

細胞治療製剤（テムセル HS 注[®]）の生細胞率測定による品質評価

杉山 寛貴¹⁾ 池本 純子¹⁾ 吉原 哲¹⁾²⁾ 山本 業生¹⁾ 大野万佑子¹⁾
 原田 由紀¹⁾ 大塚 真哉¹⁾ 小野本仁美¹⁾ 村田 理恵¹⁾ 前田 和宏¹⁾
 奥田 典子¹⁾ 吉原 享子¹⁾²⁾ 山原 研一¹⁾²⁾ 岡田 昌也²⁾ 藤盛 好啓¹⁾²⁾

テムセル HS 注[®]（以下、テムセル）は、健康成人骨髄液から得られたヒト間葉系幹細胞を拡大培養し製造された再生医療等製品であり、造血幹細胞移植後の治療抵抗性急性移植片対宿主病を適応として 2016 年に臨床導入された。当院におけるテムセル解凍、調製後の生細胞率につき、35 症例に投与された計 564 バッグを対象に後方視的解析を行った。初期の 1 ロット（2 バッグ）において生細胞率が 63%、68% と著しく低値であり、解凍時の手順の変更を行った。これを除くと生細胞率は平均値 $95\% \pm 1.7\%$ であり、全バッグにおいて当初投与基準として示されていた 70% を超えていた。また、保管や細胞プロセッシング（解凍・調製）の過程において生じうる同一ロット内のバッグ間における生細胞率の格差は最大で 11% にとどまっていた。生細胞率の測定は、細胞治療製剤の品質評価・品質保証の一助となると同時に、輸血部門における細胞の解凍、調製手順の妥当性を検証するために有用であると考えられる。

キーワード：細胞治療製剤，間葉系幹細胞，移植片対宿主病，テムセル，生細胞率

はじめに

造血幹細胞移植後の治療抵抗性急性 GVHD に対し、骨髄由来のヒト間葉系幹細胞（hMSC）を拡大培養し製造された再生医療等製品であるテムセル HS 注[®]（以下、テムセル）が 2016 年 2 月に臨床導入された^{1)~6)}。

テムセルは、製造施設にて品質評価を受けた後、液体窒素の充填された専用容器（SDDU）により各治療施設に納品され、解凍、調製というプロセスを経て患者に投与される⁷⁾。当初は解凍、調製後の生細胞率が 70% 以上であることを確認して患者に投与するものとされていたが、2016 年 9 月より生細胞率の確認が必須とされなくなった。当院では、これ以降も全バッグにおいて生細胞率の確認を継続しており、今回、後方視的解析を行った。

対 象

2016 年 2 月～2018 年 3 月に調製し投与した 35 症例、計 564 バッグ。

方 法

1) 生細胞率測定

製造販売元から示された手順に従い、テムセルを恒温槽で 37℃、3 分、急速解凍し、生理食塩液を所定量

注入し希釈調製した後、残余細胞の生細胞率をトリパンブルー染色および全自動セルカウンター（TC20[™]，Bio-Rad Laboratories）を用いて測定した。

2) 生細胞率低値の場合の検討

生細胞率が投与基準として示されていた 70% 以下であった場合、フローサイトメーター（BD CantoII，BD Biosciences，以下 BD）を用いて 7-AAD 解析（BD）、ヒト間葉系幹細胞の表面マーカーである CD90，CD105，CD73 の発現解析（Human MSC Analysis Kit，BD）を行った。

結 果

1) 生細胞率測定法の比較

テムセル 110 バッグを対象として、トリパンブルー染色、全自動セルカウンターを用いた生細胞率の測定値を比較した（図 1A）。相関係数 $r=0.784$ と良好な相関が示された。このデータを基に、以後は全自動セルカウンターを用いて測定した生細胞率を示す。

2) 生細胞率の検討

全 57 ロット 564 バッグにおける生細胞率は、後に述べる 1 ロット（2 バッグ）において生細胞率が 63%、68% と著しく低値だったのを除くと、平均値 $95\% \pm 1.7\%$ であり、全バッグにおいて当初示されていた投与基準で

1) 兵庫医科大学病院輸血・細胞治療センター

2) 兵庫医科大学病院血液内科

〔受付日：2019 年 5 月 26 日，受理日：2019 年 12 月 20 日〕

ある70%を超えていた。

次に、施設内での細胞プロセッシング(解凍・調製)の過程において生じうる同一ロット内でのバッグ間格差を検討するため、同一ロットに4バッグ以上あった28ロット、244バッグ(1ロットあたりのバッグ数の中央値7.5バッグ[4~18バッグ])を対象として解析を行った。同一ロット内の生細胞率の格差(ロット内の各バッグにおける生細胞率の最大値と最小値の差)は、最大

