

平成 21 年度戦略的技術開発委託費
医療機器開発ガイドライン策定事業
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)

医療機器評価指標ガイドライン
再生医療分野(細胞シート)
開発WG報告書

平成 22 年 3 月

独立行政法人 産業技術総合研究所

再生医療分野 細胞シート 開発WG委員名簿 (は座長、五十音順、敬称略)

浅野 茂隆 早稲田大学 理工学術院 教授
牛田多加志 東京大学大学院 医学系研究科 教授
梅澤 明弘 国立育成医療センター研究所 生殖医療研究部 部長
小久保 護 渋谷工業株式会社 プラント生産統轄本部 技術本部 部長
小寺 良尚 愛知医科大学 教授
菊池 明彦 東京理科大学 基礎工学部 材料工学科 教授
紀ノ岡正博 大阪大学大学院 工学研究科 教授
高木 睦 北海道大学大学院 工学研究科 教授
田村 知明 オリンパス株式会社 研究開発センター 再生医療グループリーダー
西野 公祥 川崎重工業株式会社 技術開発本部 上級専門職
畠 賢一郎 株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング 取締役研究開発部長
水谷 学 株式会社セルシード 技術開発部 部長
山本 宏 三洋電機株式会社 コマーシャルカンパニー バイオメディカ事業部
研究開発本部 課長

開発WG事務局

田口 隆久 (独)産業技術総合研究所 研究コーディネータ

再生医療(細胞シート)開発WG会議開催日程

・第1回開発WG会議

開催日 2009年12月15日(火)

・第2回開発WG会議

開催日 2010年2月16日(火)

目 次

再生医療分野 細胞シート

1 . 当該技術分野の概要	1
2 . ガイドライン作成の意義	2
3 . ガイドライン検討過程	4
4 . 平成 2 1 年度のガイドライン検討結果	7
除染パスボックス設計ガイドライン 2 0 0 9 (案)	
5 . 今後の展望	23

1. 当該技術分野の概要

再生医療は、不可逆的臓器不全や欠損に対するテーラーメイド医療を提供し、生物学的な機能再建を目指す先端医療である。この目的を達成するためには、採取された自己または非自己細胞を *in vitro* で標的である臓器に適応させるように組織化する技術の開発が必要である。その基本技術の一つが細胞シート化技術であり、特にわが国で開発された温度感受性高分子を利用した細胞シート作製技術は、その独創性、実用性で大きな比較優位を有している。この技術は既に角膜再生において臨床的に有用であることが自己細胞を用いて確認されている。また、肺手術や食道手術に組み合わせて用いることにより、従来法にくらべ術後の状態が大幅に改善されるとの報告もある。最近では、この技術はさらに進歩して、重層した細胞シートも作製可能になり、重層した細胞に毛細血管を誘導する技術の研究も進んでい。これによって、細胞シート作製技術の適用は大いに拡大することが期待されるようになった。その適用疾患の一つとして検討が進んでいる疾患に、自己骨格筋芽細胞を利用した重症心疾患がる。これに関しては既に動物実験が行なわれており、その結果から臨床的有用性が得られる可能性が示唆されている。

細胞シートについての現状や近未来における発展を考慮すると、まず、自己細胞を用いた自家移植の治療体系が確立し、そこでの知見の集積が、同種移植（他家移植）などの医療技術の発展を加速することが予想される。この発展には、医療機関、大学・研究機関はもとより、民間企業の参画による産業化の視点も重要である。医療行為自身は医師の責任において実施されるものであるが、工程の一部は外部委託の可能性もあり、それにより臨床研究がより一層進展することが期待される。

さらに、細胞シートなどの自己細胞を用いた再生医療を普及するためには、これを製造する企業の参画が必要である。現状においては、参画している、あるいは参画を予定している企業における問題点を調査したところ、製造コストがもっとも大きなポイントであった。特に、人間が作業するためにクリーンルームの清澄度を維持するためのコストが膨大であることが明らかになった。このコストを低減するためには、人間が中に入らない形での製造技術の確立がもっとも有効であることもあきらかになった。昨年度は、このような状況を踏まえ、筐体密閉型のアイソレーターにおける細胞培養加工のための機器開発ガイドラインを作成した。本年度は、アイソレーター設備に必須であるパスボックスの設計・開発のガイドラインを検討するとともに、本 WG での検討成果を国際標準の議論の中で生かしてゆくために、昨年度作成のガイドラインの英訳と ISO198 の委員会への参画による成果活用を行うことになった。

2. ガイドライン作成の意義

再生医療は、従来型の対処療法的治療技術と異なり、器官を修復し完全に治す先端的治療技術である。組織を再生するためには、細胞を調製し患者へ戻すプロセスが必要になるが、全く新しい治療技術であるため、各段階で安全に有効な効果を生み出し、それを支える医療産業群を育成するために適切なガイドラインの設定が望まれている。しかしながら、再生医療においては、対象臓器、対象疾患、細胞ソース（自己か非自己か）培養方法、組織化技術、使用医療材料などの条件ごとにガイドラインを設定する必要があり、再生医療一般のガイドラインに加え、最終製品の開発の観点を加味したものを策定する必要がある。

すでに我が国では、皮膚、角膜、軟骨、骨などでは、組織工学技術を活用した再生医療のヒト臨床がすでに開始され、大きな注目と期待を集めている。さらに皮膚や角膜などでは、臨床研究の枠組みを超えて、臨床化の段階に入ってきている。この角膜技術には、我が国の独創的技術である細胞シート技術が活用されている。この技術は他の再生医療への応用も期待されており、その中でも国民の期待の大きい重症心疾患への適用も視野に入ってきた。さらにこの細胞シートを製品として供給する企業も生まれてきており、これらの動きを加速するためには適切な専用のガイドラインが必要になっている。

平成17年度の活動においては、本開発ワーキンググループでは、「ヒト由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」を基本とし、さらに社会情勢等を勘案して、広く妥当であると認められるいつ中立かつ公平なガイドライン案を創り、これを公共の財産として活用させることで、安全性が十分に確保された再生医療の実用化・産業化を早期に実現させることを目的とした。特に、重症心疾患に対する再生医療をモデルケース取り上げ、議論を行った。細胞ソースや活用する組織工学技術など多数の選択肢がある中、委員会での討議の結果、自己骨格筋由来筋芽細胞を細胞ソースとした培養骨格筋芽細胞シートを用いた移植医療技術に限定してガイドラインを検討した。

想定されている細胞シート移植を伴う臨床研究は、非自己細胞ではなく自己細胞を用いるものであることから、倫理上の課題が他者に広がる可能性は低いが、臨床研究遂行の妥当性の根拠は明確に示される必要がある。他に適当な治療のない重篤な疾患患者が対象であること、動物実験結果が必ずしも人における結果として外挿できないことなどのリスクの説明、また、自己決定権に基づいて臨床研究に参加を強く望む被験者が対象になる、などの観点が重要である。また、新しい治療法は、医療費抑制のための医療の効率化へ貢献するとともに、医療産業活性化の視点から企業が積極的かつ継続的にサポートできるものとする必要がある。今年度は、この観点から、細胞シートを用いた再生医療の臨床研究における産業化に関わるガイドラインについて検討を進めることとなった。

