

## 議場

赤川美絵、納富誠司郎、栗屋智就、加藤竹雄、依藤亨、中畑龍俊：乳児型 Pompe 病に対して rhGAA 療法を行った 1 例。第 21 回近畿小児科学会 3 月 16 日 大阪市 大阪国際会議場

浅田大、長田加寿子、深尾大輔、加藤格、松原央、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：生体肝移植後に発症した PTLD (Burkitt like lymphoma)。第 21 回近畿小児科学会 3 月 16 日 大阪市 大阪国際会議場

西小森隆太、齋藤潤、酒井秀政、河合朋樹、平家俊男、中畑龍俊：全身性自己炎症症候群の病態とマネージメント。第 52 回日本リウマチ学会総会 4 月 20-23 日 (23 日) 札幌市 ロイトン札幌

真部淳、土田昌宏、在家裕司、増永敦子、菅原幸子、吉見礼美、伊藤雅文、辻浩一郎、菊池陽、中畑龍俊：小児 MDS のセントラルレビュー：453 例の解析。第 111 回日本小児科学会学術集会 4 月 25-27 日 (26 日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

大封智雄、馬場志郎、長井静世、土井拓、岡本晋弥、依藤亨、加古伸雄、増江道哉、中畑龍俊：PET と選択的 Ca 負荷試験で病変部同定し、最小切除範囲で治癒した先天性高インスリン血症症例。第 111 回日本小児科学会学術集会 4 月 25-27 日 (26 日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

由井理洋、足立壮一、渡部基信、水嶋康浩、平海良美、松原央、渡邊健一郎、中畑龍俊：トポイソメラーゼ I 阻害剤による骨肉腫細胞株の転移抑制効果。第 111 回日本小児科学会学術集会 東京 4 月 25-27 日 (26 日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

栗屋智就、加藤竹雄、濱本奈央、梅田雄嗣、平松英文、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、重松陽介：骨髄非破壊的臍帯血により良好な経過を得ている副腎白質ジストロフィーの進行例。第 111 回日本小児科学会学術集会 4 月 25-27 日 (27 日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

瓜生久美子、梅田雄嗣、加藤格、徳外麻友、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：青年期に複数回の大量化学療法を施行した再発肺細胞腫 3 症例の検討。第 111 回日本小児科学会学術集会 4 月 25-27 日 (27 日) 東京都千代田区 東京国際フォーラム

馬場志郎、横尾憲孝、美馬隆宏、岩朝徹、鷄内伸二、平海良美、土井拓、上本伸二、中畑龍俊：重症門脈肺高血圧患者に対する肝移植適応について。第 44 回日本小児循環器学会 7 月 2-4 日 (2 日) 福島県郡山市 ホテルハマツ

平海良美、金井恵理、馬場志郎、鷄内伸二、岩朝徹、美馬隆宏、横尾憲孝、足立壮一、中畑龍俊：Doxorubicin による心筋ミトコンドリア障害と G-CSF の保護効果。第 44 回日本小児循環器学会 7 月 2-4 日 (4 日) 福島県郡山市 ホテルハマツ

丹羽明、梅田雄嗣、張璽、森嶋達也、栗屋智就、加藤格、沖田圭介、高橋和利、山中伸弥、平家俊男、中畑龍俊：iPS 細胞を用いた一次造血・二次造血の試験管内分化誘導。第 29 回日本炎症・再生医学会 7 月 10 日 東京都千代田区 都市センターホテル

上辻由里、足立壮一、渡部基信、松原央、水嶋康浩、平海良美、由井理洋、渡邊健一郎、黒田純也、芦原英司、木村晋也、前川平、中畑龍俊：新規 Bcr-Abl 阻害剤 INNO-406 による bcr-abl 陽性白血病細胞株に対する細胞死誘導。第 70 回日本血液学会 10 月 10-12 日 (10 日) 京都市 国立京都国際会館

丹羽明、梅田雄嗣、張璽、深津智樹、才田聡、栗屋智就、加藤格、森嶋達也、田中孝之、沖田圭介、高橋和利、中川誠人、山中伸弥、平家俊男、中畑龍俊：マウス iPS 細胞から試験管内造血誘導における、文化過程の経時的解析とヘマンジオブラストの同定。第 70 回日本血液学会 10 月 10-12 日 (11 日) 京都市 国立京都国際会館

松原央、足立壮一、加藤格、才田聡、森嶋達也、新里亜紀、梅田雄嗣、渡邊健一郎、中畑龍俊：シクロスポリン 3 時間点滴静注法と C3 モニタリングについて—小児臍帯血移植 10 例の検討—。第 70 回日本血液学会 10 月 10-12 日 (11 日) 京都市 国立京都国際会館

久保田優、中畑龍俊：小児慢性特発性血小板減少の病態。第 70 回日本血液学会 10 月 10-12 日 (12 日) 京都市 国立京都国際会館

森嶋達也、松原央、加藤格、才田聡、新里亜紀、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：小児血液悪性腫瘍患者におけるプロカルシトニンの臨床的意義。第 70 回日本血液学会 10 月 10-12 日 (12 日) 京都市 国立京都国際会館

由井理洋、足立壮一、伊藤和幸、吉岡潔子、高橋智聡、佐野和美、渡部基信、渡邊健一郎、中畑龍俊：トポイソメラーゼ阻害剤による骨肉腫肺転移抑制効果の検討。第 67 回日本癌学会学術総会 10 月 28-30 日(29 日) 名古屋市 名古屋国際会議場

平林真介、渡辺静、真部淳、土田昌宏、在家裕司、増永敦子、菅原幸子、吉見礼美、伊藤雅文、辻浩一郎、菊池陽、中畑龍俊：MDS センtralルビュー症例の解析。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(16 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

久保田優、市育代、中田理恵子、足立壮一、渡邊健一郎、松原央、中畑龍俊、樋口万緑、吉岡章：high-code MTX 投与後の葉酸代謝物質とセラミド、ビタミン E の血中動態。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(14 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

加藤格、松原央、浅田大、甲原貴子、長田加寿子、新里亜紀、才田聡、森嶋達也、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、米川幸秀、岡本晋弥、江川裕人、上本伸二：生体肝移植後 PTLD(post-transplant lymphoproliferative disorder) を発症した 4 症例。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(14 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

矢野潤、浅井康一、足立壮一、松原央、渡邊健一郎、中畑龍俊：生後 14 日で発症し 4 ヶ月で臍帯血移植を施行した家族性血球貪食性リンパ組織球症(FHL3) の一例。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(14 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

野村安隆、森嶋達也、足立壮一、新里亜紀、才田聡、梅田雄嗣、松原央、渡邊健一郎、中畑龍俊、石西綾美、松本雅則、藤村吉博：血栓性血小板減少性紫斑病に早期の血漿交換療法が有用であった一女性例。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(14 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

