

<Table. 5>

非臨床有効性評価の留意点

- 技術的に可能で、科学的に合理的な範囲で、実験動物や細胞等を用いて、期待される効果や体内動態等を検討。POCを示す
- 適切な製品モデル/疾患モデル動物の合理的活用
- 当該製品の効力又は性能による治療が他の治療法と比較したときはるかに優れて期待できることが国内外の文献又は知見等により合理的に明らかにされている場合には、治験開始段階では、必ずしも詳細な実験的検討は必要とされない

<Table. 6>

細胞種別MCPはその特性に基づき考慮

- 自己と同種
- 体性幹細胞：生体内での機能を期待する細胞への分化能を有するが、多系統への分化能を指しているわけではない
- iPS(様)細胞：ヒト体細胞を遺伝子導入・タンパク質導入・薬剤処理等により人為的に初期化(脱分化)して得られる細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞(少なくとも内胚葉、中胚葉又は外胚葉の一部の細胞)に分化する性質を有し、かつ、自己複製能力を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものをいう
- ES細胞：ヒト胚から採取された細胞又は当該細胞の分裂により生ずる細胞であって、胚でないもののうち、多能性(内胚葉、中胚葉及び外胚葉の細胞に分化する性質をいう。)を有し、かつ、自己複製能力を維持しているもの又はそれに類する能力を有することが推定されるものをいう

<Table. 7>

Mucin-type O-glycans observed in HCT116 cell.

M1		M4	
504	Gal-GalNAc-2AA	1815	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA
546	GlcNAc-GalNAc-2AA	1969	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc + SO $_3$
625	GlcNAc-GalNAc-2AA + SO $_3$	2180	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA
706	Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA	2335	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_4$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc + SO $_3$
786	Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + SO $_3$	2546	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_4$ β 1-6} GalNAc-2AA
868	Gal β 1-3 (Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA	M5	
949	Gal β 1-3 (Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + SO $_3$	1450	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 (NeuAc α 2-6Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA
1234	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA	1815	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA
M2		M6	
1158	Gal β 1-3 (Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + NeuAc	1085	NeuAc α 2-3Gal β 1-3(NeuAc α 2-6)GalNAc-2AA
1361	Gal β 1-3 (GlcNAc-Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + NeuAc	1238	Gal β 1-3 (Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + NeuAc + SO $_3$
1523	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc	1440	Gal β 1-3 (GlcNAc-Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + NeuAc + SO $_3$
1888	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc	1450	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 (NeuAc α 2-6Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA
2253	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_4$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc	1604	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc + SO $_3$
2618	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc	1684	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc + 2SO $_3$
M3		1764	Gal β 1-3 {(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc + 3SO $_3$
633	NeuAc α 2-6GalNAc-2AA	2260	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + SO $_3$
795	NeuAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc-2AA	2626	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + SO $_3$
998	NeuAc α 2-3Gal β 1-3(GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA	2106	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_2$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc
1160	Gal β 1-3 (Gal-GlcNAc β 1-6)GalNAc-2AA + NeuAc	2471	NeuAc α 2-3Gal β 1-3 {NeuAc α 2-6(Gal-GlcNAc) $_3$ β 1-6} GalNAc-2AA + NeuAc

<Table. 8>

Relative abundances of five N-linked glycans from three different lots of MKN45 cells

	Peak Area (%)				SD	RSD
	Lot1	Lot2	Lot3	Average		
a	20.5	17.9	20.4	19.6	1.47	7.51 %
b	19.7	18.2	17.9	18.6	0.915	4.91 %
c	22.5	23.9	22.4	22.9	0.854	3.72 %
d	21.5	22.1	22.3	21.9	0.386	1.76 %
e	15.9	17.9	16.3	16.9	1.02	6.06%

<Table. 9>

Expression level of three characteristic glycan species on cancer cells

	MKN 45	MKN 7	PAN C1	BxP C3	HCT 15	LS17 4T	U93 7	K562	Jurkat	HL- 60
Bisecting GlcNAc	+	+	+	++	+	+	++	++	-	+
Polylactosamine -type	+	-	++	++	++	+	+	+	++	+++
Sulfated glycans	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-

<Table. 10>

Peak No.	Observed m/z	Proposed Structure	Peak No.	Observed m/z	Proposed Structure
1	1176		14	1744	
2	1379		15	1760	
3	1582		16	1906	
4	1354		17	2052	
5	1516		18	2272	
6	1678		19	1760	2x
7	1906		20	1906	2x
8	1840	2x	21	2068	2x
9	2053		22	2085	2x
10	2002		23	1986	SO ²⁺ + 3x
11	2166	2x	24	1760	3x
12	1395		25	2272	3x
13	1541		26	1906	3x

Proposed structure of N-glycans observed in Toe and UTA-1 cell

<Table. 11>

Peak No.	Observed m/z	Proposed Structure	Peak No.	Observed m/z	Proposed Structure
1	1354		12	2125	
2	1516		13	2272	
3	1678		14	1760	
4	1840		15	1906	
5	2002		16	1760	
6	1906		17	2125	
7	1760		18	2272	
8	1906		19	2125	
9	2272		20	2637	
10	2637		21	1760	
11	2068		22	1906	

Proposed structure of N-glycans observed in MEF and KSR

<Table. 12>

主な造腫瘍性関連試験の能力と限界

*in vivo*試験法

試験法	測定事項	評価事項	利点	欠点
ヌードマウスへの移植	腫瘍形成	造腫瘍性細胞の検出	● 定量化の方案が整備 (WHO TRS 878)	● 時間 (数週間~数カ月)・費用がかかる ● 肺がん、乳がん、グリア細胞腫、リンパ腫、白血病細胞に由来する細胞株は腫瘍を形成しない ● 僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
NOD-SCIDマウスへの移植			● ヌードマウスよりも高感度	● 時間 (数週間~数カ月)・費用がかかる ● 定量化の方案が未整備 ● 胸腺腫を自然発症
DKO/NOG/NSGマウスへの移植			● NOD-SCIDよりも高感度 (?) / 胸腺腫なし	● 時間(数週間~数カ月)・費用がかかる ● 定量化の方案が未整備

*in vitro*試験法

試験法	測定事項	評価事項	利点	欠点
細胞増殖特性解析 (所定培養期間を超えた培養)	細胞増殖速度	不死化細胞の検出	● 簡便・安価 ● 時にはヌードマウスよりも『高感度』 ● 不死化していても腫瘍形成のないケース)	● 僅かな不死化細胞の混入の検出には時間がかかる
フローサイトメトリー	細胞マーカー・蛋白質発現	造腫瘍性細胞・未分化細胞の検出	● 短時間 (~1日)・簡便 ● 時には軟寒天コロニー試験よりも『高感度』 ● 細胞を識別・分離・回収できる	● 特定のマーカー発現細胞だけしか検出できない ● ゲートの掛け方で結果がばらつく
qRT-PCR	細胞マーカー・遺伝子発現		● 短時間 (~1日)・簡便 ● 時にはフローサイトメトリーよりも『高感度』	● 特定のマーカー発現細胞だけしか検出できない
軟寒天コロニー形成試験	コロニー形成	足場非依存的増殖の検出	● <i>In vivo</i> 試験より短時間 (数週間~1カ月程度) ● 簡便 ● 時にはヌードマウスよりも『高感度』	● 浮遊系細胞に使用できない ● 僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない ● ヒES/iPS細胞は検出不能 (分散誘導性細胞死)
核型分析	染色体の数・サイズ・形	染色体異常の検出	● 技術的に確立	● 相関性の問題 (染色体異常 ⇔ 造腫瘍性) ● 僅かに含まれる造腫瘍性細胞を検出できない
染色体CGH およびアレイCGH	ゲノムDNAのコピー数異常			
蛍光 <i>in situ</i> ハイブリダイゼーション(FISH)分析	特定遺伝子の位置・コピー数			

<Table. 13>

欧米で承認済みのヒト細胞・組織加工製品の造腫瘍性関連試験
(それぞれの審査概要から抽出・整理)

