施する。
- (2) この手順書により、非作業時には「表 1 使用薬剤と頻度」の①、②の消毒剤を 2 か月毎にローテーションして使用し、作業時には③、④の消

3. 環境モニタリングの方法

- (1) 表 1 に示した非作業時の専門業者による施設の清掃・消毒作業の際に、作業前後の施設の環境モニタリングを行っている。すなわち、衛生管理基準書の下位文書として以下の手順書を定めて、微生物学的環境検査を日局に従った方法で行い、清掃及び消毒作業が確実に行われたかを評価

している。もし、菌が検出された場合は、清掃管理を担当している作業員より、その事象を QA 及び製造管理者に報告し、OOS (Out of Specification) の手順に従い対応を検討する。

想定できる対処方法としては、菌の同定 (耐性菌、真菌、芽胞の確認)、原因究明、清掃及び消毒作業を再度専門業者に委託、異なる消毒剤 (必要に応じサニタイズ剤、殺芽胞剤を考慮する) にて専門業者に委託、な

どがある。

- 「浮遊菌測定手順書」
- 「落下菌測定手順書」
- 「(表面) 付着菌測定手順書」

(2) 環境モニタリングのサンプリング数に関しては、第十六改正日本薬局方等を参考として決められており、以下に実施例を示した。実際には、リスクアセスメントを行い、ワーストケースアプローチに基づいて設定する。

表 2 環境モニタリングのサンプリング数 (非作業時)

清浄度レベル	作業室名	床面積 (㎡)	ポイント数		
			浮遊菌	落下菌	付着菌
グレード A	安全キャビネット			1	3
グレード B	操作室	13.8	5	5	12
	着衣室	3.5	1	1	3
	パスボックス				2
グレード C	培養室	11.6	3	3	8
グレード D	脱衣室	2.7	1	1	2
	製品保管室	5.6	2	2	3
	準備室	8.4	3	3	6
	更衣室	3.6	1	1	2
	エアーロック室	5.6	1	1	2

(3) 浮遊微粒子モニタリングに関しては、「浮遊微粒子測定手順書」に従い、連続モニタリングを行っている。

【結果及び考察】

以上、先端医療センターCPC 管理における清掃・消毒時の薬剤選定と環境モニタリング方法について簡単にまとめた。先端

医療センターにおける実績としては、環境モニタリング基準に不適合になるような耐性菌の出現等の事例は起きていない。その事実を踏まえて、以下を提言する。

- 消毒手順のバリデーション計画書を作成し QA の承認を得る。
- 清掃・消毒作業の効果及び頻度に関して、バリデーション計画書に沿った環

境モニタリングを行い確立する。

- 2 か月間の微生物汚染を評価し、清掃・消毒作業後の環境モニタリングによって、以後の製造環境が適切であることを評価する。
- モニタリング結果により、環境悪化の傾向を把握し、薬剤の選定とローテーションの適切性を評価し、製品等の汚

染リスクの低減を図る。

- 菌の検出等の事象が生じた場合は、QA 及び製造管理者に速やかに報告し、OOS (Out of Specification) の手順に従い対応 (変更管理含む) を検討する。

以上

4. 環境monitoring測定point数の適正化のための模擬操作の実施と解析

担当責任者：鹿村 真之

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

研究要旨

再生医療等製品を製造する CPC の環境モニタリングの測定数は、ISO14644-1 等で規定されているが、浮遊微粒子測定 of 適切なポイントは、部屋の構造、設置機器、給排気口の位置及び実業務等からワーストケースを想定して特定したハザードを、より高い確率で検出できる場所を選ぶことが重要である。

今回、適切な浮遊微粒子測定ポイント数と測定位置に関する情報を得ることを目的として、先端医療センター細胞処理室における浮遊微粒子測定を部屋の構造、設置機器、給排気口の位置及び実業務等から測定ポイントを決め行った。