納富誠司郎、加藤格、足立壮一、大封智雄、新里亜紀、才田聡、森嶋達也、松原央、梅田雄嗣、渡邊健一郎、中畑龍俊：再移植後早期に血球貪食症候群(HPS) の再燃を認めた RI-CBT の 1 例。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(15 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

甲原貴子、松原央、森嶋達也、新里亜紀、才田聡、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、石川正昭、渡邊佳紀、平野滋、松尾幸憲：難聴で発症した上咽頭癌の 1 男児例。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(15 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

松浦ひろみ、中畑龍俊、足立壮一、渡邊健一郎、梅田雄嗣、松原央、伊藤良子：守る会助成課題 小児血液腫瘍疾患患者患児と心理的援助に関する研究。第 50 回日本小児血液学会・第 24 回日本小児がん学会 11 月 14-16 日(15 日) 千葉市 幕張メッセ国際会議場

Kawai T, Nishikomori R, Murata Y, Sakai H, Heike T, Nakahata T: A novel hypomorphic NEMO mutation caused atypical incontinentia pigmenti (IP) whose skins manifestations triggered by viral infections. 日本免疫学会総会 12 月 1-3 日(2 日) 京都市 国立京都国際会館

-セミナー、研究会、懇話会、地方会、フォーラム、班会議-

齋藤潤、西小森隆太、河合朋樹、酒井秀政、平家俊男、中畑龍俊、梅林宏明、虻川大樹、三浦克志、稲垣徹史：新規 CIAS1 変異を認めたモザイク型クリオピリン関連周期熱症候群の一例。第 1 回日本免疫不全症研究会 1 月 19 日 東京都千代田区 経団連会館

深尾大輔、梅田雄嗣、加藤格、瓜生久美子、徳舛麻友、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、水嶋康浩、片岡昭浩、若園吉裕：臍帯血幹細胞移植を施行した小児 Myeloid/NK cell precursor acute leukemia の一例。第 23 回近畿幹細胞移植懇話会 3 月 8 日 大阪市 ガーデンシティクラブ大阪ハービス PLAZA

加藤格、梅田雄嗣、瓜生久美子、徳舛麻友、松原央、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊：生体肝移植後再発した肝芽腫に対して自己末梢血管細胞移植を施行した小児 2 症例の検討。第 30 回近畿小児がん研究会 3 月 8 日 和歌山 和歌山県立医科大学

徳舛麻友、松原央、納富誠司郎、赤川美絵、瓜生久美子、加藤格、梅田雄嗣、渡邊健一郎、足立壮一、中畑龍俊、奥野啓介、上山潤一：脊柱管内に広範に浸潤し多発遠隔転移を認めた治療抵抗性 extrarenal malignant rhabdoid tumor の 1 乳児例。第 408 回日本小児科学会京都地方会 5 月 17 日 京都市

京都府立医科大学

野村安隆、森嶋達也、足立壮一、新里亜紀  
才田聡、梅田雄嗣、松原央、渡邊健一郎、中  
畑龍俊、石西綾美、松本雅則、藤村吉博：血  
栓性血小板減少性紫斑病に早期の血漿交換  
療法が有効であった一女兒例。第409回日本  
小児科学会京都地方会 9月13日 京都市  
京都府立医科大学

森嶋達也、足立壮一、才田聡、新里亜紀、松  
原央、渡邊健一郎、中畑龍俊、石西綾美、松  
本雅則、藤村吉博：血栓性血小板減少性紫斑  
病(TTP)に早期の血漿交換療法が有用であっ  
た一女兒例。第90回近畿血液学地方会 11  
月22日 神戸市 西山記念会館

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

特筆すべき事項なし

### Ⅲ. 平成 20 年度 分担研究報告書

---

分担研究報告書

1. *ex vivo* 増幅臍帯血移植の臨床研究

分担研究者：伊藤 仁也  
(先端医療センター 細胞管理室)

研究要旨

本研究班では「急性白血病に対する *Ex vivo* 増幅臍帯血移植の Phase I/II 試験」を 2007 年 4 月から開始した。骨髄移植後再発 AML (M3) 例に対し、*Ex vivo* 増幅臍帯血移植を行った。SCF+FL+TP0+IL-6/sIL-6R により 12 日間培養した結果、CD34 陽性細胞として 15.0x10<sup>5</sup>/kg という大量 CD34 陽性細胞を移植することができた。

(CD34 陽性細胞は 100.4 倍の増幅) Day16 に WBC>1000 となり、Day 19 の骨髄所見でも Complete chimera が得られ、多数の赤芽球や巨核球までもが出現していたが、結局その後、急激に拒絶された。レスキューのために行った、1st donor からの PBSCT においても早期に生着したが、臍帯血移植の時と同様敗血症を発症し、Day21 からは汎血球減少が進行した。拒絶時の骨髄にはレシピエントタイプの活性化 T 細胞が浸潤していたが臍帯血あるいは 2nd PBSCT のグラフトに対する特異的細胞傷害性 T 細胞ではなかった。臍帯血移植後 Day10 で *Streptococcus mitis*, 末梢血幹細胞後 Day10 には *Staphylococcus epidermidis* が検出され、その後 IL-6, IL-8, MCP-1 といった炎症性サイトカインが上昇し、拒絶に陥った。

骨髄非破壊性臍帯血移植においては、PIR(pre-engraftment immune reaction) は拒絶と関わっている可能性が高く、残存したレシピエント T 細胞が産生するサイトカインの関与が強く疑われた。また本症例では抗 HLA 抗体を移植前から保有しており、拒絶に関与したことは否定できない。これらの有害事象例の解析から *Ex vivo* 増幅臍帯血治療プロトコルにおいて、抗 HLA 抗体を有さない患者で骨髄破壊的レジメンにて前処置を行うよう変更した。

関を調べ、生着に必要な造血幹細胞の性質を明らかにすることである。

#### A：研究目的

本研究では、日本造血細胞移植学会の「造血幹細胞移植のガイドライン」に合致する患者で、骨髄移植および末梢血幹細胞移植において適切なドナーを得ることができない急性白血病を対象として、臍帯血の CD34 陽性細胞の一部を *ex vivo* 増幅して臍帯血移植を実施し、その安全性・効果を検討する。さらに、臍帯血内の CD34 陽性細胞および増幅培養した CD34 陽性細胞における輸注細胞数と生着率の相関を検討する。

