

# 企業と規制当局に重大な過失 —動物実験を普通に評価すれば TGN1412 事件は避けられた—

浜 六郎

NPO 法人医薬ビジランスセンター (薬のチェック)

## The crucial negligence of the regulatory authority and the company — Normal evaluation of the results of animal experimentation could have prevented the TGN1412 tragedy —

Rokuro Hama

Non-Profit-Organization of Pharmacovigilance

### Abstract

On 13<sup>th</sup> March 2006 the TGN1412 trial resulted in an unprecedented tragedy, when all of the six healthy volunteers, to whom the new drug was administered for the first time in humans as an investigational product, suffered multi-organ failure with severe shock and were treated with ventilator. It raised serious doubts about the validity of current measures for new drug approval. This paper examines the validity of the regulatory agency's conclusion that "an unexpected biological effect is the most likely cause of the severe reactions" and "adverse incidents which occurred were not as a result of any errors made in the manufacture of TGN1412, its formulation, dilution or administration to trial participants". It also examines lessons learned from the incident.

Anti-CD28 monoclonal antibody (S-mAb) activates lymphocytes on its own. Following the development of anti-rat CD28 S-mAb, TG1412 was developed as humanized S-mAb. Non-observed adverse effects level (NOAEL) of JJ312 for rat was 0.2mg/body (or estimated as 0.5mg/kg). NOAEL for the Cynomolgus monkey whose amino acid sequence of extracellular domain of CD28 was 100%, the same as that of human CD28 was decided as 50 mg/kg by the manufacturer. However, it may be 1mg/kg if swelling of lymph nodes or death is TG1412-related. If one considers the lesser dose should be NOAEL, 1/500 of 0.5mg/kg should have been determined as the first human safe dose.

Therefore, 0.1mg/kg, which was the first human dose of TG1412 approved and actually used, was 100 times higher than the safe dose according to current medical common sense for safety.

Before human-specific biological products are used for humans, the following procedures should be taken. First, species-specific biological products for two animal species should be developed (in this case species-specific S-mAb). Second, the toxicology studies should be conducted with the same animal species as those used for investigating general pharmacology and efficacy. Third, another series of toxicology studies using humanized monoclonal antibodies should be conducted with one primate that has the most similar amino acid sequences of whole antigen (in this case: CD28) of not only the extra-cellular but also the intra-cellular domain of the lymphocyte to that of human lymphocytes. Fourth, 1/500 (in mg/kg basis) or 1/250 (in mg/body surface basis) of the lower level of NOAEL among both species should be the first human dose. And finally, The investigational product should not be applied (infused) faster than the rate at which it was used in the animal toxicity studies. Stricter regulation should be established to ensure that the above procedures would be appropriately followed since they currently seem to be neglected.

### Key words

TGN1412, superagonist anti-CD28 monoclonal antibody (anti-CD28 super mAb), Non-observed adverse effects level (NOAEL), pre-clinical animal experimentation, protection of human subjects

*Rinsho Hyoka (Clinical Evaluation)* 2006 : 34 (Suppl XXIV) : 171- 84.

## はじめに

英国で3月13日、臨床試験の安全性、研究対象者の保護を考えるうえで極めて深刻な事件が発生したことが15日報道された<sup>1)</sup>。ヒトでは全く初めてとされる物質が使用された臨床試験(第1相試験)で、ブラシーボが使用された2人は異常なかったが、試験物質TGN1412が使用された18歳から40歳までの健康ボランティア6人全員が、直後から全身の痛みや呼吸困難を訴え、1時間後には多臓器不全のためICUに入院。全員に人工換気装置がつけられた。1週間後には6人中4人は意識が出てきてうち3人は人工換気装置がはずされ、最終的には幸い全員救命されたが、後遺症を残した人もあるといわれる<sup>2)</sup>。速やかに試験中止の措置が取られ、規制当局(The Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency: 医薬品医療器具規制局: MHRA)は試験実施の承認を取り消し<sup>3)</sup>、4月5日にはMHRAによる中間報告が公表され<sup>4)</sup>、5月25日には最終報告がなされた<sup>5)</sup>。また、保健大臣の諮問により組織された専門家会議が第1相試験の実施に関して勧告(案)を提示し、9月14日までに意見を求めている<sup>6)</sup>。

筆者は、BBC放送を見たという人からの情報を3月16日に得て、早速インターネットで調査を始め、3月28日発行のTIP誌(2006年3月号)に問題点をまとめた論文<sup>7)</sup>を書くとともに、薬のチェックの速報版<sup>8)</sup>としても掲載し、英文<sup>9)</sup>でも掲載している。

本稿では、基本的な記述でこれらの記載と重複するが、その後に公表されたMHRAによる中間報告<sup>4)</sup>、最終報告<sup>5)</sup>、専門家会議の勧告(案)<sup>6)</sup>を精査した結果、動物実験から推定した安全量の100倍量から試験を開始したことが判明した。そのほか、いくつかの点で、安全確保が不可能な動物実験に基づいて第1相試験が開始されていることが判明したので、その詳細を述べたい。

## 1. TGN1412とは

この試験に使用された物質TGN1412の性質については、他の方が詳述していると思われるが、本論に必要な範囲で簡単に触れておきたい。

TGN1412はhumanized agonistic anti-CD-28 monoclonal antibody(ヒト型作動性抗CD-28モノクロナル抗体)、あるいはhumanized agonistic IgG4 antibody directed against the human CD28 antigen expressed on T lymphocyte(Tリンパ球表面CD28抗原に対する作動性ヒト型IgG4抗体)である<sup>4,10)</sup>。従来のモノクロナル抗体は単独でT細胞を活性化できないが、TGN1412は、これ単独でT細胞を活性化させることからsuperagonistic anti-CD28 monoclonal antibody(superagonistic anti-CD28 mAb)、superagonistic anti-CD28 antibody、CD28-SuperMAB、CD28 superagonists、あるいはagonistic anti-CD28 antibodyなどとも呼ばれているヒトCD28モノクロナル抗体である<sup>4,6,10)</sup>。B細胞性慢性リンパ性白血病や、慢性関節リウマチの治療用<sup>11)</sup>として、ドイツTeGenero Immuno Therapeutics社が開発し、製造販売はBoehringer-Ingelheim社が担当すると契約が交わされていた<sup>12)</sup>。

本物質は、2005年3月、欧州医薬品局(EMEA)からオーファン・ドラッグ(希少薬)の指定を受け<sup>13)</sup>、動物モデルで著しい予防・治療効果を示し寛解させた<sup>14)</sup>ことから、開発が大いに期待されていた<sup>15)</sup>物質であった。

## 2. 作用機序

### 2.1 superagonistic anti-CD28 mAbの作用部位

T細胞が十分活性化されるには通常、signal-1(T細胞抗原受容体TCR)とsignal-2(co-stimulation: 補助刺激)が必要である。Signal-1はTCRと、抗原提示細胞(APC)の細胞表面に提示された抗原断片のペプチドと

