

厚生労働科学研究費補助金
厚生労働科学特別研究事業

胚性幹 (ES) 細胞 臨床指針作成に向けた 課題検討のための 予備研究

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 中内 啓光
平成20(2008)年4月

厚生労働科学研究費補助金 厚生労働科学特別研究事業

**胚性幹 (ES) 細胞
臨床指針作成に向けた
課題検討のための予備研究**

平成19年度 総括研究報告書

主任研究者 中内 啓光

平成20(2008)年 4月

目次

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 目次 | 1 |
| 研究参加者一覧 | 2 |
| I. 総括研究報告 | |
| 胚性幹（ES）細胞臨床指針作成に向けた課題検討のための予備研究 中内 啓光 | 3 |
| II. 分担研究報告 | |
| 1. ヒトES細胞を用いた基礎研究・前臨床研究の実態 末盛 博文・梅澤 明弘 | 5 |
| 2. ヒト多能性幹細胞の臨床利用の方法のロードマップについて 笹井 芳樹・松山 晃文 | 9 |
| 3. ES細胞・iPS細胞の臨床応用の対象範囲として想定されるもの 小清水 右一・澤 芳樹・脇谷 滋之・高橋 政代 | 19 |
| 4. ヒト胚性幹（ES）細胞・人工多能性幹（iPS）細胞の品質・安全性確保 に関する課題－現行指針に追記すべき要点 山口 照英・松山 晃文 | 43 |
| 5. 臨床応用に係る倫理的課題の検討 （1）胚提供を受ける際のICの在り方について （2）臨床応用に使用する際のICの在り方について 掛江 直子・末盛 博文 | 58 66 |
| 6. 海外における胚性幹細胞を用いた臨床研究の現状調査 （参考 幹細胞を用いた臨床研究関連資料、政府機関のリンク先 梅澤 明弘・石井 哲也・山本 雄士 | 71 86) |
| 参考資料1 「FDA 細胞治療 IND 申請に関する指針（2008年4月9日発表）」 （FDA: http://www.fda.gov/cber/gdlns/cmcsomcell.htm より転載） | 90 |
| 参考資料2 「Advanced therapy medicinal product に関する EU 規制 （Regulation (EC) No 1394/2007）（2007年11月13日公布）」 （The European Communities / the Official Journal of the European Union: http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-1/reg_2007_1394/reg_2007_1394_en.pdf より転載） | 129 |
| 参考資料3 「EMA 細胞治療製品に関する指針案 （Draft Guideline on human cell-based medicinal products (EMA/CHMP) （2007年7月31日パブリックコメント締め切り）」 （EMA: http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/cpwp/41086906en.pdf より転載） | 146 |

厚生労働科学研究費補助金 厚生労働科学特別研究事業

研究課題名：「胚性幹（ES）細胞臨床指針作成に向けた課題検討のための予備研究」
研究参加者一覧（敬称略）

主任研究者

中内啓光 東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究分野 教授

分担研究者

梅澤明弘 国立成育医療センター研究所 生殖医療研究部 部長

研究協力者（50音順）

石井哲也 独立行政法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター フェロー

掛江直子 国立成育医療センター研究所 成育保健政策科学研究室 室長

小清水右一 アスピオファーマ株式会社生物医学研究所 バイオ探索グループ長

笹井芳樹 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター 細胞分化・器官発生研究
グループ グループディレクター

澤芳樹 大阪大学大学院医学系研究科心臓血管外科 教授

末盛弘文 京都大学 再生医科学研究所附属幹細胞医学研究センター
霊長類胚性幹細胞研究領域 准教授

高橋政代 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター 網膜再生医療研究チーム
チームリーダー

松山晃文 大阪大学医学部附属病院未来医療センター 准教授

山口照英 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 部長

山本雄士 独立行政法人科学技術振興機構 研究開発戦略センター フェロー

脇谷滋之 大阪市立大学大学院医学研究科整形外科学 准教授

総括研究報告書

胚性幹 (E S) 細胞臨床指針作成に向けた課題検討のための予備研究

主任研究者 中内 啓光 東京大学医科学研究所幹細胞治療研究分野 教授

要旨

ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞等のヒト多能性幹細胞に関する研究の急速な進展は、臨床応用への早期展開を予想させる。そこで本事業ではヒト多能性幹細胞を用いた臨床研究の指針作成を視野に入れ、具体的な課題等について予備的研究を行った。ヒト多能性幹細胞は従来の細胞治療と異なり、複雑な樹立工程と長期にわたる培養を必要とする点が特徴的である。また、個々の臨床研究の実施や評価に際しては ES 細胞と iPS 細胞、それぞれの特徴を生かした対象疾患の設定と、安全性評価が必要になる。ヒト多能性幹細胞の臨床研究にあたっては、その時点での学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケースバイケースの原則で早期からアカデミアと行政当局とが連携・対話することが望まれる。