重篤な疾患の治療においては、臓器移植や人工臓器活用に加え、再生医療による機能回復という新しい医療技術の開発・応用が待望されている。特に、自己細胞を用いた細胞シート化技術の発展にはめざましいものがあり、皮膚や角膜では実用化レベルに迫っており、また、重篤な心疾患治療、消化器・呼吸器の治療に関しても、細胞培養技術開発や動物実験を用いた研究の著しい進展が認められる。このような世界に通用する技術の実用化は患者のQOL(Quality of Life)向上に大いに貢献するものと期待されている。したがって、迅速な事業化と患者、医師、産業界のリスク軽減を可能にするための新しい仕組みを産・学・官で整備することが求められている。

一般的には、先進的な基礎研究で得られた知見に基づいて新しい医療法が開発され患者の治療に使われるようになるには2つの段階を経る必要がある。第一段階が臨床研究(トランスレーショナルリサーチ)であり、第二段階が臨床治験(医療化)である。

第一段階では、基礎研究の成果を元に新しい治療法が考案され、その安全性や有効性が科学的合理性をもって説明可能なレベルに達していることを確認し、被験者である患者への十分な説明と了解のもとで臨床研究が実施される。この段階で得られた結果により、この新しい治療法の有効性が実証され、臨床化、市場化への道が開かれる。臨床研究の前に説明可能なベネフィットが存在しなければならぬが、この段階ではまだ十分には実証されておらず、当然リスクも伴う。このリスク最小化の努力と同時に被験者を守る十分な公的セーフティネットの整備も必須である。

第二段階では、前段の成果を踏まえ、臨床化すべき根拠が明確になりリスクとベネフィットの比が明らかになってきた治療法についての臨床治験を実施する。最終的には国の承認を得て一般化した治療法が確立し、製品化が進む。

この2つの段階を迅速にすすめる体制を整えることが行政側に求められた重要な課題である。自己細胞を用いた再生医療の場合は、第一段階(臨床研究:トランスレーショナルリサーチ)にある技術が多いが、この段階に関しては、厚生労働省より平成18年7月に「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」が発表されており、医師と被験者の合意の元、この指針に従って実施することが可能になっている。自己細胞を用いた細胞や細胞シートによる重篤な疾患治療法開発においては、細胞の培養やシート化を安全かつ確実に行う体制の整備が不可欠である。この工程を医療機関内で実施することはもちろん可能であるが、臨床研究をより迅速に発展させるためには外部機関との連携も視野に入れることが必要であり、国民の要望にも合致する。

こうした状況を鑑みると、自己細胞シートの臨床研究開発に、企業等の外部機関が科学的知見に基づいた安全性を確保した上で参画するための指針を整備することは十分に意義のあることである。上記の厚生労働省指針に加え、医薬発第906号、医薬発第1314号、厚生労働省令第169号、および薬食監麻発第0330001号等がすでに発表されており、これらの内容に準拠しつつ、新しい医療技術開発に資する様式でガイドラインを整理し直すことにより考え方を整理した。この考え方に沿った臨床研究の展開により、新しい自己細胞利用型再生医療が、適正かつ迅速に実施・推進され、国民からの一層の理解を得、広く社会に貢献することが期待されている。

3. ガイドライン検討過程

合同検討委員会での指摘を勘案し、再生医療（心筋シート）に関わる開発WGの運営方針を産総研で検討し、また、審査WGとの分担を前年度以上に明確にし、事務局体制を整備した。この分野に造詣の深い関係者の意見も参考にし、心臓外科医師や医療材料研究者を中心に委員会を組織した。今年度は、企業等の実情や開発を進める上での課題をあらかじめ調査し、その点も考慮に入れたガイドラインの事務局案を作成し、委員会に諮る形で検討を進めた。

2回の開発ワーキンググループ委員会を開催し、各委員会では以下について議論が行われた。

3 - 1 平成21年度第1回再生医療開発WG委員会 議事録概要

1. 開催日時 平成21年12月15日（火）18:00～20:00
2. 開催場所 オフィス東京（東京都中央区京橋）
3. 参加者 委員：浅野茂隆（座長）、梅澤明弘、紀ノ岡正博、小寺良尚、高木睦
菊池明彦、水谷学、西野公祥、山本宏、田村知明、小久保護
畠賢一郎
経済産業省：加藤弘
事務局：田口隆久（産業技術総合研究所）

4. 会議概要

- 1) 開会、出席者自己紹介、経済産業省委託元あいさつ（医福室 加藤弘）
- 2) 座長選出・座長挨拶 浅野茂隆
- 3) 医療機器ガイドライン策定事業概要の説明 事務局
- 4) 本年度の取り組みについての議論 事務局

- ・事務局より本年度の検討課題案の説明があった。1)再生医療を促進する産業化の考え方について整理、2)昨年度策定した「細胞培養加工装置開発ガイドライン」について、世界の動き等を勘案し、世界標準に合致したガイドラインとすべく必要な点の修正、3)再生医療に関わる医療現場・生産現場における機械化・自動化のニーズと取りまとめ、の3項目について検討を加えることで承認された。
- ・座長より、第1課題の再生医療を促進する産業化の考え方の骨子案について概要説明があった。
- ・以下、上記3課題について議論が進められた。
- ・現状で、各機関でCPCを整備しGMP基準で運用して行くのは無理があり、問題点と省略可能な工程の見直しがあれば実用化が加速される。
- ・上記に関連して、細胞調製の企業へ受託することについて国で検討が進んでいるとの報道があった（10月24日）。これについては、企業として関心が高い。
- ・事務局コメント：受託の考え方については平成18年度に整理したが、薬事法との関係については、当委員会と厚労省見解の間には隔たりがあった。（報告書は厚労省見解に沿ったものである）

- ・ 遺伝子治療のベクター製造でも同様の問題があった。
- ・ 必ずしも大学や病院の中に CPC を設置することが再生医療の促進にはつながらない。外注も考えるべき。
- ・ 自己細胞の場合、検体が動くということか（その通り）
- ・ 現状では自己の細胞を医療行為でなく動かすことができない。これを是とするためには現状の制度を変える交渉が必要になる。

5) 次回（第2回）委員会の開催予定

平成22年2月16日（火）

3 - 2 平成21年度第2回再生医療開発WG委員会 議事録概要

1. 開催日時 平成22年2月16日（火）18:00～20:00
2. 開催場所 オフィス東京（東京都中央区京橋）
3. 参加者 委員：浅野茂隆（座長）、梅澤明弘、小寺良尚、牛田多加志、菊池明彦、水谷学、西野公祥、山本宏、田村知明、畠賢一郎
経済産業省：加藤弘
オブザーバ：末岡明伯（医薬品医療機器総合機構）
事務局：田口隆久（産業技術総合研究所）