MHC (Major Histocompatibility complex: MHC) との相互作用で生じる。最初に発見され現在でも最も強力な補助刺激を示すのが CD28 である<sup>10)</sup>。

TCR への抗原断片ペプチドの結合 (あるいは in vitro では TCR への anti-TCR モノクロナル抗体の結合) により signal-1 が生成されるが、CD28 の補助刺激がなければ、T 細胞は anergy (その後両シグナルがあっても反応しない<sup>11)</sup>) に陥るか、アポトーシスを生じる (Fig. 1-A)<sup>10)</sup>。また、signal-1 がなく、従来の抗 CD28 モノクロナル抗体を単独で用いても T 細胞は増殖しない (Fig. 1-B) が、anti-TCR モノクロナル抗体と併用すると T 細胞が増殖し、インターロイキン 2 (IL-2) を産生するようになる (Fig. 1-C)。

ところが、TGN1412 など superagonistic anti-CD28 mAb は、従来の anti-CD28 モノクロナル抗体とは異なり、これ単独で T 細胞を活性化し (増殖させ)、IL-2 を産生することができる (Fig. 1-D)<sup>10)</sup>。従来の抗 CD28 モノクロナル抗体と異なる点は、CD28 分子の C'D loop 部位に TGN1412 が結合し (Fig. 2)、CD28 の分子団が 2 価結合により線状複合体を形成することができる

からとされている<sup>10)</sup>。

## 2.2 B 細胞性慢性リンパ性白血病 (B-CLL) に対して

メーカーの説明<sup>10)</sup>によれば、B 細胞性慢性リンパ性白血病 (B-CLL) は、抗原提示細胞 (APC) としては機能しておらず、T リンパ球の活性化によってアポトーシスが促進されないが、TGN1412

Fig. 2 "Conventional" and "superagonistic" anti-CD28 mAb bind to the different part of CD28 anti-CD28 mAb.<sup>10)</sup>

従来の anti-CD28 mAb と superagonistic anti-CD28 mAb は CD28 の異なる部分に結合する<sup>10)</sup>

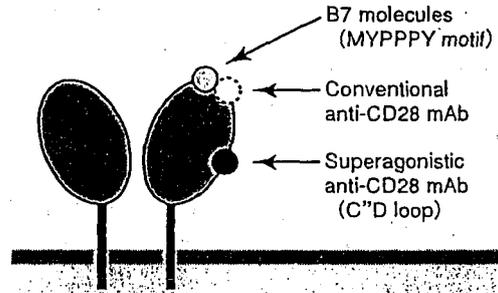
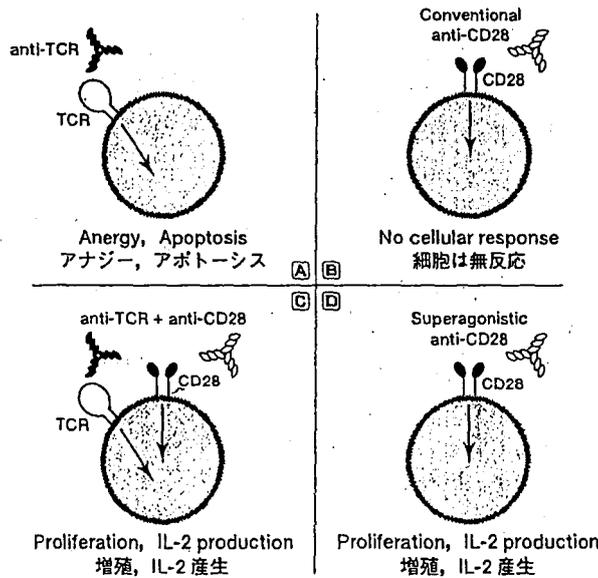


Fig. 1 Two classes of CD28 specific monoclonal Antibodies (mAbs)<sup>10)</sup>  
2 種類の CD28 特異モノクローナル抗体 (mAbs) の作用の違い<sup>10)</sup>



がCD28 superagonistsとして作用するとCLLのB細胞がAPCとして機能するようになり内因性腫瘍抗原特異性T細胞の標的として見えるようになる。さらにTGN1412はCLL腫瘍細胞がアポトーシスを起こしやすくする。その結果、細胞性の抗腫瘍免疫活性を高め、さらには腫瘍細胞のアポトーシスを増強するとしている<sup>11)</sup>。

### 2.3 慢性関節リウマチに対して

慢性関節リウマチは自己反応性T細胞が関与した自己免疫疾患のひとつであるが、この慢性関節リウマチに対するTGN1412の作用についてメーカーは以下のように説明している<sup>12)</sup>。

慢性関節リウマチの動物モデルではTGN1412によるT細胞の活性化は、TCR複合体(T細胞抗原受容体複合体)に対して作用する他の物質とは異なる。他の物質では炎症性サイトカインを主として誘導し、毒性の強いサイトカイン・ストームを引き起こすが、TGN1412によるT細胞の活性化ではその作用より、主としてIL-10などの抗炎症性サイトカインが誘導される。このTGN1412はregulatory T cell(サブプレッサーT細胞:最近ではregulatory T cell=調整T細胞と呼ばれる)をはるかに強く活性化させる<sup>13)</sup>。

## 3. 臨床試験の方法と経過

問題の臨床試験は、PAREXELという米国の臨床試験実施請負会社(CRO)によって、ロンドンにあるNorthwick Park Hospitalで実施された<sup>14)</sup>。ブラシーボが投与されたRaste Khanさん(23歳男性)の話を報道したTimes Onlineの記事<sup>15)</sup>によれば、「全員から採血がされたのち、2分毎に注射をしていった。全員の注射が終了して5分くらいしてから、最初に注射を受けた人が震えだしました。彼は上半身裸になったんですが、焼けているような感じで、しきりに頭をさすっていました。私はなんともなかったのですが、何分かすると、3人目の人にも同じような症状が出始め、何回か嘔吐しました。意識を失い過換気の状態にな

りました。恐ろしい痛みがきているような感じに見えました。次に4人目も同じような症状が出てきました。何段階か症状が進行した後でショック状態になったんですが、その前に「我慢できない、トイレがしたい。」と言っていました。看護師が用意した黒いポリ袋に大量に嘔吐しました。全員ショック状態になり意識がなくなりました。私の左にいた男性は背中が痛いと言っていました。恐ろしかったです。ブラシーボに当たったのは申し訳ないと思っています。まるでロシアンルーレットですよ。私はお金がほしくて試験を受けたのですが、40万円は命の代価とはならないとおもいます。」

被害者の一人Ryan Wilson(21歳)は、あまりの断末魔の苦しみのため、医師に「眠らせてほしい」と懇願したという。家族らの話を伝えた情報を総合すると、彼の頭は普通の3倍になり、首も腫れて頭よりも太くなり、皮膚はどす黒い紫色になり、心臓も肺も腎臓もだめになって、死にそんな状態だったという<sup>16, 17)</sup>。

