

連続継代性細胞株 (Continuous Cell Line)

細胞寿命を超えて無限に増殖することが可能となった細胞株。「不死化細胞株」とも称され、また、以前は「樹立細胞株」といわれた。

ワーキング・セル・バンク (WCB) (Working Cell Bank)

WCBは、MCBから一定の条件で培養して得られる均一な細胞懸濁液を分注して調製される。

付録 1

初代培養細胞の細胞基材

I. 緒言

本文書に述べられている考え方は、特性解析されたバンク化細胞を用いて製造される生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）に一般的に適用される。しかしながら、一部の生物起源由来医薬品、特に、ある種のウイルスワクチンは、初代培養細胞を用いて製造されている。

初代培養細胞は、由来する組織より樹立された後、継代第1代目で使用されるので、バンク化された細胞基材のように、使用前に細胞の特性を詳細に解析することはできない。その上、初代培養細胞を細胞基材に用いて製造される生物起源由来医薬品では、十分な処理工程（例えば、精製工程）を経ない場合が多い。このような違いはあるが、生物起源由来医薬品の製造に用いられる初代培養細胞基材の適格性及び安全性を保証するためにとられる方策は、多くの点で、本文書やその他のガイドラインに述べられているものと類似している。

この付録 1 には、初代培養細胞を用いて製造される生物起源由来医薬品の承認申請にあたって盛り込まれるべき細胞基材に関する情報が概説されている。その内容は、以下の3項目に分類される。すなわち、①初代培養細胞基材の調製に用いた起源としての組織（器官）及びその他動物由来の原材料に関する情報、②初代培養細胞基材の調製に関する情報、並びに③医薬品の安全性を保証する目的で初代培養細胞基材について実施する試験に関する情報の3項目である。

II. 初代培養細胞基材の起源としての組織及びその他の生体由来材料

初代培養細胞基材の調製に用いた組織の起源となった動物に関する情報を提出すべきである。用いる組織は、病原体を含まないことが獣医学的観点及び試験室レベルでの検査によるモニタリングにより保証された健康な動物からのものであるべきである。可能な限り、組織を採取する動物は、隔離された閉鎖状態の、かつ（可能なならば）特定病原体感染防止条件（SPF）に適合したコロニー又は群を使用すべきである。組織を採取する動物は、それ以前に実験動物などとして使用されたものであってはならない。細胞調製の目的で用いる前に、当該動物を、適切な期間、適正に隔離検疫しなければならない。国によっては、動物は、初代培養細胞を調製する国での検疫が必要とされる場合がある。製造業者は、特に要求される

事項について、規制当局にそれぞれ相談すること。

初代培養細胞基材の調製に使用した材料や成分についての情報を、ヒト及び動物に由来するすべての試薬の種類、特徴及び由来も含めて、提出すること。動物由来の成分に関しては、検出可能な混入物や外来性因子によって汚染されていないことを証明するために実施した試験についても、記載すべきである。

Ⅲ. 初代培養細胞基材の調製

組織からの細胞の単離、初代培養細胞の調製及び培養細胞を維持する方法について明らかにすべきである。

Ⅳ. 初代培養細胞基材について実施する試験

初代培養細胞基材が医薬品製造に使用するのに適格であることを示すために実施した試験について、記載すべきである。前述したように、初代培養細胞基材は、その性質上、使用前に詳細な試験を実施して、特性を解析することは不可能である。したがって、これらの基材に外来性因子が含まれないことを示す試験は、製造と並行して実施されることになる。それには、以下のような試験が含まれるだろう。すなわち、①製造の開始前、期間中及び終了後での実製造培養及び感染性物質の存在が否定されているコントロールの培養における細胞の状況を観察する試験の実施、②実製造培養及び非感染のコントロール培養から得た培養液を、広範囲な関連ウイルスが検出可能な種々の鋭敏な指示細胞に接種した後、細胞変性試験及び赤血球吸着ウイルスの存在を否定するための試験の実施、並びに③（関連レトロウイルスのような）特殊な因子に対する試験を必要に応じて行うこと、などがある。特殊ウイルス試験に関する更なる情報は、関連する各国／地域のガイドラインや国際ガイドラインに示されている。

ある特定の医薬品の製造に用いられる細胞に対する適切な試験項目と試験法は、組織の起源としてのドナー動物の種、存在する可能性のある外来性因子、医薬品の性質、臨床上の用途、製造工程からの視点、及び最終製品に対して行われる試験の範囲等によって変わる。製造業者は、承認申請しようとする医薬品に関して、採用した方策について説明し、かつその妥当性を明らかにしなければならない。

iPS 細胞の樹立

研究分担者

青井貴之

京都大学 iPS 細胞研究所規制科学部門

研究要旨

人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) の樹立に関して、細胞治療に用いるための iPS 細胞の樹立及び分配に関する指針策定に資するべく、現在の科学技術的状況についての調査を行った。

これまでに様々な樹立方法が報告されている。それらの中で、臨床使用のために最適な方法が何であるかが大きな関心事項であるが、現時点では明らかになっていない。iPS 細胞の生物学的特性の評価について科学的に妥当な方策が未だ明らかでないことは、樹立方法の要件の策定を困難にしており、これに係る研究の進捗は重要である。

A. 研究目的

iPS 細胞樹立に関して、細胞治療に用いるための iPS 細胞の樹立および分配に関する指針策定に資する情報を収集、分析すること。

B. 研究方法

iPS 細胞の樹立に関する研究開発の現状の調査を行った。これに基づき、指針策定において考慮されるべきと考えられる点を中心に研究班会議にて分析を行った。

(倫理面への配慮)

