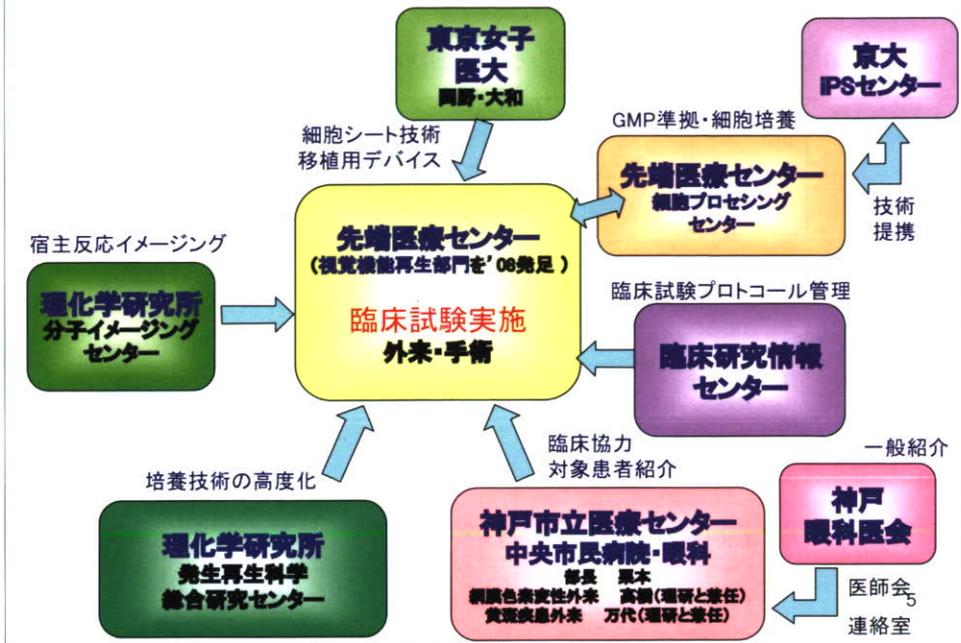


網膜色素上皮細胞(RPE)移植についての体制



パーキンソン病治療について

ヒトES細胞から誘導される神経・グリア細胞の種類と移植療法の対象疾患

分化誘導される神経系細胞	分化に使用される方法、因子	必要な日数	誘導効率(対全細胞比)	マーカー	モデル動物	治療が期待される疾患
大脳神経	SFEB法 Dkk1、LeftyA、 BMPRIA-Fc	35日	30%	BF1	中大脳動脈閉塞モデル	脳梗塞
ドーパミン産生神経	SDIA法 (PA6、MS5) McKayらの5-step法 Shh、FGF8、FGF20	50日	70%	TH、En1	6-OHDA or MPTPモデル	パーキンソン病
運動ニューロン	SDIA法(MS5) RA、Shh、GDNF、 BDNF、アスコルビン酸	60日	20%	Hoxb9、 ChAT	Mutant SOD1G93Aモデル	ALS
網膜神経細胞	Dkk1、IGF1、Noggin	90日	80%	Pax6、 Rx、Chx10	Aipl1-/-マウス	網膜色素変性
オリゴデンドロサイト	RA、EGF	42日	80%	O4、 GalC、NG2	脊髄損傷 shivererマウス	脊髄損傷 多発性硬化症

7

パーキンソン病をES細胞移植治療の対象とする理由 (臨床的視点から)

- 臨床での細胞移植の効果が実証されている唯一の神経疾患
- そのためヒトへの移植法や移植後の管理ノウハウが基本的に確立
(免疫抑制を含む) ルンド大学との連携
- 病態メカニズムがよく解明されており、動物モデル(サル等)も確立
(分子イメージングによる機能評価も可能)
- 単一種ニューロンの変性が主因であり、原因療法に近い治療が可能
(ドーパミン神経移植)
- 細胞移植が、従来の治療法を相補的に強化する関係にある
- 日本に10万人の患者。一般治療化すれば年間3千件以上の需要も