これらの情報を総合すると、注射後約20分でおおむね、頭痛、嘔吐、全身の灼熱感を伴う痛みを生じシャツまで脱ぎ、発熱し、ほぼ12時間以内に6人全員がショック状態となり意識消失した<sup>17)</sup>。また、ステロイド剤で炎症を抑さえ、血漿交換によりTGN1412をできる限り早く血中から除去するなどの治療がなされたようである<sup>17)</sup>。

これらの変化は、大量の炎症性サイトカインの放出により組織が急性傷害を受けたことを示しており、全身熱傷が体内部のあらゆる部位に生じたことをイメージさせる。

## 4. 企業の言い分、およびMRHAの評価結果

### 4.1 企業

PAREXELとTeGeneroは、臨床試験はプロトコルどおりに実施されており、今回の事態は全く予測不可能であったとしている<sup>11)</sup>。また、マウス、ラット、ウサギ、サルを使って安全性が確認され、最初の用量は動物での最大安全量の500分の1であったとされている<sup>11-17, 17-19)</sup>。

#### 4.2 MHRA

当局は、細菌のエンドトキシンなど不純物の混入、使用した用量の間違い、製造物そのものの欠陥などの可能性も含めて、今回の事態の原因解明を開始したが、中間報告<sup>9)</sup>でも最終報告<sup>10)</sup>でも、また、専門家会議の勧告(案)<sup>11)</sup>でも、全く予測できない生物学的作用による事故であった、と結論した。

### 5. 今回の第 I 相試験の前に判明していたこと

#### 5.1 種特異抗体 (JJ316) では NOAEL は 0.5mg/kg (体表面積換算 0.08mg/kg)

##### 1) 健康動物では脾臓が数倍腫大

TGN1412 の前に開発された JJ316 は、superagonistic anti-rat CD28 antibody である<sup>12,13)</sup>。つまりラットに対する特異抗体である。JJ316 の 0.5mg/body/日 がラットのアジュバント関節炎を軽減すると報告されている<sup>14)</sup>。しかしこの実験では正常(健康)ラットには JJ316 が投与されていない。

ラット型 superagonistic anti-CD28 mAb は 0.03mg/body (0.15mg/kg, 体表面積換算で 0.025mg/kg) で免疫系細胞の活性化に影響があった<sup>15)</sup>。

一方 JJ316 を用いてラットの CD4<sup>+</sup>T 細胞 (主にヘルパー T 細胞) と CD8<sup>+</sup>T 細胞 (主にキラー T 細胞) の [3H] チミジンの取り込みを調べた実験<sup>16)</sup> では、CD4<sup>+</sup>T 細胞ではコントロールの約 120 倍、CD8<sup>+</sup>T 細胞も約 30 倍に増加した。このことは、ヘルパー T 細胞やキラー T 細胞を *in vitro* で強く増殖させることを意味している。

さらに健康ラットを用いた実験<sup>17)</sup> では 1mg の JJ316 を 1 回腹腔内投与しただけで脾臓もリンパ節も著明に腫大した。3 日目に屠殺した剖検写真ではいずれも数倍程度以上の腫大に見える (Fig. 3)。従来型の抗 CD28 モノクロナル抗体 (JJ319) では 5mg/body まで、また JJ316 では 0.2mg/body で脾臓の細胞数は全く増加しなかったが、JJ316 の

0.8mg/body では 2 倍程度、5mg/body では約 3 倍に増加した (Fig. 4-A)。このように明瞭に用量-反応関係が認められた。実験に使用されたラットの体重が記載されていないが成熟ラットであることは記載されているので、仮に 400g とすると、細胞増加がまったく認められなかった JJ316 の用量 0.2mg/body は 0.5mg/kg である。

##### 2) 細胞数増加が 2 週間後も残る

JJ316 や JJ319 の 1mg/body を投与した後の細胞数の経時的変化をみると、JJ319 では全く変化が認められなかったが、JJ316 は 1 日目で約 1.8 倍、3 日目が最大で 3.5 倍、1 週間後にもなお 2.2 倍、2 週間後でも 1.3 倍程度と、完全に前値には戻っていなかった (Fig. 4-B)<sup>18)</sup>。1mg/body 投与後 3 日目にリンパ球のサブセット分析をしたところ、特に CD4<sup>+</sup>T 細胞と B 細胞の増加程度が大きかった (それぞれ約 6 倍と約 4 倍 (Fig. 4-C)<sup>19)</sup>)。

これらの実験から、種特異 superagonistic anti-CD28 mAb は *in vitro* では CD4<sup>+</sup>T 細胞、CD8<sup>+</sup>T 細胞を増加し、健康動物に用いた場合には、1 回だけで脾臓やリンパ節を著明に腫大させ、用量依存性に CD4<sup>+</sup>T 細胞や B 細胞を著明に増加すること、しかも無害用量は、わずか 0.5mg/kg 程度であった (アジュバント関節炎を生じた動物では関節炎を軽減することが報告はされているが、この場合の用量は疾患モデル動物に使用した用量と大きくは異なる)。

すなわち、慢性関節炎など異常を生じた動物と健康動物では superagonistic anti-CD28 mAb により誘導される T 細胞の種類もサイトカインの種類も異なりうること、健康な動物に対する superagonistic anti-CD28 mAb の無影響量は 0.5mg/kg であるとの知見が得られていた。

#### 5.2. サルに対する毒性試験

サルに対する実験の概略が、文献 4-e, 4-f に述べられている。毒性試験のフルレポートではないので、病理所見の詳細などは全く記載されていない、したがって疑問点もかなりあり、最終判定は困難であるが、問題の概略は分かるので、文献 4-e,

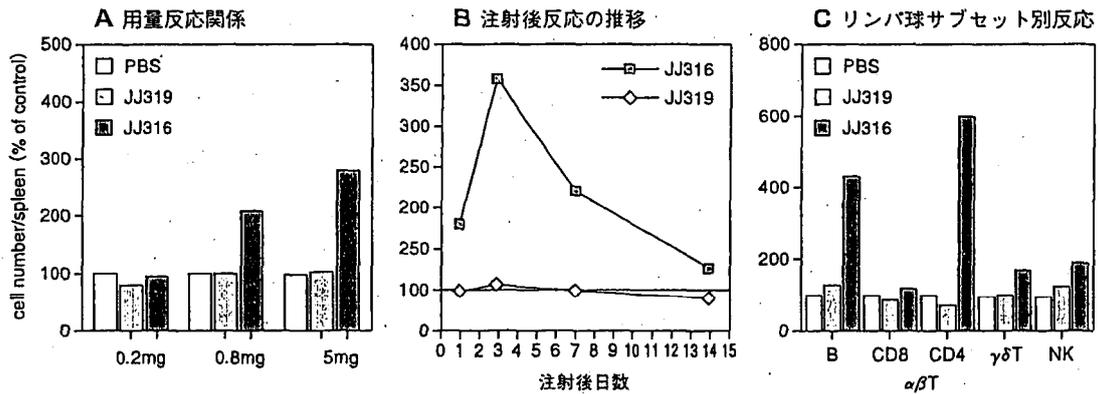
Fig. 3 Splenomegaly and lymphadenopathy of LEW rats which received single i.p. dose of 1 mg anti-CD28 mAb JJ319 (left) or JJ316 (right)  
 1 mgの anti-CD28 mAb JJ319 (左)または JJ316 (右)の単回腹腔内投与を受けたLEW ラットのリンパ節(上)と脾臓(下)



