

201504026A

# 厚生労働科学研究費補助金

厚生労働科学特別研究事業

iPS細胞等を用いた臨床研究を実施する際の移植細胞の  
安全性評価の在り方に係る研究

平成27年度 総括研究報告書

研究代表者 福井 次矢

平成28(2016)年 3月

# 目 次

## I. 総括研究報告

iPS 細胞等を用いた臨床研究を実施する際の移植細胞の 安全性評価の在り方に係る研究	1
---	---

## II. 別添資料

別添資料 1	4
--------	---

「臨床研究において多能性幹細胞由来特定細胞加工物を移植する際の  
考え方について」

別添資料 2	5
--------	---

「特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞を用いる再生医療等提供計画の  
造腫瘍性評価の審査のポイント」

# I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
総括研究報告書

iPS 細胞等を用いた臨床研究を実施する際の移植細胞の  
安全性評価の在り方に係る研究

研究代表者 福井 次矢 聖路加国際大学 聖路加国際病院 院長

研究要旨

多能性幹細胞等を用いる再生医療の適切な社会展開にむけ、再生医療等安全性確保法に基づいて審議、実施される再生医療等技術に関し、特定認定再生医療等委員会での適切かつ迅速な審議に資する目的で、造腫瘍性を中心とした安全性の評価に係る考え方を示した。

研究分担者

- 赤澤 智宏（東京医科歯科大学・教授）  
油谷 浩幸（東京大学先端科学技術研究センター・教授）  
牛島 俊和（国立がん研究センター研究所 先端医学生物学研究領域  
エピゲノム解析分野・分野長）  
梅澤 明弘（国立研究開発法人国立成育医療研究センター研究所・副所長）  
岡野 栄之（慶應義塾大学医学部・教授）  
小川 誠司（京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学講座・教授）  
掛江 直子（国立研究開発法人国立成育医療研究センター 生命倫理研究室・室長）  
後藤 弘子（千葉大学大学院専門法務研究科・教授）  
佐藤 陽治（国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部・部長）  
澤 芳樹（大阪大学大学院医学系研究科・教授）  
永井 良三（自治医科大学・学長）  
早川 堯夫（近畿大学薬学総合研究所・所長）  
松山 晃文（国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬資源部・部長）  
森尾 友宏（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 発生発達病態学分野・教授）  
山口 照英（日本薬科大学・客員教授）  
山中 伸弥（京都大学 iPS 細胞研究所・所長/教授）

研究協力者

- 角田 聡（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）  
平家 勇司（聖路加国際病院）  
南 砂（読売新聞東京本社）

## A. 研究目的

厚生労働省 厚生科学審議会 再生医療等評価部会及び文部科学省 科学技術・学術審議会 研究計画・評価分科会 ライフサイエンス委員会 幹細胞・再生医学戦略作業部会における提言を受け、多能性幹細胞等由来細胞を用いる再生医療の安全性を確保するために、安全性に関連する課題 (risk issues) を整理し、再生医療等安全性確保法に基づく特定認定再生医療等委員会における審議・評価に係る基本的考え方をとりまとめることである。

## B. 研究方法

研究班会議を4回に加え、意見交換会を2回開催し、多能性幹細胞等由来細胞を用いる再生医療の安全性を確保するために、「造腫瘍性」を中心に科学的見地から議論を重ねた。具体的には、造腫瘍性に関して現時点で実行可能な科学的試験・評価方法とそれらの検出力、限界について議論し、実施可能性をも考慮した提言を行った。

\*平成 27 年度内に開催した研究班会議で議論をし尽くせなかったため、平成 28 年 4 月に 2 回の意見交換会を行い、議論を深めた。尚、これに関わる旅費等は自主財源により支弁した。

(倫理面への配慮)

