

特定細胞加工物概要書

再生医療等名称：NK細胞を用いたがん治療および再発予防免疫療法

再生医療等提供計画申請者：医療機関名 ソラリアクリニック東京

管理者名 古賀 祥嗣

提出年月日：2024年10月01日

№	項目及び内容	
1. 特定細胞加工物を使用する再生医療等に関する事項		
(ア)	再生医療等の名称	NK細胞を用いたがん治療および再発予防免疫療法
(イ)	再生医療等提供機関	名称) ソラリアクリニック東京 所在地) 〒104-0061 東京都中央区銀座 1-5-8 GINZA WILLOW AVENUEBLDG. 5階 連絡先) TEL : 03-5524-1850
(ウ)	再生医療等を行う医師等	古賀祥嗣 医師
(エ)	再生医療等の概要	
	内容	1980年代初めに米国 NCI の S.A.Rosenberg 博士らが開発した LAK (lymphokine activated killer) 細胞を用いたがん治療をベースとし、国内において種々の改良を施され広実施されている治療法である。
	適応等	以下の要件を満たす悪性腫瘍全般。 ・未成年等自己決定できないものでない ・がん以外の重篤な合併症がない ・T、NK細胞腫瘍の既往歴がない ・臓器並びに造血器幹細胞移植歴がない ・バイタルサインの規定を満たす(収縮期血圧:159mmHg以下、拡張期血圧:99mmHg以下、体温:37℃以下、動脈血酸素分圧:95%以上) ・自己免疫疾患に罹患していない ・HIV、HTLV1の感染がない ・妊娠の可能性がない
	果期待される効能効	NK細胞はがん細胞を殺傷する力があることから、抗腫瘍作用のあるNK細胞を投与することで腫瘍細胞の殺傷に伴う腫瘍の縮小または増大抑制の効果あるいは術後の再発予防効果が期待される。現在のがん治療は手術、放射線、化学療法が行われており、病期が進行していない場合には根治術として手術が行われている。このようなケースでは術後の再発予防を目的として実施される。また進行がんにおいては化学療法と併用あるいは単体で実施することで延命を目的として実施される。
	使用方法・用量又は	【投与細胞数】 $5 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{10}$ 個/100mL 生食 【投与回数】1回投与を複数回行なう 【投与経路】肘の静脈(尺側皮静脈、橈側皮静脈、肘正中皮静脈など)より投与 【投与期間】複数回おこなう場合は2週間毎の投与を最大で6回トータル3ヶ月間
概要	安全性及び妥当性について	i) 効能又は性能の根拠に関する情報 以下に安全性及び妥当性に関する論文を示す。 Lafreniere R, Rosenberg SA. Successful immunotherapy of murine experimental hepatic metastases with lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin 2. Cancer Res 1985; 45: 3735-41. ★マウスの肝転移モデルに対する IL-2 単独または LAK 療法の組み合わせにより、肝転移の成立数を減らす効果が確認された。