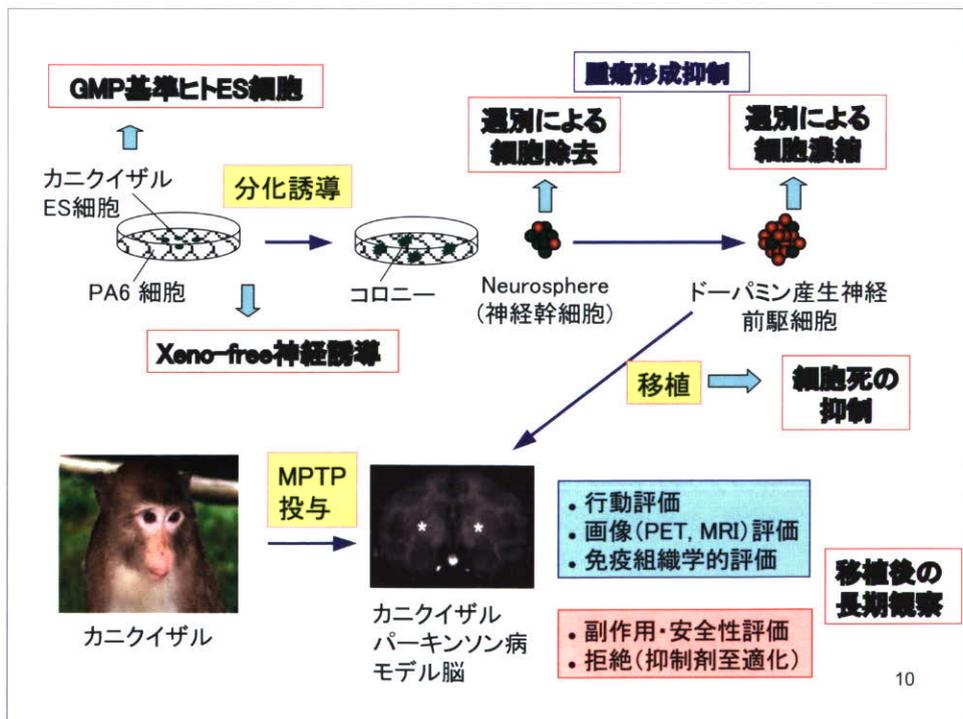
合理的・合目的な戦略により高い効果が期待できる。

8

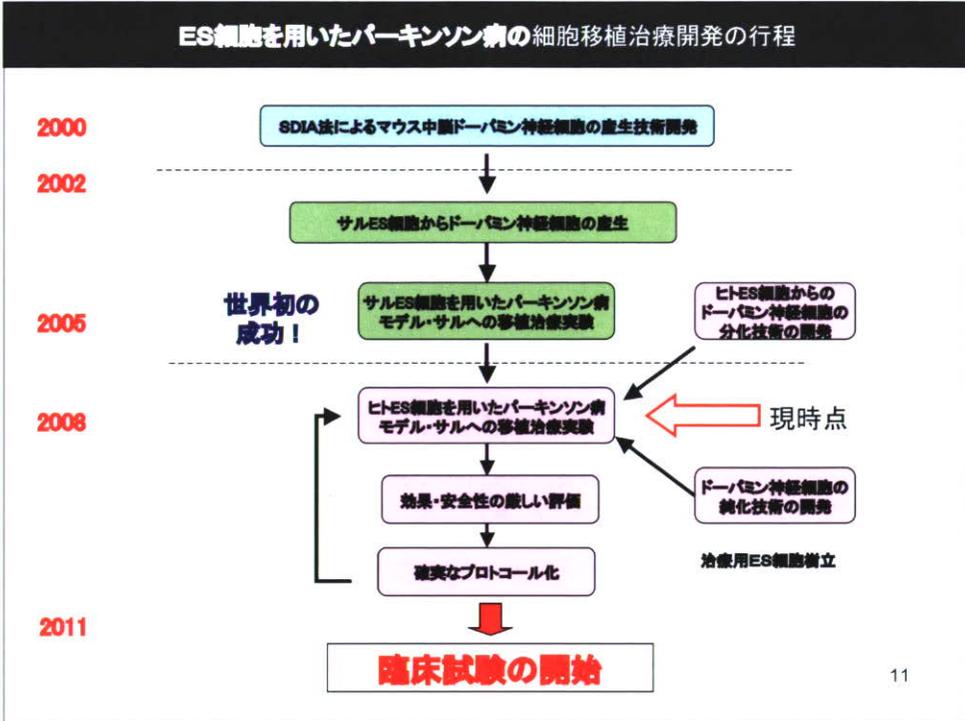
パーキンソン病をES細胞移植治療の対象とする理由 (バイオ技術的側面から)

- ・ ヒトES細胞からの分化技術が最も進んでいるドーパミン神経細胞を利用
- ・ すでにヒト由来の因子による培養系で分化誘導可能
- ・ その分化技術の特許を日本で確保している
(さらに、ヒトES細胞そのものは国内では特許による制限なし)
- ・ ES細胞由来のドーパミン神経細胞のin vitro 機能性が実証
- ・ 疾患モデルサルでの in vivo有効性(短期)がすでに実証
- ・ 疾患モデルサルで、ヒト治療の長期シミュレーションが可能
(有効性、安全性、分子イメージング、拒絶制御、従来治療法との比較や組合せ等)
- ・ 腫瘍化の回避や有効性向上のための、細胞選別技術開発に一定の目処

臨床への応用に極めて現実的な技術レベルに達してきている



10



- ## 臨床試験までの確認点
- **加齢黄斑変性(網膜色素上皮細胞:iPS細胞)**
 - <樹立>遺伝子導入細胞でよいか(遺伝子治療指針との整合性)
 - <純化>レーザーマイクロダイセクションによる純化は認められるか
 - <安全性>動物実験の安全性(腫瘍形成確認)は何匹、何ヶ月
 - iPS細胞の免疫反応確認(サル-サル自家移植)必要か
 - 中大型動物のモデルが存在しない場合ラットの治療データでよいか
 - 動物実験のデータがそろった患者iPS細胞作成は可能か
(これが**律速段階**: 患者iPSですべての実験を繰り返すので早いほど臨床試験も早期に実現)
 - **パーキンソン病(ドーパミン細胞:ES細胞)**
 - <樹立>治療用ヒトES細胞樹立の際の基準は
 - <純化> FACSによる純化が認められるか
 - <安全性>動物実験の安全性(腫瘍形成確認)は何匹、何ヶ月
 - どの細胞段階で安全性を確認か
(神経細胞は保存不可のため、保存可能な神経幹細胞の段階?) 12

分担報告書

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 国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部長

