

厚生労働行政推進調査事業費補助金

総括・分担研究報告書

「遺伝子改変を行った異種臓器の移植に関する課題や論点等の整理のための調査研究」(22CA2023)

- 一 遺伝子改変された異種（臓器）移植用臓器の開発におけるリスク要因の整理と薬機法下のレギュラトリーパスを含めた課題

研究代表者 山口 照英 金沢工業大学
加齢医工学先端技術研究所 所長/特任教授

令和5（2023）年 5月

研究要旨

2022年遺伝子改変された異種臓器をヒトに移植する研究が米国で実施され、世界に大きな衝撃を与えた。世界的なドナー不足、とくに我が国では海外に比してドナー数が極端にすくなく、このような異種移植に期待する声も大きい。

本研究班では、1)人獣共通感染症リスクについて、ウイルス安全対策、ウイルス以外の感染症、異種移植指針の改定の必要性について議論を行い、リスクの整理を行った。2)ヒト体内に投与された移植臓器の機能維持へのリスク評価の在り方について、3)移植された臓器が産生する因子や生理活性物質のヒトレシピエントとの相互作用に伴うリスクや4)免疫抑制剤の使用とそれに付随するリスク、5)遺伝子改変操作に付随するリスクなどの整理を行った。また遺伝子改変した臓器を創生維持するための6)ブタ純系統の作出の困難性とクローン技術による遺伝子改変ブタの創生に関連する技術要因について議論をした。また7)倫理面の課題として、動物愛護と移植を受けた患者やその近親者を含めた倫理面の課題についても議論を行った。

これらの検討により遺伝子改変された異種臓器のヒトへの移植におけるリスク要因や課題を抽出し、その整理を行った。この検討により、遺伝子改変された異種臓器移植を実用化していく際にどのようにレギュラトリーパスに乗せていくのかについての考え方をまとめることとした。

研究の実施体制

研究代表者 金沢工業大学 山口 照英

研究者分担者

愛知医科大学 小林 孝彰
岐阜大学 塚田 敬義
大阪大学 宮川 周士
自治医科大学 小澤 敬也
国立医薬品食品衛生研究所 内田 恵理子
大阪はびきの医療センター 松山 晃文
東京大学 真下 知士
千葉大学 後藤 弘子
医薬品医療機器総合機構 丸山 良亮

A. 研究目的

我が国においてヒトの臓器を移植する場合は、臓器の移植に関する法律（平成9年法律第104号）により規制が行われているが、遺伝子改変を行ったブタ等の異種臓器移植は、特段の規制がかかっていない。

2022年1月7日に、米メリーランド大学病院にて世界で初めて遺伝子改変された豚の心臓を人間に移植する手術が行われた。遺伝子改変を行った異種臓器移植は、ヒトの臓器の移植と同様に、安全面や倫理面等の課題があると思われ、特に移植された臓器に潜在する可能性のある異種感染因子に対する安全性については、未知・未経験の要素も多く同種移植以上にその評価が求められる可能性がある。このような観点も含めて、我が国において具体的な課題や論点について整理がされているとは言えない。

遺伝子改変された異種動物臓器のヒトへの移植では、ヒト臓器の移植に関する法律の枠組みを単純に活用できないということが開発における規制的枠組みを考えるうえで非常に重要である。そのため、まずは遺伝子改変を行った異種臓器移植の

規制を検討する上で必要となる、対象とする技術の範囲、当該移植の提供にあたって求められる手続、使用する遺伝子改変を行った異種臓器等のリスク要因を整理し、それに基づいた安全性確保対策の考え方等について、専門的な見地を踏まえた調査を行い、課題や論点を整理する必要がある。

遺伝子改変を行った異種臓器移植は、異種動物由来の感染因子や遺伝子改変に付随するリスクが想定され、さらに用いられる異種臓器そのものばかりではなくヒト体内に移植された異種臓器が人体へ及ぼす影響についても未知な部分が非常に大きいこと、また異種移植そのものの倫理面での課題がある。特に遺伝子改変された異種臓器を介して種を超えたウイルス等が伝搬するリスクがあること等から、早急に想定されるリスク要因について研究し、そのリスクをどのように評価するべきか検討する必要がある。異種移植に用いられる臓器は人の拒絶反応を抑えるために多数の遺伝子の改変が行われることが想定され、その改変技術に付随する課題等を研究することが喫緊の課題となっていた。