	製品名	細胞/足場材料	適用	造腫瘍性試験			核型分析	免疫不全動物を用いた他の試験(動物)	備考
				in vivo (動物)	軟寒天コロニー形成試験	細胞増殖特性解析			
USA	Cartibel	自己軟骨細胞	軟骨損傷						
	Provenge	自己樹状細胞 (PAP抗原提示)	転移性前立腺がん						自己由来製品なので、非臨床安全性試験なし
	hViv (azficef-T)	自己線維芽細胞	ほうれい線解消(美容整形)						ヒトでの経験が豊富なので、非臨床試験なし、なお臨床試験中に腫瘍形成1例
	HemaCord (HPC-C)	同種臍帯血造血前駆細胞	造血幹細胞移植			○			Cobony forming unit測定
	Epibel	自己角化細胞 / マウス細胞層	熱傷	○ (ヌードマウス)	○		○ (ヌードマウス)		ヌードマウス・軟寒天ともに陰性
	Apligraf (Graftskin)	同種角化細胞 + 同種線維芽細胞 / ウシ由来コラーゲン	皮膚潰瘍				○ (Nu-SCDマウス)		
	TransCyte Dermagraft-TC)	同種線維芽細胞 / ナイロン基材	熱傷		○		○ (ヌードマウス)		軟寒天で陰性
	Dermagraft	同種線維芽細胞 / ポリグラクチンメッシュ	皮膚潰瘍	○ (ヌードマウス)			○ (ヌードマウス)		ヌードマウスで陰性
	OrCel	同種角化細胞 + 同種線維芽細胞 / ウシ由来コラーゲン	熱傷 表皮水疱症				○ (SCDマウス、ヌードマウス)		
EU	ChondroCelect	自己軟骨細胞	軟骨損傷			○	○ (ヌードマウス)		既定期間を越えた培養で細胞老化確認

<Table. 14>

相対的リスクと特徴から合理的試験の内容・程度・評価を考える
患者さんのリスク(疾患というリスク及び時間経過に伴い増大するリスク)

VS

製品及び適用技術のリスク

[下記の各要素、特にリスク軽減要素・対策を総合的に勘案:リスクを相対化]

- **対象疾患(重篤度、緊急度、希少性、QOL損失度等)**
- **患者数(限定的であれば直接顔が見える治療となる。臨床研究・治験がそのまま治療)**
- **ウイルス等感染性物質(原材料細胞は可及的上流で制御、脱動物資材の使用)**
- **原材料たる細胞の種類・特性(自己/同種、分化細胞/複機能性/多機能性)**
- **製品の種類・特性(自己/同種、未分化細胞の残存、生理活性物質分泌能、安定性)**
- **適用法、適用量、適用部位(局所/全身、細胞数、シート/構造物、腫瘍形成環境)**
- **採取・移植・治療施設と従事者の専門性(高度であるほどリスク軽減効果大)**
- **適用後の適切な安全性対策(副作用や健康被害への適切な対応策を前提に適用)**
- **有効性(顕著な有効性が大きくリスクを上回ることによる有用性)**
- **ベネフィット(重篤・緊急・QOL損失の進行停止、治療の選択肢増大も臨床的意義あり)**

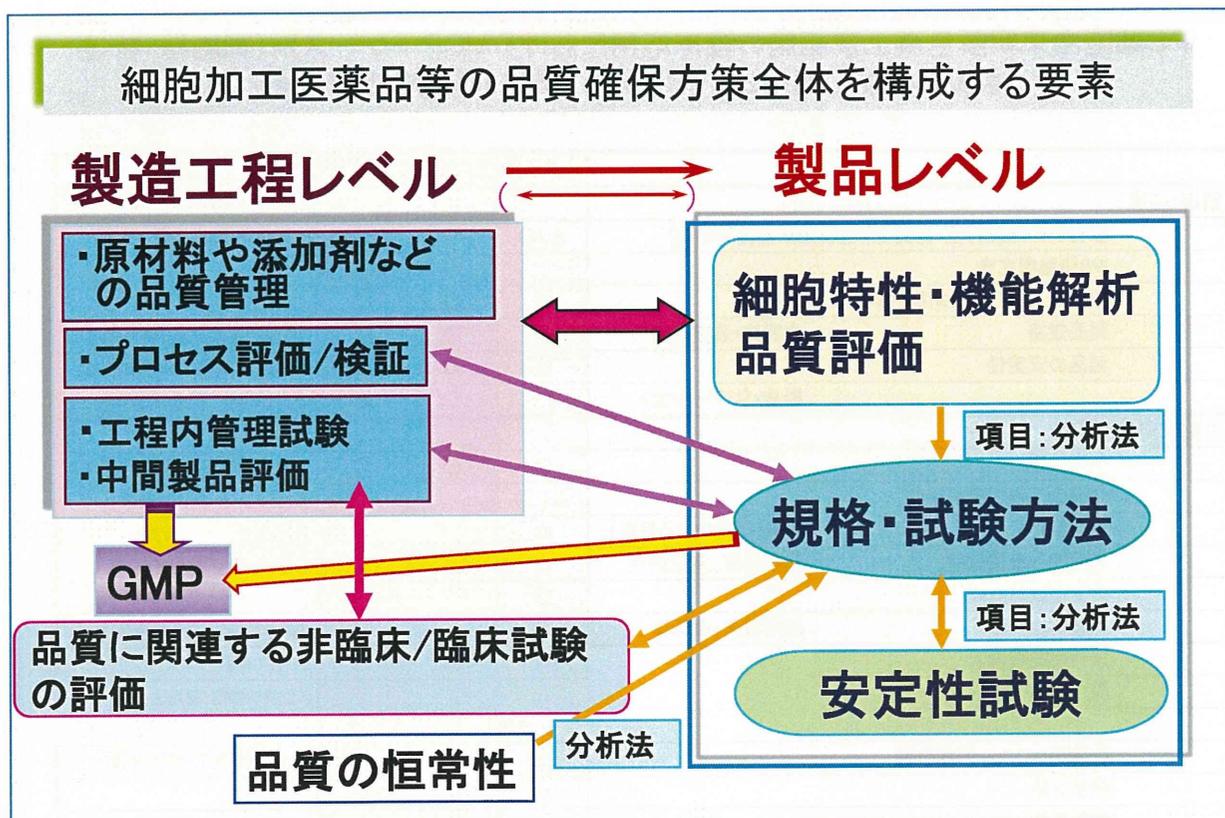
評価試験等にかかる時間、労力、コスト、科学的意義からみた合理性も勘案

<Table. 15>

iPS細胞由来網膜色素上皮細胞の臨床応用におけるMCP+ケース別(細胞種・特性、製品の種類、適用法、適用疾患、開発段階別)上乘せ例

	一般MCP	臨床研究	治験	備考
製造・品質				
原材料の細胞特性・品質(ヒト自己由来線維芽細胞)	△/○	○	○/◎	自己か同種により異なる
iPS細胞樹立法		○	○	
製品加工法(RPE:網膜色素上皮細胞誘導)	○	○	○	
製品規格 中間体・最終製品	○	○	◎	製品の特性により項目異なる
製品の安定性	△	△	○	保存期間・運搬の有無による
製造バリデーション			△	自己の場合:製法の頑健性
非臨床安全性試験				
長期培養	○	○	○	目的外形質転換能、未分化細胞残存
生理活性物質産生試験	△(○)			細胞の種類・特性を勘案
免疫原性 (免疫細胞による反応)	△			可能性を考察:同種/異種由来
単回投与毒性試験 異常毒性、用量設定	△			急性毒性危害要因を別途排除
安全性薬理試験	○			
造腫瘍性試験 最終製品・中間体	△			多能性幹細胞;適用細胞数;部位
未分化細胞混入	△	○	○	qRT-PCR等
異所性腫瘍形成	△			多能性幹細胞;適用法;部位
軟寒天コロニー形成試験	△			in vivo試験を行うなら不要
核型分析	△	△	△	
細胞毒性				
遺伝毒性				
体内動態	○			
フィーダー細胞のバリデーション				使用しない場合不要
セルバンク作成				
ウイルス検査				
ベクター安全性				除去効率・残存しない場合不要
薬力学試験 non-clinical POC	○	○	○	
書類整備				
CPC書類(GMP図書)			○	
製品標準書	○	○	○	
三管理基準書			○	
共通の手順書			○	
製造SOP等	○	○	○	
施設関連書類	○	○	○	
試験物概要書	○	○	○	
臨床プロトコール	○	○	○	
同意説明文書	○	○	○	
症例報告書		○	○	
対象疾患	老人性加齢黄斑変性症			