4. 会議概要

- 1) 開会、出席者自己紹介
- 2) 座長あいさつ 浅野茂隆
- 3) 本年度の取り組みについての議論

3 - 1 再生医療を促進する産業化の考え方

- ・ 座長より「考え方」についての説明があった。再生医療がなかなか産業化しない理由を考えて、その解決方法に取り組むというのは姿勢を示した。再生医療技術の産業化と特異的幹細胞の必要性和適正な自己組織化が必須要件であり、これがないと産業化の前提が成立しない。この条件を踏まえた上で産業化のプロセスを考えて行く必要がある。特異的幹細胞に関しては、自己・非自己細胞の問題、セルラインの利用、非自己の場合は倫理的問題・パブリックバンクの整備を考慮する必要がある。細胞については、分離、精製、培養、保存、さらには人工改変について科学的に研究開発し、安全性と科学性を担保することが重要である。2番目の自己組織化に関しては、サイトカインやスキャフォールドの活用や組織化の体内・体外の差など科学的に解明すべき課題の解明が大切であろう。ここにおいても、安全性と科学性の担保は重要である。皮膚、軟骨、歯といった組織については実用化に近づいているが、制度設計が十分にできているとはいえず、状況に合わせてガイドラインを整備してゆく必要がある。現時点では、ある面で過熱しすぎている状況もあるので冷静な議論が必要である。すなわち、ES細胞、iPS細胞の可能性は理解できてもすぐに応用可能な状況には到達しておらず、安全性、可逆性については十分に注意する必要がある。こ

のような細胞を用いた再生医療の進展には、これらの問題に科学的に技術的に対処する必要があり、経産省の果たす役割は大きい。

3 - 2 細胞培養加工装置開発ガイドラインのブラッシュアップ議論

- ・紀ノ岡委員からブラッシュアップ議論の基本になる最近の情勢について報告があった。
- ・製造設備の中に培養装置をどう入れて行くかが重要である。ISOにはアイソレーターシステムがあり、その考え方を学ぶ必要がある。その過程で、除染パスボックスの考え方を整理することが機器システムの総合的開発に重要である。自己細胞の組織細胞製造加工における工程管理と品質管理の問題は、これまでにない新しい課題である。原薬や無菌製剤の製造に関する考え方に学ぶことも重要である。

3 - 3 再生医療に関わる製造現場や臨床現場における自動化ニーズについて

- ・工程を分けて自動化を整理してみるとよいのではないかと考える。

4.平成21年度のガイドライン検討結果

除染パスボックス設計ガイドライン2009(案)

1.序文

アイソレーターなどの高度な無菌性維持を目的とする無菌チャンパーに資材を搬入する場合は、チャンパー内部の無菌性を維持するために予め除染パスボックスなどで資材表面の除染が必要となる。

また、アイソレーターシステムを再生医療用途に使用する場合にはアイソレーターや無菌チャンパー間の無菌的な接続が必要となり、こうした無菌接続を確実にこなうためには除染パスボックスを使用し、短時間で除染する技術が求められる。

本項では無菌操作用途で使用される除染パスボックスについての除染、オペレータートレーニングおよび日常管理等の要件について記載する。

2.用語

除染 (decontamination) : 再現性のある方法により生存微生物を除去し、また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。

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、この指針においては細菌および真菌を指す。

無菌(sterile) : 生育可能な微生物が存在しないことをいう。

滅菌(sterilisation) : 病原性、非病原性を問わず、全ての種類の微生物を殺滅し、または除去し、対象とする物の中に微生物が全く存在しない状態を得ることをいう。

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または除去すること。

無菌操作(aseptic processing) : 微生物および微粒子を許容レベルに制御するために、供給する空気、原料および資材、構造設備並びに職員を管理した環境下において無菌医薬品に係る製品の無菌充填その他の作業を行うことをいう。

除染パスボックス(pass-box with decontamination) : 除染機能を有するパスボックスで、異なる空間における物品の移動を行うための機器をさす。

アイソレーターシステム(Isolator system) : 清浄度がグレードDあるいはそれ以上の部屋にて、アイソレーターおよび除染パスボックスを利用することにより、物資の移動を伴いつつ、グレードAの無菌環境を維持するシステム。

3.一般要件

- 1) 無菌操作を目的とする除染パスボックスを設置する環境の空気の清浄度レベルは、少なくともグレードD(非作業時 ISOクラス8)とすること。
- 2) 無菌操作で使用する資材の搬入および搬出に用いる除染パスボックスは、アイソレーターまたは無菌チャンパーの機能を維持することができる構造とすること。
- 3) 除染パスボックスにグローブを装備する場合は除染剤に耐性のある素材を使用すること。

- 4) 除染パスボックスは外部からの汚染を防ぐことができる構造とし、除染中も適切な差圧を維持すること。
- 5) あらかじめ定めた基準に基づいてリーク試験を実施すること。
- 6) 除染パスボックスのドア間にはインターロック機構を設置し、除染工程を経る場合は、工程を完了しないとドアが開かないロック機能を付加すること。
- 7) 除染パスボックスを接続する場合は、接続後、無菌操作環境を担保すること。また、脱着前後においては、適切なバイオセーフティレベルを担保すること。

4. 除染機能の要件

- 1) 適用する除染剤に応じた適切なバイオリジカルインジケータを選定し、周辺環境清浄度に合わせ除染強度を実証したものであること。除染の程度は、資材表面のバイオバーデンを考慮して設定すること。
- 2) 培養液や細胞と直接接触する表面を除染する場合は6ログ以上の除染強度を確保すること。
- 3) 除染剤は、パスボックスに持ち込む資材等の材質、量および形態、被除染空間（除染パスボックス、アイソレーター、無菌チャンパーなどの内部）のバイオバーデン等を考慮して選定する。除染剤の例として、過酸化水素蒸気のほか、過酢酸のミストまたは蒸気、オゾンガス、二酸化塩素ガス等がある。資材の除染プロセスはバリデートされていなければならない。
- 4) 除染および接続にかかる時間は、システムの要求に沿ったものであること。
- 5) 除染パスボックスおよび接続された装置において、除染に昇温が必要な場合、設計された範囲であること。
- 6) 除染パスボックスおよび接続された装置において、内部の清浄度は、あらかじめ定めたグレードに適合するものであること。
- 7) 除染工程の確立、あるいは除染工程実施の際には、以下の点を配慮すること。
 - i) 被除染空間内の表面が洗浄され乾燥していること
 - ii) 被除染空間および周囲の温度（温度分布確認を含む）が予め定められた範囲であること
 - iii) 被除染空間の湿度が予め定められた範囲であること
 - iv) 除染剤の暴露時間（除染時間）が予め定められた時間以上であること
 - v) 除染剤の暴露濃度が予め定められた濃度以上であること
 - vi) 予め定められた差圧が保たれていること
 - vii) 除染剤の拡散が均一であること
 - viii) バイオバーデン（菌種、菌量）が予め定められた範囲であること
- 8) 除染中および除染後、除染剤の漏出により周囲作業環境の除染剤濃度が許容基準を超えないこと。
- 9) 除染後、除染剤濃度が直接接触する製品あるいは細胞などに影響のないレベルにまで低下していることをバリデーションで確認しておくこと。
- 10) 除染に使用するミスト、蒸気またはガスの特性、およびこれらの発生装置の運転を十分に理解した職員が除染作業を行うこと。

