

厚生労働行政推進調査事業費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

総括研究報告書

多能性幹細胞等を用いた再生医療等提供計画の議論に係る研究

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：

平成28（2016）年に通知された再生医療等安全性確保法において、多能性幹細胞を用いる再生医療での造腫瘍性評価の審査基準が定められた。以後、厚生科学審議会再生医療等評価部会では、当該通知に依ってiPS細胞利用再生医療が審議されてきた。通知発出以来3年間で、再生医療・医学、ゲノム科学は長足の進歩を遂げ、審議経験も蓄積され、がんゲノムCosmic listの改訂や再生医療等評価部会におけるゲノム変異の取り扱いに関する議論などの新たな科学的知見を踏まえ、基準の改定が求められる状況となった。今般、多能性幹細胞等由来細胞を用いる次世代再生医療の適切な推進に向け課題を整理したうえで、科学的社会的見地から議論を重ね、再生医療等安全性確保法に基づいて審議される特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞利用再生医療等提供計画の造腫瘍性評価を審査する際の基準の改定に係る報告書を作成した。

研究分担者

赤澤智宏 順天堂大学医学部 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 エピゲノム解析分野 分野長
 梅澤明弘 国立成育医療研究センター研究所 副所長/再生医療センター長
 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講座 教授
 掛江直子 国立成育医療研究センター 生命倫理研究室/小児慢性特定疾患情報室
 室長/スーパーバイザー
 後藤弘子 千葉大学専門法務研究科 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 心臓血管外科 教授
 早川堯夫 国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員
 平家勇司 聖路加国際大学公衆衛生大学院 教授
 松山晃文 藤田医科大学医学部医学科再生医療学講座 教授
 森尾友宏 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授
 山口照英 日本薬科大学薬学部 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

真木一茂 (独) 医薬品医療機器総合機構
 南 砂 読売新聞東京本社

A. 研究目的

平成28（2016）年に通知された再生医療等安全性確保法において、多能性幹細胞を用いる再生医療での造腫瘍性評価の審査基準が定められた。以後、厚生科学審議会再生医療等評価部会では、当該通知に依ってiPS細胞利用再生医療が審議されてきた。一方、がんゲノムCosmic listの改訂や再生医療等評価部会でのゲノム変異の取り扱いに関する議論などの新たな科学的知見を踏まえ、基準の改定が求められる状況となった。

次世代再生医療を代表するゲノム編集技術によりHLAを廃絶した多能性幹細胞利用再生医療の開発が競われている。2018年12月の文部科学省幹細胞・再生医学戦略作業部会では、京都大学iPS細胞研究所山中伸弥所長がHLAを廃絶したiPS細胞ストックの作成を発表し、2020年度には提供が開始されるとのことである。しかしながら、多能性幹細胞とその由来細胞については、ゲノム不安定性や広義のオフターゲット効果を含め、遺伝子構造異常の評価について多くの議論がある。

多能性幹細胞利用再生医療における造腫瘍性評価の審査基準に関する第1の課題であった未分化の多能性幹細胞残留による腫瘍形成は、知見の積み重ねにより概ね解決された。第2の課題は、造腫瘍性細胞を含む目的外形質転換細胞を評価するためのゲノム解析の必要性和意義である。これまでの審議では、多能性幹細胞利用再生医療等提供計画の申請データで遺伝子構造異常が見いだされた場合、提供計画上、遺伝子構造異常を有する細胞調製物が被験者に投与されないようになっていくことを確認したうえで、厚生労働省大臣から法に適合している旨の意見が发出されてきた。これは、遺伝子構造異常の個々の遺伝子の再生医療における臨床的な意義が不明であることから、基準に基づいて保守的に判断された結果である。

審査基準の通知発出以来3年、再生医療・医学、ゲノム科学は長足の進歩を遂げ、審議経験も蓄積されてきた。ゲノム編集を含む新たな再生医療等技術が出現し、がんゲノムCosmic listも改訂された。これらの新たな科学的知見を踏まえ、今後の再生医療等評価部会でのゲノム変異の取り扱いに関する議論や特定認定再生医療等委員会での審議において、造腫瘍性評価の審査基準を改訂する必要性が認識されることとなった。

今般、多能性幹細胞等由来細胞を用いる次世代

再生医療の適切な推進に向け課題を整理し、科学的社会的見地から議論を重ね、再生医療等安全性確保法に基づいて審議される特定認定再生医療等委員会におけるヒト多能性幹細胞利用再生医療等提供計画の造腫瘍性評価を審査する際の基準を改訂することを目的として本研究を行った。

B. 研究方法

多能性幹細胞を用いる再生医療等提供計画において、造腫瘍性評価の審査基準を改訂するうえで、再生医療等安全性確保法と医薬品医療機器等法の法的位置づけ・差異、再生医療等安全性確保法が希求する規制科学、さらにはそれを支える科学技術の現状を理解したうえで、社会として許容しうる規制のあるべき姿を描く必要がある。