さらに異種移植に関する感染症伝播リスクに関する指針が 2015 年に公開されているが、今回のメリーランド大で実施された遺伝子改変されたブタ心臓の移植(1)は 2015 年指針で想定されていた異種動物細胞移植という範疇を超えた技術であり、また臓器という複雑な構造物に対する検査の在り方も非常に重要となる。

本研究では、遺伝子改変された異種臓器移植における課題を調査研究するとともに、現状の科学技術で対応可能な側面と、現状の科学技術ではフォローアップや慎重なモニタリングの必要な事項等に整理し、ひいてはこのような医療技術・製品を社会に出していくための規制的枠組みを考えるための基盤とすることを目指した。すべての答えが得られたわけではないが、このような先進分野の考え方をまとめることができた。

B. 研究方法

1. 専門家へのヒアリング

研究班会議は全て web 会議にて実施した。その際、異種移植の専門家として、研究班員である、小林班員に異種移植における課題を、真下班員にはゲノム編集技術の適用に関する課題を講演していただいた。さらに、米国マイアミ大学で異種移植の研究をされている名取洋一郎先生に異種移植における感染症対策について講演をしていただいた。名取先生には米国 FDA の異種移植に対するスタンスについてもご紹介いただいた。

2. 文献調査

異種移植に関してはメリーランド大学において実施された遺伝子改変ブタ由来の心臓の移植に関する文献をはじめとして、これまでに多数実施された動物由来臓器の非ヒト霊長類への移植研究に関する報告、異

種豚島細胞等の移植報告、さらには脳死患者への移植事例についての報告等を議論の俎上に載せた。

3. 海外規制動向

EU での規制の考え方について、最新の技術を俯瞰した明確な文書はまだ出されていないが、基本スタンスとしては域内のみならず域外であっても異種移植を国として規制し、特に Xenotransplantation-tourism をさせるべきではないというスタンスであった。一方 FDA は異種移植に関して 73rd Cellular, Tissue and Gene Therapies Advisory Committee Meeting (June 29–30, 2022) で取り上げられ、会議の動画が配信されている (<https://www.fda.gov/advisory-committees/advisory-committee-calendar/cellular-tissue-and-gene-therapies-advisory-committee-june-29-30-2022-meeting-announcement-06292022>)。その考え方の背景については名取先生にご紹介いただいた。

4. 日本異種移植研究会への参加

2023 年 2 月 18 日に第 25 回日本異種移植研究会が愛知医科大学で開催され海外の研究者を含めて異種移植の最新の研究成果が発表され、当研究班からも 5 名が参加して、規制の在り方についての議論にも加わった。特に開発企業が遺伝子改変をどこまで行うのか、また臨床的な有効性を推定する非ヒト霊長類への移植実験の在り方などについて活発な議論が行われており、FDA との交渉でどのような要求があったのかなど関連する貴重な情報が得られた。

C. 研究結果

1. 人獣共通感染症リスクについて

1.1. ウイルス安全性対策

無菌試験やマイコプラズマ試験と異なりウイルス感染の有無に関して評価可能な否定試験の設定は困難であり、検出の限界がある。作製した遺伝子組換えブタの群(herd)の管理(飼育条件(飼育環境、飼料の滅菌))、定期検査、出荷試験などからその安全性を評価するが、それでもなお種の壁を超える感染症リスクが潜在的にある。

ゲノム改変されたブタは specific-pathogen-free (SPF)ではなく、特定の感染因子が存在しない、より厳密に検査されたブタ(Designated-pathogen-free; DPF)が用いられるようになってきている。ただ DPF であっても、異種移植に用いるブタ個体もそれから得られる臓器も全てのウイルスを否定できているわけではない。DPF として特定のウイルスについては様々な試験が実施されていると想定される(表1)。例えば、PCRのような核酸増幅検査(NAT)、特定ウイルスに対する抗体の有無、*in vitro/in vivo* ウイルス感染アッセイ、逆転写酵素活性、電子顕微鏡観察によるウイルス粒子検出などを実施することになると想定される。DPF ブタ由来の臓器を霊長類や脳死患者へ移植した試験では、人獣共通感染症の重篤な事例は見出されておらず、ウイルス等の安全性は確保できるとする論文(2,3)がある。その一方で、2022年の遺伝子改変された DPF ブタ心臓のヒトへの移植においてはブタ CMV の感染が起きていた(3)ことからウイルスフリーを達成することは困難と想定される。