5. 空調システムの要件

- 1) 除染パスボックス内部への給気、および外部への排気はHEPA規格以上のフィルターを通すこと。
- 2) 除染パスボックス内部の気流パターンは乱流を採用することができる。

6. 除染実施者のトレーニング

除染パスボックスを使用する実施者に対して、予め少なくとも以下の事項に関する教育訓練を実施すること。

- i) 除染パスボックスおよび接続された装置の除染作業手順について
- ii) 除染パスボックスおよび接続された装置のリークテスト実施手順について
- iii) 製品等および資材の搬入および製品の搬出作業手順について
- iv) 除染パスボックスおよび接続された装置の運転、監視測定および維持管理について
- v) 化学物質等安全データシートに基づいた除染剤の安全管理およびアイソレーター設備との適合性について
- vi) 工程に特異的な標準作業手順について
- vii) 除染作業のリスクについて

7. 日常管理

除染パスボックスの日常管理には、少なくとも以下の事項を含むこと。

- i) バリデーションの結果に基づいて、除染パスボックスおよび除染接続ポートを運転する標準作業手順書を作成すること。
- ii) 一定期間ごと、あるいは除染の都度、除染パスボックスの使用前にリーク試験を行うこと。リーク試験の例としては、圧ホールド試験、ガス検出法があるが、必ずしもこれらの方法に限定するものではない。
- iii) 除染パスボックスにグローブが使用されている場合、グローブは毎使用時、目視により破れ等がないことを確認すること。
- iv) 維持管理のために、消耗部品について予め更新計画を作成し、交換の時期を明らかにしておくこと。
- v) 除染を実施する際には、温度、湿度、ガス濃度等の除染工程が適切に完了したことを確認できる指標について、あらかじめ定めた測定ポイントにおいて精度が確保された計測器により測定し、正確に記録を作成すること。

8. 除染パスボックスの利用

除染パスボックスは、アイソレーター技術との統合により、無菌操作を担保できるCell processing center (CPC)の構築を可能とする。

グレードDもしくはそれ以上の外部環境に設置されたアイソレーターの内部環境は、グレードAでの無菌操作を担保でき、更にアイソレーター内への物質移送の際、除染機能の付いたパスボックスを介することで、グレードDからグレードAへの移送が可能となる。一例としてのレイアウトを下記に示す。

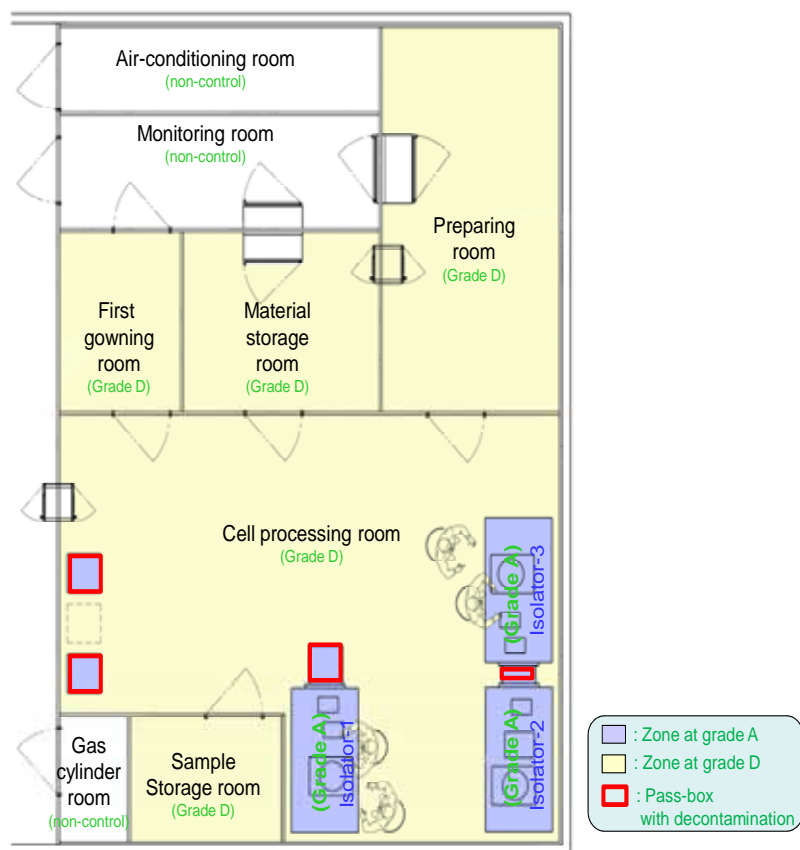


図1 除染ボックスが附帯されているアイソレーターを利用したCPCレイアウト例

表1 部屋名表記一覧

日本語表記	英語表記
モニタリング室	Monitoring room
1次ガウニング室	First gowning room
洗浄・滅菌室	Preparing room
材料保管室	Material storage room
細胞操作室	Cell processing room
細胞・組織保管室	Sample storage room
機械室 (空調設備&電気設備)	Air-conditioning room
ガスボンベ室	Gas cylinder room

H21 年度策定のヒト細胞培養加工装置についての設計ガイドライン英訳

Guidelines for the Design of a Human Cell Culture System

1. General Rules

1.1 Purpose

The purpose of these guidelines is to ensure the quality of culture systems by indicating to the manufacturers of cell/tissue culture systems the basic and standard policies for the design of a system for culturing human cells and tissues. We hope this will help users with managing the culture process and quality of human cells and tissues.

A “cell culture system” as used in the guidelines is defined as a system that cultivates cells and tissues, and when necessary, processes the cells and tissues inside the system. The requirements in these guidelines are applicable regardless of the type of cells/tissues, and, although as a rule they are described for the culture and process of human cells/tissues, there are many common elements that can be applied to systems for other types of cultures. In particular, the “Design Guide” in Chapter 2 covers the core requirements to ensure the safety of cultured human cells/tissues as a product.

1.2 Scope

These guidelines apply to the design of a system that cultivates human cells and tissues, and processes the cells and tissues inside the system when necessary. In addition, the guidelines provide a basic guide for the manufacture of culture systems; this is not a design guide for medical equipment.