A. 目的

1998年のヒト ES 細胞樹立の報告以来、臨床応用に向けた研究が大きく進展し、米国ではヒト ES 細胞を利用した臨床研究が脊髄損傷患者を対象として始まろうとしている。加えて、2007年にはヒト iPS 細胞の樹立が日米の研究グループから報告された。iPS 細胞は患者から樹立することが可能な上、ヒト ES 細胞が本質的に内包している生命倫理の問題がないことから、今後急速に研究が進展し、数年以内に臨床応用を開始すべき段階に達することが予想される。そこで本研究班では ES 細胞、iPS 細胞などのヒト多能性幹細胞

胞を利用した臨床指針作成に向けた課題について予備的研究を行った。

B. 方法

ヒト ES 細胞や iPS 細胞の研究および幹細胞を用いた臨床研究に携わっている第一線の研究者を班員として迎え、それぞれの立場から現状分析ならびに将来的な課題について検討していただいた。また海外における ES 細胞を用いた臨床研究についても米国、欧州を中心に渡航調査を行った。

C. 結果

倫理的問題が少なく、患者からも容易に樹立することが可能で、ES細胞とほぼ同様な性質を持つiPS細胞の出現により、研究は加速度的に進むことが予想される。ES細胞、iPS細胞、それぞれが有利に利用できる対象疾患があり、当面は使い分けが必要である。種々の対象疾患のなかでも、加齢黄斑変性、網膜色素変性症、パーキンソン病、脊髄損傷、拡張型心筋症、心筋梗塞などが比較的臨床応用に近い対象疾患と考えられる。一方で、ヒト多能性幹細胞から産生された赤血球、血小板なども安全性確保が容易であるという点で臨床応用に近いかもしれない。ヒト多能性幹細胞

は基本的に体性幹細胞と違いは無いが、樹立および長期にわたる培養と分化誘導が特徴的でありマスターセル、マスターバンクの用意など、特別な品質管理が要求される。このような特殊性からインフォームドコンセントの作成・取得にあたっては工夫が必要である。

海外ではES細胞やiPS細胞を切り出して考えておらず、遺伝子治療とも切り分けずに、遺伝子・細胞治療の一つとして対応している。一方で、指針の策定に当たっては科学面での判断と倫理面での判断を切り分けている。また、細胞治療の経年における影響を観察する必要からTraceabilityの確保を考える必要がある。

分担研究報告書

1. ヒトES細胞を用いた基礎研究・前臨床研究の実態

末盛 博文 京都大学再生医科学研究所 准教授

梅澤 明弘 国立成育医療センター研究所 生殖医療研究部長

要旨

ヒトES細胞の医療応用を目指して、特定の細胞種を分化誘導する技術の開発とモデル動物を用いての有効性の検討が進められている。いずれも一部の細胞種・疾患を除き臨床への移行が早期に予想される状況には無いようである。医療応用において必須となるGMPへの対応については、細胞株の樹立培養について報告がなされているが、培養液等に動物由来成分が用いられており完全合成系になっているわけではない。分化誘導系においても動物由来成分なしに目的の細胞の作出に成功しているものはまれである

A. 目的

ES細胞の臨床応用については、GMPに準拠して細胞株の樹立・培養。分化誘導を行い、移植に必要な機能細胞や前駆細胞を作出する必要がある。また有効性・安全性の検討をどのような実験系で行うのかを規定する必要がある。これらの目標が、現在どの程度のレベルで実現されているのかを明らかにする。

B. 方法

論文・プレスリリースなどに基づいた、文献調査を中心に、学会等でのヒアリングで得た情

報に基づき、現状についてとりまとめた。

C. 結果

・分化誘導・動物実験

ヒトES細胞からの各種の機能細胞の分化誘導については、

外胚葉：神経（ドーパミン産生神経、運動神経）、グリア

中胚葉：心筋、血管、造血幹細胞、血球

内胚葉：肝臓、膵臓、

など、文献レベルでは多い。基本的に移植に利用可能と思われる細胞種のほとんどは作成で

きているようである。誘導効率はさまざまであるが、概して低く、また誘導過程でソーティングを併用している場合でも最終的に得られる細胞集団はヘテロであることが多い。また、分化細胞の同定は遺伝子発現に依存していることが多く、細胞の「性能」については詳細な解析はほとんど進められていない。細胞の機能（例：心筋での電位の測定、など）を解析したものはごく少数で、多くの分化誘導系で実際に生体内の細胞と比較してどの程度の水準にあるか明らかでない（低い場合が多い。例：インシュリン産生細胞のグルコース応答能など）。