また、異種移植において拒絶反応に関連する補体活性化を制御するためにヒト補体制御因子(DAF CD55、CD59、CD46)遺

伝子が導入された組換えブタが創生されている。このようなゲノム改変において導入される補体制御タンパク質の中には、ウイルスの受容体として働くものが存在する(4-6)(表2)。すなわち、補体活性化を制御するために導入したこれらのヒト膜結合抗原が導入されたブタでは、本来ブタには感染しないヒトウイルスや他の種のウイルスが感染・生着するリスクが存在する。またこれらのヒト抗原の中にはウイルス受容体のみならず、ウイルス感染に関与するアクセサリ因子になるものも知られている。このような2つの観点から、導入されたヒト補体制御遺伝子等が新たなウイルス伝播リスクを惹起することになる可能性がある。

特に、ゲノム改変技術を用いて異種抗原である $\alpha 1-3\text{Gal}$ をノックアウトすることにも種の壁を越えたウイルス感染のリスクが存在する(7-9)。この $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープはヒト霊長類、旧世界ザルは持っておらず、そのために強い抗原性を示すエピトープである(図1)。腸内微生物などに由来する $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープ抗原刺激により、ヒトは血中抗体の1%がこの $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープを認識する抗体であり、異種微生物由来のこのエピトープを持つウイルスはヒト血液内において素早く中和されることが知られている。一方で、ヒト霊長類や旧世界ザル以外の動物はこの $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープを発現しており、このエピトープを保持した臓器をヒトに移植すると超急性拒絶を引き起こすため、この $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープをノックアウトしたブタが創生されている。通常のブタでは $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープを持ったウイルス(特にエンベロープを持つウイルス)が存在するが、この $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピト

ープをノックアウトした遺伝子改変ブタでは、潜在しているウイルスは全てこの $\alpha 1-3\text{Gal}$ エピトープを持たないウイルスのみになってしまうことになる。このために、もしそのようなウイルスが異種臓器とともにヒトの体内に侵入してしまった場合には種の壁を越えた感染が成立するリスクが存在する。

またこれまで知られていなかったブタ由来の感染因子（10）も新たに見出されており、DPFとして多くのウイルス等の検査が実施されていても、おそらくすべての感染因子を検出することは難しい。さらに、移植対象となる臓器の全ての細胞を検査することは現実的に不可能であり、検体サンプリングの方法にも注意が必要である。以上の点から、公衆衛生の観点から移植を受けた患者だけでなく、患者に密接に接触する親族やヘルスワーカーを含めて長期にわたるモニタリングの必要性がFDAなどから提案されている。一方、患者のみならずこのような第3者に対して長期にわたってモニタリングを強制することが可能か、倫理的な側面からの検討も必要である。

公衆衛生上の安全性の観点も必要とするならば、わが国においても移植後のウイルス感染のモニタリングは患者本人のみならず患者に密に接する親族やヘルスワーカーなどのモニタリングを行う必要があり、このようなモニタリングをどのように実施すべきか、またその範囲も含めて検討が必要と思われる。長期に亘るモニタリングが必要な場合にその期間をどのように設定すべきか、FDAは50年を提案しているがもしこのような長期に亘るモニタリングを実施するのであれば、その体制をどのよう

に設定するののかも検討が必要と考えられる。

1.2. ウイルス以外の感染症

DPFのゲノム改変ブタは、非常に清浄な条件で飼育されている。無菌状態での飼育ではないが、飼育ケージの清浄化、飼料や飲水、飼育機材の滅菌、飼育室内の空気に病原微生物が広がらないような空調設備が用いられている。感染症の発症の有無が厳格に管理されているが、腸内細菌等は保持しており、群（herd）の監視ばかりでなく、個体別の病原体監視が行われている。バイオ医薬品製造の作業従事者と同様にゲノム改変ブタの飼育者の健康管理も必要とされる。さらに、その健康管理ばかりでなく自宅での愛玩動物の飼育も禁止されている可能性がある。

細菌感染症菌としては、Brucella、Leptospira、非結核性抗酸菌（NTM）、Mycobacterium tuberculosis (M. Tb)、Salmonella、Shigella、Stool enteric pathogensなどの検査が必要になると想定される。真菌類としては、Aspergillus、Candida、Cryptococcus、Histoplasmaの検査やモニタリングが必要となる可能性が高い。寄生虫に関しては、ゲノム改変卵の借り腹となるブタの疫学的状況を考慮することが必要と考えられるが、国内以外の動物の使用を想定した場合には、Ascaris Suum、Cryptosporidium、Echinococcus、Giardia、Isospora、Strongyloides、Toxoplasma、Trichinella、Trypanosomaなどを考慮することになるであろう。