<Fig. 1>



<Fig. 2>

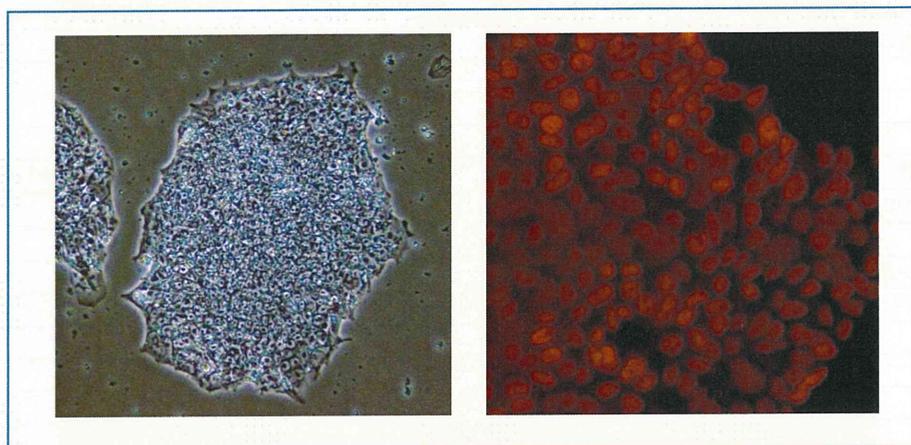


Fig 2 : 合成基質上で合成培養液を用いて培養されたヒトES細胞
長期培養後も未分化細胞としての形態を保ち (左)、
NANOGなど未分化マーカーを発現している (右)

<Fig. 3>

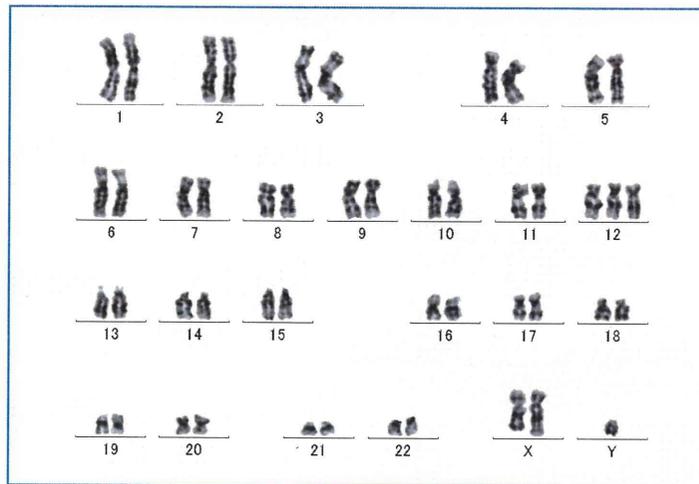
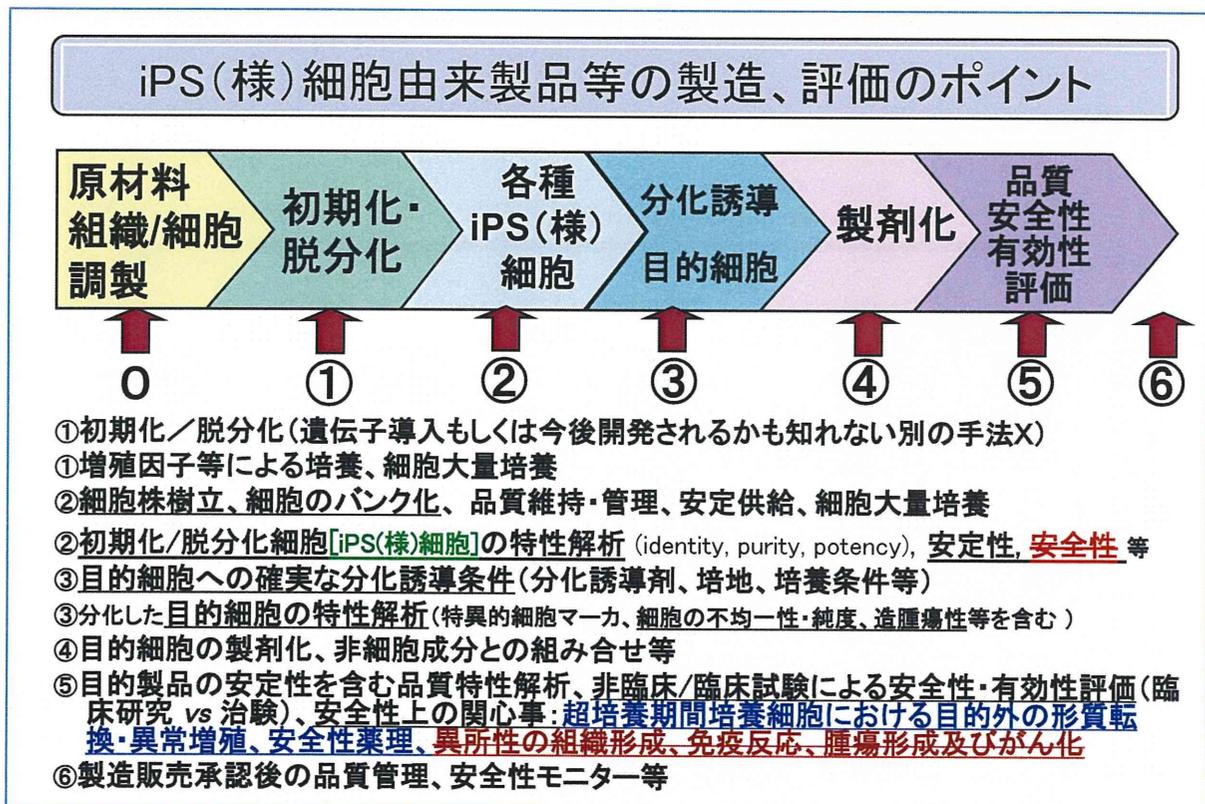
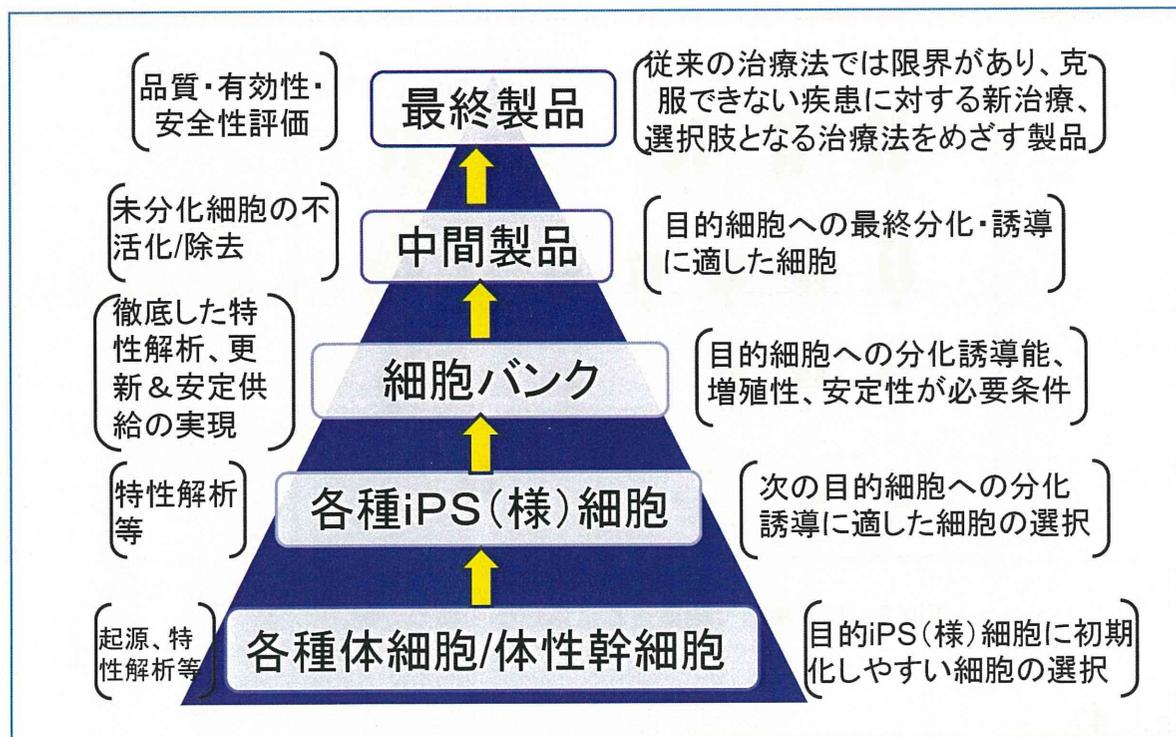