機能細胞、前駆細胞の評価は適切な動物実験での評価が不可欠であるが、現状では、マウス・ラットの小動物が用いられる場合が多く、さらに機能評価を疾患モデル動物で行うのはさらに少ない。中動物や霊長類のモデル動物を用いて機能を解析している文献はまれである。

Geron による脊髄損傷への適用が最もはやいと思われる。米国以外では臨床研究へ移行でき

る段階に達している（Geron がそのレベルかどうかはわからないが）ものは無いようである。

E S I (ES Cell International Pte, Ltd.) は ES 細胞の臨床応用を短期的な目標からはすでに外している（経営上の判断?）。

- ・移植細胞・組織の purity をどうするか。規格の考え方。

- ・モデル動物を用いた有効性の評価をどの程度のレベルで求めるのか。

- ・臨床応用可能な ES 細胞の確立

シンガポール E S I 社により GMP 対応の ES 細胞が樹立されているようであるが、規制当局が認定したというものではないようである。ヒト細胞をフィーダーとして用い、GMP に準拠して樹立している。用いた試薬類は表 1 のとおりで、動物由来成分フリーではない。基本的に製造業者に文書等も含めて GMP グレードで作らせることになる。

表 1 : cGMP-compliant reagents for human fibroblast and hESC culture

| Reagent | Supplier | Catalog number | Regulatory comments |
|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Knockout DMEM | Invitrogen Corporation, USA | 04-0044 | Custom manufactured under cGMP with full USP sterility testing |
| Knockout serum replacement | Invitrogen Corporation, USA | 04-0095 | Custom manufactured under cGMP with full USP sterility testing |
| L-Glutamine (200 mM) | Invitrogen Corporation, USA | 25090 | Manufactured under cGMP |
| Nonessential amino acids | Invitrogen Corporation, USA | 11140 | Manufactured under cGMP |
| Trypsin/EDTA | Invitrogen Corporation, USA | 25300 | Manufactured under cGMP; porcine parvovirus tested |
| PBS with calcium and magnesium | Invitrogen Corporation, USA | 14040 | Manufactured under cGMP |
| PBS without calcium and magnesium | Invitrogen Corporation, USA | 14190 | Manufactured under cGMP |
| DMEM | Invitrogen Corporation, USA | 22320 or 12320 | Manufactured under cGMP |
| Collagenase NB6 | Nordmark Arzneimittel GmbH, Germany | 17458 | Manufactured according to cGMP guidelines, sterility tested according to EP |
| Human basic FGF | Strathmann Biotech AG, Germany | 9511060 hFGFb | Manufactured under cGMP |
| Fetal bovine serum | Cambrex Bio Science, USA | 14506F (Australian origin) | Qualified under cGMP |
| Fetal bovine serum | Cambrex Bio Science, USA | 14501 Q (USA origin) | Qualified under cGMP |
| DMSO | Sigma-Aldrich, USA | D2438 | Biotechnology performance certified USP & EP compliant |

Phillips BW, (ESI, Singapore) *Journal of Biotechnology* 134,79-87 (2007)

・合成培地の開発状況

これまでに、Defined medium としていくつか報告されている。上記と同様に動物フリーではない。またフィーダー細胞を用いず培養する場合には、マウス由来であるマトリゲルをコートした培養皿で培養するものが多い。そのため、これらの培養条件をそのまま、GM P 対応の培養とすることは難しい。