№	項目及び内容
	<p>Lafreniere R, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy of murine hepatic metastases with lymphokine activated killer(LAK)cells and recombinant interleukin 2(RIL 2)can mediate the regression of both immunogenic and nonimmunogenic sarcomas and adenocarcinoma. J Immunol 1985; 135: 4273-80.</p> <p>★マウスにサルコーマ細胞株 (MCA-102) 及び腺癌細胞株 (MCA-38) を投与し、肝転移を作らせるモデルにおいて LAK 細胞に IL-2 を投与する治療法により、延命効果が確認された。</p> <p>Robinson BW, Morstyn G. Natural killer(NK)-resistant human lung cancer cells are lysed by recombinant interleukine-2-activated NK cells. Cell Immunol 1987; 106: 215-22.</p> <p>★ヒトの肺がん細胞株 (NCL-H157、LICM107、NCI-H146、NCI-H226、LICM26) に対する NK 細胞の障害活性実験において、未活性の NK 細胞では障害活性がほとんど検出されないが、低容量の IL-2 で培養した NK 細胞では NCI-H157 に対する障害活性が有意に上昇した。</p> <p>Lotzova E, Savary CA, Herberman RB. Inhibition of clonogenic growth of fresh leukemia cells by unstimulated and IL-2 stimulated NK cells of normal donors. Leuk Res 1987; 11: 1059-66.</p> <p>★高度に純化した NK 細胞は AML や CML 患者由来の白血病細胞の増殖抑制効果がある。</p> <p>Belldegrun A, Tso CL, Kaboo R et al. Natural immune reactivity-associated therapeutic response in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2-based therapy. J immunother Emphasis Tumor Immunol 1996; 19: 149-61.</p> <p>★転移を伴う腎臓がん患者に対して、IL-2 及び腫瘍浸潤リンパ球投与を行った。結果、8名に効果があり、9名は効果が認められなかった。効果が認められた患者は腎臓摘出前に血液中の NK 細胞比率が有意に高かった。</p> <p>Whiteside TL, Sung MW, Nagashima S et al. Human tumor antigen-specific T lymphocytes and interleukin-2-activated natural killer cells: comparisons of antitumor effects in vitro and in vivo. Clin Cancer Res 1998; 4: 1135-45.</p> <p>★ヒト頭頸部扁平上皮がん由来細胞株 (PCI-13、OSC-19) を用いて T 細胞及び NK 細胞の抗腫瘍効果を in vivo、in vitro にて検討した。結果、クロム遊離試験、トリチウム遊離試験、TUNEL 法による試験では T 細胞より NK 細胞の抗腫瘍効果が高かった。また、MTT アッセイでは逆に T 細胞の方が高かった。in vivo においても T 細胞と同様に NK 細胞も抗腫瘍効果を示すことが確認された。</p> <p>Given H, Gilljam M, Chambers BJ et al. Expansion of natural killer (NK) and natural killer-like TU(NKT)-cell populations derived from patients with B-chronic lymphocytic leukemia(B-CLL): a potential source for cellular immunotherapy. Leukemia 2003; 17: 1973-80.</p> <p>★B-CLL 患者由来の血液を用いても細胞障害活性を有した NK 及び NKT 細胞の誘導が可能である。</p>

№	項目及び内容
	<p>Alici E, Konstantinidis KV, Sutlu T et al. Anti-myeloma activity of endogenous and adoptively transferred activated natural killer cells in experimental multiple myeloma model. <i>Exp Hematol</i> 2007; 35: 1839-46.</p> <p>★Multiple Myeloma (5T33) を接種したマウスに対して IL-2 併用の活性化 NK 細胞投与を行った。結果、著しい延命効果が認められ、それは NK 細胞によるものであることが確認された。</p> <p>また、内部の研究で、SGF の歯髄由来培養上清中のエクソソームを添加すると NK 細胞の活性化を示すグランザイム B 活性が上昇することがわかり、特に SGF 10%濃度のエクソソーム添加で活性化が添加しないときと比べ約 5 倍になることがわかった。</p> <p>ii) 検討内容の解説</p> <p>ヒトに対する臨床が多数認められ、かつ有害事象の報告が皆無であることから、安全性については問題無いと考察する。</p>
国内 外 の 実 施 状 況	<p>i) ヒトへの使用経験、臨床試験成績に関する報告等</p> <p>Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. <i>N Engl J Med</i> 1985; 313: 1485-92.</p> <p>★標準治療に失敗した 25 名の進行がん患者へアフレーシスで得たリンパ球から作製した自己の LAK と IL-2 を注入した。がんの縮小は 25 名中 11 名で観察され、そのうち 1 名のメラノーマ転移がん患者は完全な縮小で 10 箇月間状態を維持していた。副作用として体液貯留があり、IL-2 投与中止により、副作用は解決した。</p> <p>Rosenberg SA, Lotze MT, Chang AE et al. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. <i>N Engl J Med</i> 1987; 316: 889-97.</p> <p>★標準治療が無効であった 157 名の転移担癌患者における IL-2 併用 LAK 細胞を用いた養子免疫療法と IL-2 単独治療の効果を研究した。IL-2 併用 LAK 細胞の治療を受けた 106 名の評価可能な患者のうち、CR が 8 名 (10 ケ月)、PR が 15 名 (6 ケ月) であった () は持続期間中央値)。IL-2 単独治療を受けた 46 名の評価可能な患者のうち、CR が 1 名 (4 ケ月以上寛解)、PR が 5 名 (2~11 ケ月) であった。157 名のうち、4 名が治療関連死であった。</p> <p>Phillips JH, Gemol BT, Myers WW et al. In vivo and in vitro activation of natural killer cells in advanced cancer patients undergoing combined recombinant interleukin-2 and LAK cell therapy. <i>J Clin Oncol</i> 1987; 5: 1933-41.</p> <p>★進行転移がんを持つ患者に対して国立がん研究所の構外で第 2 相臨床試験を行い、rIL-2 と LAK 細胞の併用療法を実施した。in vivo での rIL-2 療法完了後 2 日以内に循環リンパ球の絶対数が劇的に増加、及び腫瘍に対する細胞傷害活性が末梢血リンパ球により引き起こされ、LAK 活性の in vivo での発生を示唆していた。患者からアフレーシスし、rIL-2 で 3、4 日間培養した細胞には細胞傷害活性があることを実証した。ナチュラルキラー細胞と T 細胞をフローサイトメトリーで純化することで、細胞傷害活</p>