2. Design Guide

It is important to consider the following items when designing a culture system.

2.1 Prevention of Contamination

Prevention of contamination should be taken into consideration, and the system should maintain a tight seal structure (closed cultivation system). Sufficient care should be given to cross contamination between cells from different donors, and parts that come into contact with the cells should be disposable. The system should be designed to allow cleaning of parts that are used repeatedly in order to maintain cleanliness. Furthermore, if cells from multiple donors are treated in one system, the system should be designed so that the culture spaces are independent of each other and tightly sealed for each culture, or, be designed

to combine a sterilization process and independent treatment over time. Attention should be paid to contamination during cell seeding or when inserting three-dimensional tissues or a carrier into the system.

2.2 Assurance of Sterility

Sterility should be secured inside the culture system. Furthermore, when releasing the culture vessel, the environment should be controlled as a Critical Processing Zone (Grade A) as shown in Chart 1.

For example, when inserting an agent into the culture system, decontamination is necessary at the barrier, so a pass box is required. Here, an “agent” refers to culture vessels and vessels containing culture medium, and a “pass box” refers to decontamination pass boxes and clean benches required to achieve a Critical Processing Zone. In addition, when using a pass box without the decontamination function, the area surrounding this pass box should be controlled as a Direct Support Zone (Grade B).

See “4. Installation of the Culture System” for information on the installation environment.

Chart 1 Classification of Clean Rooms*

The Japanese Pharmacopoeia Fifteenth Edition	ISO14644-1	Maximum particles/m ³ Particle size: greater than 0.5 μm
Critical Processing Zone (Grade A)	Class 5	Clean bench, safety cabinet, clean booths, etc. Class 5 Cleanliness: 3,520 at non-operation Class 5 Cleanliness: 3,520 at operation
Direct Support Zone (Grade B)	Class 7	Class 7 Cleanliness: 3,520 at non-operation Class 7 Cleanliness: 352,000 at operation
Other Support Zones (Grade C)	Class 8	Class 8 Cleanliness: 352,000 at non-operation Class 8 Cleanliness: 3,520,000 at operation
Other Support Zones (Grade D)		Cleanliness: 3,520,000 at non-operation

*Classified in reference to the 2006 Scientific Research Project conducted by the Ministry

of Health, Labor, and Welfare (Regulatory Science of Medicine, Medical Technology, etc.), “Study on domestic introduction of international standards on aseptic medical supply manufacturing. Preparation of guideline for terminally sterilized aseptic medical supply manufacturing,” and ISO13408-1.

2.3 Prevention of External Leakage

The building materials, parts, and base materials used for the system should not contaminate the surroundings. If there is a possibility that virally infected cells will be used, the “Guidance for Quality and Safety Assurance of Gene Therapy Products” (November 15, 1995 Yakuhatu Notification No. 1062; Notification by the Director-General of the Pharmaceutical Affairs Bureau (Revised March 29, 2002 Iyakuhatu Notification No. 0329004)) should be studied and the system should be designed with consideration for the biohazard level for the safety of the operator and prevention of cross contamination between culture spaces. The design should allow easy cleaning in case a culture vessel breaks or is damaged, causing the culture solution to splash on the system.

2.4 Prevention of Specimen Mix-Up (Mixing of cells from different patients)

In order to prevent the mix-up of culture spaces, the system should include a procedure for verification with the operator before releasing the culture space.

In the case of a sealed-vessel culture system, the culture vessel space matches the culture space; however, in the case of a sealed-chamber culture system, the culture space includes the culture vessel.

Here, “procedure” refers to the matching of information (barcodes, electronic tags, etc.) recorded on the standard operating procedure stored by the operator and the information recorded on the culture space in the system.

2.5 Prevention of Operating Errors

In order to prevent operating errors, a procedure should be implemented for verification with the operator when giving operating instructions.

Here, “procedure” refers to the matching of information (barcodes, etc.) recorded on the standard operating procedure stored by the operator and the information recorded on the culture space in the system.

2.6 Management of the Culture Process

In order to ascertain and manage the culture process, an ancillary facility should be installed which can conduct a sterile, nondestructive, noninvasive cell property analysis to assist the operator with process decisions.

For example, a cell property analysis refers to a cell number analysis or cell/tissue form analysis using an observing device, and an analysis, etc. of culture medium components by a culture medium analysis device.

Quality assurance by cell/tissue lot management using a system that manages information on the cell/tissue culture process is desirable.

The recording format should be able to confirm that there is no deviation to the instructions at any time and should also support the Quality Management System.

2.7 Management of Operation Log

It should be possible to internally record or externally output real-time control items when necessary, for every execution of an instruction item or mechanical operation item during the culture process operation.

Furthermore, if various logs are recorded internally, the log data should be protected from tampering.

Externally, analog output and connection to the data logger is desirable. An “instruction item” refers to an operation instruction by the operator, such as temperature setting, instruction to change the culture medium, etc. A “mechanical operation item” refers to an operation with mechanical movement, such as pump operation when changing the culture medium, the opening and closing of valves, etc. A “real-time control item” refers to a physical property of the environment that is continuously controlled, such as the temperature or humidity during temperature/humidity control. Furthermore, log management is desirable in case of a sudden electrical outage.

2.8 Malfunction Alarm and Central Control

The system should include a device to signal an alert by sound, light, phone line, or LAN. In addition, it should have a device to monitor the culture state in real time.

“Monitoring the culture state” refers to items that involve the culture process environment/operations or matters that involve cells such as cellular behavior.

2.9 Fail Safe

In the case of a malfunction, the system should stabilize on the safe side.

Systems that use a computer should have a watchdog timer circuit (runaway monitoring) or an equivalent safety plan. In the case of a malfunction, the system should have the appropriate alarm equipment to allow prompt response.

2.10 Activation and Alarm of the Safety Device and Method of Confirmation

Prevention of operator injury and spread of damage to other facilities should be taken into consideration. Parts with a hazard risk should have an appropriate sign to alert the operator. The system should include a device to detect culture process abnormalities or operation

errors and send out an alarm if one is detected, as well as a feature to alert the operator or supervisor.

2.11 Validation of the System

The system should be able to assess its functional components such as sensors, etc. In addition, the system should be able to save the assessment records.

2.12 Selection of Material

Materials for parts that come into contact with the culture fluid, cells, and tissues should have minimal elution of components, should not affect the cells, and should have proven past performance. In addition, materials should be selected in accordance to the sterilization method; the materials should not become altered after sterilization and should not affect the cells.

2.13 Maintenance of the System

Maintenance should be easy to perform in order to maintain the cleanliness of the culture system at its required grade.

3. Requirements

3.1 Manufacturing Requirement

The culture system should be manufactured in accordance with the manufacturing processes of ISO9001.