Research grade の E S 細胞の培養法について、培養条件を一定にすることにより、実験

結果の比較をしやすいなどの目的で、

Defined medium の比較研究プロジェクトが進められている。

将来的には、臨床応用のための E S 細胞培養法を国際的に標準化する計画につながると思われる。

研究用・臨床用いずれについても国際的なセルバンク構築を目指した議論が進められている。E S 細胞の規格・品質管理法などの標準化が検討されることになるだろう。

| Reference | Basal media | supplement | Matrix | passaged with | tested cell line |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------|-----------------------------|
| Li et al., Biotechnol Bioeng 2005 | X-VIVO 10 | hbFGF hFlt3 ligand | Matrigel(1:30) | collagenase IV | H1 |
| Liu et al., BBRC 2006 | DMEM/F12 | N2B27 bFGF | Matrigel (1:30) | collagenase IV | H1, H9 |
| Vallier et al., JCS 2005 | IMDM/F12 | insulin transferin monothioglycerol BSA fractionV Activin A bFGF | Matrigel(1:30) | collagenase IV | H9 |
| Lu et al., PNAS 2006 | DMEM/F12 | insulin transferin Wnt 3a BAFF Albumin cholesterol supp | Matrigel (1:30) | collagenase IV | H9, BG01 |
| Yao et al., PNAS 2006 | DMEM/F12 | N2B27 BSA bFGF | Matrigel(1:30) | collagenase IV | H1, HSF6 |
| Ludwig et al., Nat Methods 2006 | mTeSRTM1 | bFGF TGF-beta GABA pipecolic acid LICI | Matrigel (1:30) | dispase | |
| Wang et al., Blood 2007 | StemPro hESC SFM | | Matrigel(1:30) | collagenase IV | H1, BG02, BG01, BG03, CyT49 |
| HEScGRO [Millipore] | Hesc-GRO | | | collagenase IV | |

・ E S細胞の培養下における変異
 培養下で細胞に生じる変異についてはいまだ系統だった研究は行われていない。一般に sub-optimal な環境下での継代が、比較的短期間でのゲノム変異につながると見られており、とくに未分化維持に関連した遺伝子がある 12, 17 番染色体の増幅がしばしば報告される。このような異常はヒト EC細胞でもしばしば観察されるといわれ、未分化細胞の増殖に有利に働くと推測され、継代を重ねることで、この

ような変異を持つ細胞が優勢になるものと考えられる。また、ゲノムだけでなく、DNAメチル化状態などのエピジェネティックな変異が生じることも明らかにされているが、これらが E S細胞の分化能等に及ぼす影響は全くわからない。

ゲノム・エピゲノム変異が作成される分化細胞の機能や、造腫瘍性にどのような影響を及ぼすのかは、研究が進んでおらず、品質管理の規格化上、問題になるかもしれない。

H19年度 厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

分担研究報告書

2. ヒト多能性幹細胞の臨床利用の方法のロードマップについて

笹井芳樹 理化学研究所発生・再生科学総合研究センター細胞分化・器官発生研究グループ

グループディレクター

松山晃文 大阪大学医学部付属病院未来医療センター 准教授

要旨

1990年代後半に米国でヒト多能性幹細胞（ヒトES細胞）の樹立が報告されて以来、ヒト多能性幹細胞の臨床応用、特に細胞治療への応用の期待は全世界的に非常に高い。加えて、2007年には京都大学、ウイスコンシン大学、ハーバード大学からヒト体細胞からのiPS細胞の樹立が相次いで報告された。こうした背景に基づき、本論では共通点の多い2つのヒト多能性幹細胞について、それらの臨床応用に向け想定される課題を総括するとともに、それらの解決に関するロードマップについて考察した。

A. 目的

1990年代後半に米国でヒト多能性幹細胞（ヒトES細胞）の樹立が報告されて以来、ヒト多能性幹細胞の臨床応用、特に細胞治療への応用の期待は全世界的に非常に高い。特に、これまで効果的な治療法がなかった難病への治療法の開発が強く叫ばれてきた。これを受けて、本邦では2000年に当時の科学技術会議は、将来のヒトES細胞のヒトへの適用による臨床研究を想定したうえで、研究指針の設定を求めると

ともに、安全性などの医学的理由からヒトへの投与に関するモラトリアムを決定した。総合科学技術会議（科学技術会議の後継）の2001年8月のヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針について「ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針」について答申を受け、文部科学大臣は同指針を同年9月に設定した。これをもとに、2003年には京都大学でヒトES細胞株（3株）が廃棄決定済みの凍結余剰胚から樹立され、広く国内のヒト多能性幹細胞の研究に供さ

れてきた。

一方、2007年には、京都大学、ウィスコンシン大学、ハーバード大学からヒト体細胞からの iPS 細胞の樹立が相次いで報告された。これらの iPS 細胞は Oct3/4, Sox2 などの3-4種類の外来遺伝子をウイルスベクターでヒト成人皮膚線維芽細胞などに導入することで、分化を再プログラム化（初期化）したものであり、マウスで開発された iPS 細胞樹立法を少し改良した方法によるものであった。

こうした背景に基づき、本論では共通点の多い2つのヒト多能性幹細胞について、それらの臨床応用に向け想定される課題を総括するとともに、それらの解決に関するロードマップについて考察したい。