#### B：研究方法

移植ガイドラインで移植適応のある難治性白血病患者 10 例で血縁者、骨髄バンクによる非血縁者ドナーが存在しない患者を対象とする。これらの患者のうち  $2.7 \times 10^7/\text{kg}$  以上で HLA が 2 座不一致以内の臍帯血が存在する患者を適格とする。移植前処置は、AraC+CY+TBI で骨髄破壊的治療を行う群と本年度から Flu+L-PAM+TBI で骨髄非破壊的治療を行う群を設けた。移植方法として Day0 に  $2 \times 10^7/\text{kg}$  の臍帯血をそのまま解凍して移植を行い、残った  $0.7 \times 10^7/\text{kg}$  以上の臍帯血を CD34 陽性細胞に分離し、SCF+FL+TPO+IL-6/sIL-6R で 12 日間培養し、品質管理試験に合格した増幅臍帯血を追加で移植する。主要エンドポイントは移植後 100 日までの有害事象の頻度、程度できちんと生着されるかどうかを評価する。副次評価項目としては生着日数、生着率、GVHD などの移植関連合併症の頻度、程度、移植後 100 日での造血能、免疫能、1 年生存率である。また探索的研究として増幅された臍帯血幹細胞の性質（表面抗原、コロニー形成能）と生着の相

#### C：結果

期間中に平成 18 年 4 月に臨床試験をオープンし、患者リクルートを開始した。平成 18 年度 12 月に適格基準に適合する患者がエントリーされ、試験を実施した。後述する拒絶のため、試験は脱落となり再移植を行った。このため、独立モニタリング委員会と先端医療センター再生医療審査会（倫理委員会）は、増幅臍帯血移植と拒絶の因果関係を検査等から調べるまで試験は中断と決定し、別紙の報告書を作成し、平成 20 年 8 月に試験を再開した。その後は 1 名のエントリー（MDS）があったが、移植前検査中に甲状腺癌が見つかり、適格基準から脱落した。

##### 症例報告

【患者】36 歳 女性 急性前骨髄性白血病 移植時 3rd CR

##### 【現病歴】

2003 年 10 月発症の急性前骨髄性白血病で ATRA を含む化学療法にて寛解が得られたが、2005 年 3 月に再発したため、2005 年 8 月 3 日に HLA 一座不一致の同胞（妹）より 2nd CR で同種骨髄移植を行った。移植後 aGVHD の出現もなく、その後無治療で経過していたが、2007 年 5 月に右股関節痛が出現し、生検の結果 APL の再発が確認された。その後骨髄においても細胞学的再発が確認された。ATO+Am80 にて再寛解が得られたが、移植後再発例であり、臍帯血移植の対象と考えられ、本臨床研究にエントリーされた。

##### 【臍帯血情報】

HLA: 2 座不一致

移植臍帯血細胞数:  $3.73 \times 10^7/\text{kg}$

移植 CD34 陽性細胞数:  $1.89 \times 10^5/\text{kg}$

細胞解凍時細胞生存率: 87.75%

#### 【Ex vivo 増幅培養臍帯血】

臍帯血移植 day0 に臍帯血を 37°C で急速解凍し、解凍時総細胞数 4.53E+07/kg のうち 3.75E+07/kg をそのまま day0 に移植し、0.78E+07/kg を増幅培養に用いた。12 日目培養を行い、有核細胞 8.5E+06/kg, CD34 陽性細胞 1.5E+06/kg (100.4 倍) CFU-GM 7.18E+05/kg (319.4 倍) であり、最終製品の %CD34 は 15.9% であった。

#### 【臨床経過】

移植前処置は Flu 25mg/m<sup>2</sup> 5 日間、L-PAM 70mg/m<sup>2</sup> 2 日間投与し、全身放射線照射 (2Gy) を施行した。移植に伴う合併症は前処置による regimen related toxicity である嘔気が持続した他は、特に認めなかったが、Day10 から 38.1 度の発熱を認め、血液培養で *Streptococcus mitis /oralis* が検出され、敗血症と診断した。day12 からは浮腫、体重増加が出現した。day12 に増幅臍帯血を輸注した。(有核細胞数 0.85x10<sup>7</sup>/kg, CD34 15.0x10<sup>5</sup>/kg) 輸注に伴う有害事象は特に認めなかった。day14 には、WBC 170/μl に上昇し、day16 には WBC 1020/μl に上昇したが、38.6 度の発熱、呼吸数の増加と SpO<sub>2</sub> が若干低下 (96~97%) を来したため、生着症候群と考え、利尿剤の投与および G-CSF を中止した。しかしその後も 38 度から 39.8 度の spike fever が day22 まで持続した。day19、の骨髓検査では有核細胞数 1 万/μl、で下図のような幼弱な顆粒球系細胞や赤芽球の集簇像、巨核球まで出現していた。骨髓キメリズム検査では 99% 以上の細胞がドナータイプであった。しかし、同日より血球減少が生じ day22 には WBC 300/μl となり再び骨髓検査を行ったところ有核細胞数は 4000/μl に減少し、単球、マクロファージの増生が目立

った。明らかな血球貪食像の増加は認めなかったが、骨髓キメリズム検査では 27% のレシピエント細胞が出現してきた。また LDH の上昇 (1076 IU/l) に加え、発熱の持続 (7 日間) があったため、移植後血球貪食症候群も鑑別にあげ、mPSL の投与を行ったが、day28 の骨髓検査で骨髓キメリズムは 100% レシピエントタイプとなり拒絶を確認した。この時点で study off として直ちに 1st donor からの末梢血幹細胞による再移植の準備を開始した。2<sup>nd</sup> SCT は 1st donor である妹より Flu 40mg/kg 5 日間の前処置後に有核細胞数 8.38x10<sup>8</sup>/kg, CD34 陽性細胞数 2.87x10<sup>6</sup>/kg を輸注した。Day1 に *Staphyrococcus epiderumidis* の敗血症を発症し発熱が持続したが Day10 には好中球 >500 となった。しかし、1 回目の臍帯血移植同様に全身の浮腫、CRP の上昇 (18.9mg/dl) SpO<sub>2</sub> の低下、GOT (1302IU/ml), GPT (2200IU/ml), LDH (4416IU/ml) の上昇が認められた後、day21 には再び白血球は減少し、<1000 となり、骨髓所見も低形成となった。その後ステロイドの投与、ガンマグロブリンの投与を行い、血球は回復した。

#### D: 考察

1 回目の臍帯血移植において拒絶に至った経過と 2 回目の Allo-PBSCT (患者にとってはこの時点では Auto-PBSCT とも解釈されるが) の経過、CRP などの動態は極めて類似しており、また血流感染症に続発した点においても類似しており、拒絶は増幅臍帯血移植に特有の現象ではないと考察される。そこで我々は患者保存血清を用いてサイトカインの網羅的解析、ウイルス学的解析、拒絶時に出現した T 細胞の解析、サイトカインで増幅した臍帯血のサイトカイン産生能試験を行い、拒絶との因果関係を調べた。

