

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

選択的リンパ球吸着療法による免疫性神経筋疾患の治療

平成16年度 総括研究報告書

主任研究者 澁谷 統壽

平成17(2005)年3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

選択的リンパ球吸着療法による免疫性神経筋疾患の治療 ..... 1

濫谷 統壽

(資料1) 健常人に対する選択的CD4陽性T細胞除去カラムによる ..... 5  
体外循環試験研究有害事象発生原因の検討

(資料2) CD4-0312の概要 ..... 7

(資料3) 健常人に対する選択的CD4陽性T細胞除去カラムによる ..... 11  
体外循環試験におけるリンパ球分画の変化

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ..... 15

III. 研究成果の刊行物・別刷 ..... 17

# I. 総括研究報告

平成16年度厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

総括研究報告書

選択的リンパ球吸着療法による免疫性神経筋疾患の治療

主任研究者 渋谷統寿

研究要旨：多発性硬化症（MS）などのT細胞介在性の疾患の治療戦略は自己反応性T細胞を除去または不活化することにある。これらの自己反応性T細胞の多くは抗原特異的CD4+T細胞で、病気の急性期や再燃時には患者血液中に特定のT細胞の増殖があることが明らかにされている。この病因となるCD4陽性T細胞を全血フロー系で効率よく除去する体外循環システムの開発し、免疫性神経疾患での臨床試用めざして有効性および安全性の確認を行った。平成15年度、健常人を対象とした体外循環試験を行い、悪寒・戦慄、発熱および一過性の肝機能障害を認めたが、この原因が用いたモノクローナル抗体および充填剤であるキトサンから血漿との接触により遊離したエンドトキシンであることを確認した。この結果をもとにヒト臨床研究用CD4陽性T細胞除去器を改良し、エンドトキシンの検出および発熱がないことを確認した。改良したカラムで健常人を対象とした体外循環試験を行い、安全に施行が可能で、in vitroの結果と同様の選択的CD4陽性T細胞除去器の性能が確認された。

#### 分担研究者

松尾秀徳（国立病院機構長崎神経医療センター 統括診療部長）、吉良潤一（九州大学大学院医学研究院神経内科 教授）、祖父江元（名古屋大学大学院医学系研究科 教授）、荻野美恵子（北里大学医学部 講師）、津田裕士（順天堂大学膠原病内科 助教授）、野村恭一（埼玉医科大学総合医療センター神経内科 教授）、服部孝道（千葉大学大学院医学研究院神経病態学 教授）、藤原一男（東北大学大学院医学系研究科神経内科 助教授）、菊地誠志（北海道大学大学院医学研究科神経内科 助教授）

自己反応性T細胞の神経組織への侵入と免疫系の細胞の相互作用によって発症する多発性硬化症（MS）などに区分される。免疫性神経疾患の治療目標は抗原特異的な免疫反応を抑制することであるが、現実的には抗原特異的な免疫療法は一部の実験系でのみ可能であるにすぎない。臨床的に用いられている今日の治療手段は、免疫応答の最終段階にあるエフェクター相を抑えるものが多く、薬剤による免疫抑制、体外循環で液性因子の除去による免疫調節などである。これらは、抗体介在性の重症筋無力症では有効であるが、T細胞介在性のMSなどでは効果が少ない。T細胞介在性の疾患に対する治療戦略は自己反応性T細胞を除去または不活化することにある。MSでは中枢神経（脳・脊髄）の抗原特異的CD4+T細胞が病因に強く関わっており、病気の急性期や再燃時には患者血液中に特定のT細胞の増殖があることが明らかにされている。われわ

#### A. 研究目的

免疫性神経疾患は神経組織を標的とした免疫応答異常により発症する。発症機序の面から(1)主として自己抗体や補体による組織傷害が主因の重症筋無力症などと、(2)主に自

れははこの病因となる CD4+T 細胞を ex vivo で除去し、全血フロー系で CD4+T 細胞を効率よく除去する体外循環システムの開発を行い、ヒト臨床に応用できる吸着材を試作し動物モデルでの有用性を確認してきた。

新しい体外循環治療の臨床応用には、ヒト免疫性神経疾患での臨床試用を行い有効性および安全性の確認を行う feasibility study が必要である。免疫性神経疾患は症例数が少なく、また体外循環を用いた臨床試験という特殊性から、全国の神経免疫疾患専門の医療施設での共同研究が効率的かつ効果的成果になると期待される。

この新しい体外循環治療の免疫性神経疾患での臨床試用めざして有効性および安全性の確認を行った。

## B. 研究方法

1. ヒト臨床研究用 CD4 陽性 T 細胞除去器の製作：体外循環処理量 3 L を目標としたヒト用 CD4 陽性 T 細胞除去器を製作し、ex vivo での回路の設計、試験手順を策定する。

2. 健常人を対象とした体外循環試験試験のプロトコールと説明資料を作成し、各施設の倫理委員会に諮る。

3. 健常人を対象とした体外循環試験試験を実施し、その結果を解析し、今後の臨床試験の進め方を検討する。

(倫理面への配慮)

この特異的吸着剤は既に 1. 吸着型血液浄化器基準、2. 医療用具の生物学的試験のガイドライン (IS010993)、3. ヒト又は動物由来の成分を原料として製造される医薬品等の品質および安全性確保について (医薬発 1314 号, H12 年 12 月 26 日, 医薬安全局長) 用いる抗体のウィルス否定試験、4. 保存性

安定性試験、プライミング性試験、5. 動物体外循環評価などのカラム安全性試験評価基準にすべて合格している。患者を対象とした体外循環治療は既に確立された医療技術である。しかし、本研究は患者または健常人を対象として新しい治療法の開発を行う臨床研究である。従って臨床試験に際しては、「医薬品の臨床試験の実施基準に関する省令」の規定に準じて、事前に各施設内の倫理委員会でプロトコールの検討を行い、対象被験者に文書による十分なインフォームドコンセントを与え、確実な同意を得て施行すると共に安全性の確保には万全を図ることとした。