B. 方法

ヒト多能性幹細胞の医学的利用に関する課題を抽出し、それら課題について議論を行なうこととした。

C. 結果

C-1. 臨床応用に向け想定される課題

下記の課題がヒト多能性幹細胞の医学利用で考慮されるべき重要項目である。

1) 臨床応用のためのヒト多能性幹細胞の

樹立（ヒト iPS 細胞における遺伝子導入と腫瘍化などの問題を含む）

2) ヒト多能性幹細胞の維持培養と品質管理

3) ヒト多能性幹細胞からの分化培養技術と純化技術

4) ヒト多能性幹細胞由来の移植細胞のマスターセル、マスターセルバンク及びワーキングセルバンクの管理

5) 患者特異的ヒト iPS 細胞とHLAバンクの現実性と課題

6) 指針管理：臨床利用におけるヒト多能性幹細胞と他の株化細胞の異同

7) レシピエントへのインフォームドコンセントとレシピエントの自己責任

8) 社会への説明責任としての公開性・透明性

以下、個別に短く検討するとともに、最後にそれらを効率良く解決し、可及的速やかに臨床応用へつなげるための時系列関係（ロードマップ）についても言及する。

C-2.1 臨床応用のためのヒト多能性幹細胞の樹立

(1) ヒト ES 細胞

これまでに既に3株のヒト ES 細胞が本邦で樹立された。現在、京都大学再生医科

学研究所および国立成育医療センターの2施設はヒトES細胞の樹立のため、研究指針に基づく文部科学大臣の確認を受けており、樹立研究を継続中である。両者ともGMPに準拠した臨床応用グレードであって、わが国の薬事関連各種法令通知等に準拠したヒトES細胞の樹立を予定し、そのための施設整備を行ってきている。

2003年のヒトES細胞の京都大学での樹立では、マウス由来のフィーダー細胞の利用や動物（牛を含む）由来の成分を含む培養液の利用が行われてきた。一般に、ヒト多能性幹細胞（ES細胞、iPS細胞ともに）は培養条件の制限が厳しい。特に樹立の段階に関しては、フィーダー細胞のヒト化またはマトリクスによる代用、培養液などからの動物由来成分などの除去・最小化などの最適化を行う必要があり、国際的にも開発競争が盛んである。ここで一つの問題は、臨床応用の樹立のための培養技術の安全面での規制や規範が本邦で未だ明確でないことである。しかし、樹立についてのみ、培養面での安全性を特別化する必要は稀薄であり、一般的な幹細胞株培養の規制の適用が合理的であると考えられ、現在改定が進んでいる「同種由来ヒト細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関

する指針」（2008年4月9日現在、パブリックコメント募集中）においてもこの考え方が踏襲されている。本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であるので、指針を一律に適用したり、指針等の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある。従って、個々の臨床研究・試験の実施や評価に際しては、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースの原則で柔軟に対応するべきであろう。

その他の考慮点としては、廃棄決定済みの余剰胚の提供時のドナーからのインフォームドコンセントの取得である。この点に関しては、文部科学省の研究面での樹立に関する指針で、極めて厳格に規制されており、それに準じた運用で十分なドナーの権利保護がなされると考えられる。但し、ヒトへの投与が将来なされる可能性があることやそれに伴う利益・不利益を得ないことを十分に説明し、納得を得ることが必要であろう。一般的に臨床研究への自己試料提供にあたっては、患者情報と試料との連結不可対応が望まれるが、臨床利用された後に疾病の発症等が生じた場合、遡及する必要がある場合があるため、連結可能性は残しておくべきであろう。

(2) ヒト iPS 細胞

ヒト iPS 細胞は国際的に既に複数の研究機関が樹立され、多能性が立証されており、その樹立は研究面の技術としては確立していると考えられる。一方、臨床応用に関しては、レトロウイルスベクターを用いていること、原法では Myc, Klf4 など腫瘍化との関係が論じられる外来遺伝子を導入していること、ゲノムへの傷の有無の問題などが細胞の安全面で懸念されている。実際、マウスの iPS 細胞の研究では、Oct3/4, Sox2, Klf4, Myc の 4 つの外来遺伝子を導入して樹立した iPS 細胞の場合、それらから発生させたキメラマウスで高頻度に甲状腺などの分化組織でも腫瘍形成（非奇形腫）が生じることが明らかとなった。一方で、Myc を除く、3 因子で作成したマウス iPS 細胞ではそうした腫瘍形成の頻度は有意に下がることも報告されている。今後のヒト iPS 細胞の臨床利用を考えるうえで、ヒト iPS 細胞での同様の研究・解析を注意深く見守る必要がある。また、同時に、外来遺伝子のゲノムへの挿入を伴わない樹立方法（薬剤誘導や一過性遺伝子発現やタンパク導入など）も世界的な開発競争の途上であり、安全性担保の観点からも重要である。現在、安全性担保の観点から改定が進んで