本研究は個人情報を扱うものではないが、必要に応じ関連法令、通知、指針にのっとり研究を実施した。

## C. 研究成果

「臨床研究において多能性幹細胞由来特定細胞加工物を移植する際の考え方について」

として、多能性幹細胞由来特定細胞加工物にかかる提供計画について特定認定再生医療等委員会で審議する場合の基本的な考え方を提示した (別添資料 1)。

その上で、特定認定再生医療等委員会における、多能性幹細胞由来細胞の造腫瘍性に関する審査に資するため、「特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞を用いる再生医療等提供計画の造腫瘍性評価の審査のポイント」 (別添資料 2) を作成した。この中で、多能性幹細胞由来特定細胞加工物の造腫瘍性のリスク評価法に関し、「原材料となる多能性幹細胞」と最終的な「多能性幹細胞由来特定細胞加工物」にわけ、「未分化細胞の混入ならびに作成に用いた遺伝子断片の残留」と「加工中に生成した増殖性形質転換細胞の混在」の視点から、最新の知見を踏まえた提言を行った。in vivo試験に加え、造腫瘍性に関連するゲノム解析の重要性を踏まえつつ、それらの解析結果を多能性幹細胞由来特定細胞加工物の使用の可否の判断に用いることの限界も明記し、さらには将来のリスク評価法の確立に寄与する重要性も明記した。

## 再掲

### 別添資料 1

臨床研究において多能性幹細胞由来特定細胞加工物を移植する際の考え方について

### 別添資料 2

特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞を用いる再生医療等提供計画の造腫瘍性評価の審査のポイント

## D. 考察

多能性幹細胞は、奇形腫形成という造腫瘍能を有しており、ヒト体細胞・体性幹細胞とは大きく異なる。したがって多能性幹細胞に由来する細胞組織加工製品においては、未分化の多能性幹細胞の混在により異

所性組織や腫瘍が形成されるおそれがあるため、安全性評価の中でも特に造腫瘍性の評価と適切な管理は重要な課題である。

多能性幹細胞を用いる再生医療に際しては、その投与・移植形状、投与・移植細胞数、適用の経路、適用部位、免疫抑制剤の使用の有無、患者の病状の緊急性（人道的臨床利用含む）、既存治療法などの他選択肢の有無等、様々な検討軸が存在するため、科学的背景を有しない者にとっても理解しやすい考え方の提示が望まれる。本研究成果により提示された考え方が、多能性幹細胞を用いる再生医療が幅広く社会に受け入れられる一助となることが期待される。

現行の薬事関連通知において、造腫瘍性試験は適切に設計された動物モデルでの実施が求められているのみであるが、造腫瘍性評価をはじめとする安全性評価に最新の科学的知見を合理的に反映させた規制体系構築への期待は大きい。これら規制体系の構築にあたり、近年大幅に発達したゲノム解析技術は、細胞加工物およびその原料・中間加工物となる細胞の特性解析の有力なツールとなりうる。つまり、ゲノム解析等の結果に基づいた細胞の遺伝的不安定性評価および細胞加工物の安全性評価は、重要かつ有用なアプローチとなると考えられる。

このような背景のもと、PMDA 科学委員会は提言「iPS 細胞等をもとに製造される細胞組織加工製品の造腫瘍性に関する議論のまとめ」を取りまとめている。これは、多能性幹細胞由来製品の造腫瘍性評価にあたって、ゲノム解析の必要性に言及するなど OMICS 技術を造腫瘍性試験に適用することを奨めた、世界で初めての提言である。

しかしながら、現時点において、解析の

結果得られるゲノム異常と多能性幹細胞由来製品の造腫瘍性との関連性は科学的には証明されていないことから、最終的な使用の可否の判断は、投与形態や対象患者のリスク・ベネフィットを勘案して判断しつつ、同時に、ゲノム異常と多能性幹細胞由来製品の造腫瘍性の関連を科学的に検証し、今後の OMICS を活用した規制科学の推進につなげる姿勢が重要である。