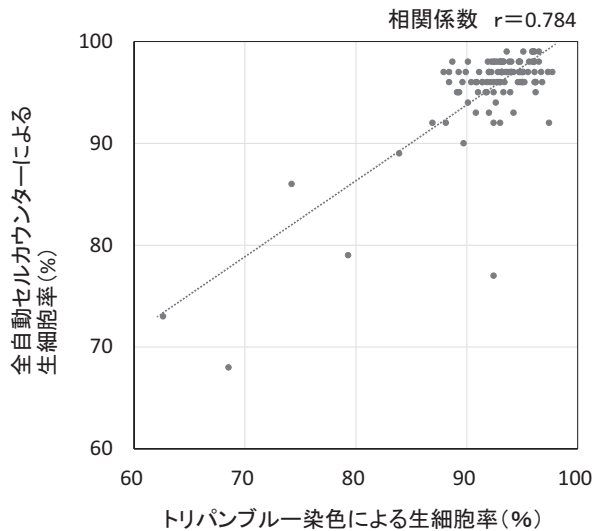


図1A トリパンブルー染色および全自動セルカウンターを用いて測定した生細胞率の比較 (110バッグにおける検討)

11%にとどまっていた (図1B)。

3) 生細胞率が低値であったバッグについての検討結果

図2に生細胞率が92%と高値であったバッグ(A)および生細胞率が異常低値(68%)であったバッグ(B)のフローサイトメトリー解析結果を示す。生細胞率が低値であったバッグにはFSC lowの細胞集団が見られ、これらの細胞は間葉系幹細胞のマーカーであるCD90, CD105, CD73をそれぞれ98.7%, 85.4%, 99.2%と高率に発現している(data not shown)一方で、死細胞のマーカーである7-AADを50.1%に発現していた。

考 察

本研究の対象期間にテムセル解凍、調製作業を行った57ロット、564バッグ中、初期の1ロット、2バッグのみ、生細胞率が投与基準を満たさず、別ロットからの供給を受けた。当時は現在の運用方法⁷⁾と異なり、薬剤部においてSDDUからテムセルを取り出し、輸血・細胞治療センターまで運搬してから解凍、調製作業を開始していた(取り出しから解凍開始まで約2分)。この事例以降、薬剤部から輸血・細胞治療センターまでSDDUを運搬した上でテムセルを取り出すよう、運用方法を変更した⁷⁾。初期のこの例を除いて生細胞率は安定しており、ロット間格差、ロット内のバッグ間格差とも許容範囲であった。