いる「同種由来ヒト細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針」においても、本分野における科学的進歩や経験の蓄積は日進月歩であるので、指針を一律に適用したり、指針等の内容が必要事項すべてを包含しているとみなすことが必ずしも適切でない場合もある、とされている。従って、個々の臨床研究・試験の実施や評価に際しては、その時点の学問の進歩を反映した合理的根拠に基づき、ケース・バイ・ケースの原則で柔軟に対応するべきであろう。

ヒト iPS 細胞の樹立培養においては、旧来のヒト ES 細胞樹立と同じ条件（マウス由来フィーダー細胞と牛由来の成分を含む培養液）が使用されており、上記 1. と同じく培養条件面での安全性技術の開発を、ヒト ES 細胞樹立と併行して今後、急速に進められることが期待される。ES 細胞樹立において議論される生命の滅失という議論はヒト iPS 細胞の樹立培養に関してはないものの、生殖細胞へと分化せしめることも可能であり、理論上はクローンの作成も可能であるという点は十分に考慮すべきであり、何らかの歯止めは必要であろう。なお、一般的に臨床研究への自己試料提供にあたっては、患者情報と試料との連結不可対応が

望まれるが、臨床利用された後に疾病の発症等が生じた場合、遡及する必要がある場合があるため、連結可能性は残しておくべきと考える。

ヒト iPS 細胞株の規制にあたり、これをヒト幹細胞臨床指針の範囲とするのかあるいは遺伝子治療の範疇と考えるのかも問題であろう。

C-2.2 ヒト多能性幹細胞の維持培養と品質管理

ヒト多能性幹細胞はどちらも維持培養条件は類似している。ヒト ES 細胞と iPS 細胞は維持培養に関しては、これまでフィーダー細胞や動物成分含有の培地の利用が一般的であった。最近、いくつかの化学合成培地がすでに報告され、市販も開始されているが、ヒト由来のフィーダー細胞または培養基質の開発に合わせて、培養系全体での最適化を急速に進める必要がある。また、最近開発された ROCK 阻害剤法の利用により、単一細胞由来コロニーからのヒト多能性幹細胞株を培養することも可能となり、品質管理における均一性では重要な進歩である。フィーダー細胞に関するガイドラインは現在のところ策定されておらず、速急な対応が必要かもしれない。

その他、一般的な安全性・品質試験については、山口・松山らの稿（「4. ヒト胚性幹 (ES) 細胞・人工多能性幹 (iPS) 細胞の品質・安全性確保に関する課題—現行指針に追記すべき要点」）を参照されたい。

C-2.3 ヒト多能性幹細胞からの分化培養技術と純化技術

ヒト多能性幹細胞の分化誘導法は、マウス ES 細胞の分化誘導法を応用する形で、最近急速に体系化されつつある。しかし、脳神経系、血液系、心筋などの効率化が進んでいる細胞種と、未だ効率の悪いものの両者がある。効率化が進んでいる細胞種のうち、細胞治療に適したものは特に今後の臨床利用への期待が高くなるであろう。

その際に重要なのは、現在の技術では、ヒト多能性幹細胞からの分化誘導は決して1つの細胞種が100%になることはないことである。従って、さらなる分化効率に加えて、有用細胞の純化技術が開発の重要な部分を占めてくる。純化には、有用細胞そのものの濃縮とともに、不要な混入細胞（特に奇形腫を作る可能性がある未分化な多能性幹細胞）の除去が効果的である。また、分化細胞についても、夾雑細胞の安全性の確認は重要なポイントであると考えら

れる。

一方で、ヒト多能性幹細胞を用途に合わせて分化させるのではなく、例えば巨核球細胞株、心筋幹細胞株、神経幹細胞株など子株を樹立し、それら未分化性が低下しコミットメントした子株の有用性を検証して行くという方策もあろう。

C-2.4 ヒト多能性幹細胞由来の移植細胞のマスターセル、マスターセルバンク及びワーキングセルバンクの管理

ヒト多能性幹細胞の維持培養に関する一つの留意点は、長期培養における染色体異常の発生の問題である。ヒトへの応用を考える際に、マスターセルでの核型の確認は重要である（ただし、ヒト株化細胞にすべて共通の確認点であるが）。また、その点からも、マスターセルは最終投与する細胞と比較的近い培養（分化・調製）段階で作成され、それからの抽出サンプルでの *in vitro* および *in vivo* での安全性検証をすることが望ましい。