特になし。

C. 研究結果

これまでに様々な iPS 細胞の樹立方法が報告されている。この多様性は、以下の諸要素より構成される。(1) 由来細胞：皮膚線維芽細胞、末梢血細胞、臍帯血細胞、角化上皮細胞

など。(2) 初期化のために導入する因子：OCT3/4、SOX2、C-MYC、KLF4、L-MYC、Nanog、LIN28、sh-p53 などの遺伝子の中から様々な組み合わせ。(3) 因子導入方法：染色体への挿入を伴うレトロウイルスベクターやレンチウイルスベクター、染色体への挿入を伴わないプラスミドベクターや、アデノウイルスベクター、センダイウイルスベクター、タンパクや mRNA の直接導入など。(4) 培地や足場などの培養環境：動物由来成分含有の有無や支持細胞使用の有無によって特徴づけられる様々な培養条件。

其々が学術論文としての報告であり、開発者によって個々の利点が記載されているものの、開発者とは独立した評価者による種々の方法の十分な比較検討はなされておらず、iPS 細胞から作製した分化細胞を用いた再生医療における安全性および有効性の確保という目的に照らして最も適した樹立方法が何で

あるかについての結論は、現時点では出ていない。

この問題を検討するに当たっては、少なくとも2つの視点が求められる。第一には、微生物等病原体の混入の危険をヒトに投与するのに適したレベルまで減じるというもので、これには既存の指針等の多くの部分が適用可能である。すなわち、原材料や工程の適切な管理であり、特に生物由来原材料への注意などが求められる。第二には、iPS細胞の生物学的特性への樹立方法の影響という視点である。これまでの複数の報告から、樹立方法がiPS細胞の特性に影響を与えると考えられている。

ここで問題は、iPS細胞から分化させた細胞を用いた再生医療の安全性や有効性の確保という目的に照らして、iPS細胞の特性をいかに評価するのが科学的に妥当なのかが、現時点では明らかになっていないことである。分化誘導後の細胞、さらにはそれを動物へ移植した後の挙動すなわち目的とする機能や造腫瘍、異所性の生着の有無などについての試験方法に関しての合意形成がなされていない。また、それが為されたとしても、それらの試験には多くの時間や経費、労力を要すと考えられることから、分化させる前のiPS細胞の状態、分化誘導後の特性を反映する評価項目の探索が多くの研究機関でなされている。しかし、現時点では、決定的な評価項目は見出されていない。

このように、「出口」ともいうべき、iPS細胞やそこからの分化細胞の妥当な評価方法が明らかでない中では、そこに至る「入口」であるiPS細胞の樹立方法についての要件を定めることは、上述の第二の視点については困難であると考えられる。

D. 考察

iPS細胞の最初の報告からわずか3年間程

の間に、その樹立について多くの方法が報告されている。今後も新たな方法が開発されることが考えられる。したがって、既報の中から特定の方法を想定して指針等を策定することは妥当ではなく、目的に照らして考慮されるべき要件を策定することが重要であると考えられる。

ヒトへ投与されるものとして、細胞治療にかぎらず求められる要件である、病原体等による汚染の防止については、既存の指針等が援用可能な部分が多い。但し、iPS細胞の特殊性に即した適用が検討されるべき部分もあり得る。例えば、遺伝子発現構成体の製造や品質管理法については、遺伝子治療やバイオリジクス製造を想定した指針が存在する。しかし、iPS細胞樹立のための因子導入に行われる場合、遺伝子治療における遺伝子導入や、組み換えDNA技術応用医薬品における「細胞基材」への遺伝子導入とは、いくつかの点で異なっている。すなわち、

①iPS細胞および最終製品である分化細胞にはプラスミドは残存せず、患者体内にプラスミドおよびその発現産物、あるいはこれらを含む細胞が投与されることはない。

②iPS細胞および最終製品である分化細胞においては、その特性の維持は、もはや導入遺伝子の産物には依存していない。

③プラスミドの導入によって、目的とする遺伝子が適切に発現するかについて最も直接的な証明となるのは、実際の製造工程において導入された細胞集団の中からiPS細胞が樹立されるということであって、樹立されたiPS細胞の特性評価がなされることから、事前に「目的タンパクが恒常的に生産されるかどうか」について、例えば「組み換えDNA技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析」(ICH-Q5B)を援用するのは必ずしも妥当ではないと考える。

また、iPS細胞の生物学的特性、すなわち、

分化誘導後の特性や、それを移植した後の生体内での挙動に関しては、現時点では評価方法についての研究の進捗を鑑みながら、そこにつながるiPS細胞作製法についての要件を定めてゆく必要があるだろう。常に更新される最新の科学的知見と齟齬が無い形での運用が可能でありかつそれを求める指針の策定が望まれる。一方で、この点については詳細は書きこまず、前段に述べた原材料や工程の管理についてのみの言及とし、樹立・分配指針に則ったiPS細胞を用いて行われる臨床研究の審査において検討される形とする、という方策も妥当かもしれない。

E. 結論

これまでに様々な樹立方法が報告されているが、それらの中で、臨床使用のために最適な方法が何であるかについて現時点では明らかになっていない。iPS細胞の生物学的特性の評価について科学的に妥当な方策が未だ明らかでないことは、樹立方法の要件の策定を困難にしており、これに係る研究の進捗は重要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

ヒト人工多能性幹細胞の貯蔵・分配システムの整備について

研究分担者

古江-楠田美保

(独) 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 培養資源研究室

研究要旨

ヒト多能性幹細胞はあらゆる細胞に分化することが可能であり、その応用へのポテンシャルは高い。一方で形質が大変不安定であり、継代を繰り返すことにより、形質が変化する可能性がある。そのため、貯蔵する細胞の品質管理は重要な事項となる。不必要な継代を避け、効率よく品質管理を行い、分配を行うためのシステムの構築が必要となる。既存のバンクシステムに加え、国際的にもヒト幹細胞バンクのガイドラインも作成されつつあり、日本における貯蔵のあり方についても、議論する必要があると考えられる。そこで、ヒト iPS 細胞の貯蔵・分配について、どのようなことを科学的に考慮すべきかについて、概要をまとめる。