以上のデータは、治療施設での生細胞率測定を必須

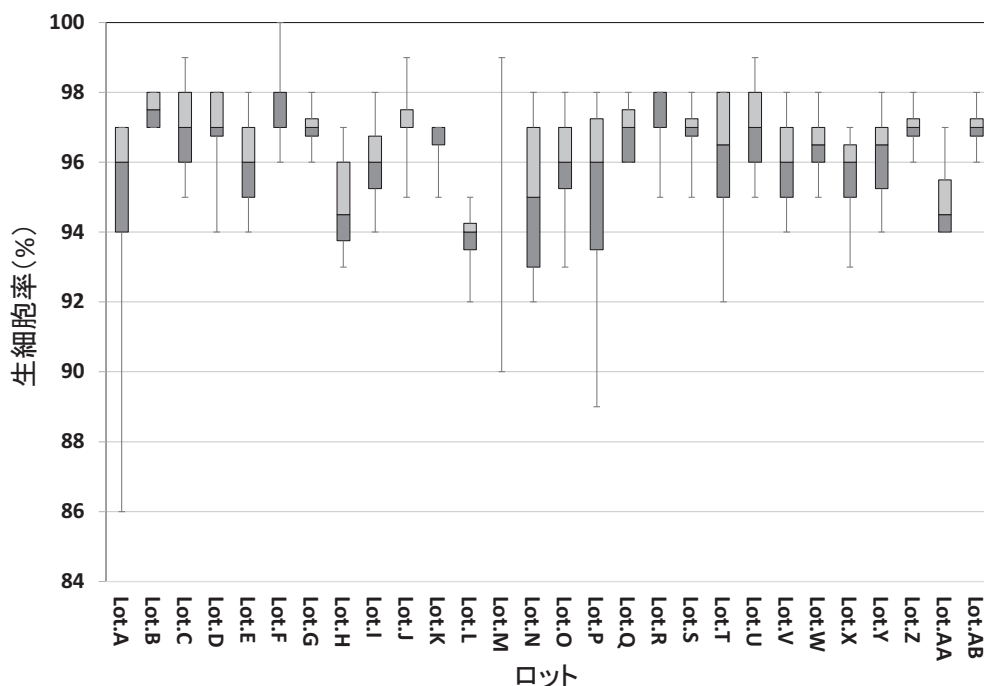


図1B ロットごとの生細胞率 (28ロット、244バッグにおける検討)
箱ひげ図は、最小値、最大値および四分位数を示している。

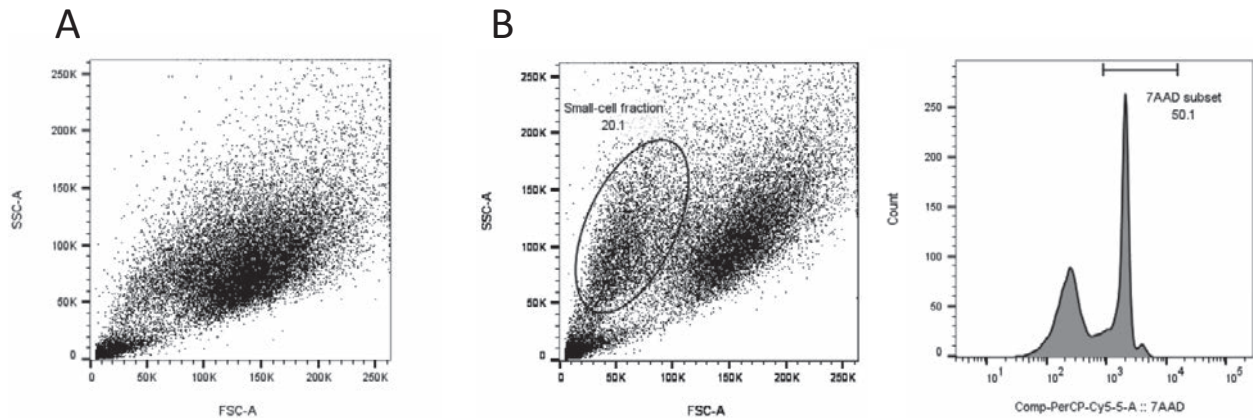


図2 生細胞率が92%であったバッグ (A) および生細胞率が異常低値 (68%) であったバッグ (B) のフローサイトメトリー解析結果. 詳細は本文参照.

としていない現在の手順の妥当性を示唆するものであると考えられる。一方で、生細胞率の測定は、細胞治療製剤の品質評価・品質保証の一助となると同時に、輸血部門における細胞の解凍、調製手順の妥当性を検証するために有用であると考えられる。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, et al: Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 363: 1439—1441, 2004.
- 2) Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, et al: Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*, 371: 1579—1586, 2008.
- 3) Kebriaei P, Isola L, Bahceci E, et al: Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment of acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*, 15: 804—811, 2009.
- 4) Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, et al: Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int J Hematol*, 98: 206—213, 2013.
- 5) Muroi K, Miyamura K, Okada M, et al: Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (JR-031) for steroid-refractory grade III or IV acute graft-versus-host disease: a phase II/III study. *Int J Hematol*, 103: 243—250, 2016.
- 6) Muroi K: Recent advances in clinical use of mesenchymal stem cells in Japan. *Transfus Apher Sci*, 57: 669, 2018.
- 7) 杉山 寛, 池本 純, 吉原 哲, 他: 兵庫医科大学病院における細胞治療製剤 (テムセル HS 注) の管理・運用体制の構築. *日本輸血細胞治療学会誌*, 65: 615—620, 2019.

QUALITY ASSESSMENT AND ASSURANCE OF TEMCELL™, A CELLULAR THERAPY PRODUCT

Hiroki Sugiyama¹⁾, Junko Ikemoto¹⁾, Satoshi Yoshihara¹⁾²⁾, Nao Yamamoto¹⁾, Mayuko Ohno¹⁾, Yuki Harada¹⁾, Shinya Otsuka¹⁾, Hitomi Onomoto¹⁾, Rie Murata¹⁾, Kazuhiro Maeda¹⁾, Noriko Okuda¹⁾, Kyoko Yoshihara¹⁾²⁾, Kenichi Yamahara¹⁾²⁾, Masaya Okada²⁾ and Yoshihiro Fujimori¹⁾²⁾

¹⁾Department of Transfusion Medicine and Cellular Therapy, Hyogo College of Medicine

²⁾Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Hyogo College of Medicine

Keywords:

Cellular therapy product, Mesenchymal stem cells, Graft versus host disease (GVHD), TEMCELL, cell viability

©2020 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>