1.3. 異種移植に関する指針について

異種移植に伴う人獣共通感染症等の伝播についての対処法や検査すべき感染因子について、厚生労働科学研究事業の成果として、「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」(2015年)がまとめられている。本指針は公表当時において実施が想定されていた異種豚島細胞移植など、臓器そのものではなく臓器より調製された特定の機能を持つ異種細胞の移植を想定してまとめられたものであり、異種臓器を想定したものではなかった。特にこのような異種細胞移植では免疫隔離膜などに包埋して移植されることも想定されており、免疫拒絶への対応として遺伝子改変された異種細胞の使用を必ずしも想定した指針ではなかった。また、再生医療等安全性確保法(安確法)においても、異種細胞移植の臨床応用は、最もリスクの高い第1種再生医療と位置づけられているが、異種臓器(特に遺伝子改変された異種臓器)移植についてはこの安確法に含まれるか現時点では明確にはなっておらず、この点の検討も必要となっている。

まず、遺伝子改変された異種臓器移植による動物由来感染症の伝播リスクについては、臓器のような構造物を対象としてどのような感染症検査が可能かという課題と上記1.1及び1.2でまとめた様々な課題が存在する。2015年指針が異種臓器ではなく異種細胞の移植を想定してまとめられた点を考えると、本研究課題の対象とする「遺伝子改変した異種臓器移植」の観点から、新たに改定が必要ではないかと考えられる。

また安確法における異種細胞移植の定義をこの「遺伝子改変された異種臓器移植」に適用できるかについては、1) 臓器と細胞を

同じ基準で評価可能か、2) 感染因子の検査の在り方、3) 機能評価、など様々な角度から再検討することが必要と考えられた。

尚、安確法以外に医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(薬機法)における医師主導治験(臨床試験)での実施の可能性もあり、併せて検討する必要がある。

2. 移植臓器の機能維持へのリスク

ヒト臓器移植において、移植された異種臓器にはドナー動物の血管網が構築されている(11-21)。その臓器を移植すると、移植臓器そのものはレシピエントに置き換わることはないが、移植された異種臓器内の血管網は次第にレシピエントの血管網に置き換わる(22,23)。置き換わる途中ではキメラ状態になるが、血管網の完全性が損なわれることにより安全性の懸念が生じる。このために免疫応答の場である血管網をヒト化するという目的で、遺伝子改変ブタ臓器を体外に取り出し、ヒトiPS細胞由来血管細胞への置換を行いヒト血管を持つ臓器とする技術開発も行われている(24)。

3. 移植された臓器が産生する因子や生理活性物質のヒトレシピエントとの相互作用

臓器はそれぞれ特有の生理活性物質やホルモン様物質などを産生するが、異種臓器由来の生理活性物質はレシピエントであるヒトとの相互作用により十分な生理機能を示すかの検証が必要とされている。FDAは移植される異種臓器のヒトでの機能評価をどのように行うのが重要としている。

ヒトで用いられる緩衝液や増粘剤などが

異種動物には悪影響を及ぼすことがあり、ヒトでは問題のない薬物等が異種動物臓器の機能等に悪影響をおよぼす可能性を想定し、あらかじめ移植される臓器への評価が必要と考えられる。

4. 免疫抑制剤の使用に関するリスク要因

ヒト同種臓器移植においては、急性拒絶反応、慢性拒絶反応など移植後の様々なステージで起こりうる拒絶反応を抑えるために、そのステージや拒絶反応に応じた免疫抑制剤が予防的に、あるいは治療的に使用されている。免疫抑制薬には、ステロイド（プレドニゾロンなど）、カルシニューリン阻害薬（シクロスポリン、タクロリムス）、代謝拮抗薬（ミコフェノール酸モフェチル、ミゾリビンなど）、mTOR 阻害薬（エベロリムスなど）といった化学薬品ばかりでなく、免疫応答に関わる免疫細胞を抑制するためのモノクローナル抗体などのバイオ医薬品も用いられている。これらの免疫抑制剤は、それぞれ異なるターゲット分子を阻害することにより、宿主免疫を抑え込み拒絶反応を抑制する。従ってどのような要因が生じた拒絶反応に関わっているかによって、適切な組み合わせで使用されている。