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

要旨

ヒト ES 細胞や iPS 細胞の品質・安全性確保のための基本的要件について調査研究を行った。ヒト幹細胞臨床研究指針やヒト細胞・組織加工医薬品等の指針を参考としたが、ヒト ES 細胞や iPS 細胞と多能性を持たない従来の細胞治療に用いられてきた細胞に求められる要件に関して基本的な違いはないと考えられる。しかし、ES 細胞や iPS 細胞を臨床応用に使用するには、樹立から、増幅、機能細胞への分化誘導という工程を経ると想定される。すなわち、従来の幹細胞臨床研究や細胞治療薬に比べ、非常に複雑な工程と長期に渡る培養・保存等が行われることから、①樹立工程の妥当性とその評価、②長期に渡る工程に関して目的とする特性を維持していることの評価、③ウイルス安全性、④望ましくない目的外細胞の混入の解析、⑤遺伝子改変を行う場合の要件、などについて特に配慮が求められると考えられる。そこで、本研究ではヒト ES 細胞や iPS 細胞の臨床応用に当たって特に配慮すべき事項を明らかにした。

A. 目的

ヒト ES 細胞を用いた基礎研究及び臨床研究については、昨年改正された「ヒト ES 細胞の樹立と使用に関する指針」（文部科学省告示第 87 号）においても当面基礎的研究にのみ限るとされ、いくつかの研究課題が進行中であるが、ES 細胞を用いた臨床研究につい

ては、別途基準が定められるまでは行わないものとされている。しかし、我が国により独自に開発された画期的な技術によりマウス iPS 細胞が樹立され、また、ヒト iPS 細胞も現実のものとなり、多能性を持った細胞を用いた臨床研究が現実のものとなりつつある。また、海外で ES 細胞由来の機能細胞を用い

た臨床開発も近い将来実施される可能性が高く、早急に臨床研究でES細胞やiPS細胞を用いるにあたっての基本的要件を明らかにする必要が出てきている。

基本的要件・基準の策定に当たっては、特にヒト幹細胞臨床研究で求められている要件に加えてどのような点に配慮すべきかを明らかにする必要がある。また、考慮すべき項目としては①ES細胞やiPS細胞の持つ多能性、②良性腫瘍のリスク、③悪性腫瘍のリスク、④遺伝子改変を行う場合の挿入変異のリスク、⑤長期フォローアップの必要性と用いる細胞の加工の程度に応じたフォローアップ体制のあり方など、多方面からの検討が必要となる。

一方で、これまでの「ヒト幹細胞臨床研究指針」に基づいて設定すべき品質・安全性確保についても取り上げる必要がある。特に、①それぞれの細胞の加工の程度、②血清の使用やフィーダー細胞の使用など培養条件、③細胞の履歴、特に細胞を提供したドナーに関する情報、④細胞バンクの作成、⑤目的とする細胞への誘導条件などについて必要な要素を明らかにする必要がある。

本研究では、ES細胞やiPS細胞の持つ様々な特性に着目しながら、これらの細胞を臨床研究で使用するための品質・安全性を担保す

るための基本的要件を明らかにし、将来の基準作りに資する検討を行った。

B. 方法

細胞治療・再生医療に関する国内関連基準や指針を参考とすると共に、欧米の細胞治療薬に関する指針についても調査の対象とした。また、遺伝子組換え技術を用いる可能性も高いことから我が国の遺伝子治療の指針や欧米の遺伝子治療の指針、さらには日米EU医薬品規制調和国际会議(ICH)の遺伝子治療専門家グループのコンセンサスペーパー等も調査の対象とした。

C. 結果

C-1. ES細胞やiPS細胞の品質・安全性確保

ES細胞やiPS細胞の作成やその維持には様々な方法が用いられている。すなわち、フィーダー細胞上で未分化状態を維持し、培養にも血清等の生物由来原料を用いる場合から、フィーダー細胞や血清を用いない方法も開発されようとしている。また、iPS細胞の作成に当たっては現在までのところ、レトロウイルスやレンチウイルスなどの染色体への挿入機能をもつウイルスベクターを用いた場合にのみ成功している。この点から、iPS細胞の品質や安全性評価においては *ex vivo*

遺伝子治療としての評価が必要と考えられる。ただし今後の技術発展によってはこれに該当しない加工・誘導方法も確立されてくる可能性が高いであろう。

またES細胞やiPS細胞を臨床研究に用いるに当たっては、多能性を維持した状態でヒトに投与されることは想定されておらず、目的とする機能を持つ細胞へ分化させてから使用されると考えられる。これまでも間葉系幹細胞など複数の細胞への分化能を持つ細胞を用いた臨床研究でも分化誘導を行った後にヒトへの投与が行われてきているが、ES細胞やiPS細胞では多能性を持つという点で大きく異なっている。このことは異所性の分化や望ましくない細胞への分化など、安全上の評価をどのようにするかが大きな課題となっている。このために、適切な分化誘導条件の設定と分化能を評価するための指標の設定が必要である。また、望ましくない分化が起きていないことを確認するための指標の設定や多能性を持つ細胞の残存を否定するための試験も必要となると考えられる。

以下に、ES細胞やiPS細胞を臨床研究に用いるに当たって品質や安全性確保の観点から求められる要素について明らかにする。

C-1.1 目的とするES細胞やiPS細胞

臨床研究に用いるES細胞やiPS細胞の起源及び由来、その生物学的特徴に関して次のような点を明らかにした上で、安全性に関する感染性因子等の検査結果を明らかにした上で、その適格性を説明することが求められるであろう。