筆者注：文献22の写真を、著作権に抵触しない形で紹介するため、大きさのみ比較しうる図とした。実際の写真は文献を参照されたい。

From Tacke M et al  
*Eur. J Immunol* 1997 ; 27 : 239-47 [22]

Fig. 4 Lymphocyte subsets responding to anti-CD28 treatment in vivo.  
 JJ316, JJ319または等量のPBSを腹腔内投与したLEW ラットにおけるリンパ球サブセットの反応



4-fの記述をもとに、サルを用いた毒性試験の結果について述べる(文献番号は記載しないが4-e, 4-fに基づく)。

1) サルでは最低量 1mg/kg (ヒト体表面積換算 0.3mg/kg) で開始

単回投与毒性試験はTGN1412が5mg/kgの用量で一頭に、TGN1415のIgG1variantであるTGN1112が、2.5mg/kgと5mg/kgの用量でRhesus monkey (アカゲザル) 各1頭に投与された。TGN1112は最初に、1mg/kgが2頭に静注投与され、3時間経過観察して異常がないことを確認したうえで、残りの1.5mg/kgあるいは、4mg/

kgを各1頭に追加し、2.5mg/kgと5mg/kgの単回投与とした。3頭目はTGN1412を5mg/kgであるが、2.5mg/kgが静注投与されている。これが同時に実施されたのか、他の2頭同様、3時間あけて実施されたか不明である。リンパ節腫大の有無などの診察の他、ルーチンの検査が継続された。TGN1112を5mg/kgを投与された1頭は155日目には屠殺され剖検が実施され、主要な臓器の組織検査が実施された。他の2頭は、実験終了後、仲間の方に戻された。

副作用も解剖学的な異常もTGN1112やTGN1412に関連した異常は認められなかったとされている

が、屠殺されたサルには局所性慢性肉芽腫性肺炎が認められた。病理医の報告ではTGN1112とは無関係とされたが、次に示すB細胞数の持続的増加を考慮すれば死亡の原因としての局所性慢性肉芽腫性肺炎は、TGN1112と無関係の所見とは言えない。

16日(5mg/kgのTGN1112)あるいは23日(2.5mg/kgのTGN1112)をピークにCD4とCD8発現T細胞数が2倍程度に一過性に増加した(ただしTGN1412の5mg/kgについては不明)。ELISA法で測定した抗-TGN1412抗体が単回投与後3週間で、どちらのレベルでも認められた。また、CD3発現T細胞の増加は両用量とも40日前後まで持続し、CD20発現細胞(B細胞)は40日前後から約2倍に増加し、78日あるいは106日(2.5mg/kg)ではさらに増加しそれ以降も持続したと考えられる。

そもそもアカゲサルに発症した慢性肺炎の症状が155日目まで回復せず、屠殺の事態になったのであろう。このような重大な変化を無関係とすることは、どうみても普通ではない。どうして無関係としたのであろうか。特別な説明はなく、ただ病理医が無関係とした、との記載があるのみである(問題点の詳細は後述)。

#### 2) 反復投与予備試験は5mg/kgを1時間で点滴静注、5mg/kgでリンパ節腫大あり

反復投与試験は、予備試験、本試験ともいずれもCynomolgus monkey(カニクイザル)が用いられた。予備試験は5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kgの用量漸増方式でオス、メス各1頭を用いて実施された。投与は5mg/kgの最低量から1時間かけて点滴静注し、1週間毎に用量を増やしていった。

5mg/kgを投与開始してから、13日目~19日目(10mg/kg投与後6日目以降)にかけて、腋窩と、そけい部のリンパ節が腫大してきた。報告書では5mg/kgによる影響か10mg/kgによる影響かは不明、とされているが、2.5mg/kg(あるいは5mg/kg)投与後16日目をピークに細胞数の増加がみとめられているので、13日目でリンパ節が腫大してきたなら5mg/kg単独であっても影響がありうると考えるべきであらう。リンパ節の腫大は健常な

動物にとっては明瞭なadverse effectである。また、14日目には、CD8は2~3倍程度の増加であるが、CD4は約4倍増加している。その後前値の1.5~2倍程度に低下している。TGN1412抗体の出現はアカゲザルよりも頻度が少ないようであった。

しかしながら、この場合も、50mg/kgで異常所見が認められなかったとして、50mg/kgがNOAELとされた(問題点は後述)。

3) 反復投与本試験5mg/kgで3日目に下痢で死亡  
反復投与本試験は、対照群(溶媒のみ)はオス、メス各5頭、TGN1412の5mg/kgにはオスメス各3頭、50mg/kgはオス、メス各5頭を用いた。4週後、対照群と50mg/kg群からオスメス2頭ずつを屠殺し、残りを回復試験(メス41日、オス43日)に供した5mg/kgには毒性は現われないと考えられ、試験終了時に屠殺せず、全てが回復試験にまわされた。

ところが、5mg/kgのオスザルは、水様下痢を起こしたため3日目に屠殺されたと記載されている。解剖された結腸、盲腸のぬぐい液からCampylobacter jejuniが検出された。他の対照群のオスザルでも水様下痢があり、Campylobacter jejuniやSalmonella sppが検出され、全動物のスクリーニングで高率にCampylobacter jejuniが証明され、水様下痢も高率に認められたので、5mg/kgのTGN1412を投与されたオスザルの死亡はTGN1412と関連がないことは明瞭であるとされた。

以上の結果、50mg/kgまで影響がなかったと考えられ、最大無影響量(NOAEL)が50mg/kgと判定された(問題点は後述)。

#### 4) Toxicokinetics(トキシコキネティクス)と発癌性試験

TGN1412の用量が5mg/kgから50mg/kgに増加すると、TGN1412の全身曝露は約20倍となった。最終排泄半減期は、個体差が大きかった。平均8日という半減期は、5mg/kgの最初の投与から計算されたものである。用量が増加すると半減期が増加すると考えられた。

発がん性試験は実施されていない(問題点は後述)。しかし、ラット型superagonistic anti-CD28

mAbであるJJ316をラットに微量使用して著明な脾臓の変化を起こしたのであるから、それほど免疫に影響する物質をさらに微量で長期使用すれば発癌の危険性は危惧される。ヒト型superagonistic anti-CD28 mAbであるTGN1412をサルで発癌性試験をするのが意味がないとするならば、TGN1412のサルに対する一般毒性試験も意味がないであろう。