免疫抑制剤の適切な使用は、その免疫抑制作用により宿主免疫が抑制され、結果として感染症への防護機能の低下をきたし重篤な感染症を惹起するリスクへの対応として必要なためである。ヒト同種移植において例えばCMVやEBウイルスといった日和見感染を起こすウイルスの蔓延化が起こり長期に亘る感染の持続と重篤な転帰に至ることがあるためである。さらにはこのような免疫抑制剤の使用によって

がん発症のリスクが上昇することが近年、同種移植の長期予後で大きな課題となっている。

一方、遺伝子改変された異種臓器移植においても宿主免疫系を抑制するために多様な免疫抑制剤が使用されると想定される。この場合、同種移植における経験がどの程度利用できるのか、またさまざまな遺伝子改変を行っているとはいえ、異種臓器に発現している多くのタンパク質が抗原となって免疫応答を引き起こす可能性も想定される。

FDA は遺伝子改変によって免疫応答性を低減化した異種臓器に対して、どのような免疫抑制剤を使用すべきか、遺伝子改変との組合せを明らかにすべきと提案している。このような免疫抑制剤の使用とそれによって引き起こされる有害事象をできる限り低減化して臓器の生着を図る必要がある。そのためには遺伝子改変された異種臓器に対する免疫抑制剤の使用方法について知見を積み重ねる必要がある。

5. 遺伝子改変に付随するリスク

ゲノム編集等による遺伝子破壊（ノックアウト）、遺伝子挿入による一連の遺伝子改変技術に伴うオフターゲット、オンターゲット変異リスク（ゲノム編集では DNA 二本鎖切断（DSB）した部位での大きなゲノムの欠失や挿入が知られている）の評価（表3）が必要と考えられるが、核移植で作成された遺伝子改変ブタでは、ゲノム編集されたドナー細胞、あるいは核移植された後の生まれてきた個体でのオフターゲット解析を行うことが必要と想定される。ゲノム編集による遺伝子改変で想定され

るリスクについてのどのような評価をしておくべきか、PMDA 科学委員会からの報告も参考にすべきではないかと考えられる (25,26)。人の場合には、COSMIC Cancer Gene Census Tier1 + Shibata-list の変異等などの解析が必要とされているが、ブタ臓器にはこのような情報の蓄積がなく、その評価手法から開発する必要がある。また、すべての変異を検出することは困難である。移植後にもゲノム改変に伴う有害事象発症の可能性を long-term follow-up (LTFU) でモニタリングが必要と考えられる。また LTFU での評価方法、評価期間をどのように設定するかも大きな課題となる。公開情報からは、FDA は 50 年というかなり長期の LTFU を求めており、その期間についての妥当性も検討する必要がある。

6. ブタ純系統の作出の困難性とクローン技術による遺伝子改変ブタの作製

心臓等、ブタ臓器がヒト臓器に近いことが知られている。しかしながら、現時点ではブタはES細胞やiPS細胞を作成する技術ができておらず、このためにクローン技術（正常細胞を遺伝子改変し、その核を除核未受精卵に移植）を用いて遺伝子改変個体を製造する。ただし純系を作るには、雌雄由来の正常二倍体細胞を同じように遺伝子改変して核移植し、さらに個体にまでしてから交配させてかた純系を作り出す必要がある、現時点ではかなり困難と想定される。

現時点では、図2の下図に示したように、ブタ細胞を遺伝子改変（遺伝子改変したブタ細胞）し、その改変細胞の核を脱核したブタ受精卵に移植することにより、遺

伝子改変した受精卵を作成する手法が取られている。遺伝子改変した核を移植した受精卵を仮腹となるブタに移植し、遺伝子改変ブタを作製する（クローン技術）。遺伝子改変したブタ細胞を増幅させることにより同じ遺伝子を持った核を大量に調製することができ、この受精卵を用いて同じ遺伝子を持つドナーブタの作製が可能となるが、受精卵の核とミトコンドリアは由来が異なることになる。この点が安全性上問題になるかは現時点では不明である。

7. 異種移植の倫理的問題

遺伝子改変ブタを使った異種移植に関しては、まず以下の3つの段階における倫理性について考える必要がある。

- 1) 遺伝子改変ブタを作る段階
- 2) 遺伝子改変ブタをヒトに移植する段階
- 3) ヒトに移植したあとの段階

これらの倫理性を考える前に、ブタという存在をどのように考えるのかが重要となってくる。

動物実験に関しては、動物の愛護及び管理に関する法律第41条により3Rの原則（代替(replacement)、洗練(refinement)及び削減(reduction)）が求められる。また、動物の福祉に関して、5つの自由（飢えや渇きからの自由、不快からの自由、痛み・外傷や病気からの自由、本来の行動する自由、恐怖・苦痛からの自由）が必要だとされている(27)。