## C. 研究結果

1) 平成 15 年度の本研究で健常人での体外循環試験を施行したところ。一例では体外循環終了直後に、もう一例では体外循環中に悪寒・戦慄、発熱の出現を認めた。さらに、一過性の肝機能障害を認めたが、1-2 週で正常化した。

2) 上記のため、健常人の体外循環試験を一時中止し、原因について検討した。カラム灌流後の洗浄液中にはエンドトキシンは検出されなかったが、用いたモノクローナル抗体および充填剤であるキトサンにエンドトキシンが含まれていた可能性を示唆する結果が得られた。

3) 上記の結果を確認するために、ヒト臨床用 CD4 陽性 T 細胞除去器の濾材とウサギ血漿を接触させて得られた抽出液をウサギに静注し発熱試験を行った。この結果、血漿との接触によりエンドトキシンが遊離し、発熱することを確認した。

4) 以上の結果をもとにヒト臨床研究用 CD4 陽性 T 細胞除去器を改良し、上記 2) および

3) の実験系を用い、前回の除去器の濾材と比較検討しながら、エンドトキシンの検出および発熱がないことを確認した。

5) CD4 陽性 T 細胞除去器で体外循環を複数回施行する場合の安全性を確認するために、改良した除去器を用いてイヌで 8 日間の間隔をあけて 2 回の体外循環を施行し、アレルギー・アナフィラキシー症状などの出現がないことを確認した。

6) 以上の結果を踏まえて、選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器の改良を行い安全性について再度確認した。これらの結果を倫理委員会に提出し健常人での体外循環試験再開について審査を受け承認された。

循環血中より選択的 CD4 陽性 T 細胞を除去した場合、実際にヒトではどの程度の CD4 陽性 T 細胞の減少がどれくらいの期間続くのかなどの基礎データが必要であり、それをもとに治療回数を設定できる可能性がある。これらは他の大型動物での体外循環による研究結果をヒトに応用するのは困難であり、健常人での体外循環試験が必要と考えられた。

7) 健常人での体外循環試験を行い安全に施行できた。in vitro の結果とほぼ同様の選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器の性能が確認され、選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器を用いた体外循環治療の可能性が示唆された。肝機能障害、発熱などの有害事象は起こらなかった。

#### D. 考察

本研究は、ex vivo で免疫調節を行う新しい体外循環システムである。医療技術としてモノクローナル抗体をポリスチレン不織布に固定化した選択的細胞吸着材で、世界に類をみない独創的で画期的な医療技術である。全血フロー系で標的となる CD4+T 細胞や活性化

T 細胞を選択的に捕捉し除去することで免疫調節を行うが、血球成分や血漿成分の非特異的吸着はない（これまでは赤血球や血小板などの非特異吸着に阻害され全血フロー系での選択的な細胞除去は不可能であった）。今後、担体物質の最適化やリガンドの精製技術を改良することで自己反応性 T 細胞または病因となる免疫担当細胞のより選択的な捕捉・除去による免疫調節技術をさらに発展させることが可能である。またこの特異的な細胞吸着療法は T 細胞介在性の自己免疫疾患のみならず骨髄移植や臓器移植における異常免疫反応の抑制や GVHD の予防にも応用しうる画期的なものである。

選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器を臨床応用するためには、安全性が確認されることがまず第一の条件である。平成 15 年度の体外循環試験で発熱・肝機能障害の有害事象が発生したため、今年度は、その原因を究明し治療器の改良を行った。治療器に用いた抗体と充填剤からエンドトキシンが血漿との接触により遊離してくるものと推測したが、それを証明するために、改良前後の治療器の濾材を用いて血漿による抽出を行い発熱試験を実施した。これにより推定した原因で発熱が起こっていたと結論した。さらに、改良した治療器を用いた体外循環試験で in vitro の結果と同様の選択的 CD4+T 細胞除去器の性能と安全性が確認された。

#### E. 結論

健常人での体外循環試験で、in vitro の結果と同様の選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器の性能が確認され、選択的 CD4 陽性 T 細胞除去器を用いた体外循環治療の可能性が示唆された。一過性ではあるが有害事象が認められ、原因

の解明と除去器の改良に繋がった。

#### F. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表 1件

原著論文による発表 0件

それ以外の発表 0件

そのうち主なもの

学会発表

①松尾秀徳 井上賞受賞記念講演

Cytapheresis with a filter for selective removal of CD4陽性 T cells 第24回日本アフエレンシス学会学術大会 2004,11,19-20 (千葉)

##### 2) 海外

口頭発表1件

原著論文による発表 3件

それ以外の発表 0件

そのうち主なもの

論文発表

① Matsuo H, Goto H, Kambara C, Fukudome T, Mizota T, Onodera H, Yoshida M, Shibuya N. Selective adsorption of human CD4+ T cells. Ther Apher Dial 2004;8:194-196.