その結果、

1. 全ての測定ポイントにおいて、作業時のグレード B の基準範囲内であった。
2. CO₂ インキュベータの温度調節用のファン等が設置されている場所の浮遊微粒子数が最も高かった。この場所は作業者によって汚染が発生しやすいことより、最も測定が必須な場所であることが確認できた。
3. 機器の配置等で気流が停滞するポイントでは浮遊微粒子数が多いことが確認できた。
4. 給排気口付近は一定に清浄度が維持されていた。

以上より、各清浄度区域に応じた部屋の環境の維持には、蓄積されたデータを基に科学的根拠からリスクアセスメントを行い、より効果的で実作業に応じた適切な測定ポイントを設定することが重要と思われる。具体的には、操作室の特定の部位で浮遊塵埃の停留が最小になるような操作室の構造と機器の配置、作業台である安全キャビネットの配置を給排気口の位置を考慮して設計し、各々の最大値を取ると考えられる地点で浮遊微粒子を測定し、測定される浮遊微粒子が各々の地点で引き下げられる等に部屋の配置デザインを再考することが望ましい。

【目的】

再生医療等製品を製造する CPC の環境を維持するための環境モニタリングの測定数に関しては、PIC/S_GMP Annex1 “Manufacture of Sterile Medicinal Products”、第十六改正日本薬局方、ISO14641-1 “Cleanrooms and

associated controlled environments -- Part 1: Classification of air cleanliness”、JIS B 9920 “クリーンルームの空気清浄度の評価方法 “などに記載がある、また、「再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令（以下、GCTP 省令）」には再生医療等製品関連の構造設備

規則に「清浄の程度を維持管理できる構造及び設備を有すること」とあり、CPC では清浄度を維持、管理するために重要な清浄度の区域（グレードA、B）では浮遊微粒子の測定を行っている。

浮遊微粒子測定は、部屋の構造、設置機器、給排気口の位置及び実業務等からワークケースを想定して特定したハザードを、より高い確率で検出できる測定ポイントを設定することが重要である。

従って、効率良くハザードを抽出するために、適切な浮遊微粒子測定ポイント数と測定位置に関する情報を得ることを目的として、以下の検討を行った。

【内容】

1. 実施日

2015年2月19日

2. 実施場所

先端医療センターCPC 401（着衣室、細胞処理室、脱衣室）

3. 実施方法

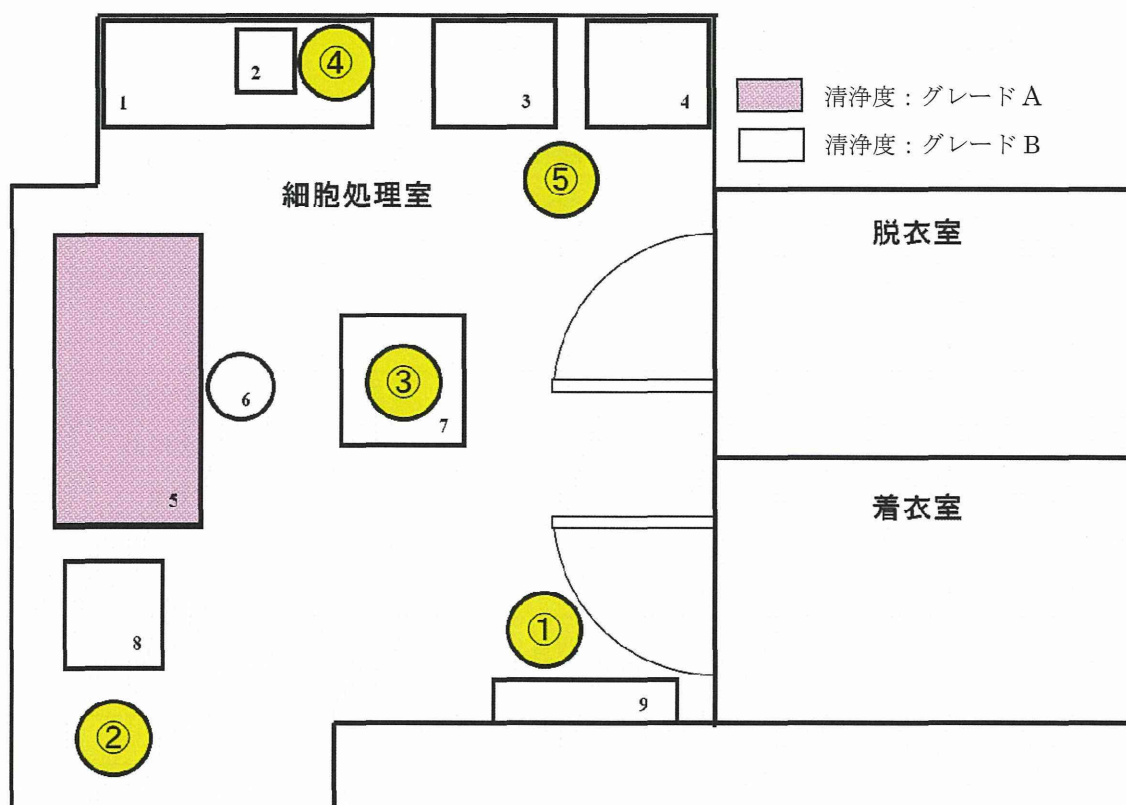
CPC401は、図2のように機器や給排気口が設置されている。これらの機器や給排気口を考慮し、浮遊微粒子測定ポイントを設定した（図2中黄色円）。これらのポイントは以下の理由で細胞処理室の清浄