1. はじめに

すでに、ケラチノサイトや軟骨細胞などの分化細胞を用いた細胞治療が行われてきたが、ヒト多能性幹細胞という新しい細胞を応用した方法が開発されつつある。ケラチノサイトや軟骨細胞などは有限増殖細胞であるため、貯蔵は可能であるものの、貯蔵を原則とはされてこなかった。一方、ヒト多能性幹細胞は、あらゆる細胞に分化するポテンシャルを持ちつつ無限に増殖することが可能であり、貯蔵後、分配し、分化細胞への製造工程へ利用されるという新しいシステムの整備に期待が高まっている。そこで、ヒト iPS 細胞の貯蔵・分配について、どのようなことを科学的に考慮すべきかについて、概要をまとめる。

2. ヒト幹細胞と iPS 細胞

様々な細胞に分化能を有する幹細胞として臨床応用に期待されているヒト幹細胞は、ヒト胚性幹 (ES) 細胞、人工多能性幹 (iPS) 細胞、

間葉系幹細胞があげられる。さらに、組織幹細胞も分化能を有する。ヒト ES、iPS 細胞は高い自己複製能を有することから再生医療への応用が期待されているが、*in vivo* で培養により継代されることにより染色体異常や形質の変化をきたすことが報告されている。そのため、長期に培養したものを再生医療に利用することは避けるべきであるとの見解も多い。一方、iPS 細胞の場合、樹立後すぐは染色体が不安定であり、継代により安定してくるとの所見もある。間葉系幹細胞については、その培養法により染色体が不安定となる報告もある。それぞれの細胞に応じた品質管理、貯蔵法を考慮する必要がある。

3. 細胞登録システムの必要性

EU や米国においては、早期よりヒト ES 細胞の登録制度が整備されている。国際的にも連携が進んでおり、それぞれ国内のみならず、国際的に使用可能なヒト ES 細胞の登録が行

われている。臨床応用を行う場合には、さらにその連携の必要性が国際的には認識されつつある。樹立機関、倫理審査機関、使用条件、品質に関連するデータなどが集積され、さらに、相互に研究に利用することによりデータベースが充実していき、安全性に対するデータも蓄積していく。ヒト iPS 細胞についての登録システムを整備するために、どのような基盤が必要か、検討していく必要がある。平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金(再生医療実用化研究事業)により、「ヒト ES/iPS 細胞の実用化における幹細胞バンクの基盤整備について」の研究において、登録システムのための土台となるべき基盤を作成する予定である。

4. マスターバンクとワーキングバンク

細胞の貯蔵の方法として、マスターバンクとワーキングバンクという考え方がある。すなわち、樹立された細胞の品質検査を行い、検査を完了した細胞を同じ品質にそろえて増やし、種として貯蔵をする細胞のことをマスターバンクと称している。このマスターバンクから、分配用に増やして、品質管理された貯蔵細胞をワーキングセルバンクと称している。また、マスターバンクの前の段階で、樹立機関において樹立された細胞として貯蔵される細胞をプレマスターバンクと称する。しかし、これらの定義に対する解釈が異なる場合もあり、また、貯蔵する機関を称すると理解されることもあるようである。再生医療用に細胞の貯蔵をどのように管理するか、言葉の定義から、検討する必要があると考えられる。

5. 貯蔵におけるヒト幹細胞の品質管理

(1) 基本的な細胞の品質管理

従来の細胞バンクにおける品質管理として、微生物検査、マイコプラズマ、ウィルスなど

の感染検査、細胞同一確認検査などは、基本的に行う必要があると考えられる。それらの検査方法は、ヒト体性幹細胞加工医薬品などの品質および安全性の確保に関する指針案にまとめられている方法と同様に考えることが妥当であると考えられる。

(2) 幹細胞としての品質管理

従来の細胞と異なるのは、幹細胞の機能を維持しているかどうかの品質管理が必要なことである。ヒト幹細胞は、ヒト ES/iPS 細胞だけでなく、間葉系幹細胞も現状の培養方法では、形質が不安定で、培養を何回も繰り返すことにより、形質が変化することが多い。樹立時に有している機能を維持したまま、貯蔵できているかどうか、その品質管理が重要となってくる。まずは、未分化な状態を維持できているかを判断する必要がある。現状では、細胞の形態がもっとも高い評価方法といわれる。しかし、細胞形態による評価は、経験が必要であるため、絶対値として数値化が難しい。現実的には、いわゆる未分化・分化マーカーと称される抗原、遺伝子の発現を解析する方法がとられる。ただ、それらの値は、測定方法や機種により数値が異なることも多く、品質管理を行うための標準値を設定することは難しい。機種、コントロール、測定方法などを基準を策定するとともに、測定をする機関を設置することも考慮に入れる必要があると思われる。

(3) 品質管理の現実

ヒト iPS 細胞は、無限に増殖するものの、癌細胞のように一度に大容量に貯蔵ができない。ヒト iPS 細胞の場合、無理をして大容量で培養をすることにより、細胞形質だけでなく、染色体までも変わる可能性も示唆されている。一般的に、癌細胞は 4 日に一度、1:40 の割合で増殖させることが可能であるが、ヒ

ト iPS 細胞は、1 週間に 1 度、1 : 4 の割合での増殖である。従って、同一ロットの貯蔵をすることが難しく、すべてのロットについて品質管理を行うことが難しい。どのタイミングで、どれだけの品質管理を行うことが可能であるか、現実的に検討を行う必要がある。