口頭発表

① Matsuo H, Goto H, Onodera H, Yoshida M, Shibuya N. Cytapheresis with a filter for selective removal of CD4+ T cells. 10th Meeting of the World Apheresis Association 2004,5,5-8 (Miami Beach)

#### G. 知的所有権の出願・取得状況

該当なし。

## 資料 1

## 発熱性物質試験

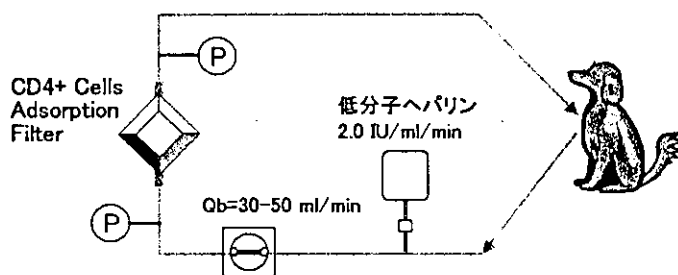
- 目的: CD4-0312の濾材に発熱性物質が含まれていないことを検証する
- 方法: ウサギを用いた発熱性物質試験(第十四改正日局)
- 抽出: ウサギ血漿抽出(37°CX15分)
- 結果:

検体	体温上昇(°C) 基準:0.6°C以下			3羽合計 (°C) 基準:1.4°C以下	判定
	n=1	n=2	n=3		
血漿のみ	0.24	0.45	0.33	1.02	陰性
CD4-0312	0.10	0.05	0.08	0.23	陰性
CD4-01	1.27	1.59	1.42	4.28	陽性

- 結論: 対策品CD4-0312は発熱のリスクが十分低減されている

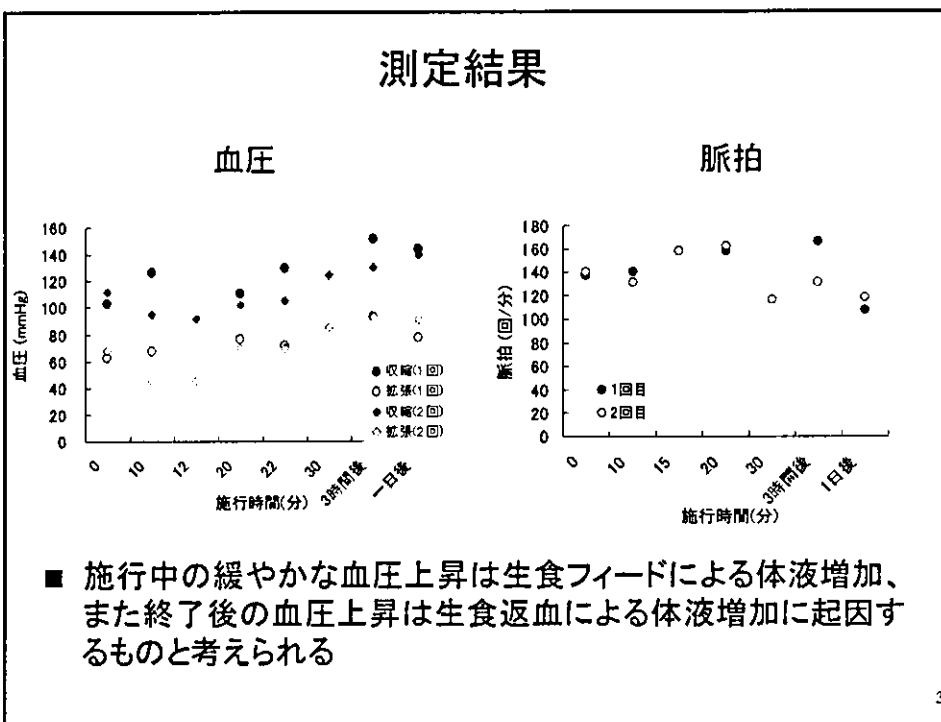
## 犬体外循環複数回施行での安全性確認

	ヒト(参考)	イヌ	
		1回目	2回目
体重	60kg	22.4kg	21.8kg
体液量(a)	4.6L	1.9L	1.8L
血液処理量(b)	3.0L	1.0L	1.2L
(b)/(a)	0.65	0.53	0.66