特にマスターセルバンクに関しては、マスターセルバンクを複数個所で保存する必要がある。わが国で2~3箇所のバンク機関を指定し、バンクの汚染、天災など予期せぬ事態に対処しておく必要性があろう。

C-2.5 患者特異的ヒト iPS 細胞とHLAバンクの現実性と課題

上記に述べたように、ヒト iPS 細胞の臨床利用には、遺伝子導入などに関係する安全性の研究が殊に必要である。一方、ヒト iPS 細胞への期待は、免疫拒絶を回避できる自己細胞またはHLA合致細胞の移植への利用である。この点に関しては、免疫拒絶が弱い中枢神経系組織や自己抗体の存在するI型糖尿病などでは、あまりメリットを生じない。それらの疾患に関しては、ヒト ES 細胞の利用は合理的であると考えられる。

一方、免疫拒絶が強く、強いあるいは長期の免疫抑制を必要とする細胞・組織の移植ではヒト iPS 細胞の利用はヒト ES 細胞以上のメリットを生む可能性がある。遺伝病のように自己細胞の利用が合理的でない場合も、長期的には細胞への遺伝子治療との併用の可能性はある。しかし、その場合は、臍帯血バンクのような HLA バンクをヒト iPS 細胞に関しても樹立して、利用することも議論はなされている。またヒト iPS 細胞の樹立が時間的に間に合わない急性期・亜急性期治療の必要な移植（脊髄損傷や急性心筋梗塞など）にもヒト iPS 細胞HLA

バンクの意義も検討されている。

このように、免疫拒絶を惹起しにくいヒト iPS 細胞の利用は、いくつかの点で優れたメリットを移植治療に関してもたらす可能性がある。一方、安全性検証の点では、患者あるいは HLA 特異的なヒト iPS 細胞の利用には現実的な困難さを伴うことも考慮すべきである。また、iPS 細胞が作成されれば事足りるわけではなく、当該細胞を移植した場合の免疫抑制使用のプロトコールも必要であり、HLA バンキングした際には、それぞれに免疫抑制剤プロトコールを策定する必要があることは認識すべきである。

株化細胞であり、継代培養で性格が変わりうるヒト多能性幹細胞の場合、安全性検証は移植のための個々のマスターセルのレベルで行う必要がある（上記）。ヒト ES 細胞の場合、同一疾患に対して同一の細胞種を移植する場合（例えばパーキンソン病に分化させたドーパミン神経細胞）、その施設（またはスタディー）では患者は1つのマスターセルストックからのサンプルを利用することになる（免疫抑制の有無は別にして）。従って、安全性検証はその1つのマスターセルストックからの抽出サンプルで行えばよい。

一方、患者あるいは HLA 特異的なヒト iPS 細胞の利用では、患者数（あるいは HLA 型数）と同じ数（あるいは安全のためにその2-3倍）のマスターセルストックを移植細胞種ごとに作成し、それら一つ一つを安全性検証する必要がある。特に腫瘍化検証の様に、複数の動物への移植で長期間観察が必要なばあい、こうした後ろ向き安全性検証 (retrospective test) は容易ではない。その意味では、樹立株の数より、安全性検証の数がリミットとなる可能性が現状では高い。これを克服するためには、高感度の前向き安全性検証 (prospective test) 法の開発が必須であろう。

C-2.6 指針管理：臨床利用におけるヒト多能性幹細胞と他の株化細胞の異同

ヒト多能性幹細胞の臨床利用の指針管理については、その樹立を含めて基本的に株化細胞全般に関する安全性の規制に内包されると考えられる。但し、ヒト iPS 細胞に関しては、遺伝子治療指針との整合性の観点からの別途考慮が必要ある。しかし、ヒト iPS 細胞技術自体が極めて新しいものであり、遺伝子導入の観点からも今後のイノベーションの点で大きな変貌を遂げる可能性が高い。その観点からの注意深いフォロー

ーアップが今後とも必要であろう。加えて、細胞組織利用医薬品医療機器としての各種法令との整合性検討も行なわれるべきである。

C-2.7 レシピエントへのインフォームド コンセントとレシピエントの自己責任

ヒト多能性幹細胞の臨床利用にあたっては、その頒布性の高さから、特に遺伝的背景を理解したうえでの利用が望まれる。遺伝的背景を理解したうえでの使用とは、例えばヒト多能性幹細胞の由来細胞・組織を提供した者の病歴・既往歴・家族歴等の取得、ヒト多能性幹細胞の疾病関連遺伝子解析等を行い、当該情報等からヒト多能性幹細胞を利用に伴う疾患発症の危険性を可能な限り忌避した上で使用すべきである、ということである。しかし、病歴・既往歴・家族歴等の十分な取得が困難であることも予想され、また疾患関連遺伝子解析等により疾患発症危険性がすべて予測できるものではないため、これら不確定性に伴う製品利用後の疾患発症の危険性に関し、臨床研究責任医師も治療を受ける者も主体的に理解したうえで用いるべきである。例えば、パーキンソン病の治療にヒト多能性幹細胞を利用される場合、当該細胞が遺伝的にパーキンソン病を発症しうる遺伝的特性を有