## E. 結論

再生医療にかかる造腫瘍性評価の公的ガイドラインは世界的にみても皆無である。多能性幹細胞等を用いる再生医療の適切な社会展開にむけ、再生医療等安全性確保法に基づいて審議、実施される再生医療等技術に関し、造腫瘍性を中心とした安全性の評価に係る基本的考え方を世界に先駆けて示した。特定認定再生医療等委員会での適切かつ迅速な審議に資することが期待される。

## F. 健康危険情報

該当無し

## G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当無し
2. 実用新案登録  
該当無し
3. その他  
該当無し

## II. 別添資料

## 臨床研究において多能性幹細胞由来特定細胞加工物を移植する際の 考え方について

多能性幹細胞等を用いる再生医療は、これまで治療法がなかった難治性疾患患者の運命を変える可能性を有しており、社会にとって大きな福音となりうる。一方では、これまで全く臨床経験のない領域であり、研究は慎重に進めなくてはならない。したがって、科学コミュニティは、再生医療研究が患者やその家族のみならず、広く社会に理解され受け容れられるよう努める必要がある。

臨床研究にて多能性幹細胞由来特定細胞加工物を移植する際、提供計画をもとに特定認定再生医療等委員会にて安全性および妥当性が議論される。当該委員会委員には、医学、医療、法、倫理各々のプロフェッショナルとしての矜持を抱き、委員会に参画する一般の者と協働して社会の感覚から乖離しない議論を進めることが求められる。

多能性幹細胞由来特定細胞加工物提供計画における安全性および妥当性は、細胞加工物をもつリスクに加え、年齢・疾患・重症度等対象患者の選定方法、投与方法・投与経路、最低限実施が望まれる検査、インフォームドコンセント、リスクコミュニケーション等に関し、提供計画に示された科学的根拠を勘案して、総合的に検討されるべきである。その際には、倫理的な観点から、被験者人格の尊重、無危害原則、予期される被験者の利益と可能な限り低減されたリスクの均衡、ならびに成果受益の観点から議論されることが望まれる。

これら提供計画の安全性と妥当性を議論するうえで、特定細胞加工物中の未分化細胞および加工中に生成する可能性がある増殖性形質転換細胞の混在に関し、このハザードが許容される範疇であるかの評価は、その中核的課題の一つでありながら、これまで明確に考え方および留意事項が示されていなかった。今般、本研究班で議論を行い、報告を行うこととした。



## 特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞を用いる 再生医療等提供計画の造腫瘍性評価の審査のポイント

多能性幹細胞由来特定細胞加工物のリスクを評価する際に求められる非臨床試験の要件は、いまだ定まっておらず、本研究班において最先端の知見を踏まえた議論を尽くしても、全員が一致する最終結論には至らなかった。本報告書は、現時点で最善の議論を尽くした上での最大公約数の賛同を得られた意見であり、今後得られる基礎研究の成果、さらには臨床投与患者における注意深い観察、その検体解析で得られる知見を積み上げることにより、本報告書の内容は常に検証、修正されるべきである。

本報告書は、現時点で適切な治療法がない患者に、新たな治療を受ける機会を提供することを最大限に考慮するとともに、多能性幹細胞由来特定細胞加工物を用いた治療法をいち早く、安全に患者のもとに届けられるよう、将来の開発に寄与する科学的データを集積することを目的に作成した。

### 1. 原材料としての多能性幹細胞に求められる安全性等の審査のポイント

#### (1) 余剰胚又は原料細胞について、以下の点を確認すること

- ・提供者からインフォームド・コンセントを受けている。
- ・ドナースクリーニングが適切に実施されている。
- ・その他国内関連指針・基準適合性が評価されている<sup>注1)</sup>。

\*上記3項目において1つでも該当しない項目がある場合は、臨床利用は許容されない。

注1) 生物由来原料基準、平成24年9月7日薬食発0907第4～6号を参考とする。

#### (2) 原材料となる多能性幹細胞において、造腫瘍性を否定できない以下のゲノム所見を確認すること

- ・核型異常(Conventional 又は G-Band)
- ・腫瘍関連遺伝子(Cosmic census + Shibata list)のSNV/Indel及びコピー数異常(CNV)を含む構造異常
- ・腫瘍化促進の可能性のある外来因子の有意な残存