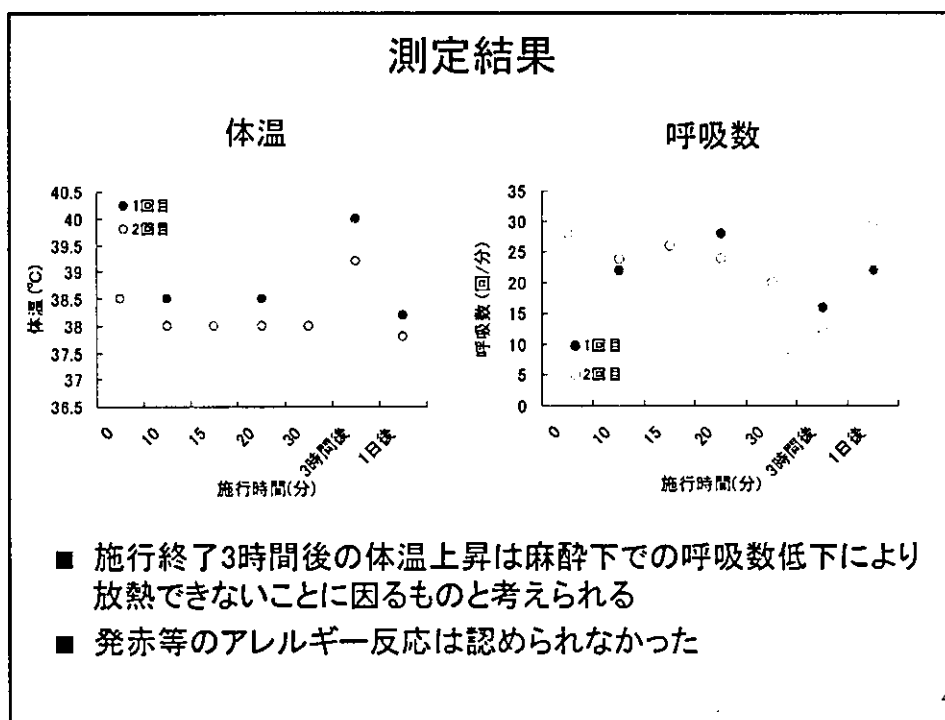


## 測定結果



3

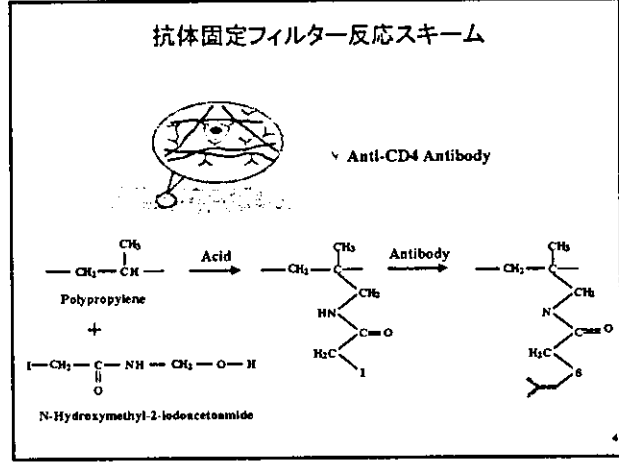
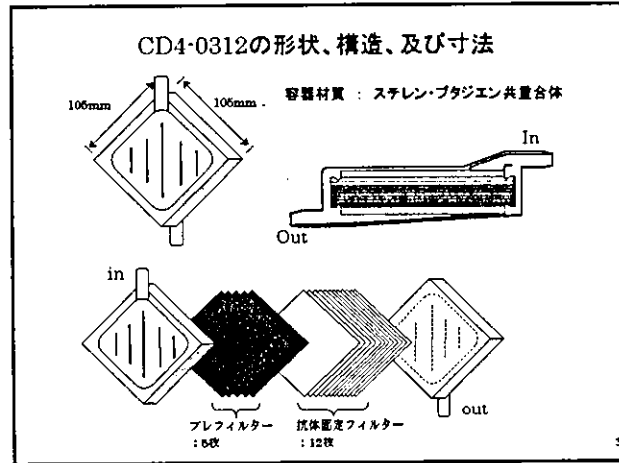
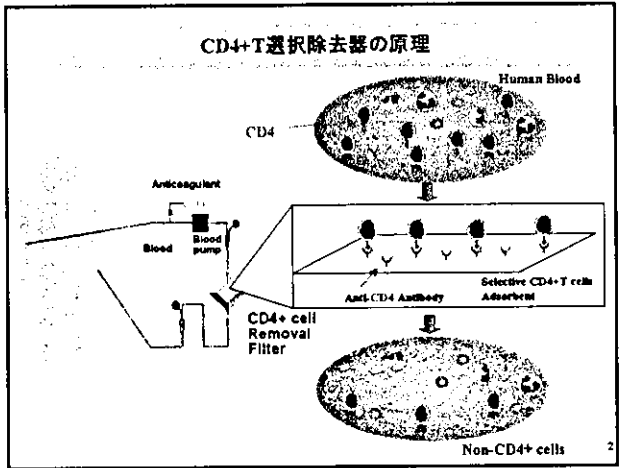
## 測定結果



4

資料 2

# CD4選択除去器(CD4-0312)の概要



### CD4-0312の使用原材料

部材名	材質	材質・製品当たりの量
容器	材質	ステンレン・ブタジエン共重合体 1セット (in側, out側)
キャップ	材質	シリコン栓 2個
プレフィルター	材質	ポリエステル 繊維径: 10~40µm 重量: 1.0g~1.5g
抗ヒトCD4モノクローナル抗体固定フィルター	不織布材質	ポリプロピレン 繊維径: 3.0~4.0µm 重量: 7.5~10.9g
	活性化剤	N-hydroxymethyl-2-iodoacetamide: 1.0~2.0µg
	抗体	サブクラス: IgG1 x (4µm/テック) クローン: 13B8.2 (ヒト中性化で処理したBALB/cのマウス脾細胞由来) 抗体固定量: 7.5~12.5mg Tween20 (滅菌化剤)
充填液	ブロッキング剤	10mMアスコルビン酸(PBS-)水溶液
		アスコルビン酸: 日本薬務アスコルビン酸注射液 VC注 (製薬会社: 日本製薬工業) 分子量: 176.12
		ダルベッコPBS(-) (マウス脾細胞用) (1000倍希釈液) (製薬会社: 和光純薬工業)

### CD4-0312の安全性試験(1)

品質安全管理試験  
1) 生物学的安全性試験  
試験ロット: 血液成分用ロット (2017A08・2017B03) を含む2ロットを1で実施。  
(海外試験: (フィルターのみの装置) 承認済みのロット)  
試験基準: 『医薬品用の生物学的安全性試験のガイドライン』に準じて実施した。

試験項目	基準	結果
熱原性試験	3割の試管に於いて0.4°C以上の試管温度の上昇が認められ、かつ3割の試管に於いて0.4°C以下	合格
細菌汚染試験 (菌数試験)	24時間以上の培養が認められる	合格
皮膚刺激性試験	皮膚赤疹、発疹、浮腫等に認められ、場所の異なる試験部位に認められなかった	合格
急性毒性試験	5日間観察で異常または死亡例を認めない	合格
慢性毒性試験	慢性毒性試験で異常な結果が認められなかった (予備試験で慢性毒性試験の目的を達成し、慢性毒性試験を実施する必要があるが、慢性毒性試験の結果は合格と判断した)	合格
環境汚染試験 (Sensitivity and Patch Test)	皮膚汚染の発生	合格

2) その他安全性試験  
試験ロット: 血液成分用ロット (2017A08・2017B03) を含む2ロットを1で実施。  
試験基準: 『医薬品用の生物学的安全性試験』に準じた。

試験項目	基準	結果
崩壊試験	崩壊・漏れ等の発生を認めない	合格
耐圧・耐熱試験	耐圧試験の1.5倍圧力で耐圧を確保	合格
漏れ試験	25°C/100mmHg以上10時間/100mmHg以下 圧力100mmHg以上100mmHg以下	合格