3.2 Sterilization

Parts which could come into contact with specimens and culture fluids (such as culture space) should be made aseptic by sterilization.

3.3 Material Quality, Material Type, and Design

The quality/type of materials and the design should take into account regular cleaning and cleaning/sterilization in the case of contamination. The interior material of pipes and pipe components that connect fluids such as liquid, gas, etc. should be made of a material that does not corrode when in contact with the aforementioned fluids.

3.4 Vessels and Circuits Contacting Cells/Culture Fluids

Disposable vessels and circuits should be used.

If they are made of plastic, they should be in accordance with “Medical Containers Made from Plastic” (Japanese Pharmacopoeia Reference Information).

3.5 Power

The system should satisfy the insulation resistance and dielectric strength tests stipulated by the Ministerial Ordinance for Technical Standards of Electrical Appliances (Ministry of International Trade and Industry Vol. 85).

3.6 Packaging

If necessary, the packaging should be able to maintain the required level of cleanliness or sterilization during the applicable storage period.

3.7 Prevention of Operating Errors

Use clearly understandable signs to prevent operating errors.

3.8 Sealing and Pressure Resistance

Closed spaces should be sealed tightly in order to maintain asepticism. The seal should be designed with a sufficient safety factor for the pressure expected under environmental conditions and should be tested periodically.

3.9 Contamination and Cleanliness

Parts which could come into contact with specimens and culture fluids (such as culture space) should be designed to maintain asepticism. For example, in the case of a sealed-chamber culture system, the culture space should be designed as equivalent to the aseptic management area. The area outside the culture space should be designed to maintain a level of cleanliness equivalent to the system installation area.

3.10 Sequence

The sequence program, which automatically executes operation sequences, should be verified on a regular basis, and revisions, etc. should be made promptly.

3.11 Design Changes

Changes to design and system versions should be appropriately managed.

3.12 Manuals and Documents

A user/operation manual, installation manual, calibration manual, maintenance manual, list of replacement parts, etc. should be provided.

4. Installation of the Culture System

The culture system should be installed in accordance with the specifications of the Cell Processing Center (CPC). In addition, asepticism of the culture space should be secured and consideration be given to the 2006 Scientific Research Project conducted by the Ministry

of Health, Labor, and Welfare (Regulatory Science on Medicine, Medical Technology, etc.), “Study on domestic introduction of international standards on aseptic medical supply manufacturing. Preparation of guideline for terminally sterilized aseptic medical supply manufacturing” and ISO13408-1 Part 1: General Requirements and ISO13408-6 Part 6: Isolator systems of ISO13408 (Aseptic processing of health care products) as described below.

4.1 Installation of a Completely Sealed Culture System

A system that does not release the culture space during the isolation and processing of human cells/tissues or a system in which the substance passes through a pass box with a decontamination function when being transported to or from the culture space (the three examples in Figure 1) is defined as a completely sealed culture system and can be installed in a Grade C or Grade D “Other Support Zone” or equivalent as shown in Chart 1.

The Other Support Zone and its surrounding exterior environment should be designed to prevent the inflow of external air by using an airlock room, etc. Furthermore, appropriate attire for each cleanliness level is required for entering the room.

4.2 Installation of a Culture System with a Release Operation

In the case of a culture system without a pass box that has a decontamination function and requires a release operation for the culture space during the isolation and process of human cells/tissue (the four examples in Figure 2), the release operation should be carried out within a safety cabinet installed in a Grade B “Direct Support Zone” or a Grade A “Critical Processing Zone” in the bio-clean bench.

For example, use a clean bench as the operating space when releasing the culture vessel and install the pass box for the culture space (including the tube joints, etc. derived from the culture space) or the main unit of the culture vessel in the clean bench, and then install/connect the target through this pass box.

The above Direct Support Zone (Grade B), which is the work space for processing human cells/tissues, and the Other Support Zone (Grade C), which is the surrounding area, should be designed to prevent the inflow of outside air by using an airlock room, etc. Furthermore, appropriate attire for each cleanliness level is required for entering the room.

Figure 1 Installation of a completely sealed culture system with a decontamination box

Figure 2 Installation of a culture system without a decontamination box that requires an operation to release the culture space

1. Pass box (without decontamination function)
2. Air-lock room

3. Other Support Zone
4. Sealed-chamber culture system
5. Culture space 1
6. Culture space 2
7. Culture space 3
8. Operating section
9. Culture vessel
10. System
11. Incubator unit
12. Pass box (with decontamination function)
13. Sealed-vessel culture system
14. Culture vessel 1
15. Culture vessel 2
16. Culture vessel 3
17. Other Support Zone (Grade D)
18. Support Zone (Grade C)
19. Direct Support Zone (Grade B)
20. Critical Processing Zone (Clean bench, etc.) (Grade A)
21. Pass box (without decontamination function, Grade C)
22. Pass box (without decontamination function, Grade B)

5. Reference Standards

5.1 Design/Inspection Standards

Electrical Appliances and Material Safety Act, Electrical Safety Act: standards applicable to physics and chemistry equipment, etc., general-purpose electrical equipment (complying with the technical standards of an electric incubator and electric refrigerator as relatively similar equipment)

5.2 Manufacturing Standards

- ISO9001 Manufacturing Management Standard
- JIS Standard (Medical Equipment Safety Assessment Related T-60601, etc.)

5.3 Export Compliance Standard

- EC Directive (European Community Directive, CE Marking)
- Machine Directive (Integrated into 98/37/EC): 1998-08-01
- EMC Directive (89/336/EEC, 92/31/EEC): 1996-01-01
- Low Voltage Directive (73/23/EEC): 1997-01-01
- RoHS Standard
- UL Standard (United States)

6. Glossary

The definitions of terms used in these guidelines are as follows:

6.1 Culture

The chemical treatment, changing of biological characteristics, combining of non-cellular/non-tissue components, genetic application of engineered changes, etc. for the purpose of artificial growth of human cells/tissues, activation of cells/tissues

6.2 Culture process

The process flow, including the culture process, of the set of operations listed below:

Pretreatment: Cleaning the vessels, sterilization, unfreezing, cell separation, genetic engineering, etc.

Culture treatment: inoculation to the culture vessel or cell maintenance (primary culture/subculture/ tissue culture) in the vessel. Other operations included here are maintaining the environment (temperature, humidity, and gas), applying stimulation, supplying culture medium components, and managing the process/quality (culture medium component assessment or cell observation).

After treatment: recovering cells, quality assessment (outgoing inspection), etc.