骨髄非破壊的前処置による臍帯血移植後の生着不全例の特徴について虎ノ門病院グループは、生着不全の一要因である hemophagocytic syndrome (HPS) 発症と移植後 day10 以降の IL-8, MCP-1 高値との相関、pre-engraftment immune reaction (PIR) 発症と移植後 day10 以降の IL-5, IL-8 高値との相関、さらには血流感染症と移植後 day10 以降の IL-6, IL-8 高値との相関を報告している。PIR は生着日 6 日以前に起こる allo-immunization に起因する一連の症候群であり、非感染性の発熱、皮疹、下痢、黄疸、体重増加等を呈する。また PIR (+) 群では生着不全が多いことも報告されている。

本症例では、臍帯血移植とその後の拒絶のレスキューで行った PBSCT において、ともに移植早期に敗血症の発症に引き続き、IL-6, MCP-1, IL-8 の上昇が認められ、その後、発熱、皮疹、浮腫といった非感染性の免疫反応 (PIR) を発症した。また骨髄非破壊的前処置を行って残存したレシピエント T 細胞はほとんど活性化した状態で、AICD (Activation induced cell death) も欠如しており、制御不十分な状態で、サイトカイン、ケモカインを過剰に産生したと考えられる。これらのサイトカインに刺激された活性化マクロファージ、活性化 T 細胞から TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカインが産生され造血幹細胞などはミトコンドリアが豊富で

細胞回転が速い細胞を Apoptosis に陥らせることが知られている。別の試験で ex vivo 増幅した臍帯血は、直接これらのサイトカインを産生していないことから Ex vivo 増幅臍帯血移植が原因とは考えにくく、敗血症に伴う高サイトカイン血症が引き金となり、Apoptosis 誘導性のサイトカイン、ケモカインが産生され、拒絶に至ったと考えた。

#### E: 健康危険情報

臨床研究にて拒絶症例が発生した。

別紙の有害事象報告を添付した。

#### F: 研究発表

伊藤 仁也: Ex vivo 増幅臍帯血移植 第 90 回血液学会地方会近畿血液学会 (2008.11.22)

伊藤 仁也: 造血幹細胞の ex vivo 増幅技術の開発と応用 第 8 回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム (2008.12.12)

伊藤 仁也: Ex vivo 増幅臍帯血移植を行った急性骨髄性白血病の 1 例 第 31 回日本造血細胞移植学会 (2009.2.6)

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



分担研究報告書

2. 新規培養法の効率、安全性の検証

分担研究者：伊藤 仁也  
（先端医療センター 細胞管理室）

研究要旨

本分担研究では、より効率で安全な培養法の確立を目的としてリコンビナントアルブミンを担体としたリボソームを用いた新規無血清培地ならびにホリレフィン系フッ化処理培養バッグ（NIPRO 社製）の開発を行ってきた。新規無血清培地と培養バッグを用いて現行の製造方法による製造試験を行った結果、総細胞数 1000 倍、CD34 陽性細胞数 100 倍と、現在使用している資材と比較して 2 倍以上の増幅効果が得られた。しかしながら新たな系では培養 7 日目以降に著しい *viability* の低下が認められた。

本年度は、これら新規資材を *ex vivo* 増幅臍帯血の実製造法に応用することを目的として、至適培養条件（培養日数、希釈回数等）の検討を行った。

検討は従来法の day4-7-10 に 2 倍希釈量の培地添加 (2\*2\*2) と、Day7 に 4 倍希釈量の培地添加 (2\*4\*2) の比較検討で行った。

結果、検討法は従来法の約 2 倍以上、総細胞の増幅に優れていた。しかし、10 日目以降 *Viability* は低下、また、CD34 陽性細胞、CFC は培養 9 日目をピークに増幅が抑制された。これらの結果から、12 日間の培養を行うのであれば、さらに培地の添加が必要であることが分かったが、培養を引き伸ばして必要な細胞の増幅が安定的に得られる確証は得られなかった。更なる培地添加を行えば Bag 数が増え作業が煩雑化し、コストも上がるなどのデメリットも考えられる。よって新規資材を用いた増幅培養では、より短い期間で従来法と同等以上の増幅を得られることから、新たな培養法は培養期間を 12 日間から 9 日間に短縮するという結論に至った。

これらの培養法の変更に伴い、培養手技及び品質管理試験の変更改定。よって、プロトコルの改定や新規培養法で増幅した臍帯血の安全性試験等が次年度の課題として挙げられる。

## A : 研究目的

治療用細胞製剤の製造を行うにあたっては、使用する原材料の安全性の担保は不可欠である。しかしながら、本邦では安全な細胞培養のための無血清培地や培養バッグが医療用具として認可されておらず、製造にあたっては海外の認可品を輸入し利用しているのが実状である。

本分担研究では *ex vivo* 増幅臍帯血の製造に関わる基盤整備として、ホリレフィン系フッ化処理培養バッグ (NIPRO 社製) と Serum Free 培地を開発した。昨年度の研究結果より、新規資材を組み合わせた培養では、総細胞数は 1000 倍、CD34 陽性細胞数では 100 倍の増幅が得られることが分かった。

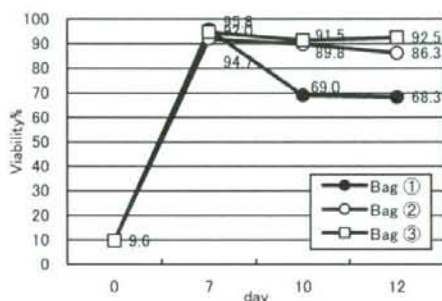


図1: Viability %

しかし、増幅率の向上に伴い、Viability は低下、68%となり規格値を大きく下回る結果であった。これは新規資材が従来の培養法に適しておらず、過密培養になっていることが原因として考えられた。よって、Ex Vivo 増幅臍帯血の製造における新規資材を用いた培養法の確立を目的として本研究を行った。

## B : 研究方法

培養は Ex Vivo 増幅臍帯血の製造と同様に臍帯血由来 CD34 陽性細胞を 5 種のサイトカイン SCF, TPO, FL, IL-6, sIL-6 を用いて増幅培養した。

	従来法		検討	
	希釈	液量(ml)	希釈	液量(ml)
Day 0	-	15	-	15
Day 4	2	30	2	30
Day 7	2	60	4	120
Day 9			(Final)	(120)
Day 10	2	120	2	240
Day 12	Final	120	Final	240

表1: 培養日程と検討

### 検討項目① Viability の安定化

前回結果では、培養 7 日目以降に Viability は低下傾向を示したので、7 日目の希釈を 4 倍にした。

### 検討項目② 培養期間の短縮

新規資材による培養で、従来と同等の増幅が得られるのが、9 日目にあたるので培養期間の短縮を想定し、カウントを行った。また、引き続き 12 日間の増幅培養も行いその差を比較した。

臍帯血は CB830 と CB831 の 2 ロットを用いた。

## C : 結果

培養 12 日目における、臍帯血 2 ロット平均の総細胞の増幅は従来法 (従) で 850 倍、検討法 (新) では 2200 倍であった。従来法では培養 9 日目をピークに増幅が得られなくなった。