度を反映すると考え、設定した。

- (1) 排気口及び入室位置である
- (2) 実作業での立ち入りが少なく、気流の吹き溜まりが生じると予想される区域である
- (3) 給気口の直下であり、作業スペース付近である
- (4) 現在 CPC401 細胞処理室の浮遊微粒子をモニタリングしているポイントである
- (5) CO₂インキュベータ、パスボックスが設置されており、搬入等で気流が乱れるポイントである

各測定ポイントでは3回浮遊微粒子数を測定し、平均値での比較を行うこととする。また、浮遊微粒子は校正済みのマニュアルパーティクルカウンターを用いて測定する。測定する粒子径は第十六改正日本薬局方 参考情報 G4「無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法」空気の清浄度許容基準に従って、0.5 μm以上の浮遊微粒子及び5.0 μm以上の浮遊微粒子とする。

パーティクルカウンターは1分間の空気を吸引して測定し、吸引速度は2.8 L/minで実施する。空気量としては実質2.8 Lの吸引であるため、1 m³（1,000 L）に換算した値（累積値）を浮遊微粒子数として採用する。



1: 作業台、2: 顕微鏡、3: CO₂インキュベータ (2台上下連結)、4: パスボックス、
5: 安全キャビネット、6: 作業椅子、7: 給気口、8: 遠心分離機、9: 排気口

図 2 CPC401 浮遊微粒子測定ポイント

【実施環境】

測定は製造作業中の CPC401 において実施した。CPC401 細胞処理室内には安全キャビネットでの作業員 1 名、作業補佐 2 名、及びパーティクルカウンター操作者 1 名の計 4 名が入室している環境下で検証を行った。細胞処理室内は作業時の環境を維持するために同時入室を 4 名までと規定しており、ワーストケース下での検証とした。

また、浮遊微粒子数の測定は、最終入室者が入室してから 5 分以上経過し、室内の浮遊微粒子が安定した後に実施した。

【結果】

表 3 に各ポイントでの浮遊微粒子数を示す。

表3 各測定ポイントにおける浮遊微粒子数 (個 / m³)

・ポイント①

	1回目	2回目	3回目	平均値
0.5 μm 以上	1413.4	3886.9	706.7	2002.3
5.0 μm 以上	0.0	0.0	0.0	0.0

・ポイント②

	1回目	2回目	3回目	平均値
0.5 μm 以上	4593.6	3180.2	2120.1	3298.0
5.0 μm 以上	0.0	0.0	0.0	0.0

・ポイント③

	1回目	2回目	3回目	平均値
0.5 μm 以上	3180.2	2120.1	3180.2	2826.8
5.0 μm 以上	0.0	0.0	0.0	0.0

・ポイント④

	1回目	2回目	3回目	平均値
0.5 μm 以上	7067.1	3886.9	3180.2	4711.4
5.0 μm 以上	353.4	0.0	353.4	235.6