(4) 培養法

現状においては、ヒト iPS 細胞培養は簡単ではない。癌細胞はもとより他の幹細胞に比べて、デリケートで、高品質を維持することは大変難しい。分化しやすく、継代するうちに異なる細胞集団になることも多い。細胞分散法を間違えば、ほとんどの細胞がアポトーシスを起こして死んでしまうことも稀ではない。ヒト iPS 細胞と比較されるヒト ES 細胞の培養法は、国内で主に行われている方法と、海外で主に使用されている方法とは異なる。どちらが良いかという問題ではなく、可能性を検討するために、様々な方法を検討していく必要がある。このような問題を克服して高品質の細胞を貯蔵・分配するためには、細胞培養を技術として捉えるだけでなく、体系的な細胞培養学を確立していく必要がある。また、品質のよいヒト iPS 細胞を維持するためには、その特徴を十分に把握したスタッフが必要である。スタッフの育成は重大な課題である。

6. 凍結方法

細胞の貯蔵は、液体窒素に貯蔵されることにより行われる。その凍結方法は、大きくわけて二つあり、ガラス化法による急速冷却法と、DMSO などを用いた緩慢法がある。海外においては、ガラス化法は、胚凍結に使用されている方法と同様であるが、ごく少量の細胞をガラス管で保存する方法であり、その管理が難しい。日本国内においては、未盛らが開発した変法により、一般的に使用するチュ

ーブに保存が可能であるが、高い熟練度が要求される。また、ガラス化法を使用した貯蔵の場合、輸送過程における温度変化に弱い。そのため、海外の幹細胞バンクにおいては、マスターセルバンクのバックアップとして、一部をガラス化法による凍結を行い、ワーキングバンクは、緩慢法での貯蔵が一般的である。一方で、新しい凍結液の開発も行われているが、長期保存における安全性は未知数である。どの凍結法が良いかについて、結論を出すのは現状では難しい。その点を考慮して、貯蔵する必要があることを認識するべきである。

7. 凍結貯蔵細胞の解凍

凍結貯蔵細胞の解凍を行って、大きな問題なく凍結されているか確認を行う必要があるとともに、分配先において、解凍する技術を有するかどうか問題となってくる。解凍後の生存率などで、それを数値化し、検証することは可能であるが、実際には、未分化・分化マーカーの発現、分化能維持、染色体安定性などの検査を行う必要がある。また、それらの検査をどれだけ増やした段階で行うか、なども検証していく必要がある。

8. 分配

研究用のヒト多能性幹細胞の培養技術は普及しつつあり、分配を受けた機関の技術的な問題は、克服されつつあると考えられる。しかし、ヒト iPS 細胞は繊細な細胞であり、培養する容器、インキュベーターなどが変わると、異なる形質を示す場合も多い。その細胞株の形質や培養環境について、詳細なデータを添付して分配することが必要であると考えられる。あるいは、データベースを作成し、そのロットのデータが検索できるようなシステムの構築も一つの案であるとする。

9. 輸送

上記にも記載したが、冷凍した細胞の輸送は、大きな課題である。ガラス化法により冷凍した細胞は温度変化に弱く、長時間の輸送が難しい。緩慢法であっても、温度変化はできるだけ少ない方が望ましい。国外への輸出、国内への輸入などの際、品質を維持できるような輸出入体制を考慮する必要があるかもしれない。

10. まとめ

新しい細胞治療という分野が開発されつつあり、その可能性は大きい。多くの国民がこの治療法開発により、利益を得ることができるようになるように、できる限りの科学的支援を行う必要がある。一方で、リスクが伴うことも否定はできない。国民一人一人が、そのリスクとメリットを理解していく必要があるだろう。さらに、研究者は、できる限り、リスクを軽減させる方法を開発していくとともに、応用のための基盤を構築することに努力していく必要がある。本研究が、そのための土台の一つとなれば、幸いである。

Ethical Issues in Stem Cell Research

幹細胞研究における倫理的課題

Bernard Lo および Lindsay Parham

幹細胞研究は、糖尿病、脊髄損傷、パーキンソン病および心筋梗塞などの疾患に対する新たな治療法の希望とともに、ヒトの発育や分化の基本的メカニズムの理解に向けた大きな期待をもたらしている。しかし、ヒト幹細胞 (hSC: human stem cell) 研究も、激しい倫理的・政治的論争を巻き起こしている。卵母細胞および胚からの多能性幹細胞株の誘導は、ヒトの人間性の発生に関する論争を伴っている。誘導多能性幹細胞の作成を目的とした体細胞の再プログラミングは、胚性幹細胞研究に特有の倫理的問題を回避している。けれども、いかなる hSC 研究においても、慎重を期すべき下流研究、hSC 研究への材料提供に関する同意、hSC 治療の早期臨床試験および hSC 研究の監視に関して、困難なジレンマが生じている。幹細胞研究が倫理的に適切な方法で確実に実施されるようにするためには、これらの倫理的・政治的課題を科学的課題とともに議論する必要がある。この論文では、これらの課題について批判的分析を行うとともに、現在の政策においてどのように対処されているかを明らかにする。

(*Endocrine Reviews* 30: 204-213, 2009)