6.3 Culture space

The sterilized space that may come in contact with the cells

6.4 Culture vessel

The vessel that is used in the culture space

6.5 Pass box with decontamination

A pass box capable of sterilization and particle removal

6.6 Sealing

A condition without shifting between a liquid phase and a solid phase, excluding shifting of the vapor phase through a HEPA filter or other device

6.7 Culture system

A system that assists with part or all of the culture process of human cells/tissues in a culture space

6.8 Sealed-vessel culture system

A culture system that completes a part of, or the entire set of processes without releasing the culture vessel after inserting the ingredients in the culture space and closing the system

6.9 Sealed-chamber culture system

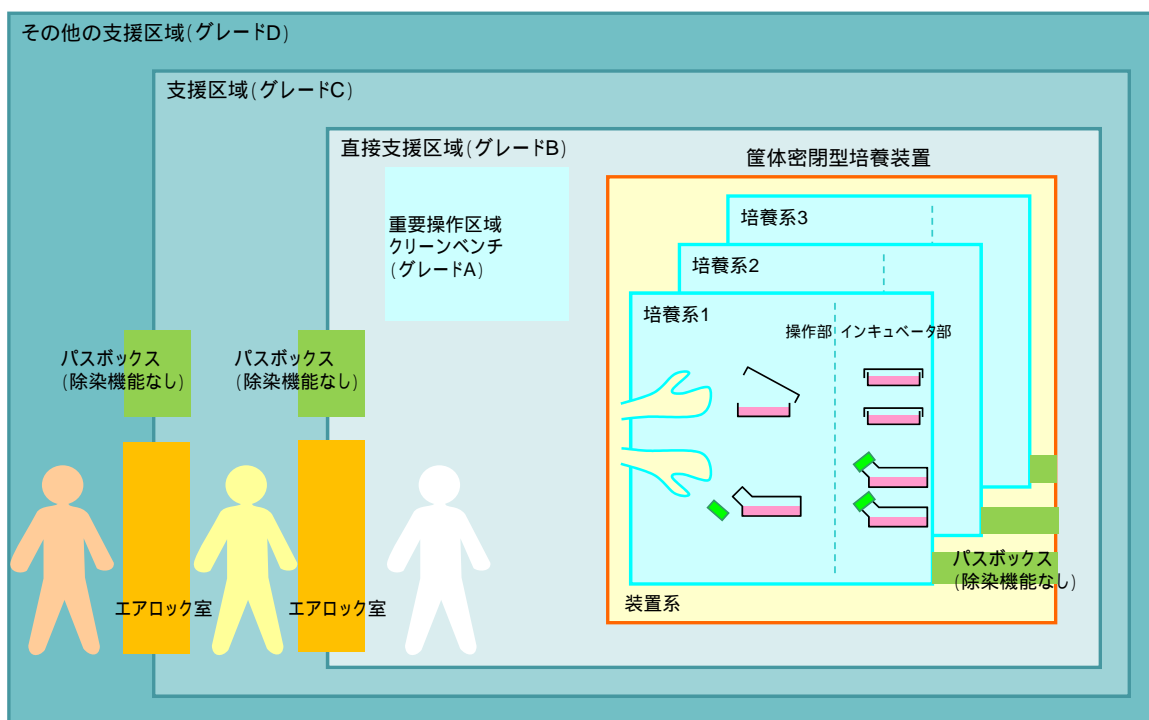
A culture system that completes a part of, or the entire set of processes by releasing the culture vessel when needed after inserting the ingredients in the culture space and closing the system

6.10 Clean-room-type cell processing center

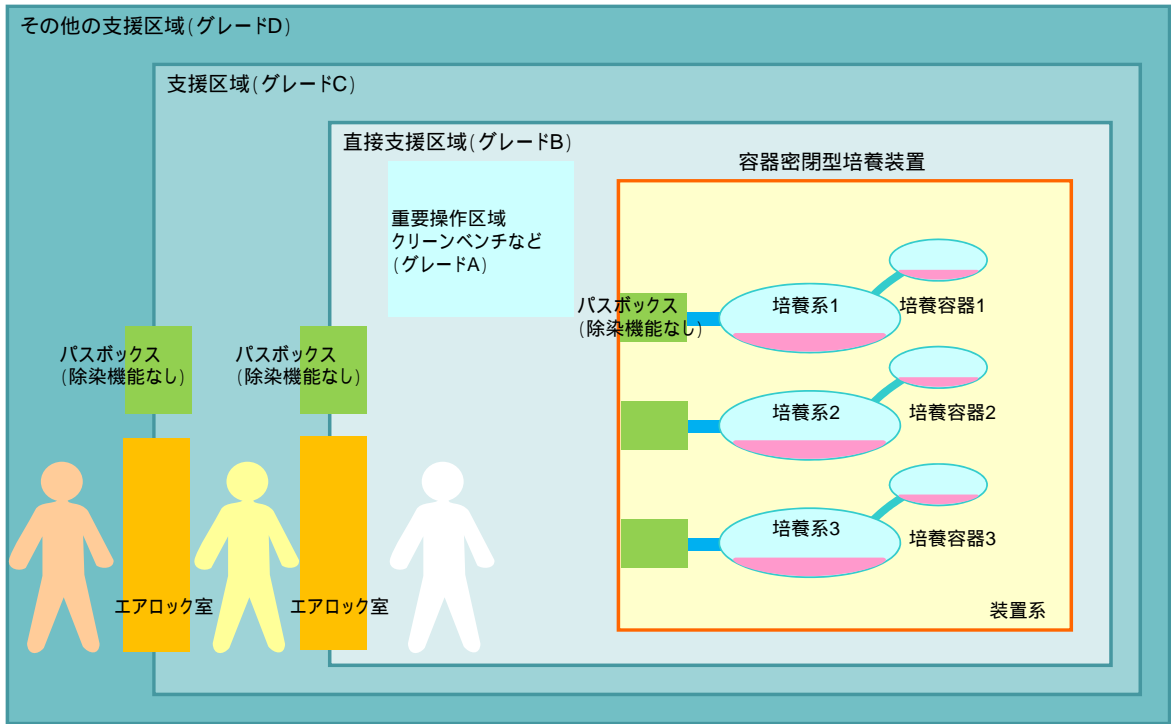
A cell processing center that secures asepticism by setting up clean rooms having different levels of cleanliness

