

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 90 cm 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 90 cm 離れた場所)で浮遊微粒子数を測定する。

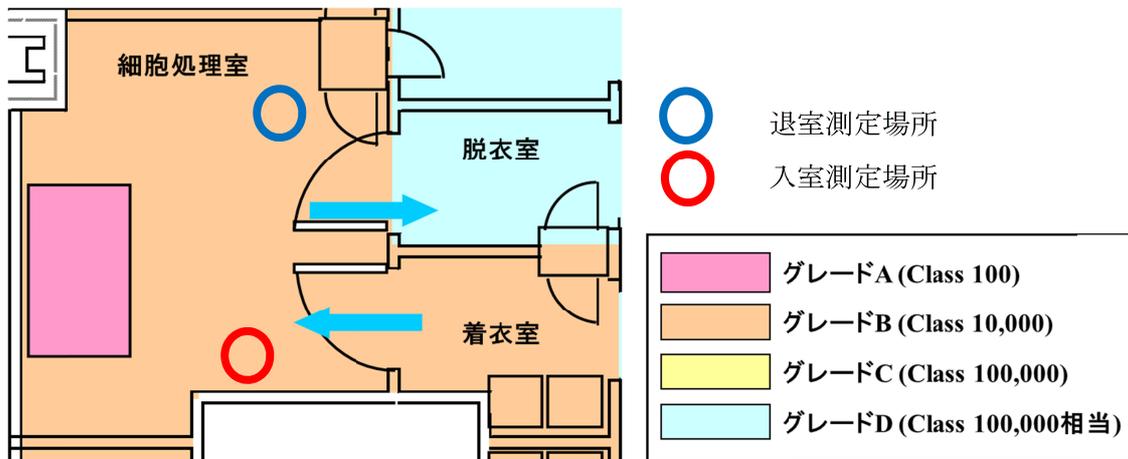


図 1 CPC401 気流方向

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 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。

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 ）	
		0.5μm 以上	5.0μm 以上	0.5μm 以上	5.0μm 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	-

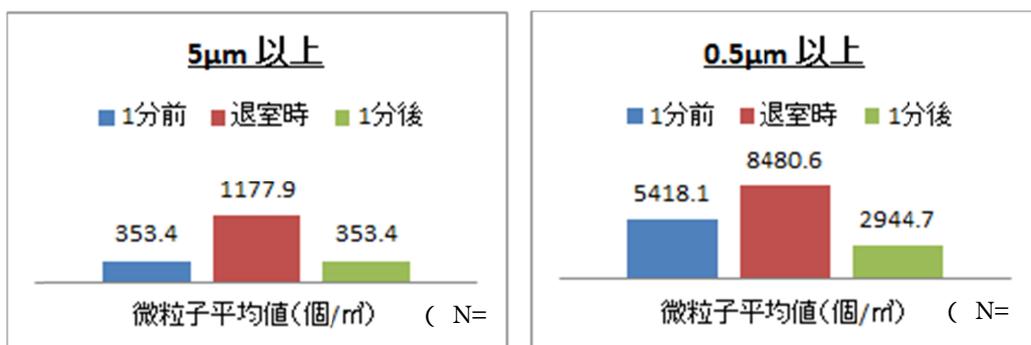


図1 退室時前後の浮遊微粒子数平均値(個/m³)

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