一般毒性試験は、これで50mg/kgがNOAELだとしながら、発癌試験をしないのも不可解である。

### 5.3 がん患者でも半数が異常に

Angus Dalgleish氏(サウスロンドン、セントジョージ大学病院教授)の以下のような談話が紹介されている<sup>19)</sup>。

"The previous studies which caused similar severe side effects were in patients already suffering from cancer, but [the researchers] should have known they would get a meltdown because this drug was hitting exactly the same immune response pathways."「以前の試験でも同様のことがあったがそれは、入院中のがん患者で生じたものだ。しかし(研究者は)まったく同じ免疫経路に働くものであるから、「炉心融解」ともいうべき重大事態が起こりうることを知っておくべきであった。」

その試験は、2005年5月のAmerican Society of Clinical Oncology (ASCO)で報告されたもので、TGN1412と同様の経路で作用する物質であり、アメリカ国立がん研究所(NCI)のSteven Rosenbergのチームの研究であったが、約半数に重篤な副作用が生じたとされている<sup>19)</sup>。

## 6. 前臨床試験の問題点

### 6.1 種特異抗体(JJ316)における強い毒性を軽度で一過性と評価

Superagonistic anti-rat-CD28 mAb(ラット型superagonistic anti-CD28 mAb:種特異抗体)であるJJ316では、3日目には反応(リンパ球数増加)

が最大数倍となり、1~2週間後にも完全には回復していなかったにもかかわらず、その反応を、メーカーは軽度で一過性の反応が認められたとし、MHRAもその主張を認めた。

これらの実験からは通常、当該動物種に対するsuperagonistic anti-CD28 mAbは最大無害量は0.5mg/kgであると解釈すべきである。ところが、その点についてメーカーもMHRAも、何ら触れていない。「軽度で一過性の反応」との評価からすれば、有害との認識はないのであろう。

次項とも関係しているが、ヒト型抗体はあくまでヒトでしか有効でないはずであり、ヒト型をヒトに使用する前の実験では動物特異抗体をその動物種で用いた毒性実験を行い、その際の最大無害量を基準にヒトの初回用量を決めるべきである。

### 6.2 サル型抗体をサルに用いるのではなくヒト型抗体(TGN1412)をサルに用いた

1) カニクイザルに用い、50mg/kgがNOAEL  
アカゲザルを用いて実施された単回投与毒性試験では、TGN1412のIgG1variantであるTGN1112が2.5mg/kgと5mg/kgの用量でそれぞれ1頭に投与され、TGN1412が5mg/kgの用量で1頭に、合計3頭に投与された。TGN1112では16日(5mg/kg)あるいは23日(2.5mg/kg)をピークにしたCD4およびCD8発現T細胞の2倍の一過性増加があり、CD3発現T細胞の増加は40日前後まであり、B細胞の2倍以上の増加は40日前後から106日を越えても持続したと考えられる。TGN1112を5mg/kg投与されたアカゲザルは155日に屠殺され、死因は慢性肉芽腫性肺炎であった。

そのためかどうかは不明であるが、カニクイザルのCD28分子のクローニングがなされ、その細胞外ドメインのアミノ酸構成がヒトの同部分と100%一致していたことが分かったという。そこで、カニクイザルでTGN1412のtoxicokineticsが実施可能と考えられて、反復投与試験が5mg/kg、10mg/kg、25mg/kg、50mg/kgの用量増方式で実施された。

それでも、3日目には下痢で死亡を含めて悪影響

が認められたが、最終的には全てTGN1412には無関係で50mg/kgまで影響がなかったと考えられ、50mg/kgが最大無影響量 (NOAEL) と判定された。

しかし、カニクイザルをヒト型 superagonistic anti-CD28 mAb の毒性試験に用いたこと自体、用量漸増の試験方法、50mg/kgをNOAELとした試験結果の解釈には重大な問題があり、間違であったと考える。以下にその問題点について詳述する。

#### 2) カニクイザル細胞外ドメインの100%一致は抗体の100%一致を意味しない

カニクイザルとヒトのCD28の細胞内ドメインアミノ酸の異同については述べられていない。Anti-CD28タンパクの全組成は細胞外ドメインだけでなく細胞内ドメインアミノ酸組成をも反映したものであろう。そうであるなら、細胞外ドメインのアミノ酸組成がヒトの同部分と100%一致したからといって、ヒトとサル (カニクイザル) の superagonistic anti-CD28 mAb全体が完全に一致しているとの保証にはならない。素人が考えても、その点は疑問になる。

そのことは、毒性試験でメーカーが「50mg/kgまで安全であった」としたことと、ラット型 superagonistic anti-CD28 mAb の毒性の強さとの乖離を見ればさらに疑問が強くなる。

前項で述べたごとく、ラット型 superagonistic anti-CD28 mAb は0.03mg/body (0.15mg/kg、体表面積換算で0.025mg/kg) で免疫系細胞の活性化に影響があり、別の試験では1mg/body (2.5mg/kg、体表面積換算で0.4mg/kg) で脾臓が数倍腫脹し、0.8mg/body (2mg/kg) 以上で脾臓細胞 (リンパ球) を最大数倍増加し2週間でも完全回復しなかった。この試験でのリンパ球を増殖させない最大量は0.2mg/body (0.5mg/kg) であった。体表面積換算すれば、0.08mg/kgである。

メーカーがカニクイザルで「最大無影響量NOAEL」とした50mg/kgは体表面積換算ではほぼ16mg/kgであるから、ラットにおけるNOAELとは体重換算で100倍、体表面積換算では200倍の違いがある。

この違いをみれば、次のような推論が可能である。ラット superagonistic anti-CD28 mAb が微量

で強力な作用を有しているのに、細胞外ドメインのアミノ酸組成がヒトの同部分と100%一致しているカニクイザルに対して、ヒト superagonistic anti-CD28 mAb はラットに用いた200倍 (50mg/kg) でも無作用であった。このことからTGN1412は、サル (カニクイザル) には「実質的にはあまり作用していないのではないか」、「それは、細胞内ドメインのアミノ酸組成は異なりうるためではないか」。

その可能性を推論することは、この分野については非専門家であっても、薬剤の安全性について、まっとうに考えてきたものならだれでも気付くことである。

#### 3) サル型 Superagonistic anti-CD28 mAb を作成し毒性試験を実施すべきであった

したがって、完全なカニクイザル型の superagonistic anti-CD28 mAb が開発され、それをもって毒性試験を実施したならば、この用量で毒性が現われていた可能性がありうる。これは、少なくとも、今回の事件の教訓の一つとすべきである。

#### 4) 効果にはアカゲザルを用い、毒性試験の最大無影響量はカニクイザルで判定

他の薬剤でもよくある誤りだが、効果の検討は、効果が現れやすい動物を用い、毒性については、毒性が現われ難い動物を用いる方法である。TGN1412についても、まさしく、この方法が採用された。効果の確認はアカゲザルを用い、毒性試験も単回投与にはアカゲザルが用いられたが、TGN1412のIgG1variantであるTGN1112を用いた1頭が155日目に死亡し、CD4、CD8も16-23日目をピークに増加、anti-TGN1412抗体が2.5mg/kg群でも出現した。さらにB細胞の増加は100日を超えても持続した。