6.11 Isolator-type cell processing center (chamber)

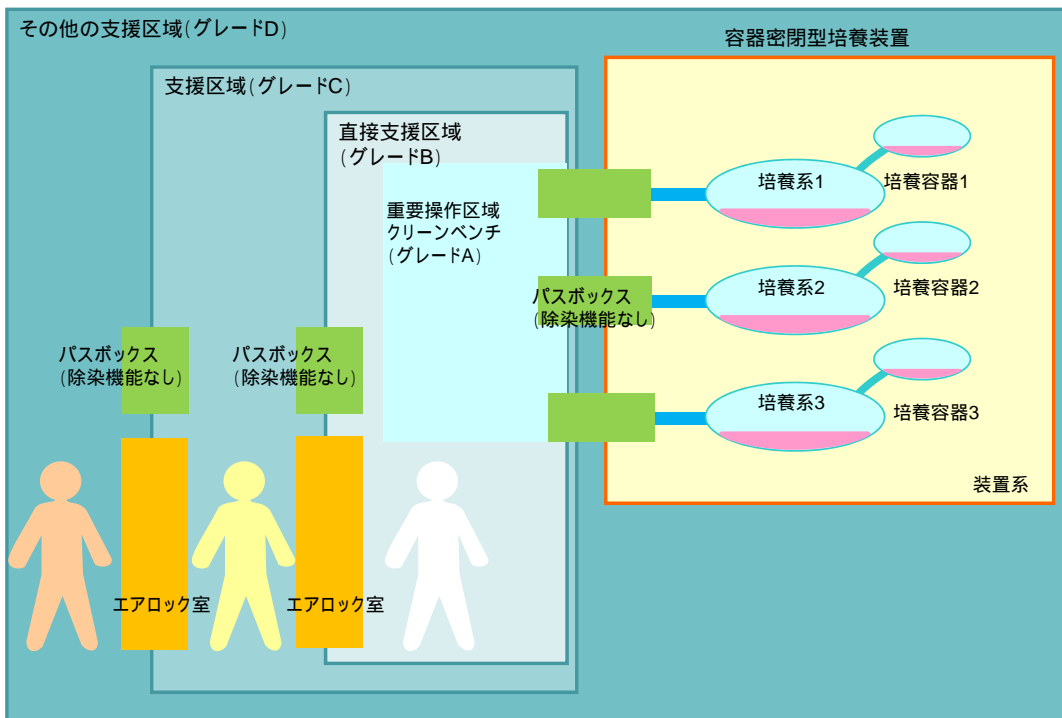
A cell processing center that simplifies the clean room layout by using an isolator (aseptic operation box) that is capable of securing asepticism in its basic components



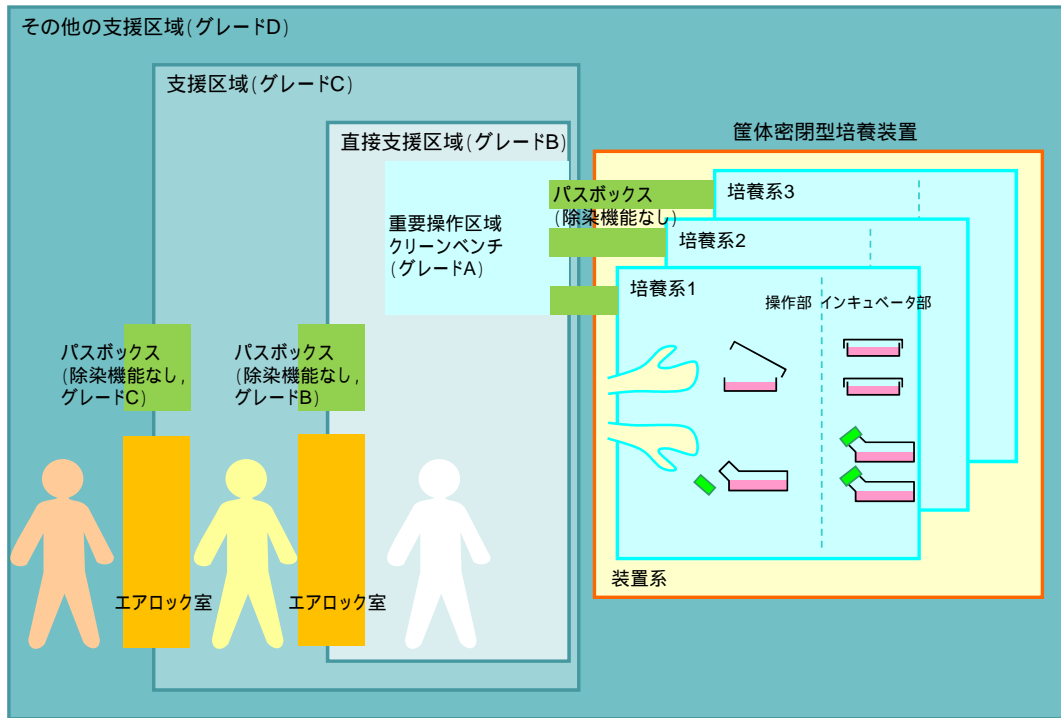
(a)



(b)



(c)



(d)

図2 培養系を開放する操作が必要であり，除染ボックスが附帯されていない培養装置の設置

5 . 今後の展望

本年度は、細胞および細胞シート等を用いた再生医療の臨床研究における産業化におけるガイドラインの考え方を整理して提示した。前年度の臨床研究実施に当たってのガイドラインを合わせて、この分野の臨床研究の推進に資する指針が整備されたことになる。自己細胞を用いた医療、あるいは臨床研究は、基本的には医師と患者との間の契約にもとづく個別の医療行為であるが、その過程で細胞の増殖や加工を伴う業務が介在する場合には、外部委託も取り入れて実施した方がより安全で効率のよい医療を提供することができるようになると考えられる。特に、自己細胞と用いた再生医療の場合は細胞の所有権は患者にあり、商品にはなり得ない。また、細胞の性質は、個人個人で異なることが多く、同様の疾患に対する臨床研究であっても単一のプロトコールで細胞培養や加工ができることはなく、個々の患者に合わせた医師の指示のもとで外部機関（民間企業等）が業務を委託される形になる。受託した機関側は、医療成績自体には責任を持つ必要はないが、医師の指示の通りに安全な細胞を提供するという契約上の義務が生じる。このプロセスについての考え方を整理した案が今回の提案である。

この考え方をもとに自己細胞を用いた再生医療の臨床研究が進展し、医療化のプロセスで必要になる重要な知見が迅速に集積されることが期待されている。自己細胞を用いた移植の次には、同種（他家）細胞を用いた再生医療の展開を円滑にする環境を整備する必要がある。ここでは、細胞バンクのあり方、免疫拒絶反応の回避・軽減技術などが大きな課題となる。細胞の種類によって考え方や国民の許容範囲も大きく異なることが予想される。より一層のきめ細かな対応が求められている。

この報告書は、平成21年度に独立行政法人 産業技術総合研究所が、経済産業省からの委託を受けて実施した成果を取りまとめたものです。

禁無断転載

平成21年度 戦略的技術開発委託費
医療機器開発ガイドライン策定事業
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)
再生医療分野(細胞シート)
開発WG報告書

連絡先

〒100-8901
東京都千代田区霞が関1-3-1
経済産業省商務情報政策局サービス産業課 医療・福祉機器産業室
TEL : 03-3501-1562
FAX : 03-3501-6613
URL : <http://www.meti.go.jp/>

発行

〒305-8566
茨城県つくば市東1-1-1
独立行政法人 産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門
医療機器開発ガイドライン検討実務委員会
TEL/FAX : 029-861-7014
E-Mail : human-ws@m.aist.go.jp