Fig 3 : E S細胞で観察された染色体変異の一例。

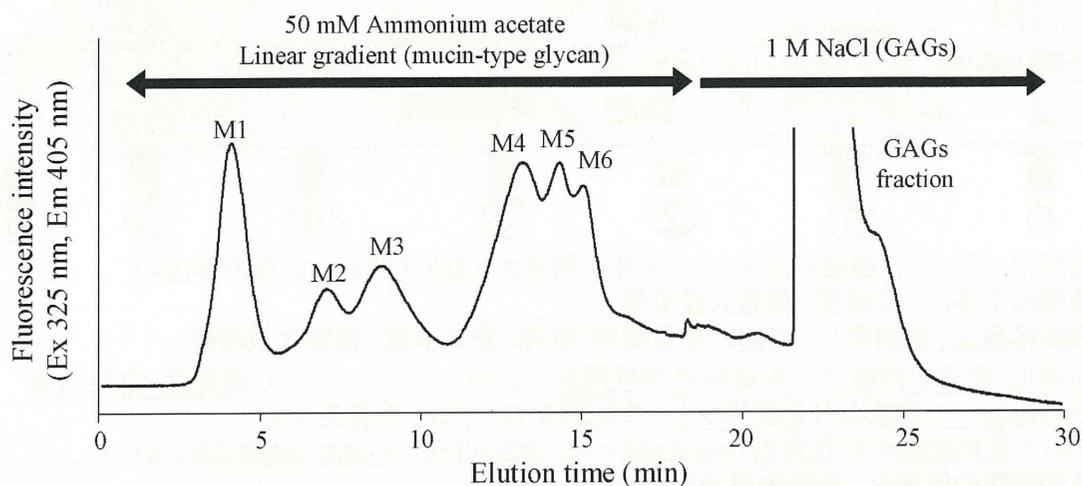
<Fig. 4>



<Fig. 5>

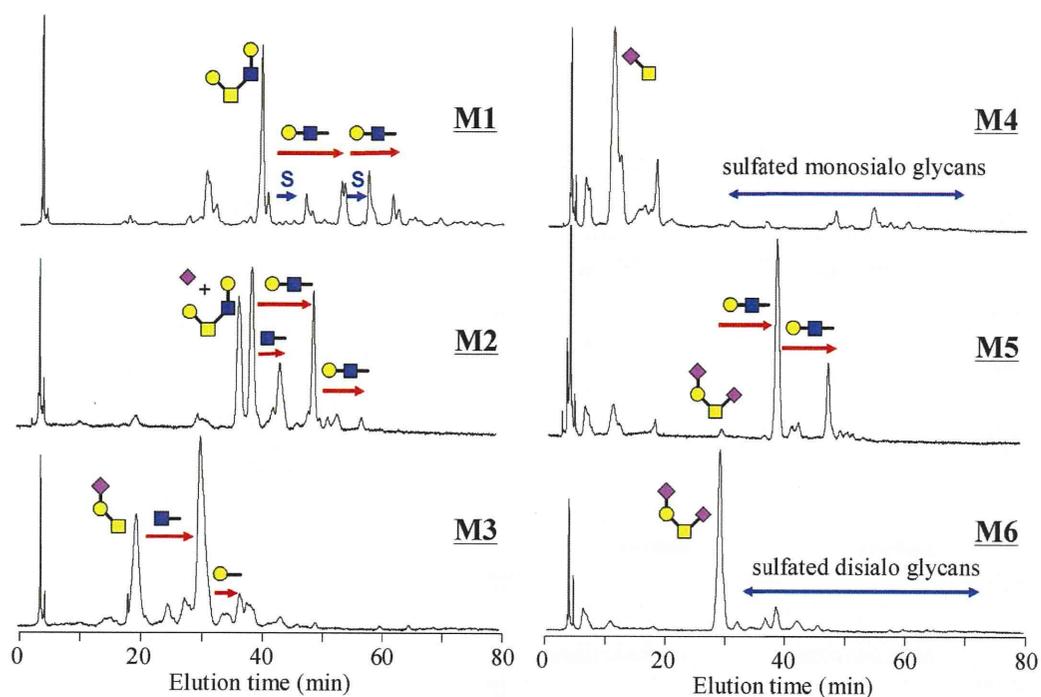


<Fig. 6>



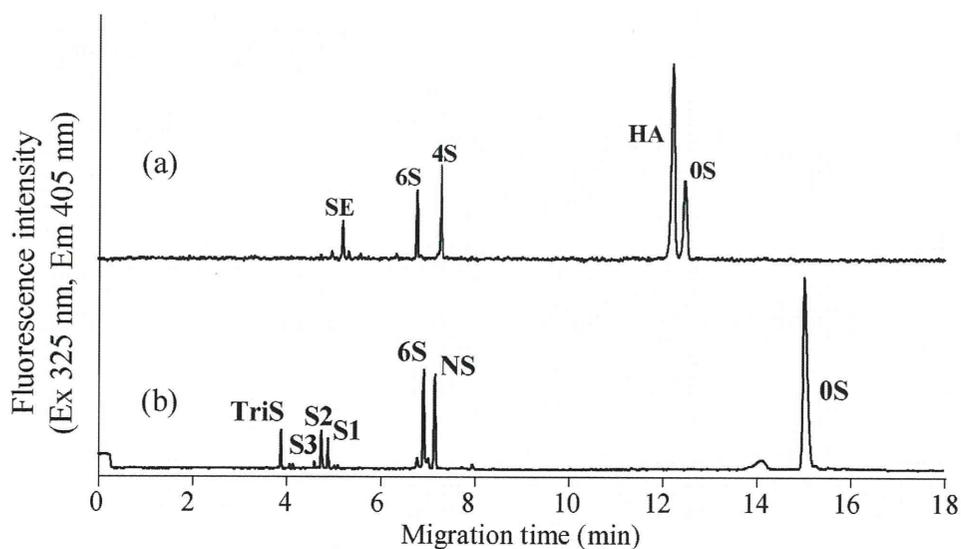
Serotonin affinity chromatography of O-linked glycans derived from HCT116 cell. Analytical conditions; column, LA-serotonin (4.6 x 150 mm). flow rate, 0.5 mL/min. eluent; solvent A, water. solvent B, 50 mM Ammonium acetate in water. gradient conditions, a linear gradient (5-40 % solvent B) from 2 to 20 min and 1 M NaCl from 20 to 45 min.

<Fig. 7>



NP-HPLC analysis of mucin-type O-glycans from HCT116 cell. Analytical conditions: column, TSK-GEL Amide-80 (4.6 x 250 mm). flow rate, 0.8 mL/min. eluent, solvent A, 0.1% CH₃COOH in MeCN. solvent B, 0.2% CH₃COOH/0.2% triethylamine in water. gradient conditions: a linear gradient (15-50 % solvent B) from 5 to 85 min.