動物実験のような動物の使用は「その行為によって得られる全体的な利益が、動物が耐え忍ぶ苦痛を上回る場合」には、動物の使用が肯定される(28)。

ブタをヒトの移植に用いるためにブタの遺伝子を改変することは、それがさしあたりほかに方法がないこと、技術として洗練されていること、そして将来的には人工臓器などの代替臓器にとって代わる可能性があることから、そのプロセスにおいて、動物の5つの自由が保障されている限りにおいて、倫理的な問題はクリアできる。そのため、遺伝子改変ブタの製造プロセスを可視化して、記録をし、のちの検証に耐えられるようにすることが必要である。

次に、移植する段階においては、異種移植を行うことの倫理性が問題となる。この点については、種を超えた移植の是非が問題となるが、人間と動物の差を決定的なものとするのではなく、種としてのダイバーシティの一種だと考えることで、そのハードルは低くなる。

また、臓器の移植に関する法律（臓器移植法）の基本的な考え方、つまり人は倫理的に他利的存在だと考えれば、動物もまたあらゆる種を助けるために存在すると考えることができる。我々人類は、1922年のブタの膵臓よりインスリン製造がなされ世界の糖尿病患者に処方されたことはよく知られている（28）。次いで、心臓血管外科においても異種生体弁としてブタが1965年から、ウシが1976年から臨床応用が現在まで続いている（30）。このように、医療目的に異種を利用してきた歴史を再度思い起こす必要がある。ブタの臓器を用いた異種移植を否定するものではない。

なお、移植に関しては、初期の段階においても、できる限り適切な配分を行う必要がある。そのために、配分のための委員会

をどのような形であれ立ち上げ、配分のルール決定や記録の保存、フォローアップなどを、権限をもって行うことが必要である。また、レシピエントに対して適切なインフォームドコンセントが行われることが重要である。レシピエントの意思決定が重視されることは言うまでもないが、インフォームドコンセント（もしくはアセント）は、レシピエントと生活を共にする人や親密な関係を持つ人に行われる必要がある。また、公衆衛生上の観点から、コミュニティに対しても適切な説明が行われることが不可欠となる。

一方で、ブタの臓器の移植が行われたことにより、差別的取り扱いを受けないために、個人情報を秘匿することも検討する必要がある。レシピエントやその家族の個人情報がどのように取り扱われるかについて、前もって確認されることも必要である。また、長期にわたる医学的公衆衛生的フォローアップが必要になることから、権限ある機関に情報が適切に保存され、定期的にチェックが行われる必要がある。

8. カルタヘナ法対応

遺伝子改変動物の飼育や管理においてはカルタヘナ法対応を求められることになる。遺伝子改変された体細胞や組織・臓器を国内に導入する場合にはその移送についてカルタヘナ法対応は不要であるが、遺伝子改変した動物個体・配偶子・胚の移送等は適切な対応が必要となる。

D. 考察

遺伝子改変された異種臓器の移植は、海外に比べてヒト同種移植数の極めて少ない

わが国においてはドナー不足の克服の新たな戦略になる可能性がある。我が国においても異種移植の開発を目指すアカデミアやベンチャーが活動を行っている。一方で、種の壁を超えた感染症の発症リスクや移植された臓器が同種移植と同様に機能できるのかについてはまだ十分な知見が得られているわけではなく、おそらく海外の規制当局もそのハードルは高いと考えていることがうかがえる。

第25回日本異種移植研究会において、米国ではFDAより非臨床PoCとして非ヒト霊長類への移植で1年の生存を要求されたこと、どの遺伝子をロックアウトすべきかについて議論があったことが報告されていた。

今回の研究班の調査研究では、動物由来の感染症伝播リスクについて必ずしも明確な基準がないこと、また現在までの知見では感染症伝播を防ぐ方法やそのモニタリングのあり方についても十分な結論が得られていないことが明らかになった。この点から「異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針」については見直しをする必要性も指摘された。ただどのように見直すべきかについてはまだ明確な基準はないというのが現状と考えられる。

遺伝子改変された異種臓器の人体内の十分な機能や望ましくない生理作用をおよぼす可能性についても検討が必要とされた。人体内に移植された臓器の機能をどのように評価するのも大きな課題であり、非ヒト霊長類での解析結果をどこまでヒトに外挿できるのかも重要な視点であるとされた。