I. 序文

II. 多能性幹細胞

- A. 臍帯血幹細胞
- B. 成人血液幹細胞

III. 胚性幹細胞研究

- A. 既存の胚性幹細胞株
- B. 凍結胚に由来する新たな胚性幹細胞株
- C. 研究用の卵母細胞提供に関する倫理的懸念

IV. 体細胞核移植 (SCNT)

- A. SCNT に関する倫理的懸念

V. 胎生幹細胞

VI. 誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞)

- A. 下流研究

VII. 幹細胞臨床試験

- A. 幹細胞臨床試験におけるリスクと期待されるベネフィット

B. 早期幹細胞臨床試験におけるインフォームドコンセント

VIII. 幹細胞研究の制度的監視

- A. 幹細胞研究監視委員会（SCRO）
- B. 他の施設で誘導した幹細胞の使用

I. 序文

幹細胞研究は、糖尿病、脊髄損傷、パーキンソン病および心筋梗塞などの疾患に対する新たな治療法の希望とともに、ヒトの発育や分化の基本的メカニズムの理解に向けた大きな期待をもたらしている (1)。多能性幹細胞は培養液中で自らを永続化させ、あらゆる種類の専門細胞へと分化することが可能である。科学者は、移植に使用可能な専門細胞に多能性幹細胞を分化させようとしている。

しかし、ヒト幹細胞 (hSC) 研究も、激しい倫理的・政治的論争を巻き起こしている。卵母細胞および胚からの多能性幹細胞株の誘導は、ヒトの人間性の発生とヒトの複製に関する論争を伴っている。幹細胞を誘導するその他いくつかでは、倫理的懸念があまり生じていない。誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) の作成を目的とした体細胞の再プログラミングは、胚性幹細胞に特有の倫理的問題を回避している。しかし、いかなる hSC 研究もそうであるように、hSC 研究に対する材料提供に関する同意、hSC 治療の早期臨床試験および hSC 研究の監視など、困難なジレンマが生じている (2)。表 1 に、幹細胞研究のさまざまな段階で生じる倫理的課題を要約する。

II. 多能性幹細胞

成人幹細胞および臍帯血幹細胞は、特別な倫理的懸念を生じておらず、研究や診療において広く使用されている。しかし、これらの細胞は、*in vitro* では増殖できないため、多能性であることが必ずしも確定的に明らかになっていない。

A. 臍帯血幹細胞

臍帯血に由来する造血幹細胞は貯蔵可能であり、骨髄移植の代替手段として、小児科血液疾患における同種および自家幹細胞移植のために広く使用されている。

B. 成人血液幹細胞

成人幹細胞は多くの組織で発生し、起源となる組織において専門細胞に分化可能であるとともに、その他の組織の特徴を示す専門細胞への分化転換も可能である。例えば、造血幹細胞は、血液細胞型 3 種類すべてだけでなく、神経幹細胞、心筋細胞および幹細胞に分化することができる。

P.3

表 1. 幹細胞研究のさまざまな段階における倫理的課題

① 研究段階

② 倫理的課題

③ 生物学的材料の提供

hESC を用いた研究

他の施設で誘導した幹細胞株の使用

幹細胞臨床試験

④ 自発的なインフォームドコンセント

胚の破壊

研究目的専用の胚の作成

1. 卵母細胞ドナーへの報酬

2. 卵母細胞回収の医学的リスク

3. 不妊症治療における女性の生殖利益の保護

矛盾する法的・倫理的基準

実験的介入のリスクとベネフィット

インフォームドコンセント

成人幹細胞は、プラズマフェレーシスを通じて分離することが可能であり、血液悪性腫瘍の治療や、がん化学療法の副作用緩和にすでに使用されている。さらに、自家幹細胞は、心筋梗塞を生じている患者を対象とした臨床試験で使用されている。異論を唱える主張があるが、その他いくつかの疾患に対する成人幹細胞の使用は検証されていないか、あるいは実験的である(3)。

III. 胚性幹細胞研究

多能性幹細胞株は、5 日目～7 日目の胚盤胞の内部細胞塊から誘導することが可能である。

しかし、ヒト胚性幹細胞 (hESC) 研究は、ヒト胚の破壊を伴うため、倫理的・政治的な議論の的となっている。米国では、ヒトの生命がいつ始まるかに関する疑問に対して、議論が大きく分かれており、妊娠中絶に関する議論に密接に結び付けられている。胚にはヒトになる潜在能力がある点については議論されていない。適切なホルモン期に女性の子宮に移植すると、胚の移植に成功するとともに、胎児へと発育し、生産児が誕生する。

しかし、胚は、成人または生産児と同一の道德状態を有するヒトであると信じている人々も一部に存在する。信仰や道徳的信念の問題として、このような人々は、「ヒトの生命は受胎時に開始する」ものであり、それゆえ、胚はヒトであると確信している。この考え方によると、胚には尊重すべき利益と権利が存在することになる。この視点に立つと、胚性幹細胞株を誘導するために、胚盤胞を取り出し、内部細胞塊を取り除くことは殺人に等しい (4)。

その他多くの人々が胚の道德状態に関して異なる見解を示している。例えば、胚は、受精時よりも後の発育段階で道徳的意味でヒトになるという考え方がある。しかし、胚または胚盤胞が、無制限に研究で使用可能な単なる細胞塊であると考える人々はほとんどいない。多くの人々は中間的な立場を取っている。つまり、初期胚は潜在的なヒトとして特別に尊重するに値するが、科学的に適切な正当性あり、注意深い監視が行われ、かつ、研究用に胚を提供する女性またはカップルのインフォームドコンセントが存在するという条件が整えば、一定種類の研究用として初期胚を使用することは許容されると考えている (5)。

hESC 研究に対する異論は、妊娠中絶反対や「人工中絶反対」運動と関連することが多い。しかし、幹細胞研究に対するそのような反対は一枚岩ではない。人工中絶反対派リーダーの多くは、女性またはカップルが不妊症治療を完了した後に残存し、他のカップルに提供しないと判断した凍結胚については、それを使用した幹細胞研究を支持している。例えば、ナンシー・レーガン元大統領夫人やオリン・ハッチ米国連邦上院議員がこの立場を取っている。