№	項目及び内容
	<p>性が T 細胞ではなく、rIL-2-活性化 NK 細胞によるものであることを実証した。In vivo rIL-2 療法後の循環している細胞傷害エフェクターが rIL-2-活性化 NK 細胞であることも同様に示した。</p> <p>Hercend T, Farace F, Baume D et al. Immunotherapy with lymphokine-activated natural killer cells and recombinant interleukin-2: a feasibility trial in metastatic renal cell carcinoma. <i>J Biol Response Mod</i> 1990; 9: 546-55.</p> <p>★NK 細胞がヒト腫瘍の治療に実際に関連しているかどうか試験するため、精製したリンフォカイン活性化ナチュラルキラー(LANAK)細胞を調製し、IL-2 治療を受けている腎細胞がん患者へ投与した。In vitro では Daudi に対する障害活性は LAK 細胞より勝っていた。投与された LANAK 細胞の体内分布は報告されている LAK のそれと同じであった。明確に定義されたエフェクターリンパ球を用いる今回の試験は免疫療法の治療効果の向上と理解を導く可能性のある細胞療法である。</p> <p>Burns LJ, Weisdorf DJ, DeFor TH et al. IL-2-based immunotherapy after autologous transplantation for lymphoma and breast cancer induced immune activation and cytokine release: a phase I/II trial. <i>Bone Marrow Transplant</i> 2003; 32: 177-86.</p> <p>★自己移植からの造血能回復後における、ex vivo インターロイキン-2(IL-2)活性化ナチュラルキラー(NK)細胞の静注(パート I)、または IL-2 ボーラス投与(パート II)についての安全性、免疫活性化効果、潜在的な有効性を決定した。再発リンパ腫患者 29 名、転移性乳がん患者 28 名が登録され、パート I で、34 名が ex vivo IL-2-活性化 NK 細胞で登録され、アフエレーシス産物を一晚 IL-2 で活性化後、再注入した。パート II で、23 名が補助的な IL-2 ボーラス投与で登録された。毒性は軽度で入院を必要としなかった。溶解性能については、IL-2-活性化 NK 細胞または IL-2 ボーラス投与のいずれからも注入 1 日後で得られた新鮮末梢血単核球(PBMNC)にて著しく促進された。IL-2 ボーラス投与によって、一時的に IL-6、IFN-γ、TNF-α と IL-1β が増加した。我々は IL-2-活性化 NK 細胞または IL-2 ボーラス投与が安全に投与されること、NK 抵抗性標的に対して増強された細胞傷害性を持った PBMNC を生成できること、サイトカインレベルを増加させることが可能であることを結論づけた。</p> <p>Ishikawa E, tsuboi K, Saijo K et al. Autologous natural killer cell therapy for human recurrent malignant glioma. <i>Anticancer Res</i> 2004; 24: 1861-71.</p> <p>★再発悪性グリオーマ患者から PBMC を採取し、フィーダー細胞としての HFWT と共培養することで NK 細胞リッチなエフェクター細胞を得て、患者に注入した。結果は培養したリンパ球中の NK 細胞が平均 82.2\pm10.5%で、臨床評価は PR が 3 名、MR が 2 名、NC が 4 名、PD が 7 名であった。どの患者にも重篤な毒性は観察されなかった。</p> <p>Tadatoshi T, Teruaki S, Masatoshi M et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: randomized trial. <i>Lancet</i> 2000; 356: 802-7.</p> <p>★腫瘍摘出手術を受けた肝がん患者 155 名を無作為に LAK 投与群、非投与群に割付し、LAK 併用の効果を確認した。結果、無再発生存率、再発までの期間、疾患特異的再発率において有意に効果が認められた。また全生存率では LAK 投与群で高い傾向が</p>