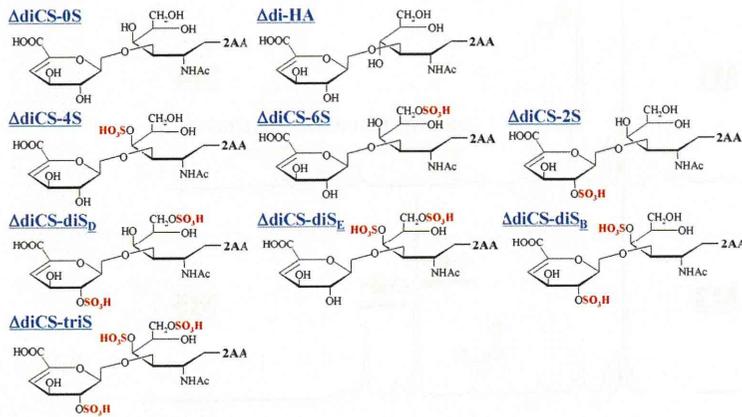
<Fig. 8>



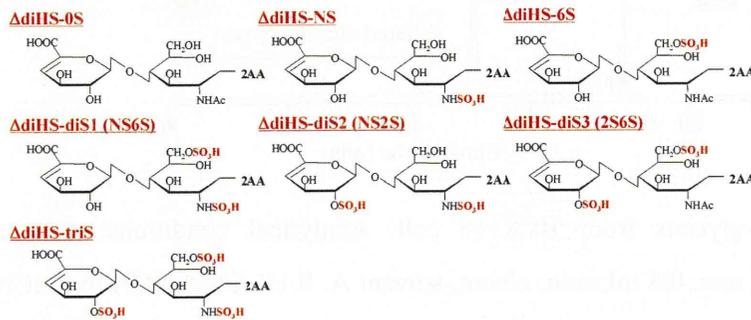
CE analysis of unsaturated disaccharides from HCT116 cell. Analytical conditions; Capillary, fused silica (40 cm x 50 μ m.i.d). Buffer, 100 mM Tris-phosphate buffer (pH 3.0). Applied voltage, 25 kV. Injection, pressure method (1.0 psi, 10 sec). Temperature, 25 °C. Detection, He-Cd laser induced fluorescent detection (Ex: 325 nm, Em: 405 nm)

<Fig. 9>

CS and HA unsaturated disaccharides

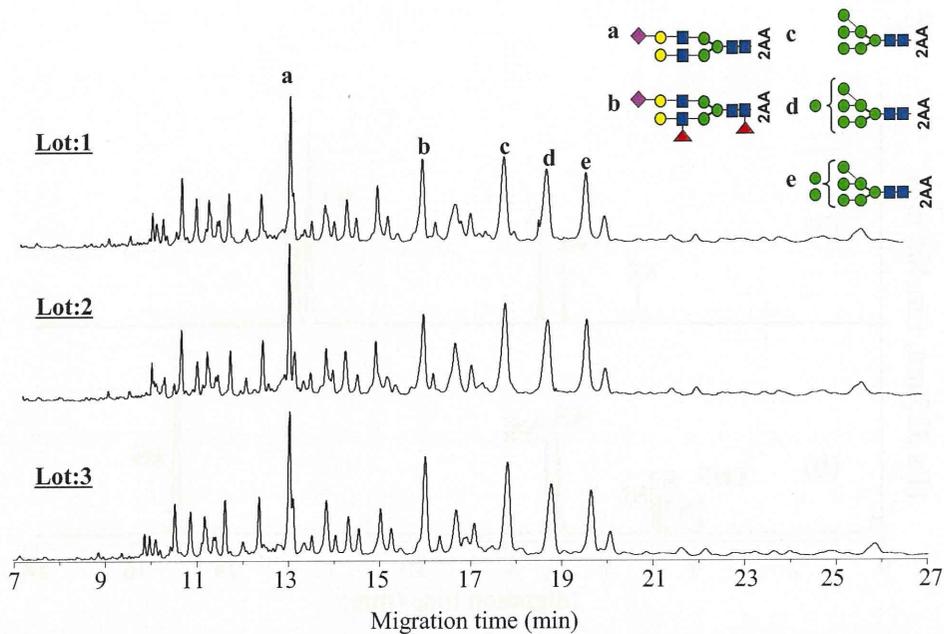


HS unsaturated disaccharides



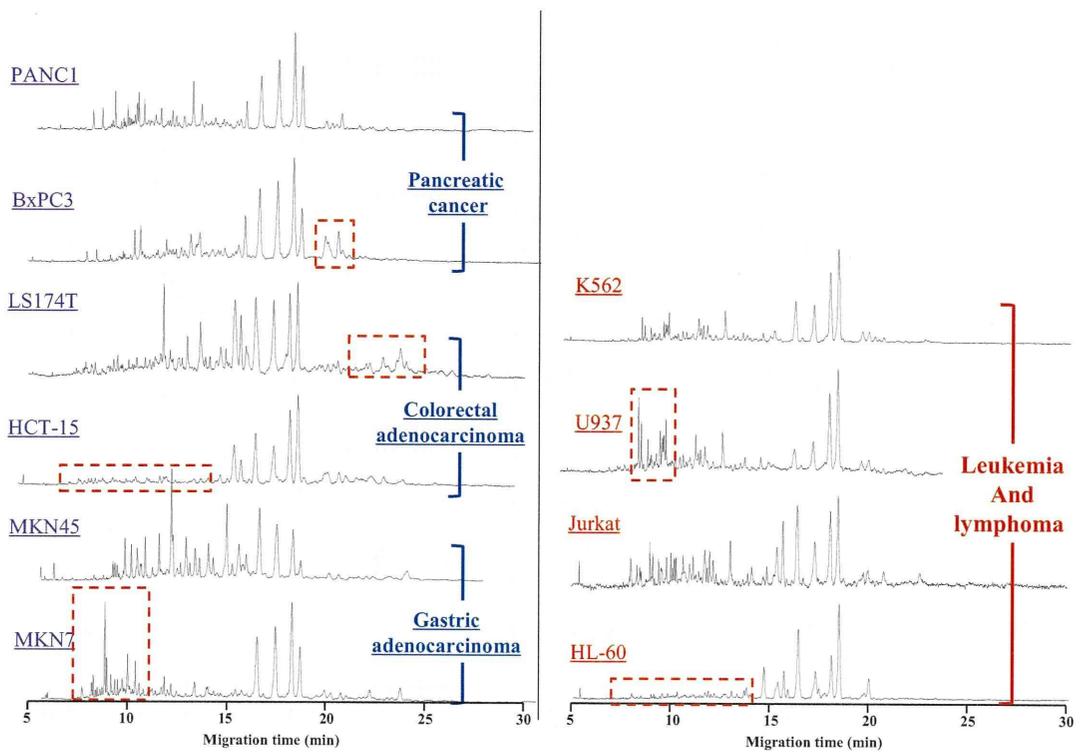
Structures of unsaturated disaccharides from CS and HS.

<Fig. 10>

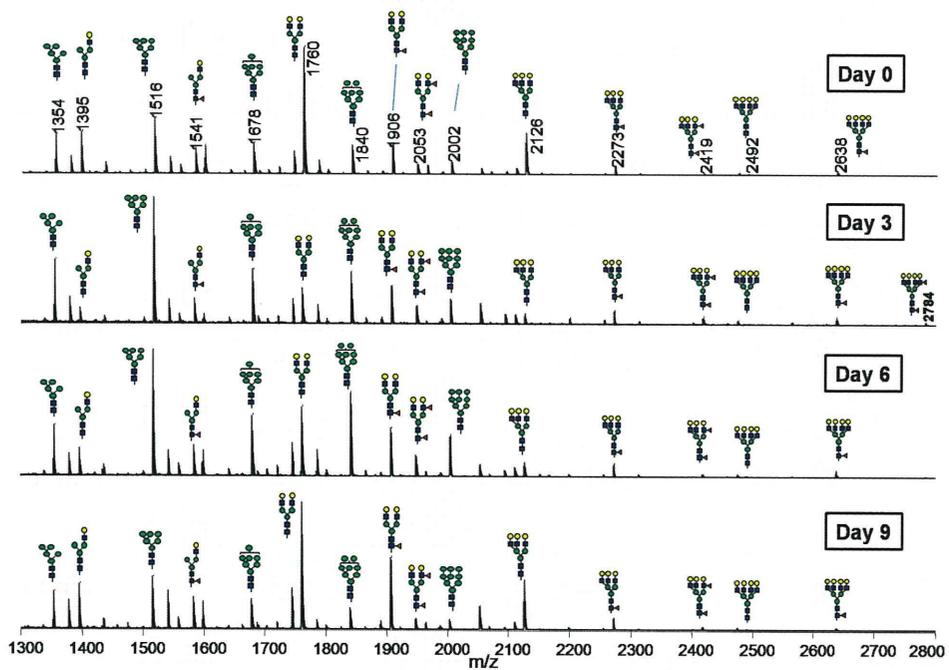


CE analysis of N-linked glycans derived from MKN45 cells. Analytical conditions; capillary, DB-1 capillary (40 cm x 100 μ m.i.d). Buffer, 100 mM Tris-borate buffer (pH 8.3) containing 10 %PEG70000. Applied voltage, 25 kV. Injection, pressure method (1.0 psi, 5 sec). Temperature, 25 $^{\circ}$ C. Detection, He-Cd laser induced fluorescent detection (Ex: 325 nm, Em: 405 nm).