自身のウェブサイトにおいて、ハッチ議員は次のように述べている。「胚性幹細胞研究に対する支持は、人工中絶反対、家族主義の価値観と一致している」

「ヒトの生命は子宮で始まるものであり、ペトリ皿や冷蔵庫で始まるものではないと、私は考える。…私にとって、生命の改善と救命を目的として、日常的に処分されているこれらの胚を使用することを決定付けるのは状況を支配する道徳性である。救命目的でこれらの胚を使用せず、他に胚を処分するしかない場合は悲劇である」(6)。

A. 既存の胚性幹細胞株

2001 年に、人工中絶反対を強く主張する立場にあるブッシュ大統領は、追加的な胚性幹細胞株の誘導または使用に対する NIH の資金援助を禁じる一方で、その時点ですでに存在する

胚性幹細胞株を使用した幹細胞研究に対する連邦国立衛生研究所（NIH）の資金援助を承認した。この政策は、引き続きヒト胚の更なる破壊に反対する一方で、hESC 研究が変性疾患の理解と治療に対して非常に有望であるという意見の広がりに応じるものであった。多くの研究者は、幹細胞の基礎生物学研究に長期的に没頭できるように科学者を引き付けるためには、NIH の資金援助が不可欠であると考えた。基礎科学の強力な基盤がなければ、治療上のブレークスルーが生まれる可能性が低いと思われた。

同政策に対するブッシュ大統領の理論的根拠は、これらの幹細胞株作成の由来となった胚はすでに破壊されていることにあった。幹細胞株の研究実施を認めることによって、幹細胞株の破壊から一定の効用を生み出すことができると考えられた。しかし、既存の胚性幹細胞株のみを使用することは科学的に問題がある。当初、NIH は、60 種類以上の hESC 株が NIH の資金援助の条件を満たしていると発表した。けれども、これらの hESC 株の大部分は研究に不適であった。例えば、これらの hESC 株は、必ずしも多能性ではない、汚染している、あるいは発送不可能であるなどの問題を抱えていた。2009 年 1 月時点において、22 種類の hESC 株が NIH の資金援助を受ける資格を有している。しかし、これらの hESC 株はヒトへの移植に関して必ずしも安全ではなく、長期にわたる hESC 株は、がんを発生しやすいことが知られているものなど、変異を蓄積することが明らかになっている。加えて、これら NIH 承認済み hESC 株の一部の誘導に関し、同意プロセスについて懸念が生じている (7)。ブッシュ大統領の指揮下にある NIH のディレクターをはじめとして、圧倒的多数の科学専門家は、新しい胚性幹細胞株へのアクセス不足が幹細胞ベースの移植の進歩を妨げていると考えている (8)。例えば、hESC 株を広範囲のドナーから得ることによって、ヒト白血球因子が一致した幹細胞移植をより多くの患者が受けられると考えられる (9)。

現在のところ、新しい胚性幹細胞株の誘導または NIH の承認済みリストに記載されていない hESC 株を用いた研究に対して、連邦政府の資金は使用されていない。NIH が資金援助する機器および研究スペースは、承認されていない hESC 株の研究に使用されていない。新たな hESC 株の誘導および NIH が承認していない hESC 株を用いた研究はいずれも、連邦政府以外の資金を用いて実施されている。

P.4

NIH の資金援助に関してこれらの制約が存在するため、数多くの州が、新たな胚性幹細胞株の誘導を含め、幹細胞研究に対する資金援助プログラムを設立している。例えば、カリフォルニア州は、幹細胞研究に対して 10 年間で 30 億ドルを予算計上している。

オバマ大統領の下では、NIH リストに記載されていない hESC 株を用いた研究の実施や、体

外受精 (IVF : *in vitro* fertilization) を行った女性またはカップルが生殖目的では凍結胚をもはや必要としないと判断した後に、研究用に提供された凍結胚に由来する新たな hESC 株の誘導に連邦政府の資金が利用可能になることが期待されている。しかしながら、明らかに研究目的での胚の作成に対して、または体細胞核移植 (SCNT) を用いた幹細胞株の誘導に対しては連邦政府の資金援助が認められない可能性がある (10, 11)。

B. 凍結胚に由来する新たな胚性幹細胞株

不妊症治療を受けている女性やカップルでは、同治療を完了した後に凍結胚が残存することが多い。このような凍結胚の処分は、しばしば女性やカップルに難しい判断を迫っている (12)。一部の女性やカップルは、残存する凍結胚を生殖目的で他のカップルに提供したり、破壊したりするよりも、凍結胚を研究に提供する選択をしている。凍結胚が提供される際には、いくつかの倫理的懸念が浮上する。例えば、凍結胚を提供した女性やカップルによるインフォームド consent や、胚の作成に関与した配偶子ドナーの同意、ドナー情報の秘密保持が挙げられる。

1. 幹細胞研究のための材料提供に対するインフォームド consent。

ニュルンベルグ綱領以来、インフォームド consent は、ヒト被験者を対象とする研究の基本的要件と見なされてきた。ヒト胚を取り扱う研究では同意が特に重要である (13)。一般市民や研究用の胚の潜在的ドナーは、胚研究に関して強力かつ多様な意見を有している。胚研究はすべて受け入れられないと考える人々もいれば、一定形態の研究のみを支持する人々もいる。例えば、不妊症研究は認めるものの、幹細胞株を誘導する研究や特許または市販製品につながる研究には反対する人がいる (14)。提供された胚の将来的な使用可能性に関してインフォームド consent を得ることは、この意見の多様性に考慮したものである。さらに、人々は一般的に、その他の組織と比べると、生殖材料に対して特別な感情的・道徳的重要性を認める傾向がある (15)。