№	項目及び内容	
		<p>確認された。</p> <p>山岸久一. 固形癌に対する細胞免疫療法の現況と展望. 松仁会医学誌 2002; 41: 99-109.</p> <p>★総説</p>
2. 特定細胞加工物に関する事項		
(7)	名称	NK 細胞
(4)	成分及びその分量	<ul style="list-style-type: none"> ・ NK 細胞を含むリンパ球 ・ ヒトアルブミン 5mL ・ 生理食塩水 95mL
(7)	原料等及び原料等の規格	<p>特定細胞加工物の製造のために、以下の原料を用いる。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 患者より採取した末梢血液 2) KBM541 培地 3) KBM550 培地 4) リコンビナントインターロイキン-2 5) GMP グレード抗ヒト抗体 6) SGF 培養上清 (10%)
	規格	<ol style="list-style-type: none"> 1) 細胞数: 5×10^8 個以上 2) 細胞生存率: 75%以上 3) 細胞マーカー: CD56+細胞 20%以上、 グランザイム B および CD69+細胞による活性化指標評価 4) 微生物検査 <ol style="list-style-type: none"> (1) 無菌試験: 陰性 (2) マイコプラズマ否定試験: 陰性 (3) エンドトキシン試験: 0.25EU/mL 未満 <p>規格の設定根拠 特定細胞加工物にて行なわれている基準を基に設定している。</p>
(6)	使用上の注意及び留意事項	<p>本標準書に記載されている細胞は回収後凝集しているため、表示通りの時間内で可及的に早く細胞を使用することが望ましい。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 投与までは冷蔵保存し、投与の 30 分前頃に取り出し、常温に戻す。 ・ 投与直前に点滴バッグの内容物を良く混和し、沈殿している細胞を浮遊させる。
3. 特定細胞加工物の製造及び品質管理に関する事項		
(7)	細胞培養加工施設	<p>名称) ソラリアクリニック東京細胞培養加工施設</p> <p>所在地) 〒104-0061 東京都中央区銀座 1-5-8 GINZA WILLOW AVENUE BLDG. 5 階</p>
(4)	製造方法	<p>製造工程及び工程管理のフローを含む概略は以下の通り。</p> <p>製造工程のフローは以下の通り。</p> <ol style="list-style-type: none"> (1)細胞分離工程 (2)細胞培養工程 (3)拡大培養工程 (4)点滴
	品質管理	
	原料受入検査	各原料に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、原料及び資材の試験検査に関する手順書参照。