<Fig. 11>

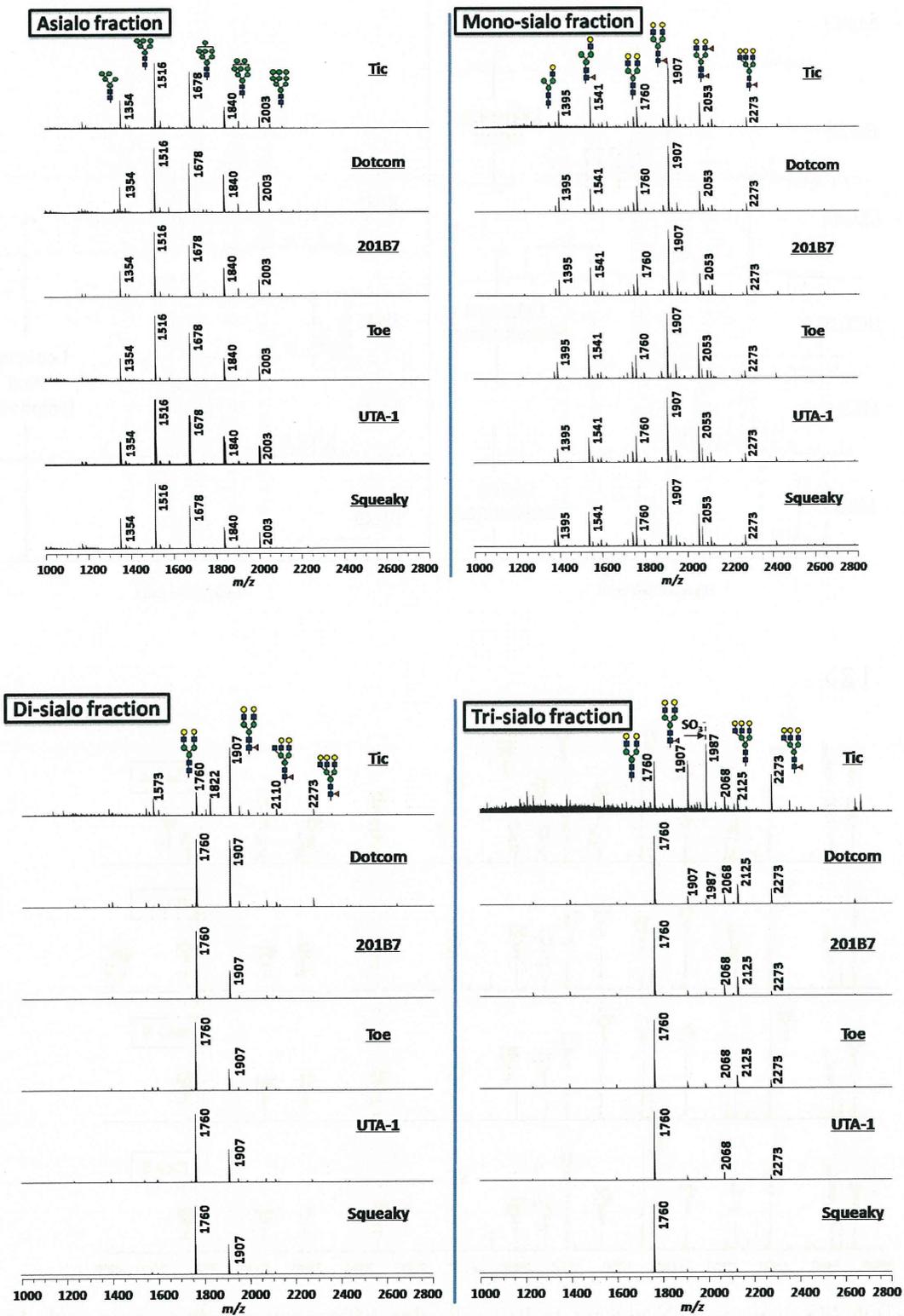


<Fig. 12>



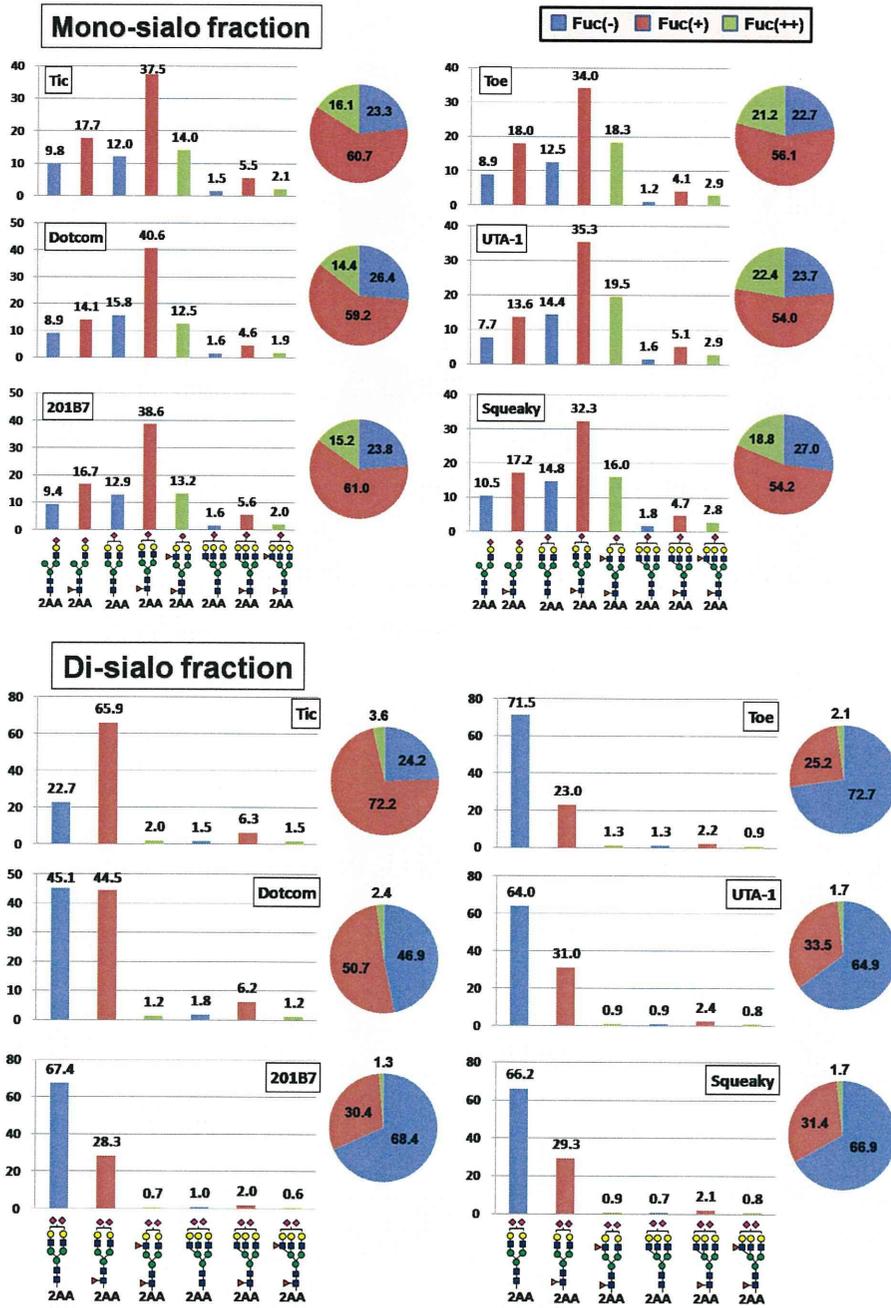
MALDI-TOF MS analysis of N-glycans in P19 cell after differentiation with retinoic acid. Analytical conditions: apparatus, AXIMA resonance; polarity, negative ion mode; matrix, 2, 5-dihydroxybenzoic acid.