2. 同意の放棄。

米国では、研究に関する連邦規制が、ドナーに関連付けることができない識別不可能な生物学的材料の研究目的の使用に関して、インフォームド consent の放棄を認めている (16)。そのため論理的には、同意なしに識別不可能な材料を用いて胚や幹細胞の研究を実施することが可能と考えられる。例えば、IVF 処置中に、受精しなかった卵母細胞または移植に十分なほど発育できなかった胚は通常廃棄される。これらの材料を識別不可能にした後、研究者が使用することは可能である。さらに、不妊症患者が治療完了後に残存する凍結胚を保有する場合に

は、通常、IVF プログラムが定期的に患者に接触し、患者が凍結胚を引き続き保存したいか（さらに冷凍庫による保管費用を負担するか）、他の不妊症の女性またはカップルに提供するか、あるいは凍結胚を廃棄するかを判断する。患者が胚の廃棄を選択する場合には、代わりに識別情報を除去し、研究用として胚を使用することが可能と考えられる。さらにもう1つの可能性として、凍結胚の処分に関する判断の要請に回答しない患者の凍結胚の使用がある。一部のIVF 診療では、そのような胚を廃棄する方針を設け、IVF 処置に関して同意する際にこの方針を患者に通知している。また、そのような凍結胚を廃棄するよりも、凍結胚を識別不可能にし、研究者に提供することが論理的に適切である。

しかしながら、識別不可能にした生物学的材料を同意なしに研究用として使用することを可能にする倫理的に正当な理由は、必ずしも胚研究に当てはまるとは限らない (13)。例えば、識別不可能な材料の使用を可能にする理論的根拠の1つは、倫理的リスクが非常に小さいという点である。すなわち、この種類の研究で最も懸念される秘密の漏洩もない。2つ目の理論的根拠は、人々が要請を受けた場合に、識別不可能な方法で材料を使用されることに対して反対しないと考えられる点である。しかし、この仮定は胚研究の状況では必ずしも当てはまらない。2007年の研究では、凍結胚を有する女性の49%が研究用に凍結胚を進んで提供する意思があることを明らかにした (12)。このようなドナーは、自らが同意しない研究に凍結胚が使用された場合には、気分を害し、不当な扱いを受けたと考えるであろう。材料を識別不可能にすることはドナーの懸念に対処できないものと思われる。

3. 配偶子ドナーによる同意。

凍結胚は、生殖補助または出産にもはや関与しないドナー由来の精子または卵母細胞によって作成されることがある。胚研究の場合、配偶子ドナーによる同意は不要であると主張する人々もいる。その理由は、配偶子ドナーが自らの配偶子の更なる使用法を指示する権利を生殖補助技術 (ART : artificial reproductive technology) 上の親に譲っているためである。しかし、女性やカップルの出産を進んで支援する配偶子ドナーは、研究用に自身の遺伝物質が使用されることに反対する可能性がある。ある研究によると、不妊症治療のために卵母細胞を提供した女性の25%が、研究用に使用される胚の作成を望まなかった (17)。生殖用材料には特別な意義があり、米国民の多くが胚研究に反対していることから、この比率はそれほど予想外ではない。精子ドナーが研究に望むことに関してはほとんど明らかになっていない。

胚研究に対する同意を得ることについては、卵母細胞ドナーと精子ドナーの間では実際に大きな差異が存在する。ART クリニックは、卵母細胞の刺激や回収のための来院の際に、卵母細胞ドナーと研究用の提供について直ちに相談することが可能である。一方で、大部分のART クリニックは、精子バンクからドナーの精子を入手しているため、一般的にドナーと直接的に

接触することはない。加えて、精子は、厳格な秘密保持条項の下に、精子バンクに匿名で提供されることが多い。

配偶子ドナーに対する尊重に関して、幹細胞誘導に関するドナーの希望を見極め、尊重することが必要である (13)。女性やカップルの出産に進んで協力しようとする配偶子ドナーは、自らの遺伝物質が研究用に使用されることに反対するかもしれない。胚ドナーおよび配偶子ドナーの両方から幹細胞研究に対して具体的な同意を得ることが、米国科学アカデミーの 2005 年ヒト胚性幹細胞研究ガイドライン (National Academy of Sciences 2005 Guidelines for Human Embryonic Stem Cell Research) によって勧告されるとともに、カリフォルニア再生医療機構 (CIRM : California Institute for Regenerative Medicine、幹細胞研究に資金援助する州機関) によって採用されている (18, 19)。

P.5

この同意要件は、胚がヒトであったり、配偶子または胚が研究被験者であったりすることを必ずしも示唆するものではない。

4. ドナー情報の秘密保持。

秘密保持違反によってドナーを迷惑な世間の目にさらしたり、hESC 研究反対論者から嫌がらせを受けたりする可能性さえあるため、胚や hESC 研究では秘密保持を慎重に保護しなければならない (20)。新しい治療法の承認プロセスの一環として、食品医薬品局の監査に備えてドナーに関する識別情報を保管することが必須であるが、秘密保持に関する懸念によって、ドナーの一部では再契約への同意を妨げる恐れがある。

最近では、スタッフによる故意の漏洩、コンピューターハッカーによる侵入、およびラップトップコンピューターの紛失または盗難を通じて、個人医療情報の秘密保持が損なわれている。hESC 株の誘導に使用した配偶子または胚を提供した個人の識別情報を保存したファイルは、高度なセキュリティ手段によって保護する必要がある (20)。そのようなファイルを保存したコンピューターは、安全な室内に固定するとともに、パスワードで保護し、厳格に「知っておくべきか (need-to-know)」を基準として最小限の個人にアクセスを制限すべきである。コンピューターを設置する部屋への入室も、各回の入室を記録するカードキーまたは同等のシステムによって制限する必要がある。不適切なアクセスの有無を確認するために、情報アクセスの監査証跡を定期的にモニタリングしなければならない。識別情報を含むファイルにはコピー防止、二重暗号化を施し、鍵の 1 つは、幹細胞研究に関与しない施設の幹部職員が保管する。このようなデータを保存するコンピューターをインターネットに接続してはならない。召喚令状から