・ポイント⑤

	1回目	2回目	3回目	平均値
0.5 μm 以上	1060.1	706.7	0.0	588.9
5.0 μm 以上	0.0	0.0	0.0	0.0

平均浮遊微粒子数は④>②>③>①>⑤の順に高い値を示した。また、④以外で

は5.0 μm 以上の浮遊微粒子は測定されなかった。

【考察】

今回、部屋の構造、設置機器、給排気口の位置及び実業務等から測定ポイントを決め浮遊微粒子測定を行ったところ、全ての結果において、作業時のグレード B の基準範囲内であった。

④のポイントは、0.5 μm 以上の平均浮遊微粒子数が最も多く、5.0 μm 以上の浮遊微粒子がここだけ検出された。これは、④の付近に CO₂ インキュベータの温度調節用のファン等が設置されていること、他の場所と比較して気流の乱れが大きいことが原因と考えられる。加えて、このポイントは作業台上であり、動線上作業者によって汚染が発生しやすい場所でもあるため、最も測定が必須な場所であることが確認できた。

また、②のポイントは部屋の構造上気流が停滞するとの当初の予想通り、2 番目に高い浮遊微粒子数を示しており、機器の配置等で気流が停滞するポイントでは浮遊微粒子が高いことが確認できた。

排気口に最も近い①や、給気口付近の③では、平均 2,000 ~ 3,000 (個 / m³) の浮遊微粒子が測定された。この値もグレード B の作業時の基準範囲内であり、清浄度が一定に維持されていると考えられた。

今回の結果にて、部屋の構造、設置機器、給排気口の位置及び実作業内容等に基づいて測定ポイントを設定することにより、製造作業中の浮遊微粒子測定を効果的に評価できるポイントを選定できることが

確認できた。また、各測定ポイントにおける測定値の差異とともに、どの測定ポイントがワーストケースを反映しているかについての情報も得ることができた。

今後クリーンルームの清浄度を評価する際には、今回の結果を基に下記の点を考慮したリスクアセスメントを行い、測定箇所を設定することが必要であると考えた。

- 部屋の構造上埃が溜まり易い場所
- 設置機器の構造(浮遊微粒子数に影響があるファンの有無など)
- 機器の位置
- 給排気口の位置
- 気流の流れ など

各清浄度区域に応じた部屋の環境の維持には、蓄積されたデータを基に科学的根拠からリスクアセスメントを行い、より効果的で実作業に応じた適切な測定ポイントを設定することが重要と思われる。具体的には、操作室の特定の部位で浮遊塵埃の停留が最小になるような操作室の構造と機器の配置、作業台である安全キャビネットの配置を給排気口の位置を考慮して設計し、各々の最大値を取ると考えられる地点で浮遊微粒子を測定し、測定される浮遊微粒子が各々の地点で引き下げられる等部屋の配置デザインを再考する。また実務的な観点から作業部位での測定浮遊微粒子を action level の基準値にし、必ずしも操作室の隅などのワーストケースを基準にしないという方策も一考すべきである。

以上

5. 安全cabinet、遠心器、CO₂ 培養器の滅菌法とモニター方法提言の為の 模擬操作実施と解析

担当責任者：鹿村 真之

公益財団法人 先端医療振興財団 細胞療法研究開発センター

研究要旨

CPC の清浄度を保つためには、交叉汚染リスクを引き上げる要因の1つと考えられる使用機器（安全キャビネット、遠心機、CO₂ インキュベータ等）の滅菌及び環境モニタリングを行うことが重要である。

今回、滅菌方法とモニタリング方法について、模擬操作の実施を通して検討を行い、環境モニタリングにて評価した。

その結果、CPC のような解放系の室内での交叉汚染防止に、安全キャビネット、遠心機及び CO₂ インキュベータの現在実施している清掃・消毒作業において、施設の清浄度に応じた日本薬局方の環境微生物の許容基準に適合しており、許容基準値以上の菌は認められず、交叉汚染リスクを低減することができていると考えられた。