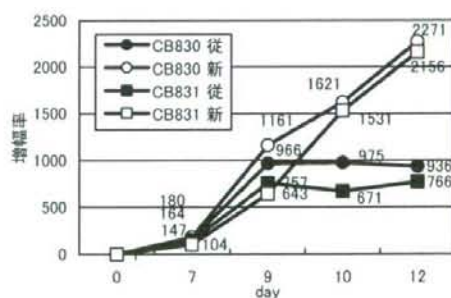


図2: 有核細胞増幅率

CD34 陽性細胞は従来法で 89 倍、検討法で 96 倍であった。従来法と検討法の増幅率に大きな差はなかった。全体的に 9-10 日に増幅が抑制される傾向にあった。また検討法においても CB830 は 12 日目に減少傾向を示した。

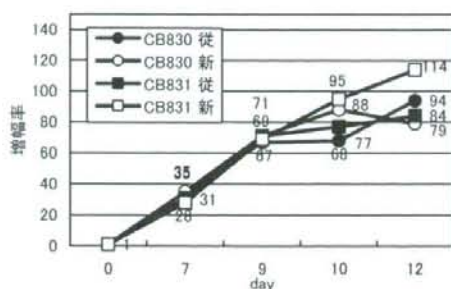


図3:CD34 陽性細胞増幅率

Viability は培養 9 日目以降、全体的に減少傾向を示した。しかし、検討法が 82.3% であるのに対し、従来法は 57.9% と大きく下回った。

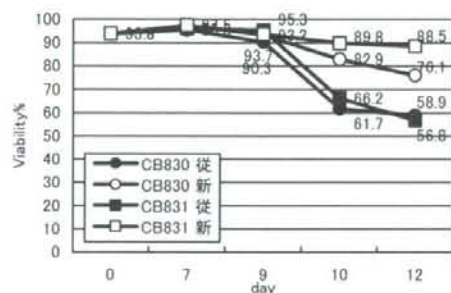


図4: Viability%

Colony 形成細胞 (CFC) は全体が 10 日目に減少傾向を示し、検討法のみ 12 日目に回復傾向を示した。9 日目のピーク時には従来法で 167 倍、検討法で 163 倍と大きな差は認められなかった。

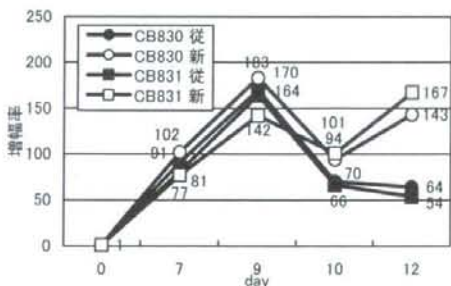


図5:CFC 増幅率

以上の結果から、培養 7 日目に希釈を増やした

検討法の方が増幅効率に関しては優れていた。しかし、12 日間の培養期間であれば、さらに培地の添加が必要であることが分かった。

#### D: 考察

本研究結果より、新資材を用いた培養には、7 日目の 4 倍希釈が増幅効率の向上に有効であった。しかし、培養期間を 12 日間で行う場合には、Viability や増幅を維持するために、さらなる培地の添加が必要であり、結果、バッグ数が増え作業は煩雑になり、コストも高くなる。また、培養期間が長い程、必要な細胞の増幅効果が得られるという確証はなく、より安定的に増幅臍帯血を製造するには培養期間を短縮することが望ましいと考えられる。よって、本検討結果から培養 9 日目を Final と決定した。これらの変更に伴い、製造工程及び品質管理試験の変更も必要になる。また、プロトコル及び標準作業手順書の改定や新培養法で増幅した臍帯血の安全性試験等が次年度の課題として挙げられる。

#### F: 健康危険情報

特筆すべき事項なし

#### G: 研究発表

##### 1. 論文発表

特になし

##### 2. 学会発表

特になし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特開 2005-204539

「造血幹細胞および造血前駆細胞の培養方法」

分担研究報告書

3. フェーズ1 GMP に準拠した細胞プロセッシング

1-2 アカデミアにおける細胞治療に関する  
トランスレーショナルリサーチの実現に向けて

分担研究者：前川 平

（京都大学輸血細胞治療部 教授）

研究要旨

臨床試験や治験において被験者の安全性を保証することは最も重要なことである。研究成果を臨床の現場に還元し、細胞を用いた新しい治療法を広く国民に提供して行くには、先端医療開発の推進力を高めるとともに、開発の初期段階では安全性を確保しながら柔軟な規制の下で研究開発を支援していく環境の整備が不可欠である。開発段階に応じた GMP (Good Manufacturing Practice)、いわゆる phase 1 GMP(われわれが提唱してきた、細胞治療用に特化した institutional GMP (iGMP)と同様の概念)を考慮することも必要となってくる。

実際、2006年1月に米国 FDA から”Guidance for Industry. INDs - approaches to Complying with CGMP During Phase 1”として、開発初期段階の治療法開発に必要な GMP に関するガイドラインの草案が示された。その後、紆余曲折はあったものの、2008年7月に”Guidance for Industry. CGMP Phase 1 Investigational Drugs”として最終版が発表された。われわれはこれをもとに大学や研究所における開発初期段階におけるトランスレーショナルリサーチに必要な規制はどのようにあるべきかを検討した。

その結果、phase 1 における規制と phase 2 および 3 における規制は、stepwise approach に応じ、安全性を担保すると同時に、リスクとベネフィットの考え方を導入した細胞治療や再生治療に特化したフレキシブルなものであるべきとの結論に達した。

## A. 研究目的

細胞治療とは、輸血、造血幹細胞移植、細胞免疫療法などのヒト細胞を輸注、移植することにより行う治療法の総称である。再生治療や遺伝子治療の多くも、幹細胞を増幅させたり、分化させ機能を強化したりといった加工を受けた細胞を疾病の治療に用いようとするものである。この意味で、多くの再生治療や遺伝子治療は細胞治療として包括される。

細胞治療はあたらしい医療技術として、従来治療が困難であった疾病に対する革新的な医療技術として大いに期待されているが、その実現に向けて、細胞や組織の評価と安全性の確保が喫緊の課題である。わが国における一般的な医薬品や医療機器を開発するためには、薬事法に従い医薬品医療機器総合機構（Pharmaceutical and Medical Devices Agency: PMDA）へ治験計画を事前に届け出て承認を受けて実施しなければならない。しかし、細胞治療にもちいるヒト由来の組織や細胞は一般的な医薬品とは異なる特性を持つため、再生医療や細胞治療にもちいる細胞の特殊性を理解して種々の規制を柔軟に適応させる必要がある。