本研究では、造腫瘍性評価審査基準を改訂するうえでの方向性を示す目的で、研究期間中6回の会議を開催（第6回は新型コロナ蔓延によりメールにて議論）し、研究代表者および研究分担者が一同に会して様々な視点から議論を深めた。

1) 多能性幹細胞を用いる再生医療の動向と社会的ニーズに関する検討（第1回会議）

多能性幹細胞を用いる再生医療について、国内外の開発パイプライン動向、ゲノム編集技術の開発動向を調査して2020年度以降の多能性幹細胞再生医療の方向性を共有、再生医療イノベーションフォーラム（Forum for Innovative Regenerative Medicine: FIRM）など業界団体へのヒアリングから産学社会的ニーズの把握に努めた。

そのうえで、特定認定再生医療等委員会にて議論されると予想される論点を提示し、それらを造腫瘍性評価審査基準の改訂時に追記すべきか議論を行った。

2) 造腫瘍性評価の審査基準に追加すべき論点の検討（第2回会議）

AMED事業で行われた関連研究事業の研究成果についてヒアリングを行った。また、ゲノム編集技術など急速な進歩を遂げる再生医療周辺技術についても情報収集と提示、検討を行った。

3) 造腫瘍性評価の審査基準における論点であるゲノム評価の検討（第3回会議～第4回会議）

これまでわが国で実施されてきたAMED関連研究事業によるゲノム評価の研究成果、品質、安全性、有効性評価の手法等を俯瞰し、特に安全性・品質評価としての*in vivo*造腫瘍性試験の有用性と限界

を理解したうえで、ゲノム評価の当該基準における在り方について検討を行った。

4) 造腫瘍性評価の審査基準改訂論点の整理と取り纏め (第5回会議)

造腫瘍性評価審査基準の改訂に関する論点を整理し、改定作業を行った。

5) 造腫瘍性評価の審査基準改訂と取り纏め (第6回会議)

5回の会議で積み残した論点について議論を進めるべく第6回班会議を開催する予定であった。しかしながら、2020年2月以降の新型コロナウイルス感染症の蔓延にともない、集合会議を避け、メールで議論を行うこととした。

最終的に、審査基準改定案を厚生労働省へ提出するとともに、付帯意見として早川研究分担者、小川研究分担者のコメントを付記することとした。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

前文および本文に関し、取りまとめ後の報告を記す(添付資料1)。

前文

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うち造腫瘍性評価の要件は、いまだ定まっていない。本報告書の内容は、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、常に検証、修正されるべきである。

本報告書は、多能性幹細胞由来特定細胞加工物を用いた治療法を安全かつ可及的速やかに患者のもとに届けるため、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としている。

ヒト多能性幹細胞を用いる再生医療等技術はいまだ挑戦的であり、再生医療等を提供する者、再生医療等を受ける者をはじめ多くのステークホルダーとともに作り上げていく医療である。特定認定再生医療等委員会においては、再生医療等提供計画の科学的妥当性に加え、インフォームド・コンセントに基づく主体的かつ自律的な再生医療等提供計画の対象者(以下、対象者)の参画と、社

会としての理解と受容が肝要であることを念頭に審査されたい。

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^{注1)}。

*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 Karyotyping 又はG-Band)
- ・腫瘍関連遺伝子(COSMIC Cancer Gene Census Tier1 + Shibata list)のSNV/Indel及び構造異常(コピー数異常(CNV)等)

なお、核型異常および腫瘍関連遺伝子のSNV/Indelと構造異常について、ヒトES細胞ではそのゲノムを標準ゲノムと比較して妥当性を検討し、ヒトES細胞以外のヒト多能性幹細胞では、ドナーゲノムと比較して妥当性を検討すること。

さらに、標準ゲノム、もしくはドナーゲノムと異なる配列の検討に際しては、データベースでの頻度から判断して多型か変異か、アミノ酸置換を伴うか、タンパク質の機能として機能喪失、機能獲得、優性阻害が推定されるか、ホモ接合体かヘテロ接合体であるか、についても考慮すること。

- ・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・想定しうる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^{注2)}。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検出される場合でも、対象者の健康上のベネフィットがそのリスクを上回ると期待しうる場合には、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・想定しうる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。

***腫瘍関連遺伝子に改訂があった場合の審査のポイント**

1) 多能性幹細胞ストックからの多能性幹細胞受け入れの段階において、最新バージョンの腫瘍関連遺伝子リストに基づいて解析が行われ、複数の細胞株から選定された場合にあっては、当該リストに登録される遺伝子の変異等が検出されない株が優先して選定されていること。

2) 腫瘍関連遺伝子リストが改訂されるごとに再解析が行われることを確認すること。再解析により検出されたゲノム変異等が改訂後の腫瘍関連遺伝子リストに認められた場合、多能性幹細胞を受け入れた全ての分化機関にその情報が提供される体制となっていること。