【目的】

再生医療等製品を製造する CPC や品質管理試験を実施する部屋では、製品の特性に応じ、第十六改正日本薬局方及び ISO14644-1 等で規定された清浄度が保たなければならない。そして、清浄度を保つためには、交叉汚染リスクを引き上げる要因の1つと考えられる使用機器（安全キャビネット、遠心機、CO₂ インキュベータ等）の滅菌及び環境モニタリングを行うことが重要であると考え、今回、滅菌方法とモニタリング方法について、模擬操作の実施を通して検討を行った。また、CO₂ インキュベータ内の汚染に最も関連する要因としてインキュベータ内の加湿用を使用する水の汚染防止方法についても合わせて検討を行った。

【内容】

1. 実施場所

先端医療センター 品質管理試験室
及び 細胞処理室

2. 安全キャビネット

(1) 日常清掃・消毒

作業後作業員による文書化された手順に従い下記の如く日常清掃・消毒を行っている。今回（栄養成分の違う）種々の培地（DMEM 等）を用いて模擬操作を実施し、実施後の環境衛生をモニタリングした。

- 1) 消毒用エタノール（70%）を含ませた滅菌済不織布で内部全体を一方方向に清拭する。（汚れがひどい場合は2回行う）

- 2) 消毒用エタノールを含ませた不織布でガラスの外面及び取手を一方方向に清拭し、スイッチ部分を拭く。
- 3) 使用済みの不織布は感染性廃棄物として処理する。

(2) 定期清掃・消毒

清掃・消毒の専門業者にて、安全キャビネットの清掃・消毒作業を年に 1 回実施する。消毒剤は、次亜塩素酸ナトリウム 6 % を 0.1 % に希釈して使用し、その後 75%エタノールで清拭・残留薬剤除去を実施している。

(3) 環境モニタリング方法

定期清掃・消毒時は清掃・消毒の専門業者が、作業前後に環境モニタリングを実施している。専門業者の環境モニタリングは第十六改正日本薬局方 参考情報 G4「無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法」に従って培地を選定後（一般細菌：SCD 寒天培地、真菌：CP 加ポテトデキストロース寒天培地）、各微生物検査（浮遊菌、表面付着菌、落下菌）を実施している。

また、特に無菌試験は無菌条件下での作業が求められるため、無菌試験実施時は品質管理試験室作業員自らが、作業前後に作業区域の環境モニタリングを実施している。

環境モニタリングは、第十六改正日本薬局方 参考情報 G4「無菌医薬品製造区域の環境モニタリング法」に従って実施しており、浮遊微粒子は作業前後 30 分までを確認している。また、各微生物検査（浮遊菌、表面付着菌、落下菌）では SCD 培地を使用している。

(4) 環境モニタリング結果

清掃・消毒の専門業者による施設の清掃・消毒作業（定期清掃・消毒）前後のモニタリングでは、施設の清浄度に応じた日本薬局方の環境微生物の許容基準に適合しており、許容基準値以上の菌は認められなかった。

また、無菌試験実施時に作業員が実施している環境モニタリングにおいても同様に、環境微生物の許容基準に適合しており、月々の清掃・消毒作業によって清浄度が保たれていることが確認できた。

(5) 交叉汚染防止

安全キャビネットでの交叉汚染を防止するために、試験目的に応じて安全キャビネットの使用を制限しており、特に無菌条件が求められる無菌試験で実施する安全キャビネットは無菌試験の実施以外では使用しないように定めている。その他、細胞を培養する際に使用する安全キャビネットや培地性能試験等の陽性菌株を使用する安全キャビネットもそれぞれ異なる安全キャビネットを使用している。上記の安全キャビネットは品質試験室としても区分けされた部屋に設置しており、物理的な隔離処置を実施している。

3. 遠心機

(1) 日常清掃・消毒

作業後作業員による文書化された手順に従い下記の如く日常清掃・消毒を行っている。

- 1) 作業後遠心機内の水滴を不織布で拭い取る。