(1) ES細胞やiPS細胞の起源及び由来

ドナーの個人情報と保護しつつ、可能な限り、起原・由来に関する情報が添付される必要があると考えられる。

(2) ES細胞やiPS細胞の生物学的特長や機能

形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的生産物質、HLAタイピング、その他適切な遺伝型あるいは表現型から適切な指標を選択して、ES細胞やiPS細胞の生物学的特長や機能を明らかにすることが必要とされる。

(3) ドナーの選択基準、適格性

ES細胞やiPS細胞を作成するための受精卵を提供された方、あるいはiPS細胞用の細胞のドナーとなった方の年齢、性別、民族学的特徴、病歴、健康状態、採取細胞・組織を介して感染する可能性がある各種感染症に関する検査項目、免疫適合性等を考慮した選択

基準、適格性基準を定めることが必要となる。

考慮すべきウイルスとしては、B型肝炎 (HBV)、C型肝炎 (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症、成人T細胞白血病 (HTLV)、パルボウイルスB19感染症、さらにはサイトメガロウイルス感染及びEBウイルス感染について検査等により否定することが必要となるであろう。人に感染性のある全てのウイルスを検査することが必要というわけではないが、樹立に用いたヒト受精卵の提供者やヒト細胞の特性を考慮して必要なウイルスをとりあげ検査を行うことが求められる。また、検査においては、その感度、精度等についてどのように評価したかを明らかにすると共に、最新の技術を用いて行うことが求められるであろう。しかし、最新の高精度・高感度な検査法を用いても、検査の限界があり、特にウインドウ期を考慮して、可能であれば一定の期間を過ぎた後にドナーの再検査を実施することが望ましい。

また、感染症の伝播を防止するためには検査だけでは、検出限界もあり十分な対応とはいえない。このために、既往歴、問診等の診断を実施することが必要となる。特に、1)梅毒トレポネーマ、クラミジア、淋菌、結核菌等の細菌による感染症・敗血症及びその疑い、2)悪性腫瘍、重篤な代謝、内分泌疾患、3)膠

原病、血液疾患、4)肝疾患、5)伝達性海綿状脳症の疑いを排除するために痴呆症などについて考慮するべきである。また、輸血、移植医療を受けたドナーからの採取は行うべきではないであろう。

(4) ドナーに関する記録

ES細胞やiPS細胞作成に用いた卵や細胞について、安全性確保上必要な情報が確認できるよう、ドナーに関する入手可能な記録が整備、保管されていることが必要であろう。

ドナーの個人情報の保護方策について具体的に規定することが必要である。一方で、細胞組織由来医薬品等の場合には、治療を受けた患者の安全性確保や公衆衛生の観点から完全連結不可対応を求めること科学的に望ましいことではない。従ってドナーの個人情報の保護を図りつつ、必要な情報が得られるような対策が必要と考えられる。倫理面から議論されるべき課題であるが、献血による血液製剤の製造にあたってのトレーサビリティの確保策が参考になるものと思われる。

(5) 細胞・組織の提供と施設

細胞・組織の提供において、採取者及び採取医療機関等の適格性に関する基準ないし

は規定により、採取者及び採取医療機関等に求めるべき技術的要件について、明らかにすべきである。これは、採取の段階からトレーサビリティを求めるべきとの観点からの問題意識である。

C-1.2. 目的とする細胞以外の原材料及び製造関連物質

ES 細胞や iPS 細胞の樹立、増幅、機能誘導等に用いる細胞以外の原材料及びその他の製造に必要な物質について、その由来に基づく評価や受け入れ試験等により適格性を明らかにすることが必要である。必要により受け入れ規格を設定することなどの方策により、品質管理を行うことが必要である。

感染因子の伝播のリスクをできる限り低減するべきとの観点から、薬事法上の特定生物由来製品又は生物由来製品に該当する原材料として使用する場合は、その使用量を必要最小限とすることが求められる。さらに、可能な限り「生物由来原料基準」（平成 15 年厚生労働省告示第 210 号）を始めとする関連法令及び通知に準じた対応をとることが望ましい。特に製造に特定生物由来製品を用いる場合には、その潜在的なリスクについて患者へ十分な説明を行うことを考慮するべきであろう。また、遡及調査等の確保策につ

いても検討を行うことが必要となるであろう。

しかし、臨床研究において全て薬事法に準じた対応をとることは困難な場合やあるいは過度の規制になることも想定されることから、可能でかつ科学的に合理的な範囲での対応をとることが望ましいと考えられる。

(1) ES 細胞や iPS 細胞の樹立、培養を行う工程

①培地、添加成分（血清、成長因子及び抗生物質等）及び樹立に用いる試薬、分化誘導等の処理に用いる試薬等のすべての成分等についてその適格性を明らかにし、必要に応じて規格を設定することが求められる。また、各成分等の適格性の判定及び規格の設定においては、臨床研究での使用方法等を考慮すべきである。細胞のクローニングを行う場合には、どのような細胞を選択しようとするのかを明らかにするとともに、選択した細胞の特性解析法、適格性の評価法を明らかにすることが必要となる。

②培地成分の品質・安全性を担保するために、

1) 細胞培養に用いる培地成分等は、できる限り医薬品を用いるか、高純度な医薬品に準ずる基準で品質管理された成分を用いるこ

と、2) 培地に使用する成分は主成分のみでなく使用するすべての成分について明らかにすること、3) すべての成分を含有した培地の最終品については、無菌性及び目的とした培養に適していること確認すること等の対策をとることが求められる。