本研究では、下記に述べるように、2008年7月に米国FDAから最終発表された「産業界のためのガイダンスー第1相研究新薬のためのCGMP(Guidance for Industry – CGMP for Phase 1 Investigational Drugs)」(以下、Phase 1 GMPガイダンス)に基づいて米国FDAの提唱する開発初期

段階に応じたCGMP準拠のアプローチの概要を解説するとともに、わが国の薬事法などの規制の現状を考慮し、われわれの考え方も適宜折り込みながら、米国とわが国のシステムの差を勘案しながら述べてみたい。したがって、上記のガイダンス原文の内容と異なるわれわれ独自の見解も含まれていることをご理解いただきたい。なお、Phase 1 GMPガイダンス(最終版)の原文、あるいはわれわれが邦訳したものを参照して頂ければ幸いである<sup>1</sup>。

## B. 研究方法

分担研究者が、平成8年より取り組んできた細胞治療、遺伝子治療、再生治療などを開発する探索的臨床試験研究(トランスレーショナル・リサーチ)のインフラストラクチャーの構築に関する多くの経験をもとに、産官学の研究者やエンジニア、さらに海外の研究者との議論をまとめるかたちで研究を遂行した。また、細胞プロセッシングセンターである京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部に隣接して設置された分子細胞治療センター(Center for Cell and Molecular Therapy)での経験をもとに、京都大学探索医療センター、大阪大学未来医療センター、および神戸先端医療センターとの共同作業を通じて、わが国における先端医療開発、とくに先端的細胞治療や再生治療を進める

<sup>1</sup> 西川昭子、村山教典、前川平:産業界のためのガイダンスー第1相研究新薬のためのCGMP(Guidance for Industry – CGMP for Phase 1 Investigational Drugs)、臨床評価(印刷中、2009)

うえに必要なインフラストラクチャーとはどのようなものであるかについて、とくに安全性や品質評価の観点から検討を行った。

## C. 研究結果

### 1. 米国の状況

米国において、第 I 相臨床試験で使用する薬物や生物製剤を製造する場合には、連邦食品医薬品化粧品法 (Food, Drug, and Cosmetic Act : FDCA) で要求される CGMP (current good manufacturing practice, 製造に関する基準) に従わなければならないとされてきた。第 I 相試験に用いるための臨床研究新薬 (治験薬)

(Investigational New Drug : IND) の製造に対する規制は、被験者の安全性を保証することを主たる目的としている。さらに、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) は、CGMP にかかわる品質管理原則を臨床試験でもちいる新薬の製造に適用することで、あたらしい治療法の開発が促進されるとともに、被験者保護につながると考えている。しかし米国でも、大学やベンチャー企業で行われている探索的臨床試験研究 (トランスレーショナル・リサーチ、TR) にもちいる研究用 IND<sup>2</sup> の製造に、市販されている医薬品と同様の規制をかけていたのでは開発のスピードが上がらないことが懸念されるようになった。このような

<sup>2</sup> 本報告書では探索的な臨床試験 (TR) にもちいる臨床研究新薬 (治験薬) を研究用 IND と呼び、化合物のみでなく細胞を含むものとする。なお、とくに治療用ヒト細胞のことに特化した記述の必要がある場合には、研究

かで米国 FDA は、2006 年 1 月に FDCA で要求されている CGMP に従った第 I 相臨床試験のための薬品や生物製剤の製造を支援することを目的としたあたらしいガイダンス「INDs - Approaches to Complying with CGMP During Phase I」の草案を公表した。本ガイダンスは 2008 年 7 月に最終化され「Guidance for Industry - CGMP for Phase I Investigational Drugs」として公表された。

### 2. FDA の提唱する Phase I GMP の概要

#### 1) 適用範囲

Phase I GMP ガイダンスは次のような研究に適用される。すなわち、第 I 相臨床試験としてヒトに使用する研究用 IND や生物由来製剤 (プラセボとして投与される薬剤も含む)、例えば、探索段階の組換え型または非組換え型治療用製品、ワクチン製剤、アレルギー製剤、生体内診断薬、血漿製剤、血液や血液成分、遺伝子療法製剤、体細胞療法剤 (異種移植製剤を含む) などである。しかしながら、Phase I GMP ガイダンスは以下のものには適用されないとしている。

- ・ 公衆保健サービス法 (PHS Act) 361 項でのみ規制されるヒト由来の細胞や組織の製剤<sup>3</sup>
- ・ FDCA における医療機器承認規定の対象となる製品に対する臨床試験

用 IND (細胞) とした。

<sup>3</sup> いわゆる "minimally manipulated" とされる。通常の治療法としてすでに確立している骨髄移植や末梢血幹細胞に用いる細胞などのことを指すと考えられる。

- ・ 第Ⅱ相および第Ⅲ相臨床試験のために製造された研究用 IND
- ・ 既に第Ⅰ相臨床試験における使用が承認された製剤（例えば、それを新たな適応のために使用する場合など）<sup>4</sup>

## 2) 法令準拠のための提言

Phase 1 GMP ガイダンスは、IND の第Ⅰ相臨床試験を行うスポンサーと製造者が CGMP の要件に準拠するためにどのような方法をとるべきかについて述べている。製品開発の過程での研究用 IND の品質や安全性は、適切な品質管理が有効に行われることによってある程度維持される。また、確立あるいは標準化された手順を用いることで、その後続く第Ⅱ相、第Ⅲ相の臨床試験において必要とされる治験用製品と同等、またはそれに匹敵する研究用 IND の製造が促されることになる。以下の要件を満たせば、おおむね第Ⅰ相臨床試験における品質管理手順を遵守することができると考えられる。

- ・ 明確に文書化された手順書 (Standards Operating Procedure: SOP)
- ・ 適切に管理された施設
- ・ 検査または製造過程で得られた正確かつ一貫して記録されたデータ

製造者は、この3点以外に、Phase 1

<sup>4</sup> IND の適応外使用とでも言うべきものと考えられる。

GMP ガイダンスで述べられている目標に見合った代替案を提案することもできる<sup>5</sup>。IND が安全性、均一性、強さ、品質、純度の基準に見合ったものであることを保証するためには、スポンサーや製造業者が責任をもって、適切な方法を定め、設備を準備し、管理運用する必要がある。研究用 IND の製造者は、特定の製品・製造業務に対する CGMP に適合した基準、教育訓練、作業手順の実施を保証する最適な方法を慎重に検討しなければならない。

## 3) Phase 1 GMP ガイダンスとわが国の治験薬 GMP に基づく規定との関係

Phase 1 GMP ガイダンスをわが国の現状と比較すればどのようなようになるであろうか。Phase 1 GMP ガイダンスにおける研究用 IND の製造も、TR が主に行われる大学などの事情、TR の開発段階に伴う stepwise approach の必要性を考慮したものはあるが、わが国の現状に演繹して考えた場合、治験薬 GMP にできるだけ準拠することを要求しているのと同様になるであろう。実際、平成 18 年 9 月から施行された「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」では、細胞の調整は治験薬 GMP に準拠することが要求されている<sup>6</sup>。