していないことが望まれ、少なくとも病歴・既往歴・家族歴等あるいは疾患関連遺伝子解析等によりパーキンソン病発症の危険性が予知される細胞は、当該疾患に関しては使用されるべきでない。一方で、それら情報が得られたとしても、危険性は完全には回避しえないことを、臨床研究責任医師も治療を受ける者も主体的に理解すべきである。

C-2.8 社会への説明責任としての公開 性・透明性

科学は社会の合意に基づいて実施され、社会に還元され、国民福祉に資するべきものである。とくに人権の確保の観点から、ヘルシンキ宣言やベルモントレポート作成の経緯を鑑み、その哲学を十二分に理解した上で行なわれるべきものである。とくにヒト多能性幹細胞を用いる臨床研究は、未知の領域であり、腫瘍形成の可能性、未知のウイルスの発生など予期せぬ危険性を秘め、加えてES細胞の利用においては生命の滅失という倫理的問題、iPS細胞においてもヒトクローン作成が理論的には可能であるという問題点がある。閉鎖された空間ではなく、つねにオープンに、議論しつつ、ともに疾病の治療にむけて社会と連携する

必要がある。

現在、これらの臨床研究でもリスクとベネフィットが論じられるが、その均衡という観点からの議論は不十分であると認識している。リスクベネフィットの算出方法を含め、新たな学問領域が創出されることを望む。

C-3 ヒト多能性幹細胞の臨床利用のロードマップ

イノベーションの出口として社会に還元する。そのためには、社会の合意のもの公開性・透明性を確保しつつ、早期に臨床利用にかかる基準の策定が望まれる。現在、平成12年医薬発1314号の改訂作業が行なわれており、ヒト（同種）細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針（案）がパブリックコメントにかかっている。ヒト多能性幹細胞を用いる医薬品医療機器に関しては、当該通知に則ることとなる。すべてを網羅する基準を策定することは、科学が日進月歩であることから困難であるが、一方で基準がなければ開発意欲をそぐという指摘ももつともである。効果及び副作用の検証方法の適正化と評価基準・開発指標の明確化が求められると考えている。一方で、現状で細かい基準を策

定すると、その基準、記載された数値が一人歩きしてしまい、規制のための規制になり、「角を矯めて牛を殺す」になりかねない。ケース・バイ・ケースで対応するため、アカデミアと規制当局との連携、対話がこれまで以上に求められるものである。

ヒト多能性幹細胞にあつては、特に胚性幹細胞株とiPS細胞株の対象疾患、対象患者の年齢や重症度により、各々相補的な位置を獲得するものと認識しているが、胚性幹細胞株であれiPS細胞株であれ今後も一層の科学的知見を蓄積され、その「使い分け」やアドバンテージ・ディスアドバンテージ、これらの相似点と差異が明らかにされると期待している。一つの現実的なアプローチとしては、比較的拒絶の弱いことが想定される神経細胞や視細胞などの移植や既に免疫抑制を受けているI型糖尿病の腎移植患者へのベータ細胞移植などで、ヒトES細胞の利用が免疫抑制剤下に先行して臨床試験され、効果や副作用検証などを十分行うことが考えられる。その上で、ヒト多能性幹細胞の再生医学利用のセカンドフェーズとしてヒトES細胞とiPS細胞（将来、さらに安全性の改善されたもの）の比較を十分なコントロールのもとに試験することが合理的であろう。

ヒト多能性幹細胞を用いる臨床研究に関しては、平成 20 年～21 年度には改定を行い。特に細胞株樹立にかかる評価項目については平成 20 年度中に方向性をしめされるものと認識している。当該基準に則って樹立されたヒト多能性幹細胞株を用いた臨床研究は、平成 22 年目度に開始可能となり、「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」に則って厚生労働大臣の意見が聴かれ

ると予想される。臨床研究の成果は、GCP 準拠であれば確認申請時の申請資料として用いると認識しており、GLP 水準での非臨床研究のデータとともに、一連の薬事申請に用いられよう。

近未来において、ヒト多能性幹細胞を用いる臨床がわが国で敷衍化されるものと期待している。