№	項目及び内容															
		原料名：末梢血（ヘパリン血） <table border="1" data-bbox="400 327 1501 600"> <thead> <tr> <th data-bbox="400 327 608 360">試験項目</th> <th data-bbox="608 327 1501 360">判定基準</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="400 360 608 439">供給者記録確認</td> <td data-bbox="608 360 1501 439">供給者から受領した記録書内容が適切であること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 439 608 562" rowspan="3">輸送条件確認</td> <td data-bbox="608 439 1501 483">一次容器に収納されていること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="608 483 1501 528">ラベルに必要な情報が表記されていること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="608 528 1501 562">二次容器に収納され、衛生的に管理されていること。</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 562 608 600">目視検査</td> <td data-bbox="608 562 1501 600">明らかな異物の混入がないこと</td> </tr> </tbody> </table>	試験項目	判定基準	供給者記録確認	供給者から受領した記録書内容が適切であること	輸送条件確認	一次容器に収納されていること	ラベルに必要な情報が表記されていること	二次容器に収納され、衛生的に管理されていること。	目視検査	明らかな異物の混入がないこと				
試験項目	判定基準															
供給者記録確認	供給者から受領した記録書内容が適切であること															
輸送条件確認	一次容器に収納されていること															
	ラベルに必要な情報が表記されていること															
	二次容器に収納され、衛生的に管理されていること。															
目視検査	明らかな異物の混入がないこと															
最終特定細胞加工物の試験	最終特定細胞加工物に対する試験及び判定基準は以下の通り。各試験検査方法は、培養細胞の試験検査に関する手順書を参照。	<table border="1" data-bbox="400 685 1501 969"> <thead> <tr> <th data-bbox="400 685 743 719">試験項目</th> <th data-bbox="743 685 1501 719">判定基準</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="400 719 743 763">細胞数並びに生存率</td> <td data-bbox="743 719 1501 763">規格通りであること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 763 743 808">細胞表面形質試験</td> <td data-bbox="743 763 1501 808">規格通りであること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 808 743 853">FCM 検査 (NK)</td> <td data-bbox="743 808 1501 853">CD3-CD56+細胞：20%以上</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 853 743 898">エンドトキシン試験</td> <td data-bbox="743 853 1501 898">規格通りであること</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 898 743 943">マイコプラズマ検査</td> <td data-bbox="743 898 1501 943">陰性</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 943 743 969">無菌試験</td> <td data-bbox="743 943 1501 969">陰性</td> </tr> </tbody> </table>	試験項目	判定基準	細胞数並びに生存率	規格通りであること	細胞表面形質試験	規格通りであること	FCM 検査 (NK)	CD3-CD56+細胞：20%以上	エンドトキシン試験	規格通りであること	マイコプラズマ検査	陰性	無菌試験	陰性
試験項目	判定基準															
細胞数並びに生存率	規格通りであること															
細胞表面形質試験	規格通りであること															
FCM 検査 (NK)	CD3-CD56+細胞：20%以上															
エンドトキシン試験	規格通りであること															
マイコプラズマ検査	陰性															
無菌試験	陰性															
(㉞)	特定細胞加工物の取扱いの決定方法	適合条件： ①決定を行う時期：細胞を投与できる 10 の 8 乗個オーダーの細胞が得るための継代直後にマイコプラズマ検査を行い、一般生菌検査は投与の 3 日前、エンドトキシン検査は投与当日に検査を行い問題がないことが確認できた場合に投与の決定を行う。 ②決定を行う者：細胞培養加工施設管理者、製造管理者および品質管理者をはじめ最低限 2 人以上で確認を行う。 逸脱時の決定方法： ①決定を行う検査後に特定細胞加工物に何らかの疑義が生じた場合、速やかに患者に連絡を行い、提供は見合わせ再採取等を含めた対策を講じる。														
(㉟)	特定細胞加工物の表示事項	<table border="1" data-bbox="400 1323 1501 1603"> <tbody> <tr> <td data-bbox="400 1323 536 1402">表示ラベル</td> <td data-bbox="536 1323 1501 1402">特定細胞加工物ごとにペンで記載</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1402 536 1603" rowspan="4">表示内容</td> <td data-bbox="536 1402 1501 1447">品目名称：NK 細胞</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1447 1501 1491">貯蔵方法：0℃～4℃</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1491 1501 1536">有効期限：包装後 3 時間</td> </tr> <tr> <td data-bbox="536 1536 1501 1581">製造施設：ソラリアクリニック東京細胞培養加工施設</td> </tr> <tr> <td data-bbox="400 1581 536 1603"></td> <td data-bbox="536 1581 1501 1603">製造日：YYYY.MM.DD</td> </tr> </tbody> </table>	表示ラベル	特定細胞加工物ごとにペンで記載	表示内容	品目名称：NK 細胞	貯蔵方法：0℃～4℃	有効期限：包装後 3 時間	製造施設：ソラリアクリニック東京細胞培養加工施設		製造日：YYYY.MM.DD					
表示ラベル	特定細胞加工物ごとにペンで記載															
表示内容	品目名称：NK 細胞															
	貯蔵方法：0℃～4℃															
	有効期限：包装後 3 時間															
	製造施設：ソラリアクリニック東京細胞培養加工施設															
	製造日：YYYY.MM.DD															
(㊱)	保管条件 投与可能期間	採取し培養した細胞加工物の一部は培養開始直後と、各回施術直前に-80 度において最低 10 年間保存し、治療終了後 10 年後以降は患者様の希望がある場合を除き破棄を行う。 製造後 30 時間以内														
(㊲)	特定細胞加工物の輸送方法	特定細胞加工物の輸送に関しては、あらかじめ試験を行い温度、菌検査等の経時的変化のチェックを行った容器で搬送する。														

№	項目及び内容
(※)	<p>その他製造・品質管理に係る事項</p> <p>関連文書は添付の通り。</p> <p>(1) 特定細胞加工物の品質の照査に関する手順書</p> <p>(2) 特定細胞加工物の逸脱の管理に関する手順書</p> <p>(3) 製品作業書</p> <p>(4) 品質管理標準作業手順書</p> <p>(5) 原料及び資材の検体採取に関する手順書</p> <p>(6) 原料及び資材の検体検査に関する手順書</p> <p>(7) 培養細胞の試験検査に関する手順書</p>