\*上記3項目において1つでも異常を有する場合は、リスク・ベネフィットを厳密に検討し、臨床利用の妥当性を判断する<sup>注2)</sup>。これらを満たした多能性幹細胞は、再生医療等安全性確保法下での臨床利用を許容し得る。原材料となる多能性幹細胞のゲノム解析については、未解明の事項が多くあることも含め、対象患者への説明同意文書に分かりやすく記載されていることを確認すること。

注2) 対象患者に対するリスクを最小化させるため、可能な限り上記項目において異常がないと判定される多能性幹細胞を使用することが望ましい。しかしながら、多能性幹細胞のゲノム解析において異常が認めら

れる場合でも、そのリスクを上回る、対象患者の健康上のベネフィットが期待される場合には、当該多能性幹細胞の使用が許容されることがある。この場合も、FIH 試験においては、最初の数例によりベネフィットの感触が得られるまでの間は、慎重を期し上記項目において異常がないと判定される多能性幹細胞を使用することとする。

このリスク・ベネフィットの評価に当たっては、特に代替治療の有無や疾患の重篤性等のエビデンスに留意し、総合的に判断することが求められる。

移植細胞の種類や、移植細胞数、移植部位、代替治療法の有無、リスクマネジメントプランの内容等により使用が許容されることがある。移植細胞が終末分化細胞か、移植細胞数が比較的少数か、移植部位が腫瘍を起こしにくい環境か、移植後の細胞観察が容易かなどの観点から判断する。

## 2. 多能性幹細胞由来特定細胞加工物の造腫瘍性評価の審査のポイント

### (1) 臨床利用を目的とした原材料として、前述の項目を満たしていることを確認すること

- ・ 満たしていない場合は、臨床利用は許容されない。

### (2) 最終加工物の *in vitro* 試験に関して、以下の点を確認すること

- ・ 原材料である多能性幹細胞の拡大培養や分化誘導中に新たに生じた核型異常 (Conventional 又は G-Band) や、腫瘍関連遺伝子 (Cosmic census + Shibata list) の SNV/Indel 及びコピー数異常 (CNV) を含む構造異常、体細胞変異で確認される細胞亜集団の明らかな増大
  - ・ 未分化な多能性幹細胞の残存
  - ・ 培養期間を超えて培養した場合の、目的外の形質転換や目的細胞以外の細胞の異常増殖
- \* 上記3項目において1つでも異常を有する場合は、原則として使用を推奨しないが、対象疾患・投与方法など、リスク・ベネフィットを厳密に検証することで使用が妥当と判断し得る場合も想定される<sup>注3)</sup>。なお、リスク・ベネフィットについては、対象患者への説明同意文書に分かりやすく記載されていることを確認すること。

注3) 対象患者に対するリスクを最小化させるため、可能な限り上記項目において異常がないと判定される多能性幹細胞由来特定細胞加工物を使用することが望ましい。しかしながら、多能性幹細胞由来特定細胞加工物のゲノム解析において異常が認められる場合でも、そのリスクを上回る、対象患者の健康上のベネフィットが期待される場合には、当該多能性幹細胞由来特定細胞加工物の使用が許容されることがある。この場合も、FIH 試験においては、最初の数例によりベネフィットの感触が得られるまでの間は、慎重を期し上記項目において異常がないと判定される多能性幹細胞を使用することとする。

このリスク・ベネフィットの評価に当たっては、特に代替治療の有無や疾患の重篤性等のエビデンスに留意し、総合的に判断することが求められる。

移植細胞の種類や、移植細胞数、移植部位、代替治療法の有無、リスクマネジメントプランの内容等により利用可能の場合がある。移植細胞が終末分化細胞か、移植細胞数が比較的少数か、移植部位が腫瘍を起こしにくい環境か、移植後の細胞観察が容易かなどの観点から判断する。