遺伝子改変操作については、ドナー臓器やドナー動物を用いた次世代ゲノムシーク

エンス技術の進展により非常に多くの情報が得られるとの議論もあったが、変異のすべてを把握できるのかという点も課題と考えられている。

遺伝子改変動物の作製方法も技術革新によってさらに大きく変わっていく可能性もあるが、現時点ではクローン技術を用いた作製法が主流となっており、この技術の頑健性についても十分な検討が必要となっている。

倫理面については、異種移植を受けた患者のみならず、その近親者を含めた対応も考慮する必要があると考えられた。

E. 参考文献

3. Fishman (2022) Risk of Infectious diseases in Xenotransplantation. *New Eng. J. Med.* 387, 2258
4. Denner (2022) Viral Safety of Xenotransplantation. *Viruses*, 14, 1926 <https://doi.org/10.3390/v14091926>
5. Bartley P. Griffith, M.D., Corbin E. Goerlich, et al. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *N Engl J Med* 2022; 387:35-44 DOI: 10.1056/NEJMoa2201422
6. J M Bergelson, M Chan, K R Solomon et al. (1994) Decay-accelerating factor (CD55), a glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory protein, is a receptor for several echoviruses. *Proc. Nat. Acad. Science*, 91, 6245-6248 <https://doi.org/10.1073/pnas.91.13.6245>

7. Yu, J., Murthy, V., Liu S-L. Relating GPI-Anchored Ly6 Proteins uPAR and CD59 to Viral Infection. *Viruses* 2019, 11, 1060; <https://doi.org/10.3390/v11111060>
8. Doring, R. E., Marcil, A., Chopra, A., Richardson, C. D. (1993). The human CD46 molecule. is a receptor for measles virus (Edmonston strain). *Cell* 15, 295-305
9. Galili (2021) Biosynthesis of α -Gal Epitopes (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R) and Their Unique Potential in Future α -Gal Therapies. *Frontiers* 8 <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.746883>
10. Galli & Tanemura (1999) Significance of α -Gal(Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAcR) Epitopes and α 1, 3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, 11 (1999) pp.317-327
11. WELSH, R.M. O' DONNELL, CL REED, DJ. ROTHER, RP (1998) Evaluation of the Gal α 1-3Gal Epitope as a Host Modification Factor Eliciting Natural Humoral Immunity to Enveloped Viruses. *J Virol*, 72, 4650–4656
12. Saporiti et al (2021) Porcine circovirus 3 (PCV-3) as a causal agent of disease in swine and a proposal of PCV-3 associated disease case definition. DOI: 10.1111/tbed.14204
13. Lagaaij, E. L. et al. Endothelial cell chimerism after renal transplantation and vascular rejection. *Lancet* [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)03569-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)03569-8) (2001).
14. Gao, Z. H., McAlister, V. C. & Williams, G. M. Repopulation of liver endothelium by bone-marrow-derived cells. *Lancet* [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04217-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04217-3) (2001).
15. Hillebrands, J. L. et al. Origin of neointimal endothelium and α -actin-positive smooth muscle cells in transplant arteriosclerosis. *J. Clin. Investig.* <https://doi.org/10.1172/JCI10233> (2001).
16. Quaini, F. et al. Chimerism of the transplanted heart. *N. Engl. J. Med.* <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012081> (2002).
17. Koopmans, M. et al. Endothelial chimerism in transplantation: Looking for needles in a haystack. *Transplantation* <https://doi.org/10.1097/01.tp.0000231446.41051.98> (2006).
18. Starzl, T. E. Te, “privileged” liver and hepatic tolerogenicity. *Liver Transplant.* <https://doi.org/10.1053/jlts.2001.0070918> (2001).
19. ten Hove, W. R. et al. Extensive chimerism in liver transplants: Vascular endothelium, bile duct epithelium, and hepatocytes. *Liver Transplant.*