情報を保護するためには、治験責任医師は、連邦政府の機密性証明書（Certificate of Confidentiality）を取得すべきである。秘密漏洩の人的要因についても考慮する必要がある。これらの識別情報にアクセスする職員については、追加的な身元調査やインタビュー、トレーニングを実施することが考えられる。この秘密情報データベースの維持とドナーとの接触を担当する職員は、何らかの研究チームに所属してはならない。

次に考察するように、研究目的で提供された新鮮な卵母細胞を使用する hESC 研究では、さらにいくつかの倫理的懸念が提起されている（21）。

C. 研究用の卵母細胞提供に関する倫理的懸念

特に研究用の卵母細胞提供についての懸念は、韓国におけるファン・スキヤンダルをきっかけに特に深刻になっている。同スキヤンダルでは、ヒト SCNT 株誘導の主張が広く称賛されていたが、それが捏造であることが明らかになった。科学的な不正に加えて、卵母細胞ドナーに対する不適切な報酬、インフォームドコンセントプロセスにおける重大な欠陥、ドナーを務めるスタッフや若手科学者に対する不当な圧力、および卵母細胞提供に起因し、許容できないほどに高い医学的合併症の発生率などのスキヤンダルが起きている（22-24）。カリフォルニア州では、一部の議員と一般市民が、卵母細胞提供のリスクを軽視しているとして不妊症クリニックを告訴した（19）。CIRM は、州が資金援助した幹細胞研究において卵母細胞を提供する女性のためにいくつかの保護措置を整備している。

1. 卵母細胞回収の医学的リスク。

卵母細胞回収に伴う医学的リスクには、卵巣過剰刺激症候群、出血、感染症および麻酔による合併症がある（25）。これらのリスクは、合併症リスクの高いドナーの除外や、発育卵胞の数に関する慎重なモニタリング、排卵を誘発したり、排卵周期を中止したりする目的で投与するヒト絨毛性ゴナドトロピンの投与量調節によって最小化することが可能である（25）。

重度の排卵過剰刺激症候群は入院または手術を必要とすることがあるため、ホルモン刺激や卵母細胞回収に伴う合併症の負担から、研究用に卵母細胞を提供する女性を保護する必要がある（19）。米国には国民皆保険制度が存在しない。公平性の問題として、科学的ベネフィットのために侵襲的な処置を受けたり、経費を上回る報酬を受けたりしない女性には、合併症治療の費用を一切負担させてはならない。たとえ女性が医療保険に加入していても、自己負担額や免責金額は多額にのぼると考えられる。また、女性が後に個人別に料率を定める医療保険に申し込んだ場合には、保険料は非常に高額になるであろう。研究上の傷害に対する補償が米国のいくつかの委員会によって勧告されているが（26）、長期的な保険数理リスクを計算したり、

有害事象に寄与し、または有害事象を生じる介在要因を評価したりすることが困難なため導入されていない。

卵母細胞提供の短期的合併症に対して無料ケアを要求することはもつともである。カリフォルニア州の研究施設は、州が資金援助した研究における卵母細胞回収に伴う直接かつ近接の医学的合併症に関して、卵母細胞ドナーに対する無料の治療を保証しなければならない。「直接かつ近接 (direct and proximate)」という用語は、事象を実行し、または状態を作り出した人物に傷害の責任を特定するために、傷害がどの程度密接に事象または状態に関連する必要があるかを判断する法律上の概念である。卵母細胞回収の短期的合併症を補償するためには、民間の保険契約が利用可能である。CIRM は、州の幹細胞助成金によって、このような保険の費用に充当することを認めている。治療に対する責任を研究施設に負わせる理論的根拠は、研究施設は個人の研究者と比較して、保険契約を見つける上でより有利な立場にあり、その他の研究上の傷害に向けて保険の補償範囲拡大を検討するインセンティブを有していると考えられる点にある。

2. 不妊症治療における女性の生殖利益の保護。

不妊症治療を受けている女性が研究者と卵母細胞 (女性自身の卵母細胞または卵母細胞ドナー由来の卵母細胞) を共有する場合には、生殖目的に利用可能な卵母細胞が減少することから、生殖成功の見込みが低下する可能性がある (21)。この状況において、卵母細胞回収と不妊症ケアを実行する医師は、IVF を受ける患者の生殖ニーズを優先しなければならない。最高品質の卵母細胞は、生殖目的に使用されるべきである (21)。

セクション B.2 で考察するように、IVF プログラムでは、受精に失敗する卵母細胞もあれば、移植するほど十分に発育しない胚もある。このような材料は、研究者に提供する余地がある。ドナーの生殖利益を保護するためには、いくつかの保護措置を整備する必要がある (20)。研究用の新鮮な胚の提供にあたり、胚が移植に適していないため、胚を廃棄すべきであるという発生学者の決定は、判断の問題である。同様に、卵母細胞が受精に失敗しているため、生殖に使用不可能であるという決定も個人的意見に過ぎない。利益相反を避けるためには、発生学者は、女性が研究用の提供に同意しているか否かを知ってはならない。また、発生学者は、研究に関連して助成金から資金援助を受けてはならない。

P.6

さらに、不妊症治療医師は、患者が研究用に材料を提供することに同意しているか否かについて知るべきではない。