<Fig. 13>



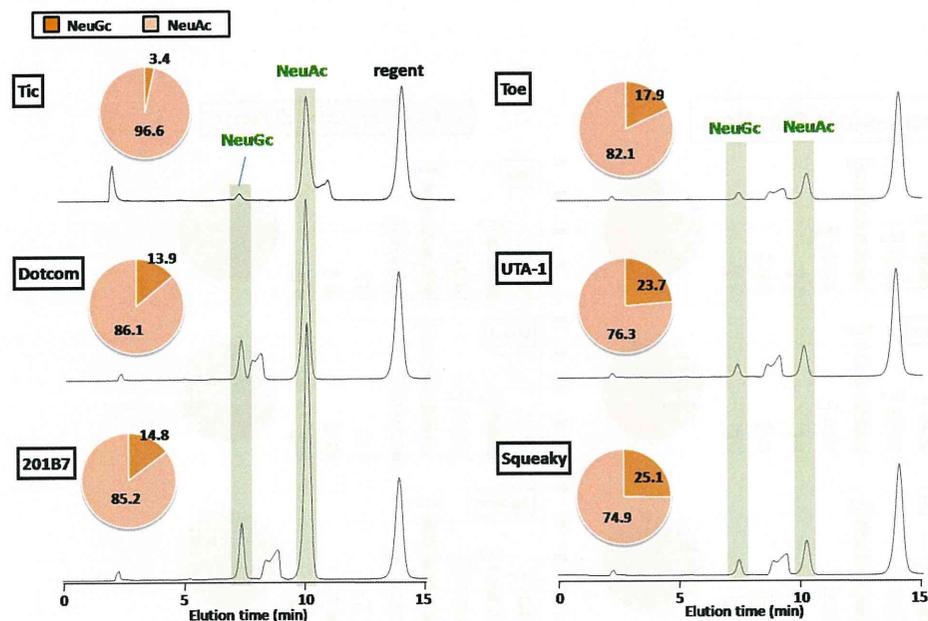
MALDI-TOF MS analysis of N-glycans in six iPS cells.

<Fig. 14>



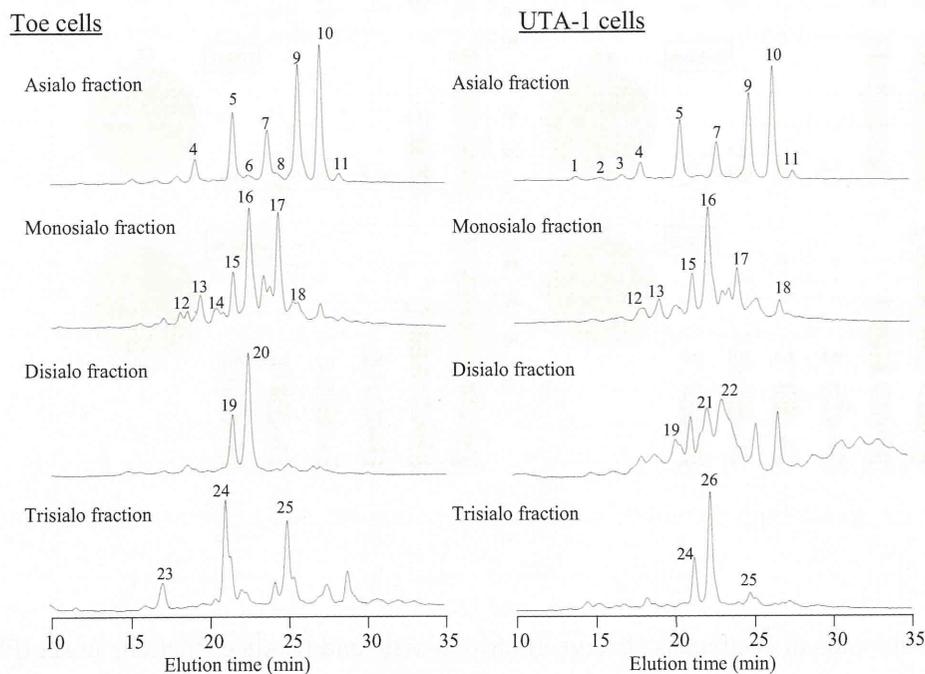
Relative amounts of N-glycans observed in Mono-sialo and Di-sialo fractions in six iPS cells

<Fig. 15>



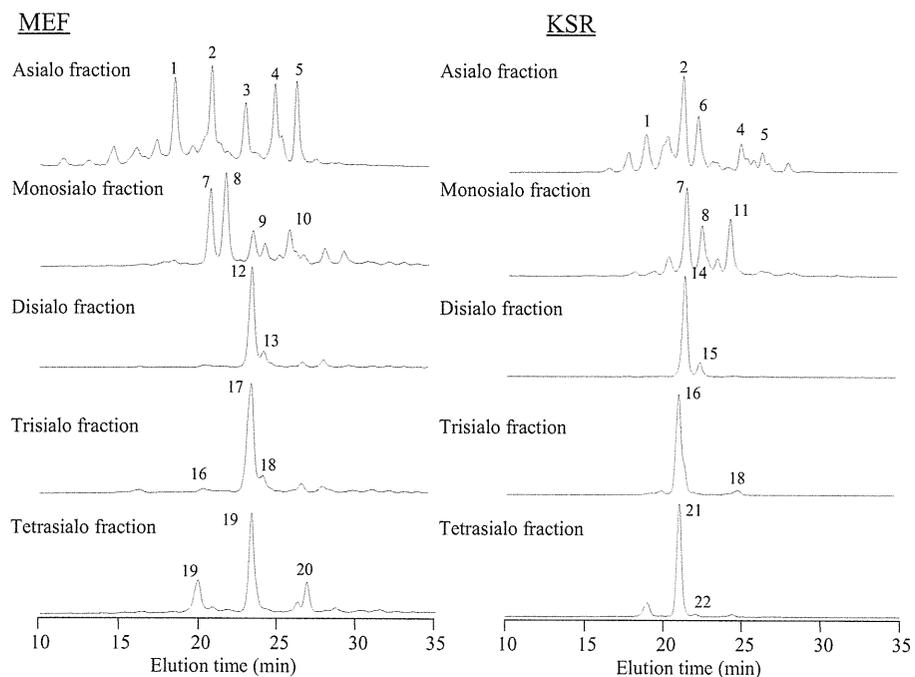
Analysis of Sialic Acids in six iPS cells. Analytical condition: column, COSMOSIL 5C18-II (4.6 x 250 mm); flow rate, 0.9 mL/min; eluent, 2% Acetonitrile/14% Methanol in water; elution conditions: isocratic elution

<Fig. 16>



NP-HPLC analysis of N-glycans fractionated by serotonin affinity chromatography. Analytical conditions: column, TSK-GEL Amide-80 (4.6 x 250 mm). flow rate, 0.8 mL/min. eluent, solvent A, 0.1% CH₃COOH in MeCN. solvent B, 0.2% CH₃COOH/0.2% triethylamine in water. gradient conditions: a linear gradient (15-50 % solvent B) from 5 to 85 min.

<Fig. 17>



NP-HPLC analysis of N-glycans fractionated by serotonin affinity chromatography. Analytical conditions: column, TSK-GEL Amide-80 (4.6 x 250 mm). flow rate, 0.8 mL/min. eluent, solvent A, 0.1% CH₃COOH in MeCN. solvent B, 0.2% CH₃COOH/0.2% triethylamine in water. gradient conditions: a linear gradient (15-50 % solvent B) from 5 to 85 min.

II. 分担研究報告書

1. 多能性幹細胞ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討

末盛 博文

2. 再生医療実用化加速に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究

阿久津英憲

3. 糖鎖を用いるミニマム・コンセンサス・パッケージ策定にかかる検討

掛樋 一晃

4. ヒト細胞・組織加工製品の造腫瘍性試験の現状に関する調査研究

佐藤 陽治

5. ヒト細胞・組織加工製品（ヒト細胞調製品）の臨床研究と薬事開発に共通して必要な品質・安全性確保の技術要件およびケース別上乘せ評価方策の同定法に関する研究

佐藤 陽治

6. 海外におけるヒト細胞・組織加工製品の規制の原則に関する研究

佐藤 陽治

要旨

ヒト ES 細胞を中心に、その樹立培養技術の現状をふまえて、その臨床利用において問題となりうる部分を抽出し検討を行った。培養技術に関しては主に動物由来成分の品質管理についてさらなる検討が必要であるが、問題となり得る部分の多くは合理的に解決が可能であると思われる。一方、基礎研究から臨床研究へスムーズに展開するためには、指針・規則等の検討が必要になると思われる。