③ 感染因子の伝達防止の観点から異種血清及び異種もしくはヒトの血清に由来する成分については、細胞活性化又は増殖等の加工に必須でなければ使用するべきではないと考えられる。細胞の樹立、増幅、分化誘導に血清等の使用が避けられない場合には、血清等からの細菌、真菌、ウイルス、異常プリオン等の混入・伝播リスクを可能な限り低減化する方策をとることが必要である。このために、1) 血清等の由来を明確化、2) 牛海綿状脳症発生地域の血清の忌避、3) 血清由来動物種を考慮したウイルスやマイコプラズマ否定試験の実施、4) 必要に応じて放射線処理、紫外線処理等々による潜在的な感染因子の低減化を行うなどの対策を行うことが必要である。

また、できる限り ES 細胞や iPS 細胞の樹立、培養、分化誘導を行う工程を通じて、ウイルス等の感染因子のモニタリングを行うことが望ましいと考えられる。さらに、将来、

万が一感染症の発症が起こった場合や望ましくない免疫反応が生じた場合の遡及調査のために、使用した血清の一部を保管することが有用である。

④ 抗生物質の使用は極力避けることが望ましいであろう。ただし口腔粘膜細胞などから iPS 細胞を樹立するなど特定の組織から細胞を得る場合には汚染が避け得ない場合がある。このような細胞を用いる場合には、由来する環境から製造初期の工程において抗生物質の使用が不可欠と考えられる。やむを得ず抗生物質を使用する場合、その後の工程で可能な限り漸減を図ることが求められる。また、臨床研究に際して、投与される製品中の推定残存量、患者に及ぼす影響などの面から抗生物質の使用の妥当性を考慮するべきである。

できるかぎり患者に対して用いる抗生物質に過敏症の既往症がないか調査することが必要であり、既往症がある場合には該当する抗生物質は使用すべきではない。

なお、抗生物質を使用する場合でも十分に除去されることが立証される場合には、その使用を妨げる必要はないと考えられる。

一方、抗生物質を継続して使用している場合には、無菌性試験において誤った試験結果

を導く可能性がある。抗生物質を添加して培養を行っている場合には、無菌性試験で抗生物質の影響を排除するような対策をとる必要がある。

⑤ 増殖因子やサイトカイン等を用いる場合には、細胞培養工程の再現性を保証するために、純度及び力価に関する規格を設定することが必要であろう。特に、用いる増殖因子やサイトカイン等がES細胞やiPS細胞としての特性維持のための必須因子である場合や、目的とする機能細胞への分化誘導において中心的な役割を果たす因子である場合には、適切な品質管理を行うことが求められるであろう。

⑥ 最終製品に含有している可能性のある培地成分や操作のために用いられたその他の成分等については、生体に悪影響を及ぼさないものを選択すること。

特に、患者に繰り返し投与を行う製品に関しては、血清や他の製造工程由来不純物によって引き起こされる免疫反応にも十分に配慮する必要がある。

⑦ フィーダー細胞を用いる場合には、細胞バンク化を通じて感染因子について徹底し

た試験を実施し、汚染の無いこと確認することが必要である。バンク化された細胞の特性試験については、ICH Q5D ガイドラインを参照することが推奨される。採用した培養期間を超えて培養した細胞と樹立したマスターセルバンクやワーキングセルバンクの特性を比較し、製造工程での培養期間を通じてフィーダー細胞が目的とするES細胞やiPS細胞の維持や機能分化を十分に達成できる品質特性を維持していることを明らかにしておくことが必要である。

また、フィーダー細胞として異種動物由来の細胞を用いる場合には、適切な指針を参考にしながら異種動物由来の感染症のリスクの観点から安全性を確保することが求められる。

(2) ES細胞やiPS細胞を非細胞・組織成分と組み合わせる場合の考慮事項

①細胞以外の原材料（マトリックス、医療材料、スキャフォールド、支持膜、ファイバー及びビーズ等）が臨床研究において細胞とともに一体として投与される場合には、細胞とともに用いる原材料の品質及び安全性についてできる限りの知見を収集して、その使用の妥当性を考察することが求められる。さらに、使用する原材料の種類と特性、細胞と

もに投与する際の形態・機能及び想定される臨床効果の観点から見た品質、安全性及び有効性を総合して、適切な情報を明らかにすることが必要であろう。生体吸収性材料を用いる場合には、分解生成物に関して必要な試験を実施することが必要となる。一方、用いる原材料が長期に亘って患者体内に残存する性質を持つ場合には、医療材料として長期に亘る安全性が確認されていることが必要であろう。

なお、原材料に関してどのような試験を実施するか等については、「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的試験の基本的考え方について」（厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知、平成15年2月13日付け医薬審発第0213001号）等の指針を参照することが望ましい

② 目的とする細胞との相互作用について、

1) 非細胞構成成分が、想定される臨床効果に必要な機能、生育能力、活性及び安定性に悪影響を与えないこと、2) 非細胞構成成分との相互作用によって起こり得る、細胞の変異、形質転換及び脱分化等を考慮して、その影響を評価すること、3) 細胞との相互作用によって、非細胞構成成分が期待される臨床効果を損なわないこと、などを評価すること。

③ ES細胞やiPS細胞を隔離する目的で非細胞構成成分を使用する場合、次のような項目等に関して効果、安全性を確認することが必要である。

- 1) 免疫隔離の程度
- 2) 細胞由来の目的生理活性物質の膜透過キネティクスと薬理効果
- 3) 栄養成分及び排泄物の拡散
- 4) 非細胞・組織成分が適用部位周辺に及ぼす影響