### CD4-0312の安全性試験(2)

□ 原料安全性試験  
試験ロット：臨床研究用ロット (2023A30・2040202) に使用した不織布、巻帯にて実験  
試験結果：「医薬品管理情報化推進基準」に準じた。

項目	試験項目	結果	判定
毒出動試験			
- 発熱	発熱発生は認められず、自然により現象を認めない。	合格	
- 呼吸	発熱3分間以内に発熱を認めず	合格	
- 浮腫	浮腫の量が1.5以下である	合格	
- 尿量	尿量減少は認められず	合格	
- 赤血球数/立方ミリメートル	減少は認められず	合格	
- 白血球数/立方ミリメートル	減少は認められず	合格	
- 血小板数/立方ミリメートル	減少は認められず	合格	
- 腎臓機能	異常は認められず	合格	

### CD4-0312の安全性試験(3)ウイルス否定試験結果

ウイルス否定試験項目「未加工/未精製バルクにおけるウイルス試験」の試験項目であるin vitro 試験を完了。医薬品管理329号の「ウイルス検出及び確認の為に指定される試験」に準じた。  
※試験委託先：「Charles River Laboratories」

ウイルス検査項目	試験項目	評価項目	結果	判定
レトロウイルス試験 ①電子顕微鏡検査 ②遺伝毒性試験 ③免疫学検査	①: 陽性 ②: ミンク細胞多量培養系を用いたELISA ③: XCプラークアッセイ	①: 電子顕微鏡によるウイルス様形 ②: 遺伝毒性試験結果 ③: 免疫学検査結果	①: ウイルス無し ②: 検出無し ③: 検出無し	合格
in vivo試験	両方	ヒト、マウスの臓器を用いたウイルスの検出	検出無し	合格
in vivo試験	両方	細菌・真菌・寄生虫等の感染試験結果	検出無し	合格
抗体産生(MAP)試験	両方	マウス由来の16種類のウイルスの存在 (ウイルス種は下記に種類追加) - Sendai virus - Pneumonia virus of mice - Mouse hepatitis virus - Murine cytomegalovirus - Murine herpesvirus 1 - Murine cytomegalovirus - Rabies virus - Herpesvirus type 1 - Rabies Pancreas Nonstructural Protein - Bovine herpesvirus of infant mice - Mouse scrapie virus - Epizootic hemorrhagic septicemia virus - Lymphocytic choriomeningitis virus - Mouse orthoreovirus - Murine thymic virus - Herpesvirus type 2 - Pseudotuberculosis virus - Canine distemper virus	検出無し	合格

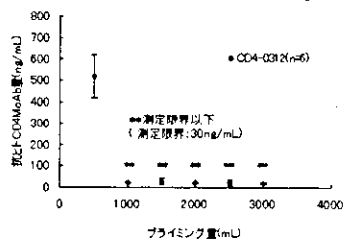
### CD4-0312の安全性試験(4)その他の試験結果

ウイルス検査項目	試験項目	評価項目	結果	判定
-	B2Aウイルス検出試験	子由来の9種類のウイルスの存在 - Infectious Bovine Rhinotracheitis Virus - Parainfluenza 3 - Bovine Viral Diarrhoea Virus non-cytopathic NY-1 strain - Bovine Adenovirus 3 - Bovine Parvovirus - Rabies Virus - Rabies Virus - Bluetongue Virus Type 17 - Bovine Respiratory Syncytial Virus	検出無し	合格
-	マイコプラズマ否定試験	マイコプラズマのコロニー形成試験	コロニー形成無し	合格

※試験委託先：「Charles River Laboratories」

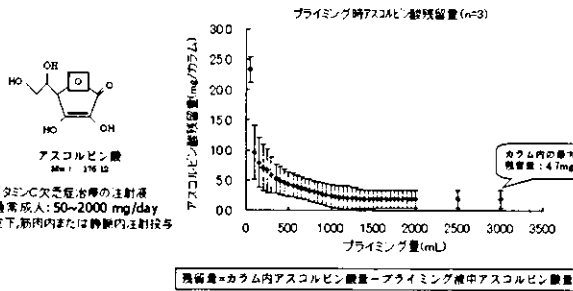
### プライミングにおける抗体流出量の測定

プライミング液: 6%ブドウ糖注射液1L + 生食2L  
プライミング量: 3L  
流速: 60mL/min  
抗体定量法: サンドイッチ法(検出限界30ng/mL)



●プライミング液中の抗体流出量は約0.31mg/カラム(固定量の4.2%)であった。  
しかし、1000mL以降は検出限界以下であった。

### アスコルビン酸の残留量測定結果



●プライミング後カラム内に残留するアスコルビン酸の量は、最大4.7mgと十分に許容できる範囲であることが確認できた。

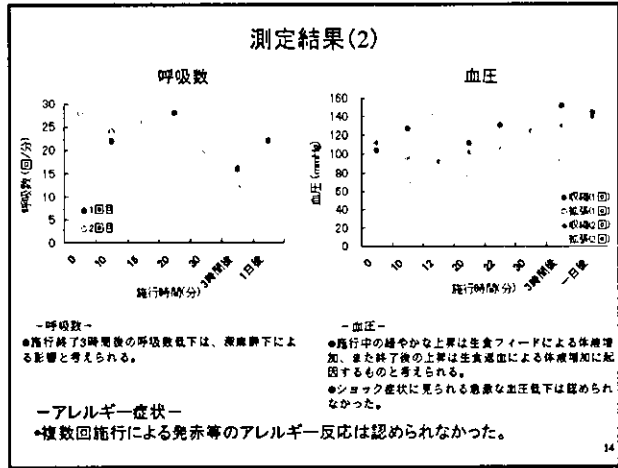
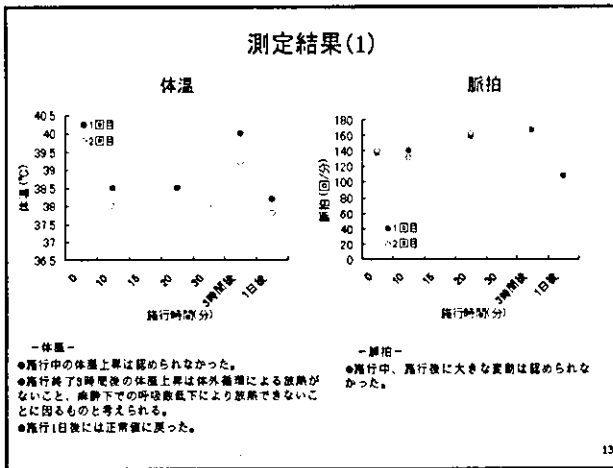
### 犬体外循環複数回施行での安全性確認