しかし、研究用 IND(細胞)は通常の錠剤

<sup>5</sup> 製造者と FDA の間で行われるこのような議論(コミュニケーション)が、TR における CGMP の適応を柔軟なものにしていると思われる。

<sup>6</sup> 前川 平:先端医療開発に必要な GMP 準拠細胞プロセッシング-Institutional GMP 構築の必要性-、臨床血

とは異なる細胞プロセッシングと言う操作を必要とする。すなわち、錠剤などに適応される従来の治験薬 GMP をそのまま研究用 IND (細胞) に適応することは困難である。この議論に関連して、われわれは細胞治療用に特化した institutional GMP(iGMP)の必要性を提唱してきた<sup>7</sup>。表1にわが国における治験薬 GMP、医薬品 GMP、それに iGMP の相違点をまとめたが、iGMP の概念は、細胞プロセッシングの特殊性、TR が主に行われる大学などの事情、それに TR の開発段階に伴う stepwise approach の必要性を考慮したものではあるが、基本的に iGMP は治験薬 GMP と同様であり、「研究用 IND (細胞) に特化した治験薬 GMP」、すなわち「治験薬 GMP の細胞版」と言う位置づけである。

治験薬 GMP の目的は、① 治験薬の品質の均一性を保証することで臨床試験の信頼性を確保すること、② 治験薬と市販後製品の同一性を保証することで製品の有効性と安全性を確保すること、③ 治験薬の品質を確保することで不良な治験薬から被験者を保護することにある。治験薬 GMP のハードの基準は、医薬品 GMP

液、45: 32-38, 2004.

<sup>7</sup> Maekawa T.: Current good manufacturing practices (cGMP) controlled cell processing for the development of novel advanced cell and gene therapy. Education program book pp.43-48, 2003. The 65<sup>th</sup> Annual meeting of Japanese Society of Hematology and The 45<sup>th</sup> Annual meeting of Japanese Society of Clinical Hematology./ Maekawa T, Kimura S, Kasai Y.: Development of novel advanced cell and gene therapy and GMP-controlled cell processing. JMAJ, 48(2):1-4, 2005.

に比べ、一部の設備については要求事項が緩和されている。これは医薬品と異なり、治験薬の製造においては、製造ロット数が少ないことや、治験の進行に伴い製造施設や設備が異なっていくことに対する配慮がなされているためである<sup>7</sup>。すなわち、米国 FDA の Phase 1 GMP ガイダンスで提唱されている研究用 IND に関する“stepwise approach”の考え方を、わが国の治験薬 GMP では、概念的にはあるが、すでにとっていると言えよう。この意味で、Phase 1 GMP ガイダンスにわが国の規制の枠組みを当てはめて考えれば、研究用 IND は治験薬 GMP に可及的準拠して製造することが望まれるわけである。

わが国においては、細胞治療や再生治療法に関する TR の場合、健康保険収載までを視野に入れた治療法としての確立を薬事法の枠内で目指す必要がある。すなわち、細胞プロセッシングの特殊性を十分理解した上で、治験薬 GMP の「運用」のなかで解決されるべきである。厚生労働省や総合機構 (PMDA) も錠剤などの製造と細胞プロセッシングは異なるものであることを十分認識しているし、如何にして TR としての在り方を、薬事法と言う現行の法律の枠組みのなかで構築し、推進

<sup>7</sup> 平成9年5月20日付薬監第73号厚生省薬務局監視指導課長通知「治験薬の製造管理及び品質管理基準」及び「治験薬の製造施設の構造設備基準(治験薬 GMP)」の運用について」([http://www.whoirei.mhlw.go.jp/cgi-bin/t\\_docframe.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=CONTENT&SMODE=NORMAL&KEYWORD=&EFSNO=3210](http://www.whoirei.mhlw.go.jp/cgi-bin/t_docframe.cgi?MODE=tsuchi&DMODE=CONTENT&SMODE=NORMAL&KEYWORD=&EFSNO=3210))



させて行くのが今後の大きな課題である。

### 3. Phase I GMP ガイダンスの考え方をどのようにしてCGMPに適合させるか

多くの技術や既存のものを有効に組み合わせればCGMPに適合させることが容易になり、また製品開発を合理的に行うことができる。例えば、

- ・ ディスポーザブルの設備や製造補助装置を使用すれば、清掃の負担を軽減できる。
- ・ 包装済みの注射用蒸留水や滅菌済み容器を使うことで、既存品を最適化するための付加的な設備や手順を省略できる。
- ・ 調整過程で製品が環境に暴露されない閉鎖系の設備を使うことで、作業室の空気清浄度を緩和できる。
- ・ 治験薬の製造を委託したり、その製品の試験検査を共有の施設や検査室を利用して行う。

などである。

「院内製剤」という概念のもとに、わが国においては、研究用INDの製造だけを目的として特別に設計されていない実験施設などで製造する場合も現時点ではあると考えられる。しかし、Phase I GMP ガイダンスでは、このような場合、「研究用INDの品質に悪影響を与える可能性のある製造環境が持つリスクに関してスポンサーと製造者は十分に検討を加えなければならない」としている。すなわち、

大学などで製造される研究用INDも、原則的にCGMPに準拠することを求めているわけである。

以下にあげる内容について、Phase I GMP ガイダンスでは、製造者が特定の状況や用途に適した管理を導入できるように柔軟性をもたせている。

#### 1) 技術職員

わが国では、研究用INDは製薬企業、ベンチャー企業、あるいは大学や研究所などの内部の施設において製造されていると思われる。企業はもちろんのこと、大学や研究所において、研究用INDの製造にかかわるすべての技術職員または従業員、あるいは研究者は、職務を遂行するため十分な教育訓練を受け、品質管理の原則やCGMPでの法的な要求事項を理解していなければならない。

#### 2) 品質管理

CGMPに促せば、すべての製造者がそれぞれ独自の品質管理(Quality Control: QC)計画を確立し、その計画を文書化する必要がある。例えば、QC計画には以下にあげる事項が含まれていなければならない。

- ・ 製品生産中に使用される様々な構成材(容器、密閉容器、中間材料、包装素材、ラベル等)が、定められた品質基準に適合することを保証する文書(分析証明書、Certificate of Analysis: COAなど)の確認

- ・ 製造手順、検査手順、承認基準の評価と承認に関する文書を作成し、実行させる責任の所在
- ・ 臨床用の各ロットに対する完全な製造記録やその他の関連情報（逸脱記録、試験・検査記録、承認基準に基づいた判定結果など）の累積評価に基づいた出荷の合否判定に必要な文書の作成と、その判定に対する責任の所在
- ・ 製造中に予期せぬ結果や過失が生じた場合の調査と、是正処置の開始に必要な文書の作成と報告を遵守する責任の所在