要旨

ヒト ES 細胞を中心に、その樹立培養技術の現状をふまえて、その臨床利用において問題となりうる部分を抽出し検討を行った。培養技術に関しては多くの問題は解決されつつある。一方、本質的なリスクを認識した上で、速やかに臨床応用を実現するための指針・規則等を構築する必要がある。

A. 研究目的

ヒト ES/iPS 細胞を中心とした、多能性幹細胞の臨床研究や企業における製造承認を目指した開発を行う上で細胞由来製品の評価を効率的かつ合理的に行うために必要となる共通の施設、行程、評価や管理に関わる留意事項について、最新の科学的、技術的な知見を踏まえた整理/分析を行う。これにより、行程や管理基準についての標準化を目指して、必要に応じて各種技術の検証や改良を試みる。最終的に、産学官が共通に参照可能な、各要素に関する評価基準のミニマム・コンセンサス・パッケージの基盤とすることを目的とする。

B. 研究方法

再生医科学研究所では、ヒト胚の提供をうけてヒト ES 細胞の作成から培養、研究者への細胞株の分配を行うバンク事業に至るまでの行程を一貫して行っている。これらの確立されたプロセスについて、ヒト ES 細胞を中心に、まず臨床応用の初期段階において必要となるその品質や安全性の確保のための要件を、関連する法規・指針、最新の科学技術、国際的動向など

をふまえて、標準化を目指した分析を行うと同時のその妥当性について検証を行い、必要であれば改良を行う。

臨床利用を目的としたヒト ES 細胞の Master Cell Bank (MCB)の構築を想定した場合、その評価基準策定は以下の様なステップに分割することができる。

1. ヒト胚の提供
2. ES 細胞株の樹立
3. 増殖と凍結保存、融解

およびこれらに加え適当な段階で細胞の品質評価を行うことになる。

それぞれの段階について、関連する指針等や技術的要件を分析・評価する

(倫理面への配慮)

京都大学再生医科学研究所におけるヒト ES 細胞株の樹立研究と使用研究は、政府指針に沿った文部科学大臣からの確認をすでに受けている。本研究はこれらの研究に含まれるものである。

C. 研究結果

1. ヒト胚の提供に関わる問題点

ES 細胞作成の「原材料」となるヒト胚に関してはヒト由来組織の利用という観点からの倫理的問題と、安全性確保にかんする技術上の問題の二つについて適切な基準を設定する必要がある。

1. 1 指針上の問題点

ヒト ES 細胞の作成はこれまで文科省指針である「ヒト胚性幹細胞の樹立及び分配に関する指針」により行われている。臨床研究に用いるヒト ES 細胞の作成も原則としてこの文科省指針と同様の基準で行うことが妥当であると考えられる。文科省指針はこれに基づき作成された ES 細胞を医療に利用することを禁じるものではないが、基本的に基礎研究を想定した指針になっており、たとえば細胞株の分配は ES 細胞の使用研究指針（文科省）に従い届け出のあった研究計画に対してのみ可能とされている。臨床研究を実施する研究機関は文科省指針に従いすでにヒト ES 細胞研究を行っている場合がほとんどであると考えられるため、文科省指針にも続き作成された細胞株であっても、臨床利用が不可能とするわけでは必ずしもないと言える。いずれにせよ基礎から臨床に至るまで細胞株を途切れることなく使用できる環境を整備することが、ES 細胞の臨床利用に必要不可欠である。同様の理由から、これまでに作成されている細胞株に関しても安全性に関わる適切な管理基準をさだめたうえで臨床利用を可能とすべきである。文科省指針が基礎研究のためのものであることから、文科省指針下で作成された細胞株について臨床利用できないのではないかとの議論も提起されている。しかしながら、再生研の樹立計画では提供者への説明文にも将来的な臨床利用の可能性が記載されており、この研究計画の文科省指針に対する適合性は専門委員会による審議を含む厳格な二重審査の上、文部科

学大臣に確認されている。従って文科省指針下で樹立された細胞株の臨床利用に関して、指針への適合性には問題無いと考えられる。

1. 2 インフォームド・コンセント (IC) に関わる問題

凍結胚の提供の同意を得るために必要となる説明内容は文科省指針に規定されており、基本的には同様の説明がなされれば問題ないと考えられる。説明の際に臨床目的や医薬品製造などへの利用が将来的に想定されることが説明文書等に記載されていれば、同意書の項目として「臨床利用に同意」を設定する必要性はないと考えられる。

1. 3 凍結胚の安全性に関する問題

凍結胚の提供者は組織幹細胞の臨床利用などで想定されるドナーとは本質的に異なり、その病歴は ES 細胞の安全性に直接影響するわけではない。また、不妊治療の患者は通常 HCV, HIV などの感染についてスクリーニングされており、凍結胚のこれらのウイルスによる汚染の可能性は相当に低いと言える。その一方で、凍結胚の提供の手続きは不妊治療終了後に開始されるため、求められる検査項目等を完全に満たしていないケースもあり得る。

上記に加え不妊治療で用いられる手技は医療機関ごとにまちまちであり、またたとえば用いた薬品類のロットなどの記録が不完全である場合も予想される。

これらを考慮して、凍結胚については品質管理基準をあらかじめ設定することは適切でなく、個々の事例について合理的に判断されるべきである。

1. 4 匿名化に関する問題

ドナーと提供された組織の連結可能性が求められる理由のうち大きなものとして、提供

後にドナーが何らかの疾患を発病した場合に、レシピエントへの対応が必要となる場合が想定されていることがある。たとえば、遺伝性疾患を発病したような場合が挙げられるだろう。しかしながら ES 細胞の場合はドナーと胚は遺伝的には親子関係にあり、連結可能とする必要性はほとんど存在しない。よってドナーと ES 細胞の連結情報を保持する必要性は乏しい。

平成 22 年 11 月に「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（以下、ヒト幹指針）」が改正され、ES/iPS 細胞の臨床研究への道筋がつけられたことになる。しかしながら、ES 細胞の樹立・利用に関しては別途定めることとされている。しかしながら、匿名化に関しては、臨床研究に用いられる試料については連結可能匿名化が原則とされており、文科省指針との整合性をとることが困難である。

連結情報が必要とされる局面は ES 細胞の臨床利用においてはほとんど考えられないことは上記のとおりであるが、連結可能匿名化とする場合においては提供者の不安の軽減などについて適切な対応がとられる必要がある。

2 ES 細胞株の樹立と培養に関する問題

以下に培養技術上の問題点をあげる。

2. 1 胚培養と細胞株樹立

ES 細胞株の樹立、凍結胚の解凍・培養、胚盤胞からの内部細胞塊の単離、内部細胞塊の培養と株化、のステップから構成される。

凍結胚の解凍し胚盤胞まで培養する行程は胚を提供する医療機関によりことなる可能性があり、またそれぞれの医療機関でとられている手法をそのまま導入することになる。そのため、品質管理が困難な試薬等が使用されている

場合も想定される。個別に評価することが必要になるだろう。

内部細胞塊の単離には、抗血清や動物補体を用いた免疫手術法や機械的に分離する手法などが用いられている。機械的分離法が好ましいと考えられるが、免疫手術法など他の方法も排除されるべきではない。一般に樹立過程ではマウス繊維芽細胞などをフィーダーとして用いることで、効率よく細胞株を作成することができると考えられている。一旦樹立された細胞株は、後述するようなフィーダーフリーでの培養が可能であると考えられる。これら、動物由来成分・細胞などを用いる場合の安全性確保については、後工程での品質管理により担保する方法が有効であると考えられる。

2. 2 完全合成培地によるヒト ES 細胞の培養

ES 細胞の医療利用には培養行程の品質管理が重要である。従来は FBS や純度の低いヒトを含めた動物由来成分などを含む培養液が用いられてきたが、これらは品質管理の観点から様々な問題があるため、化学合成品やリコンビナントタンパクへの置き換えが好ましいと考えられる。このような目的でこれまでに様々な合成系培養液が開発され、市販品としても流通している。hESF9 (Cell Science & Technology Institute) 、 mTeSRTM1 (Stemcell Technologies) 、 StemPro hESC SFM (Invitrogen)、HESc-GRO (Millipore)などが代表的なものである。

これらの報告のある培養液について、International Stem Cell Initiative(ISCI)による国際的な性能の比較研究が行われた。この研究では、世界的な研究をリードしている 4 箇所の研究機関が共同して合成系培養液の性能の比較を、同一の細胞株と各研究機関で樹立された