3) 再生医療等提供計画の臨床使用株あるいは予定株が前記 2) に該当した場合、審査を受けた特定認定再生医療等委員会が主体となり、リスク・想定しうるベネフィットを厳密に検討した上で、臨床利用あるいは継続の妥当性を判断すること。

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 Karyotyping 又は G-Band) や、腫瘍関連遺伝子 (COSMIC Cancer Gene Census Tier1 + Shibata list) の SNV/Indel 及びコピー数異常 (CNV) を含む構造異常が検出された場合のリスクを評価すること。

・新たにかん関連遺伝子のリストが追加された場合、追加された遺伝子の変異が確認され、既に臨床試験が進んでいる場合にはリスクの評価を行い対象者に情報提供すること。

・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 4 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・想定しうる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^{注 3)}。なお、リスク・想定されるベネフィットについては、対象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検出された場合でも、そのリスクを上回る、対象者の健康上のベネフィットが期待しうる場合には、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検出されない最終加工物を使用することが望ましい。

このリスク・想定しうる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。

最終加工物の種類や、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な場合がある。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。

*原則として、患者に投与される最終加工物のロットごとに、患者に投与される前に試験が実施される必要があるが、最終加工物の有効期間が短い等の理由により試験の実施が困難である場合は、投与後に試験を実施し、結果に応じた取扱いをあらかじめ定めておくこと。その場合、対象者への説明同意文書にわかりやすく記載されていることを確認すること。

(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法
- 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。

*原則として、患者に投与される最終加工物又はそれと同等の最終加工物において、少なくとも1回実施すること。

(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. 腫瘍関連遺伝子に変更があった場合の審査のポイント

1. 及び 2. において、腫瘍関連遺伝子 (COSMIC Cancer Gene Census Tier 1 + Shibata list) を確認する必要性を規定したが、これらのリストは最新の知見に基づいて変更される場合がある。その場合、次に掲げる方法がとられていることを確認すること。

(1) 原則として、原材料としての多能性幹細胞及び最終加工物について、最新のバージョンのリストに基づいてゲノム解析が行われていること。その結果の取り扱いは、1. 及び 2. に従っていること。

(2) 製造や特定認定再生医療等委員会で適合性の確認が完了した後に腫瘍関連遺伝子リストの更新があった場合も、原材料としての多能性幹細胞及び最終加工物について、最新のバージョンに基づいて再解析を行い、その結果に基づいて評価が行われていること。原材料としての多能性幹細胞を製造する機関から、最終加工物を使用する機関に対して、再解析に係る十分な情報が提供されていること。

(3) 腫瘍関連遺伝子リストの更新によって新たな腫瘍関連遺伝子における変異が検出された場合であっても、すでに患者へ投与された後である場合や、対象者への投与を予定して治療計画が立てられている場合など、再生医療等の提供を中止することによって対象者に与える影響が大きいと考えられる場合は、特定認定再生医療等委員会においてリスク・想定しうるベネフィットを十分に検討し、提供の可否を判断すること。その場合、腫瘍関連遺伝子に詳しい専門家に対して技術専門員として意見を求めること。

*特定認定再生医療等委員会において提供の可否が判断されることから、原材料としての多能性幹細胞を製造する機関では、多能性幹細胞に新たな腫瘍関連遺伝子の変異が検出された場合であっても、提供実績のある株については、直ちに回収は行わず、継続して提供できる体制が整っていることを確認する必要がある。

4. 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検出され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。

なお、議論過程を詳らかにするため、審査のポイント (改定前)、第5回班会議終了後の報告、最終とりまとめに関する対比表を添付する (添付資料2)。また、早川研究分担者からの個別意見についても添付する (添付資料3)。

D. 考察

再生医療にかかる造腫瘍性評価の公的ガイドラインを有するのは我が国のみである。このガイドラインをもちいた審議の経験を活かし、ガイドラインの改定作業を行った。

造腫瘍性と個々の遺伝子との関連性がいまだ明確でないことから、その取扱いを保守的にとらえるべきか否かとの議論がなされた。また、遺伝子構造異常の検出にかかる技術的な限界も議論された。今後、まずはこれら2点を解決すべく研究事業がおこされることを望むものである。

E. 結論

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本研究が行われた。

多能性幹細胞等を用いる再生医療の進展は速い。世界に先駆けた多能性幹細胞を用いた再生医療の灯をともし続け、適切に社会展開することは、我が国の厚生労働行政にとって喫緊の課題である。

本研究で行った、多能性幹細胞を利用した再生医療等提供計画の造腫瘍性評価の審査基準改訂の方向付けが、安全な再生医療の推進を通じて、国民の負託に応えるものであることを祈る。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表
該当なし
2. 学会発表
該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