そのためかどうかは記載がないが、細胞外ドメインアミノ酸組成がヒトと100%一致しているカニクイザルを反復投与毒性試験では用いた。細胞外ドメインアミノ酸組成がより一致したサルを用いたことは、一方で組成の違いに基づく不都合な反応は抑制できるため、毒性は一見少なくなる

う。しかし、根本的にヒト型抗体とは異なるため、毒性が過小評価されてしまう（その理由については前述した）。

5) 毒性試験の結果の解釈上の問題点：1時間で点滴静注、5mg/kgでリンパ節腫大を害作用とせず

①反復投与では全て点滴静注で投与  
単回投与実験ではワンショット静注がなされたが、その後の反復投与試験では全て、1時間かけて点滴静注された。

②リンパ節腫大  
そうしても、5mg/kgでリンパ節腫大が認められた。TGN1412はヒト型 superagonistic anti-CD28 mAbであり、カニクイザルにとっては異物であるための、異物反応としてのリンパ節腫大であった可能性もあるが、これはTGN1412の“pharmacodynamic effect”とされ“toxic effect”とは見なされなかった。

③慢性肉芽腫性肺炎、下痢など  
155日目の局所性慢性肉芽腫性肺炎、B細胞数の持続的増加、3日目の水様性下痢による死亡など、いずれも異常な所見が無関係とされた。

カニクイザルに5mg/kgのTGN1412を使用して3日目に水様下痢を生じて死亡したがこれを無関係としたことも問題である。10倍量のTGN1412が使用されていても、死亡例はなかったのであるから、5mg/kgにおける水様下痢による死亡例がTGN1412は無関係であるかもしれないが、しかし、完全に無関係と断言してしまうことは可能であろうか、非常に感受性の高いサルがTGN1412の影響をより強く受けたということはないのであろうか。

ゲフィチニブの毒性試験で認められた死因となる肺傷害の所見を「本薬に基づく異常所見は認められなかった」とした論理と同様、極めて恣意的な可能性があり、こうした見解を安易に採用することは危険である。

したがって、厳密に考えれば、2.5mg/kgも安全量とはいえないであろう。1mg/kgも安全かどうか分からない。そうすると、これだけでも、サルの試験でも最大無害量は決定されていないという

ことになる。

これらの毒性所見がありながら、TGN1412のヒト試験前の検証で、MRHAもTGN1412と無関係としたのであろうか。試験開始前にこれらの毒性所見を無関係と評価したのなら、MHRや専門家会議が、再検討時に「関係あり」とすることは自らの判断ミスと認めることになる。また見逃していたのなら、検証のミスを自ら指摘することになり、それも極めて困難であろう。

## 7. 第I相試験のプロトコールの問題点

### 7.1 種特異抗体の最大無害量 (NOAEL) の500分の1とすべきであった

1) JJ316のラットにおける最大0.5mg/kgから、1μg/kgで開始すべきだった

種特異抗体 (JJ316) をラットに用いた場合の細胞増殖させなかった用量を最大無害量とすると、0.5mg/kgであった。その500分の1は1μg/kgである（体表面積でヒト用量に換算すると0.08mg/kgであるが、500分の1という安全係数は、体表面積換算も考慮にいれた数字である。したがって、0.08mg/kgの500分の1ではなく、0.5mg/kgの500分の1、すなわち、1μg/kgで開始すべきであった。

2) カニクイザルに対する種特異抗体のNOAELと0.5mg/kgのうち小さい方をNOAELとすべきであった

ヒト型 superagonistic anti-CD28 mAbであるTGN1412に対する真のNOAELはヒト以外でもとめることは不可能であるから、2つの動物種のそれぞれに対する特異抗体を作成し、それぞれの種でのNOAELを求め、そのうち小さい方をNOAELとすべきであった。

したがって、TGN1412の場合は、カニクイザルに対する種特異抗体を作成し、そのカニクイザルに対するNOAELとラット特異抗体のNOAEL 0.5mg/kgのうち小さい方をNOAELとすべきであった。

## 7.2 ヒトにもサルと同様、1時間かけて点滴静注すべきであった

サルの実験では、アカゲザルを用いた単回投与実験でボラスによる静注であったが、カニクイザルを用いた反復投与実験では予備実験も本実験も1時間かけた点滴静注であった。

一方、ヒト第1相試験のプロトコル<sup>4)</sup>にしたがえば、体重が80kgの人の場合、8mgが用いられることになっていた。プロトコルによれば、TGN1412は1mLあたり2mgに調整されており、1mLを1分で静注することが決められていた。したがって体重8kgの人にとって0.1mg/kgのTGN1412は8mgであり、2mg/mLに調整されたTGN1412溶液4mLに相当し、これが4分間で使用することになっていた。

したがって、本当に安全を考慮した1 $\mu$ g/kg (80kgの人なら0.08mg)を1時間かけて点滴静注することに比べると、たとえプロトコルどおりに行われていたとしても極めて大量を急速に静注することが予定されていたことになる。

したがって、プロトコル自体、慎重さを著しく欠くものであったと考える。

## 8. 第I相試験の実施上の問題点

プロトコル<sup>4)</sup>では、TGN1412の静脈注射は、午前8時から10時の間に行う、との規定があった。これは、8人を2時間かけて実施する（つまり一人当たり15分かける）との意味ではなく、全員の静脈注射をその時間帯の間に行うという意味であった。したがって、もしも4分ずつかけて実施していたならば、プロトコル違反にはならなかった。

どの報告書<sup>4,5,6)</sup>にも、実際にどの程度のスピードで静脈注射がなされたのか記述はないので正確な状況は不明である。しかし、プラセボを使用した人の談話を報道したTimes Onlineの記事<sup>4)</sup>などから、実際には2分間隔で静注が行われたようである。そのために、約15分程度で全員の注射が終了し、終了後5分程度で最初に注射を受けた人が苦しみだした。注射開始後、20分程度で症状が

現れたことになる。

プロトコルによれば、静脈注射は、速度を調整できるperfuserを用いて実施されたとになっていた。したがって、あらかじめ4分にスピードを調整しておけば、それより速いスピードでは静注できないはずである。

もしもプロトコルどおりに実施したとしても、2分間隔で各人の静注を開始したならば、全てが終了するのはやはり20分以内となり、今回の事態が生じていることになるため、これはプロトコル違反とはならないが、極めて危険な事態を招くことになるだろう。

一人の静注が終了後、1分の間隔を置いて次の人の静注を介していたとすると、4人終了し、5人目を実施する前には1人目の症状が出現していたであろう。1人は少なくともプラセボであるので、被害は3人で済んだことになる。