(3) 細胞に遺伝子工学的改変を加える場合

細胞の樹立や機能誘導のために遺伝子を導入する場合は、① 目的遺伝子の構造、由来、入手方法、クローニング方法、ベクター調製のためのセル・バンクの調製方法、管理方法、更新方法等に関する情報、② 導入遺伝子の性質、③ 目的遺伝子産物の構造、生物活性及び性質、④ 遺伝子導入構成体を作製するために必要なすべての原材料、性質及び手順（遺伝子導入法並びに遺伝子導入用ベクターの由来、性質及び入手方法等）、⑤ 遺伝子導入構成体の構造や特性、⑥ ベクターや遺伝子導入構成体を作製するための細胞やウイルスのバンク化及びバンクの管理方法について、明らかにすることが求められるであろう。

遺伝子導入細胞の製造方法については、平成16年文部科学省・厚生労働省告示第2号2004年12月28日「遺伝子治療臨床研究に関する指針」を参照すること。

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成15年法律第97号)に基づき、「ヒトの細胞等」若しくは「分化する能力を有する、又は分化した細胞等であつて、自然条件において個体に成育しないもの」以外の細胞は、本法律の対象外であるが、その細胞をヒトへ投与する際には、別途手続きが必要となる。なお、複数の遺伝子導入構成体が用いられる場合も想定されるが、それら複数の遺伝子導入体はパッケージとして取り扱うこととする。

レトロウイルスベクターやレンチウイルス等の染色体への挿入機構を持つベクターを用いる場合には、特に遺伝子挿入変異によるがん化が懸念されるために、長期フォローアップ等の対策をとることが必要とされる。レトロウイルスベクターを用いたX連鎖重度免疫不全症(X-SCID)の白血病症状の発症は、治療後4-5年を経て発症している事例もあり、さらに現在英仏ではプロトコールは終了されているものの今後も発症のリスクがあると考えられていることなどを考慮すると、かなりの長期に渡ってモニタリングを実

施することが必要であろう。

またヒトでの挿入変異による発がんを予測することは現時点では困難であり、免疫抑制動物等を用いた造腫瘍試験についても限定的な情報しか得られないことを十分に留意すべきである。

C-2. 細胞の加工工程

ES細胞やiPS細胞の製造に当たっては、樹立、増幅、分化誘導の各工程の詳細を明らかにすることが求められる。また、品質の一定性を保持するために、採用した各工程の妥当性について可能な範囲で検証することが必要である。

C-2.1. 製造方法

ES細胞やiPS細胞作成に用いる受精卵やヒト細胞の受け入れから最終製品にいたる製造の方法の概要を示すことが求められ、各処理の具体的な内容や特に重要と考えられる工程の管理法(工程内管理)、品質管理の内容を明らかにすることが必要である。

(1) 受入検査

原材料とする細胞・組織について、受け入れ試験を実施することが必要である。受け入れ試験では、細胞や組織の種類や使用目的に応じて、試験検査の項目(例えば、目視検査、

顕微鏡検査、採取収率、生存率、細胞・組織の特性解析及び微生物試験等)を設定するとともに、その判定基準についても設定することが求められる。

(2) 細菌、真菌及びウイルス等の不活化・除去

原材料となる組織等について、必要かつ可能な場合は細菌、真菌及びウイルス等を不活化又は除去する処理を行うこと。ただし、目的とする細胞の細胞生存率や表現型、遺伝形質及び特有の機能その他の特性及び品質に影響を及ぼさない範囲での実施を考慮することが必要である。その不活化工程の内容と不活化の評価法について明らかにすることが求められる。

(3) 組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離等

ES細胞やiPS細胞樹立の初期の過程で行われる組織の細切、細胞の分離、特定細胞の単離及びそれらの洗浄等の方法の内容を明らかにすることが必要である。特定細胞の単離を行う場合には、単離した細胞の純度等についての確認方法を設定しておくことが必要である。

(4) 培養工程

培養工程で用いられる培地、培養条件、培養期間及び収率等を明らかにすることが必要である。

(5) 株化工程

ES細胞やiPS細胞の樹立は一般に株化工程が含まれると考えられる。樹立に当たっては、ドナーの遺伝的背景を理解したうえで実施することが必要である。樹立の方法を明確にし、可能な範囲でその妥当性を明らかにすることが求められる。

株化細胞の品質の均質性および安定性を保持するため、必要な特性解析要件(細胞純度、形態学的評価、表現型特異的マーカー、核型など)を選択し、その基準を設定することが求められる。また、ES細胞やiPS細胞としての特性を維持したまま増殖が可能な継代数を示すことが求められる。株化細胞に関しては、適切な動物モデル等を利用し、腫瘍形成及びがん化の可能性についての試験を実施し、その結果よりがん化のリスクについて考察することが求められる。

(6) 細胞のバンク化

ES細胞やiPS細胞として、細胞をバンク化する場合には、セル・バンクの作製方法及び

セル・バンクの特性解析、保存・維持・管理方法・更新方法その他の各作業工程や試験に関する手順等について詳細を明らかにし、妥当性を示すことが求められる。

(7) 製造工程中の取り違え及びクロスコンタミネーション防止対策

ES 細胞や iPS 細胞の樹立、培養、分化誘導の工程での取り違え及びクロスコンタミネーションの防止が重要であり、工程管理における防止対策を明らかにすることが求められる。