□ 施行条件

項目	条件	結果
施行日	2023.11.15	2023.11.15
動物	犬	犬
年齢	6歳	6歳
体重	15.2kg	15.2kg
性別	♂	♂
飼育内容	室内飼育	室内飼育
飼育期間	2023.11.15 - 2023.11.15	2023.11.15 - 2023.11.15
飼育場所	動物実験センター	動物実験センター
飼育者	〇〇〇	〇〇〇
飼育内容	動物実験センター	動物実験センター

測定項目:  
- 体温  
- 脈拍  
- 呼吸数  
- 血圧  
- 発熱等のアレルギー症状の観察

実験装置: 分子ヘリオン (フラグミン/キッセイ薬品工業) F32 8.5mL/min, CD4+ Cells Adsorption Filter, Dog (体重: 15.22 kg)



### 発熱性試験

□目的:ウサギ血漿にてCD4-0312の濾材を抽出し、抽出した血漿をウサギに投与して発熱しないことを確認する。

□試験方法:臨床品の濾材とウサギ血漿を接触抽出し、それをウサギ3羽(日本白色種)の耳静脈に10ml/kg投与し、1h毎に3hまで体温を測定する(第十四改正日本薬局方・発熱性物質試験法に準拠する)

□試験条件:抽出効率の高い血漿にて抽出した。(水系の約3倍)

濾材	CD4-0312
濾材量	3.5g
血漿量	50 mL*
抽出温度	37°C
抽出時間	15 min

\*抽出血漿を5羽全頭にて2回希釈した検体を用いる

□判定方法

- 検体につき3羽を用い、注射後の体温上昇が0.6°C以上の試験動物が無く、かつ3羽の合計体温上昇が1.4°C以下の場合陰性と判定する。
- 体温上昇0.6°C以上の試験動物が2羽以上の場合陽性と判定する。
- 体温上昇0.6°C以上の試験動物が1羽の場合追試験を行う。追試験では試験動物を5羽用い、体温上昇0.6°C以上の試験動物が2羽以上の場合陽性と判定する。

15

### 発熱性試験結果

検体	体温上昇(°C)			3羽合計(°C)	判定
	n=1	n=2	n=3		
血漿のみ (Blank)	0.24	0.45	0.33	1.02	陰性
CD4-0312 (精研品)	0.10	0.05	0.08	0.23	陰性

●CD4-0312濾材の血漿抽出液からの発熱性物質は認められず、安全であることを確認できた。

16

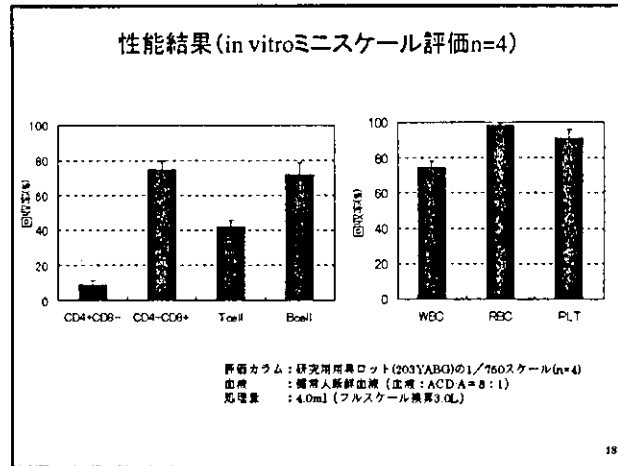
### In vitro 血液性能評価方法

**Syringe pump**

Blood : healthy donor blood  
 anti-coagulant : ACD-A  
 (Blood : ACD-A = 8 : 1)  
 Perfusion vol. : 4.0ml  
 Flow rate : Qb=1ml/min

CD4+ Cells adsorption column  
 column vol. : 1ml  
 adsorbent vol. : 12mg(1/750scale)

17



### 保存後の安全性試験(4°C×8ヶ月保存)

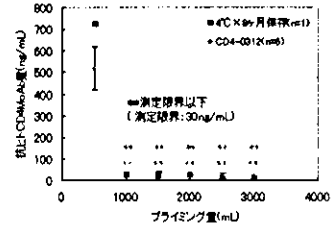
□製品安全性試験  
 生物学的安全性試験  
 試験ロット：臨床研究用ロット(203YARG)の4°C×8ヶ月保存品。

試験基準：「医療用具の生物学的安全性試験のガイドライン」に準じ実施した。

試験項目	基準	判定
発熱性試験	三度の体温上昇が0.5°C以上の発熱期間が長く、かつ三度の合計体温上昇が1.4°C以下	合格
耳毒性試験(注視性試験)	24時間後の上清液が透明である	合格
皮内反応試験	注射後24時間以内に発赤・腫脹を認め、局所に紅斑・浮腫・出血・壊死などを認めない	合格
急性毒性試験	注射後5日間観察で異常または死亡例を認めない	合格