(3) 最終加工物の *in vivo* 造腫瘍性試験について、以下の①～⑪の各々の妥当性を総合的に勘案すること

- ①その目的とヒトへの外挿性と限界
- ②動物種と免疫抑制・不全状態
- ③提供計画で予定される投与の手技
- ④試験での加工物投与部位
- ⑤試験での投与・移植形態
- ⑥予定投与細胞数と *in vivo* 造腫瘍性試験投与細胞数
- ⑦試験観察期間と中間解析する場合の妥当性
- ⑧観察評価項目
- ⑨観察された病理学的所見の評価
- ⑩移植後の観察計画
- ⑪加工物の一部保存計画

なお、*in vivo* 造腫瘍性試験は、がん化のリスクを直接評価するものではなく、ある試験条件下で、ハザードの有無や存在量、免疫不全動物内での要因の発現程度を評価するものである。また、がん細胞は多様性に富むため、*in vivo* 造腫瘍性試験では検出率が低いがん細胞種があることにも留意し、対象患者への説明同意文書に分かりやすく記載されていることを確認すること。

(4) リスクマネジメントプランの妥当性について確認すること

- ・フォローアップ計画
- ・腫瘍発生時の対処方法(外科的切除や薬剤投与等)

(5) ポテンシャルベネフィットの観点から提供計画の妥当性について確認すること

- ・代替治療法を確認し、有る場合は既存の治療方法との比較
- ・投与時の予後
- ・投与しない時の予後 他

### 3. 参考情報

ヒト細胞では培養により核型変化などの遺伝子変異が生じることが知られている。核型が安定しているヒト二倍体線維芽細胞でさえも一塩基遺伝子多型(SNP)アレイによる解析では若干の変異を示し、また非二倍体の核型が、明らかな正常組織においても時々観察されることがある。*in vitro* で観察される核型異常細胞やその他の遺伝子変異を持つ細胞の安全性に関しては、世界的にもまだ結論は出ていない。遺伝的安定性のベースラインとなる遺伝子情報は、細胞種や培養方法によって異なる。継代培養において遺伝子複製の絶対的

安定性を示す細胞はない。したがって、潜在的ハザードである遺伝的不安定性を最小限にするため培養期間及び継代回数を制限し、培養条件の方法や変更の影響に対するリスク評価を行うべきである。

次世代シーケンサー等の先端技術によるゲノム情報・エピゲノム情報については、遺伝子変化(変異のタイプとそのアレル頻度)に対する検出感度と適切なコントロールの入手可能性を今後の課題として検討しつつ、造腫瘍性との関連性について科学的検証を進め、試験法として利用することの妥当性を評価すべきである。なお、特定細胞加工物の造腫瘍性等の安全性との関連性が科学的に明らかになった変異に関しては、例えば、

- ① 超長期培養後、既知の腫瘍関連 SNV/Indel や CNV を検出するための検査
- ② 超長期培養後、既知の腫瘍関連エピゲノム変化を検出するための検査
- ③ 対象疾患との関連性又は特定細胞加工物中の分化細胞の機能異常との相関が既知の遺伝子変異を検出するための検査といった検査を実施することにより、特定細胞加工物の安全性向上が期待される。

ただし、特に多能性幹細胞由来特定細胞加工物については、新規性が極めて高くリスク予測が困難なため、安全性確保のための議論の参考情報 (reassurance のための補完情報) として、腫瘍発生その他の有害事象との関連性が既知の遺伝子変異について、あらかじめ確認しておくことが望ましい。すなわち、低アレル頻度遺伝子変異の分析的検出限界など、試験法の性能を明らかにした上で、上記①～③を確認することが望ましい。①～③の変異が検出された場合の多能性幹細胞由来特定細胞加工物の臨床投与の判断については、患者の重篤度、治療の緊急性等を踏まえて判断する。