一人に1時間かけて実施していたなら、もちろん、被害者は1人だけで済んでいたはずである。またその一人の被害者も、点滴静注のために一度に注入するときより反応は弱いはずであり、それでも20分より少し遅れて（たとえば30分後に）症状が出現し始めていたとするなら、その時点で点滴静注を中止したであろう。注射総量は予定量の半分であり、症状は実際に経験されたよりも軽かったことはまず間違いない。

現実には、プロトコルに書かれた時間の4分で実施されたかもしれないので、10数分で終了したということは、プロトコル違反ではないとしても危険なことであった。一人に1時間かけて実施しなかったことも重大な事態を招いた原因であろう。

## 9. 今回の事態は回避可能、予測可能であった

今回ヒトに生じた重篤な多臓器不全は、「調整T細胞（サブレッサーT細胞）」よりも「ヘルパーT細胞」を強く活性化し、IL-2を大量に産生し、ひいてはキラーT細胞の活性化と毒性の強い細胞傷害性（炎症性）サイトカインによるサイトカイン・

ストームが生じた可能性が高いのではないかと考えられよう。

PAREXELやTeGeneroは、動物でわずかにリンパ節の腫脹があったが、今回使用した量はその500分の1の量であったとし、完全に決められた手続きを踏んだとしているが、すでに述べたように、種特異抗体 (JJ316) のNOAELの500分の1は、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ であるので、 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ はその100倍であった。

サルでは1時間かけて点滴静注するとの慎重な投与方法がヒトには採用されなかった。この場合、真に500分の1を用いたことにはならない。特に、場合によっては非特異的なアナフィラキシーやサイトカインストームの危険性まで考えなければならない物質の投与実験であった。真のNOAELの500分の1として $1\mu\text{g}/\text{kg}$ を用いる場合でも、少なくともサルで採用した1時間という点滴静注を、人でも採用すべきであった。

その意味では、プロトコル自体に問題があり、その問題点を指摘できなかったMHRAの審査は適切であったとはいえない。

## 10. 採用すべきであった判断と教訓

こうした物質の第1相試験が英国MHRAの承認を受けたことは、これまでの一般的な常識をあてはめれば、完全に定められた手順どおりに実施されていたとしても、危険の可能性が予測できた。もしも、このプロトコルが現行の承認システムで要求されていることを満たしているとするなら、現在の承認システムそのものの見直しが必要である。現在多数開発されている生物学的製剤について、動物実験からヒトでの安全を推測する手順のなかで、サルで代用することは当然ながら、極めて危険である。

細胞外ドメインのアミノ酸構成の100%同一ということから、安全量を推定するための動物としては不適切であるサルを最終判断の根拠に用いてはならない。

代替動物として用いたとしても、 $2.5\text{mg}/\text{kg}$ か

ら危険の徴候がありながら、それらをことごとくTGN1412とは無関係として安全量を決定したことも誤りである。

これらは、現在の状況でも常識的にみて当然踏むべき手順が踏まれていたならば、実際に用いられた際の100分の1で開始されていたはずである。そうすれば、これほどの大事故にならずに、わずかの症状が出現し、それで危険となった可能性がある。

ヒト特異性生物学的製剤をヒトに適用する前、あるいは適用にあたっては、以下の手順を踏まなければならないと考える。

1. 2種類以上の動物 (1種類は、3に述べる霊長類) それぞれに対する、種特異的生物活性物質 (この場合は種特異anti-CD28 S-MAB) を作成する。
2. 期待する薬理活性を検証した動物と同じ動物種を用いて、その種特異的生物活性物質の毒性試験を実施する。
3. 細胞外だけでなく細胞内ドメインの抗原 (この場合はCD28) のアミノ酸配列がヒトと最も類似している霊長類を用いてヒト型anti-CD28 S-MABを用いる毒性実験を実施する。
4. 3者の毒性試験で得られたNOAELのうち、最も低値を選び、その体重換算で500分の1以下、あるいは体表面積換算で250分の1以下をヒトへの初回用量とすべきである。また、
5. 動物毒性試験で用いた速度を超えてヒトに使用してはならない。

現在そうした規定がないなら、新たに規定を設けるべきである。

## 11. 臨床試験簡素化への重大な警告

日本では、研究対象者の保護に関する法的制度が確立されないまま、第1相試験を含む治験など臨床研究の手続きの簡素化が急がれている<sup>23-25)</sup>。医薬品・治療研究会とNPO法人医薬ビジランスセンター (薬のチェック) では、人を対象とするすべての研究を公的に管理・監視し、被験者を保護

する法的制度の確立を求める意見書を2005年7月に提出<sup>29)</sup>。「治験審査委員会に係る医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改訂する省令案」に関する意見書(2006年3月)では、安易な治験審査の外部委託を可能とする改訂案を批判した<sup>29)</sup>。

今回の英国での事件は、安易な研究の進め方に対する極めて厳しい警告である。決して、対岸の火事として見過ごしてはならない。日本では、すでにそれ以上の規模の事件が単に埋もれているだけの可能性もあるからである。

#### 付 記

本稿は、2006年3月28日発行のTIP「正しい治療と薬の情報」2006年3月号に緊急掲載した原稿に、その後公表されたMHRAの中間報告(4月5日)、最終報告(5月27日)、専門家会議の報告(7月25日)で得られた情報を追加して再検討したものである。TIP誌の記事では、とくに中間報告で公表されたプロトコルや医師向けのTGN1412概要書などの情報がなかった段階での見解である。これらの情報で動物実験の概要が公表されたので、大幅に書き直す必要があった。

なお、本稿脱稿後の情報<sup>29)</sup>および、それへのTeGenero社研究者の反論<sup>29)</sup>および著者の返事<sup>29)</sup>は貴重であるが、本稿を修正、あるいは本稿に付加すべき情報は含んでいない。