### 保存後のプライミング液中抗体流出量の測定

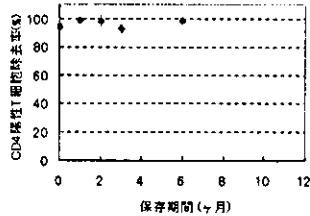
プライミング液：5%ブドウ糖注射液1L+主薬2L  
 プライミング量：5L  
 流速：50ml/min  
 抗体定量法：サンドイッチ法(検出限界30ng/mL)  
 カラム：臨床品カラム  
 保存ゼロ(n=0)、4°C×8ヶ月保存(n=1)



\*保存ゼロのプライミング液中の抗体総流出量は約0.31mg/カラム(4.2%)であり、4°C×8ヶ月保存では0.44mg/カラム(5.8%)であった。  
 \*保存に影響なく、1000mL以降は検出限界以下であった。

### 抗CD4モノクローナル抗体固定濾材の4°C保存後性能試験結果

実験条件  
 カラム：ミニカラム(1/750スケール)  
 血液：4.0ml(ACD-A:血液=1:8)  
 流速：1.0ml/min  
 n数：n=3



4°C×6ヶ月保存までCD4陽性T細胞除去性能が安定していることを確認できた。(継続実施中)

### まとめ

#### □安全性

- 濾材を充填したカラム(CD4-0312)は、医療用具のガイドライン及び吸着型血液浄化器基準を満たした。
- 原料抗体はウイルス否定試験によりウイルス混入の可能性を否定できた。
- プライミング液中のマウス抗ヒトCD4モノクローナル抗体流出量は、カラム当たり約0.31mgであった。この流出は、1Lのプライミング操作によって検出限界(30ng/mL)以下にまで下げることができた。
- プライミング後にカラムに残留するアスコルビン酸量は、最大4.7mg/カラムであり、十分許容できる範囲であることが確認できた。
- 大体外循環試験にて、ショック症状等は認められず複数回施行での安全性を確認できた。
- CD4-0312濾材の血液抽出液から発熱性物質は認められず安全であることを確認できた。

#### □性能

- 健康人ドナー末梢血を用いたin vitro評価において、CD4-0312のミニカラムがCD4陽性T細胞の選択的除去性能を有することを確認した。

#### □保存安定性

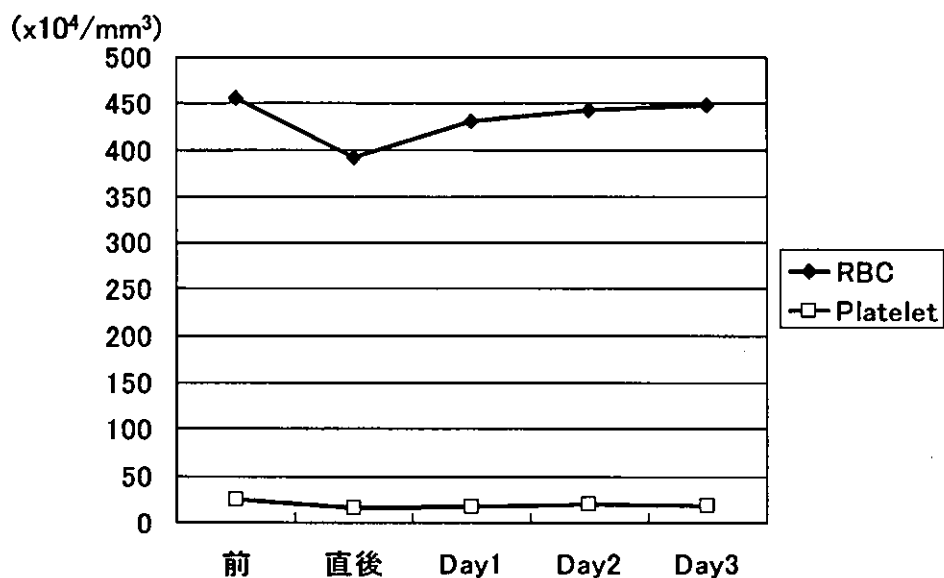
- 4°C×8ヶ月保存品においても医療用具のガイドライン(生物学的安全性試験)の基準を満たした。
- 4°C×8ヶ月保存品のプライミング液中のマウス抗ヒトCD4モノクローナル抗体流出量は、カラム当たり約0.44mgであった。この流出量は、1Lのプライミング操作によって検出限界(30ng/mL)以下にまで下げることができた。
- 4°C×6ヶ月までCD4陽性T細胞の除去性能が安定に維持されていた。
- 今後も保存品の安全性試験、性能試験を継続実施していく予定である。

## 資料 3

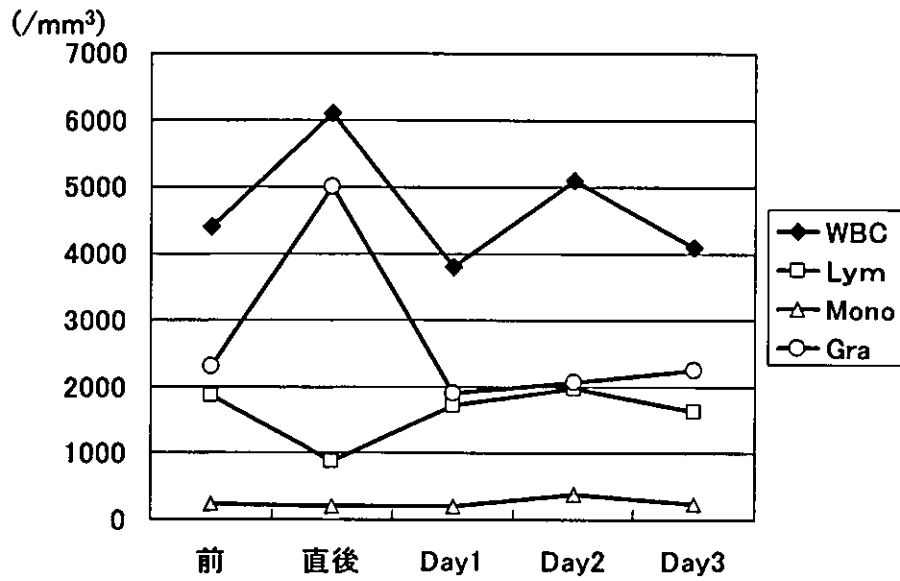
## 改良型CD4<sup>+</sup>T細胞吸着器による 健常人の体外循環試験