C-2. 2. 培養・分化誘導した ES 細胞や iPS 細胞の特性解析

培養工程や分化誘導工程前後での ES 細胞や iPS 細胞について、工程で目的とする特性が維持されているか、目的とする分化誘導が行われたかを調べるために、例えば、形態学的特徴、増殖特性、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質、その他適切な遺伝型又は表現型の指標を解析するとともに、必要に応じて機能解析を行うことが求められる。

分化誘導を行った後で、目的外の細胞への誘導や多能性を持った細胞の残存性などについて、その残存数、また患者に投与したときに望ましくない誘導が起きないかについての

評価を行い、必要かつ可能であれば、試験法と規格基準を設定することが求められる。

また、培養期間の妥当性及び細胞の安定性を評価するために、予定の培養期間を超えて培養した細胞において目的外の変化がないことを示すことが必要である。

C-2. 3. 製造方法の恒常性

ES 細胞や iPS 細胞の製造に当たっては、製造工程を通じて、製品の細胞数、細胞生存率並びに製品の使用目的及び適用方法等からみた特性の恒常性が担保されていることを複数の試験的検体を用いてあらかじめ評価しておくことが求められる。

製造工程中の凍結保存期間や加工に伴う細胞培養の期間が長期に及ぶ場合には一定期間ごとに無菌試験を行うなど、無菌性が確保されることを確認することが必要と考えられる。

C-3. ヒトに投与する細胞の品質管理

ES 細胞や iPS 細胞より製造される治療用細胞の品質管理の方策としては、最終製品の規格及び試験方法の設定、患者への適用を考慮した原材料の品質管理、製造工程の妥当性の検証と一定性の確保の他、製造の重要な中間段階での品質管理を適正に行うこと等が求

められる。特にES細胞やiPS細胞を臨床研究で用いる際には、細胞の樹立、培養・増幅工程、目的とする細胞への誘導工程など、キーポイントとなる各工程、必要な特性が維持されていることを確認するとともに、患者に投与する最終製品の段階に必要な機能を持っていることや、臨床使用に当たっての安全性を担保するための規格及び試験方法の設定が求められる。

また、規格及び試験方法の設定は、目的とする機能細胞の種類及び性質によって異なると考えられるため、その臨床適用も十分考慮して設定すること。製造方法、各製品の使用目的や使用方法、安定性、利用可能な試験法等また、製造工程の妥当性の検証と一定性の維持管理法、中間製品の品質管理等との相互補完関係を十分考慮に入れて、品質管理を行うべきで、合理的に規格及び試験方法を設定し、その根拠を示すことが求められる。

臨床研究の開始する時点では、全てのデータが得られているわけではないと想定される。臨床研究の進展に従って確立して行くべき試験や規格もあることもやむを得ない。しかし、無菌性やマイコプラズマの否定など、臨床研究を開始する上で必須な要件については、確認しておくことが求められる。さらに、臨床研究でのデータが蓄積するに従い、

最初に設定した規格や試験法を適宜見直し、より適切な規格及び試験法として行くことが重要である。特に臨床効果に直接結びつく規格の設定や、安全性に関する指標について充実・整備を図ることが求められる。

C-3.1. 製品の品質管理法

患者に投与する細胞及び細胞と共に用いられる細胞以外のコンポーネントに関して、適切な規格及び試験方法を設定することが求められる。また、設定した規格や試験法の根拠を明らかにすることが必要である。どのような項目を取り上げて品質管理を行うかについては、製品や目的とする臨床適用によって異なると想定され、ケースバイケースの対応が求められる。しかし、少なくとも感染性因子に関する否定試験は必須である。

想定される品質管理項目としては、

- 最終製品又は必要に応じて適切な製造工程段階での細胞数並びに生存率、
- 目的とする細胞・組織の形態学的特徴、生化学的指標、免疫学的指標、特徴的産生物質その他適切な遺伝型あるいは表現型の指標を用いた確認試験、
- 目的細胞以外の異常増殖細胞、形質転換細胞の有無や混入細胞の有無等の細胞の純度、

- 製品中での存在量如何では患者に安全性上の重大な影響を及ぼす可能性が明らかに想定される細胞由来の各種目的外生理活性物質の適切な許容量限度試験、
 - 製造工程由来不純物試験、
 - 無菌試験及びマイコプラズマ否定試験、
 - エンドトキシン試験、
 - ウイルス等の試験、
 - 幹細胞、リンパ球、遺伝子改変細胞その他の細胞等、臨床使用目的や特性に応じた適切な効能試験、
 - 細胞・組織から分泌される特定の生理活性物質の分泌が当該細胞・組織加工医薬品等の効能又は効果の本質である場合の当該生理活性物質に関する検査・力価試験、
 - 一定の力学的強度を必要とする製品についての力学的適合性試験、
- などが想定される。

C-3. 細胞等の安定性

細胞あるいは細胞以外のコンポーネントと共に患者へ投与する形態にしたものは医薬品における製剤と考えることができる。このような製剤化された製品や、工程途中の細

胞に関して、保存や全ての製造工程終了から患者に投与するまでの期間や保存形態を十分考慮して、細胞の生存率及び力価等に基づき適切な安定性試験を実施し、貯法及び目的とする有効性を担保出来る期限を設定することが必要である。特に製造中間工程や患者に投与する前に凍結保管及び解凍を行う場合には、凍結及び解凍操作による製品の安定性や規格への影響がないかを試験により確認することが必要である。