また、QC 責任と製造責任とは当然独立して実施されねばならない。すでに承認され市販されている医薬品の場合、製造に関する試験検査などの業務は通常専任の品質管理担当者によって行われている。しかし、大学などで研究用 IND を製造する場合、組織の規模や構造によっては、限られた状況下で、すべての品質管理業務が同一の人物によって行われている可能性もある。また、ベンチャー企業や大学内の施設などでは、製造作業と各ロットに対する出荷の合否判定を含めた品質管理が同一人物によってなされるといったことも行わざるを得ない場合があると考えられる。このような状況下であっても、QC 責任と製造責任を独立させるために、製造業務に関わらない別の人物が製造記録の付加的、定期的な評価を行う品質管理者として権限を与えられるべきである。

### 3) 設備および装置

第 I 相臨床試験に用いられる研究用 IND を製造するために使用される施設はすべて、たとえそれが大学や研究所における施設（研究室）であっても、以下にあげるような目的の作業に適した作業場所と設備を有するべきである。

- ・ 十分なスペース、清潔な環境（クリーンルーム）、適切な建造物
- ・ 適切な照明、換気、冷暖房設備
- ・ 適切な配管、洗浄、衛生設備
- ・ 汚染、交差汚染を防止するための適切な空気処理システム（層流式フード等）
- ・ 製品を汚染させず、製品に対する反応性、付着性、吸収性を持たず、正しく保管され、後述する手順に従い定期的に校正、清掃、衛生管理された設備

個々の工程で使用される設備はすべて特定し、製造記録に記録を残すことが推奨される。また、無菌処理を伴う研究用 IND（細胞）については、後述する「無菌製品および無菌処理製剤」に従うことが推奨される。適切な施設において手順を管理することが、製品汚染や交差汚染、取り違えを防止するのに役立つ。

### 4) 成分材料の管理

研究用 IND の製造段階で使用される成分材料の取扱い、評価、承認や管理に関して手順書(SOP)を作成することが推奨される。成分材料は、検査や試験が終了

して製品製造のために出荷承認されるまでは他の材料から隔離しラベル表示などを行い保管管理されなければならない。また、成分材料の品質劣化や汚染防止のために個々の特性に則した基準を設け、保管や取り扱うことが重要である。すべての成分材料の関連情報を含む記録を残すことも必要であり、記録として残しておくべき事項としては、納品日、出荷用量、供給者の名前、成分材料のロット番号、研究用 IND のロット番号、保管状態、使用期限などがあげられる。

成分材料がその属性について設けられた承認基準に適合していることを保証するために、成分材料のロット毎の分析証明書 (COA) またはその他の証明書を入手して確認することが推奨される。ヒト由来や動物由来など特定の原材料に対する証明書には、それらの供給元に関する情報あるいは感染症に関する検査結果が含まれるべきである。構成成分に対する証明書が不十分である場合には、不十分であった内容に関して検査することが望ましい。

#### 5) 製造と文書化

研究用 IND の製造は、以下の条項を含む製造手順書(SOP)に従って行うべきである。

- 検査結果の記録や使用される成分材料、器具、操作手順などについての詳細な製造記録を保管する。スポンサーは製造工程を忠実に再現するために必要な手順をすべて文書化し、この書類を保管管理す

る。また、研究用 IND の製造が中断された場合には製造中断の理由を記載した記録書を残す。

- 製造が中断された場合には、適用した処理手順の記録を残す。また、製造行程の変更が必要な場合には、変更に関するすべての論理的根拠と変更記録を残す。
- Phase I GMP ガイダンスの対象となる無菌処理の必要な研究用 IND (細胞) の製造に適応される文書化された手順と微生物学的管理記録を保管管理する。無菌操作の技術と、微生物やエンドトキシンなどによる汚染の防止を目的とした中間材料の管理を行う。

#### 6) 検査室での管理

##### i) 検査

製造工程の途中で行われる検査は一定の条件で管理され、文書化された検査手順書に従って実施されることが推奨される。研究用 IND の均一性、強度、効力、純度、品質などといった属性を評価する検査が適切に実施されなければならない。既に知られている安全性に関する事項については、個々の製品がそれに適合していることを確認する。しかし、製品によっては製品開発のこの段階においては適切な承認基準がすべて満たされるとは限らないが、その内容は研究用 IND 申請時に審査されることになる。

検査室で使用される測定機器は検査結果の信頼性を確保するため、常に適切な

間隔で校正を実施する必要がある、文書化された手順に従って管理されるべきである（機器のバリデーションの必要性）。作業者が試料の分析や設備の適合性などの検査を行う際には、検査装置の稼働状態が正常であることを事前に確認する。

さらに製造ロット毎の代表サンプルを保管管理する際には、可能であれば出荷検査を行うのに必要な量の2倍量のサンプルを保存する。サンプルは臨床試験終了後またはIND申請取り下げ後、少なくとも2年間は適切に保管されるべきである。

#### ii) 安定性

スポンサーは、臨床試験の期間中に製品の安定性と品質を監視するために、研究用INDの代表サンプルを使って安定性の検査を開始することが推奨される。

#### iii) 梱包とラベル添付

Phase I GMPガイドランスの対象となる研究用INDが保管中、あるいは出荷される場合、保管、取扱い、輸送の間に変性、汚染、損傷がないよう適切に梱包しなければならない。また、取り違いを防ぐためにラベルの添付と保管作業の整備が推奨される。

#### 7) 配給

第I相臨床試験に関する限り、「配給」という言葉は、Phase I GMPガイドランスの対象となる試験段階の新製品（研究用IND）が臨床研究者（医師）に、そして最

終的には、その研究に登録されている被験者に投与されるまでを含んでいる。製品の品質を保証するために、製品はラベルに表示された保管条件に従って扱われるべきである。Phase I GMPガイドランスの対象となるロット毎の研究用IND配給記録により、追跡調査ができ、必要に応じて製品の回収を容易にとなるので、正確に記録されなければならない。

#### 8) 記録保管

スポンサーは以下の要項を含む品質と製造工程での作業に関する完全な記録を保管すること。

- ・ 設備・機器の保守点検および校正記録
- ・ 製造記録および関連する分析検査の結果
- ・ 配給記録
- ・ すべての品質管理項目
- ・ 成分材料の記録

IND規則の下では、医薬品として承認され、新薬申請書（New Drug Application: NDA）が受理された後少なくとも2年間、あるいはNDAとして承認されなくても、臨床試験に使用するための研究用INDの出荷および配給が中止され、FDAにその旨が報告されてから2年間、スポンサーは記録を保管しなければならない。

#### 9) 特殊な製造状況

- i) 複数の研究用IND製造に使用される（多種類の研究用INDを製造する）施設  
ある製品が生産される区域や作業室は