- 低分子ヘパリンを抗凝固剤とし、流速40-50ml/分で3Lを処理。
- 施行時の血圧低下、発熱などの有害事象なし。
- 施行前後で血液・生化学検査では白血球以外の異常変動は認められなかった。

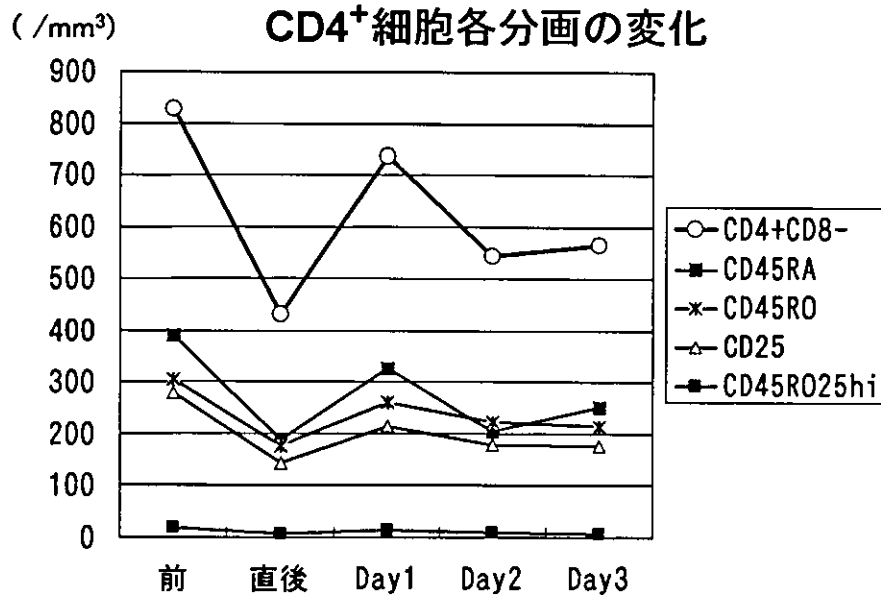
### CD4陽性T細胞除去療法時の血球成分の変化

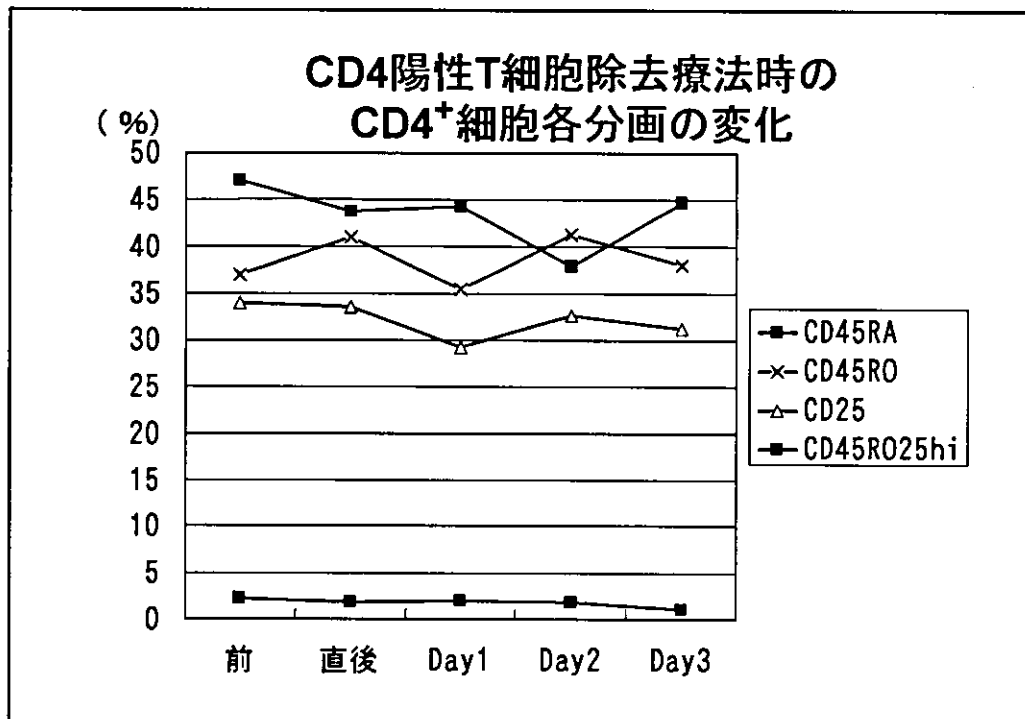


### CD4陽性T細胞除去療法時の血球成分の変化



### CD4陽性T細胞除去療法時の CD4<sup>+</sup>細胞各分画の変化





## 結 論

- 免疫性神経疾患の治療目的に選択的CD4<sup>+</sup>T細胞吸着器を開発し, その臨床応用を行った.
- 健常人の体外循環試験で, in vitroと結果と同様の性能を確認した.
- エンドトキシンによる有害事象を確認し, 治療器の改良を行い, 安全性を確認した.





## II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsuo H, Goto H, Kambara C, Fukudome T, Mizota T, Onodera H, Yoshida M, Shibuya N.	Selective adsorption of human CD4+ T cells.	Ther Apher Dial	8	194-196	2004