一方、製品化後直ちに患者に投与する場合には、製造終了後の安定性試験を実施する必要性は低いと考えられる。

C-4. 臨床利用

(1) ヒト多能性幹細胞由来医薬品等の利用に当たっての注意点

ヒト多能性幹細胞由来医薬品等の利用にあたっては、その頒布性の高さから、特に遺伝的背景を理解し、例えば株化細胞の由来細胞・組織を提供した者の病歴・既往歴・家族歴等の取得、株化細胞の疾病関連遺伝子解析等を行い、当該情報等から株化細胞を利用した製品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。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、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。一方で、こ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、治療を受ける者も主体的に理解すべきである。

(2) ヒト多能性幹細胞由来医薬品等の投与・移植前の同意について

幹細胞は未分化な細胞として、悪性腫瘍あるいは奇形腫との異同が議論されている。これらの差異は科学的にみても医学的に見ても未だ不明な点も残されている。特に、ヒト多能性幹細胞にあつては、体性幹細胞以上に未解明な部分が多い。これら不確実性を踏まえ、加えてヒト多能性幹細胞の投与・移植にあつては、これまで人類が経験したしたことのない臨床であることを十二分に理解したうえで同意を取得すべきである。

また、特にヒト多能性幹細胞由来医薬品等の投与・移植にあつては、現在の科学で予期し得ない合併症等が惹起される可能性を否定できないことから、移植・投与後生涯にわたって経過が観察されるべきであり、それを十分理解したうえで主体的に被投すると

の同意を取得すべきである。

(3) 臨床試験に関する課題

安全性の評価は、臨床上の有効性を勘案して評価されるものであり、細胞・組織加工医薬品等について以下の項目を踏まえて評価すべきである。

- 1 対象疾患
- 2 対象とする被験者及び被験者から除外すべき患者の考え方
- 3 細胞・組織加工医薬品等の適用を含め、被験者に対して行われる治療内容
- 4 既存の治療法との比較を踏まえた臨床試験実施の妥当性
- 5 現在得られている情報から想定されるリスクやベネフィットを含め、被験者への説明事項の案

対象疾患ごとに安全性基準は異なるものと認識している。例えば、白血病など血液疾患で骨髄移植と同様な考え方での移植・投与であれば、被移植細胞は生着し複数回分裂することが期待されている。一方、サイトカイン治療を期待される場合は生体内で増殖しない。従って、造腫瘍性検査も対称疾患によって異なる。安全性の検証項目も、すべての疾患で共通の項目と、疾患特異的安全性検証項目があるものとする。なお、有効性の検

証方法・基準等は、疾患毎に異なるものと認識。ケースバイケースで対応すべき問題である。

(4) 移植・投与後の記録・観察について

「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」では、投与記録は一律10年の保存とされている。しかし、ヒト多能性幹細胞の臨床利用にあつては、その科学的不確実性に鑑み、投与・移植後当該細胞・組織を摘除することが困難であるという被験者保護の観点、公衆衛生の確保の観点からも十分に追跡可能であるべきである。従って、臨床研究であっても、特定生物由来原材料基準に準拠した記録の保存義務は負わせるべきであろう。

被験者のフォローアップに関しても、生涯にわたる観察が不可欠である場合もある。特に、遺伝子改変を行った場合には、特に考慮が必要である。また、患者及び家族の同意があれば、患者の死亡時に投与された細胞・組織の検査を行うことも今後議論すべき事項である。ポジティブ・フォローとパッシブ・フォローの観察期間の設定は議論すべきかもしれない。また、これらフォローが不可能な被験者には特にヒト多能性幹細胞を用いた治療、臨床研究は望ましくないであろう。

分担研究報告書

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—

掛江 直子 国立成育医療センター研究所 室長

末盛 博文 京都大学再生医科学研究所 准教授

要旨

本研究では、ヒト ES 細胞研究の進展に対応し、近い将来に臨床応用が計画された場合の倫理的課題について検討を行った。特に、ヒト ES 細胞研究のために受精胚を提供する者からインフォームド・コンセントを得る場合の説明内容について、ヒト ES 細胞の樹立目的（分配・使用の目的）が臨床応用までも含むと想定した場合に改めて検討しなければならない課題を整理し、被験者保護の立場から考察を行った。具体的には、現行の「ヒト ES 細胞の樹立及び使用に関する指針」における説明すべき内容項目に対し、どの点に再考が求められるかを検討し、それらの該当項目について、国内の ES 細胞樹立機関においてどのような説明を実施しているかを整理し、今後の検討について若干の提言を行った。

A. 目的

本研究では、ヒト ES 細胞研究の進展に対応し、近い将来に臨床応用が計画された場合の倫理的課題について検討を行うことを目的とした。

本年度は、倫理的課題のうち、現行の「ヒト ES 細胞の樹立及び使用に関する指針（平成 19 年文部科学省告示第 87 号、平成 19 年 5 月 23 日全部改正）（以下、ES 指針）においてその分配及び使用を基礎

的研究に限っていることとの関連で、ヒト ES 細胞研究のために胚を提供する者からインフォームド・コンセント（以下、IC）を得る場合の説明内容について、臨床応用を想定した場合にさらにどのような配慮が必要となるかについて検討することとした。

B. 方法

現行の ES 指針における、胚提供時に受