#### 参考文献・注

- 1) PAREXEL. Media Advisory: PAREXEL International Statement Regarding TeGenero AG Phase I Trial at Northwick Park Hospital, U. K., 2006 Mar 15. Available from: [http://www.parexel.com/news\\_and\\_events/press\\_releasesSingle.asp?id=233](http://www.parexel.com/news_and_events/press_releasesSingle.asp?id=233)
- 2) Six taken ill after drug trials. BBC News 第1報, 2006 Mar 15. Available from: [http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk\\_news/england/london/4807042.stm](http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/london/4807042.stm)
- 3) Drugs trial men 'still improving'. BBC News, 2006 Mar 19. Available from: [http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk\\_news/england/london/4822574.stm](http://news.bbc.co.uk/2/hi/uk_news/england/london/4822574.stm)
- 4) Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). Clinical trial suspension report: last findings (interim report), 2006 Apr 5. Available from: [http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg?IdcService=SS\\_GET\\_PAGE&useSecondary=true&ssDocName=CON2023515&ssTargetNodeId=389](http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&useSecondary=true&ssDocName=CON2023515&ssTargetNodeId=389)
- a) Investigations into adverse incidents during clinical trials of TGN1412: interim report.
- b) Latest findings on clinical trial suspension: press release.
- c) TGN1412 clinical trial application: release of information cover note.
- d) TGN1412 clinical trial: assessment report.
- e) TGN1412 clinical trial: investigational medicinal product dossier.
- f) TGN1412 clinical trial: investigator's brochure.
- g) TGN1412 clinical trial: protocol.
- 5) Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA). Clinical trial final report, 2006 May 25. Available from: [http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg?IdcService=SS\\_GET\\_PAGE&useSecondary=true&ssDocName=CON2023822&ssTargetNodeId=389](http://www.mhra.gov.uk/home/idcplg?IdcService=SS_GET_PAGE&useSecondary=true&ssDocName=CON2023822&ssTargetNodeId=389)
- a) Investigations into adverse incidents during clinical trials of TGN1412.
- b) Press release: Final report on TGN1412 clinical trial.
- 6) Expert Scientific Group on phase one clinical trials: A consultation, 2006 Jul 25. Available from: [http://www.dh.gov.uk/Consultations/ClosedConsultations/ClosedConsultationsArticle/fs/en?CONTENT\\_ID=4139038&chk=Heo5Fe](http://www.dh.gov.uk/Consultations/ClosedConsultations/ClosedConsultationsArticle/fs/en?CONTENT_ID=4139038&chk=Heo5Fe)
- 7) 浜六郎. TGN1412 第1相試験事件は不可避だったか?. TIP「正しい治療と薬の情報」, 2006; 21(3): 21-4.
- 8) 浜六郎. TGN1412 第1相試験事件は不可避だったか?. 『薬のチェックは命のチェック』インターネット速報版No65, 2006 Mar 28. Available from: <http://www.npojip.org/sokuho/060328.html> (文献7)と同じ内容)
- 9) Hama R. Couldn't TGN1412 Tragedy be avoided?. Web-Kusuri-no-Check International, No8 [serial on the Internet], 2006 Apr 6. Available from: <http://www.npojip.org/english/tip21.html>
- 10) Beyersdorf N, Hanke T, Kerkau T, Hunig T.

- Superagonistic anti-CD28 antibodies: potent activators of regulatory T cells for the therapy of autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis*. 2005; 64 (Suppl 4): 91-5.
- 11) TeGenero. Drug Development. 2006 Feb 20. Available from: [http://www.tegenero.com/research\\_\\_development/drug\\_development/index.php](http://www.tegenero.com/research__development/drug_development/index.php)
  - 12) TeGenero. Boehringer Ingelheim and TeGenero sign agreement to develop and manufacture CD28-SuperMAB?. 2003 Nov 17. Available from: [http://www.tegenero.com/documents/2003\\_11\\_tg005\\_pressrelease\\_e.pdf](http://www.tegenero.com/documents/2003_11_tg005_pressrelease_e.pdf)
  - 13) TeGenero. TeGenero AG receives EU-orphan drug designation for Humanized Agonistic Anti-CD28 Monoclonal Antibody TGN1412 for the treatment of B-cell Chronic Lymphocytic Leukaemia, B-CLL. 2005 Mar 13. Available from: [http://www.tegenero.com/documents/pr\\_tegenero\\_march\\_11\\_2005.pdf](http://www.tegenero.com/documents/pr_tegenero_march_11_2005.pdf)
  - 14) T helper cell. Wikipedia, the free encyclopedia. Available from: [http://en.wikipedia.org/wiki/Helper\\_T\\_cell](http://en.wikipedia.org/wiki/Helper_T_cell)
  - 15) Lister S, Smith L. Doctors seek international help in treating victims. *Times online*. 2006 Mar 17. Available from: <http://www.timesonline.co.uk/article/0,,3122-2090146,00.html>
  - 16) Peake A, Ryan: Spare me this pain. *The Sun*. 2006 Mar 16. Available from: <http://www.thesun.co.uk/article/0,,2-2006120430,00.html>
  - 17) TGN1412. Wikipedia, the free encyclopedia. Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/TGN1412>
  - 18) TGN1412 round-up. 2006 Mar 18. TGN1412 - American perspectives. 2006 Mar 24. Available from: <http://blacktriangle.org/blog/>
  - 19) Flemming N. We're praying for them. *telegraph.co.uk*. 2006 Mar 17. Available from: <http://www.telegraph.co.uk/news/main.jhtml?xml=/news/2006/03/17/ntrial217.xml&sSheet=/news/2006/03/17/ixhome.html>
  - 20) Rodriguez-Palmero M, Franch A, Castell M, et al. Effective treatment of adjuvant arthritis with a stimulatory CD28-specific monoclonal antibody. *J Rheumatol*. 2006 Jan; 33 (1): 110-8.
  - 21) Beyersdorf N, Gaupp S, Balbach K, Schmidt J, et al. Selective targeting of regulatory T cells with CD28 superagonists allows effective therapy of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Exp Med*. 2005; 202: 445-55.
  - 22) Tacke M, Hanke G, Hanke T, Hunig T. CD28-mediated induction of proliferation in resting T cells in vitro and in vivo without engagement of the T cell receptor: evidence for functionally distinct forms of CD28. *Eur J Immunol*. 1997 Jan; 27 (1): 239-47.
  - 23) 治験のあり方に関する検討会(医薬食品局). 未承認薬使用問題検討会議(医薬食品局) 関連資料. Available from: <http://www.mhlw.go.jp/shingi/other.html#iyaku>
  - 24) 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 「治験審査委員会に係る医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令(案)」に関する御意見・情報の募集について. Available from: <http://search.e-gov.go.jp/servlet/Public?CLASSNAME=Pcm1010&BID=495050107&OBJCD=&GROUP=>
  - 25) 薬物動態学会・薬物動態試験推進委員会. わが国における医薬品開発に関する提言—探索的早期臨床試験とPK/PD試験の推進—. Available from: <http://www.jssx.org/jp/pdf/dmpk21-1teigen.pdf>
  - 26) NPO法人医薬ビジランスセンター(薬のチェック), 医薬品・治療研究会. すべての人を対象とする研究を公的に管理・監視し, 被験者を保護する法的制度の確立を求める意見書.
    - a) TIP「正しい治療と薬の情報」. 2005; 20(7): 82-4.
    - b) 薬のチェック速報版 No57 (2005.07). Available from: <http://www.npojip.org/sokuho/no57.pdf>
  - 27) 医薬品・治療研究会, NPO 法人医薬ビジランスセンター(薬のチェック). 「治験審査委員会に係る医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改訂する省令案」に関する意見書. 薬のチェック速報版. No64 (2006.03) Available from: <http://npojip.org/sokuho/060315.html>
  - 28) Kenter MJ, Cohen AF. Establishing risk of human experimentation with drugs: lessons from TGN 1412. *Lancet*. 2006 Oct 14; 368 (9544): 1387-91.
  - 29) a) Hanke T. Lessons from TGN1412. *Lancet*. 2006 Nov 4; 368 (9547): 1569-70.  
 b) author (Cohen AF and Kenter MJ) reply 1570.