- <https://doi.org/10.1053/jlts.2003.50116> (2003).
20. Chen, C. C. et al. Endothelial chimerism and vascular sequestration protect pancreatic islet grafts from antibody-mediated rejection. *J. Clin. Investig.* <https://doi.org/10.1172/JCI93542> (2018).
21. Dekel, B. et al. Human and porcine early kidney precursors as a new source for transplantation. *Nat. Med.* <https://doi.org/10.1038/nm812> (2003).
22. Takeda, S. I., Rogers, S. A. & Hammerman, M. R. Differential origin for endothelial and mesangial cells after transplantation of pig fetal renal primordia into rats. *Transpl. Immunol.* <https://doi.org/10.1016/j.trim.2005.10.003> (2006).
23. Rogers, S. A. et al. Long-term engraftment following transplantation of pig pancreatic primordia into non-immunosuppressed diabetic rhesus macaques. *Xenotransplantation* <https://doi.org/10.1111/j.1399-3089.2007.00429.x> (2007).
24. Hecht, G. et al. Embryonic pig pancreatic tissue for the treatment of diabetes in a nonhuman primate model. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* <https://doi.org/10.1073/pnas.0812253106> (2009).
25. Hammerman, M. R. Xenotransplantation of embryonic pig kidney or pancreas to replace the function of mature organs. *J. Transplant.* <https://doi.org/10.1155/2011/501749> (2011).
26. Shahar Cohen et al. Generation of vascular chimerism within donor organs. *Scientific Reports.* (2021) 11:13437 | <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92823-7>
27. 医薬品医療機器総合機構・科学委員会「ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療用製品等の品質・安全性等の考慮事項について。」(内田恵理子、小澤敬也、真下保友、山口照英他) <https://www.pmda.go.jp/files/000233744.pdf>
28. Yamaguchi, T. Uchida, E. Okada, T. Ozawa, K. Onodera, M. Kume, K. Shimada, T. Takahashi, S. Tani, K. Nasu, Y. Mashimo, T. Mizuguchi, H. Mitani, K. Maki, K.: Aspects of Gene Therapy Products Using Current Genome-Editing Technology in Japan. *Human Gene Ther.*, **31**, 1043-1053 (2020)
29. 農林水産省「アニマルウェルフェアに配慮した家畜の飼養管理の推進について」アニマルウェルフェアに関する意見交換会(第1回)2022.1
30. 山内一也『異種移植』(みすず書房、2022)176頁。
31. 日本イーライリリー：インスリン治療のあゆみ。 <https://www.diabetes.co.jp/dac/insulin>
32. 鳥飼慶：人口弁の現状と今後の展

望.人工臓器 45(3)158(2016).
https://www.jstage.jst.go.jp/article/jso/45/3/45_158/_pdf/-char/ja

表1. 異種移植において考慮すべきウイルス

- 1) 異種移植の実施に伴う公衆衛生上の感染症問題に関する指針（平成27年度厚生労働科学研究費補助金厚生労働科学特別研究事業）で列挙されているウイルス

ブタパルボウイルス、オーエスキー病ウイルス、アフリカブタコレラウイルス、ブタポックスウイルス、ブタエンテロウイルス、ブタ水疱病ウイルス、ブタ水疱疹ウイルス、水疱性口炎ウイルス、ブタコレラウイルス、日本脳炎ウイルス、ブタ伝染性胃腸炎ウイルス、ブタインフルエンザウイルス、口蹄疫ウイルス、脳心筋炎ウイルス、狂犬病ウイルス、ブタアデノウイルス、アストロウイルス、ゲタウイルス、ブタ繁殖・呼吸障害症候群ウイルス、ブタ流行性下痢ウイルス、レオウイルス、ブタサイトメガロウイルス、ブタ血球凝集性脳脊髄炎ウイルス、ブタ呼吸器型コロナウイルス、ブタルブラウイルス、カリシウイルス、ブタリンパ球向性ヘルペスウイルス、ブタE型肝炎ウイルス、メナングルウイルス、ニパウイルス、ハンタウイルス、東部・西部ウマ脳炎ウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ボルナウイルス、アポイウイルス、ポリオーマウイルス、牛ウイルス性下痢ウイルス、牛伝染性鼻気管炎ウイルス、ロタウイルス、レオウイルス、ブタトルクテノウイルス、ブタ内在性レトロウイルス

- 2) FDA が特に懸念しているウイルス

ブラーサーコウイルス3、ブタ内在性レトロウイルス（A/B/C）、ブタ内在性レトロウイルス A/C 改変タイプ

表2. ウイルス受容体となる可能性のある補体制御因子等

	分子特性	関連ウイルス
DAF/CD55	GPI-anchor たんぱく質	複数の echovirus の受容体
CD59	GPI-anchor たんぱく質	CMV、infectious bronchitis virus
CD46	SLAM (signaling lymphocyte activating molecule)	measles virus

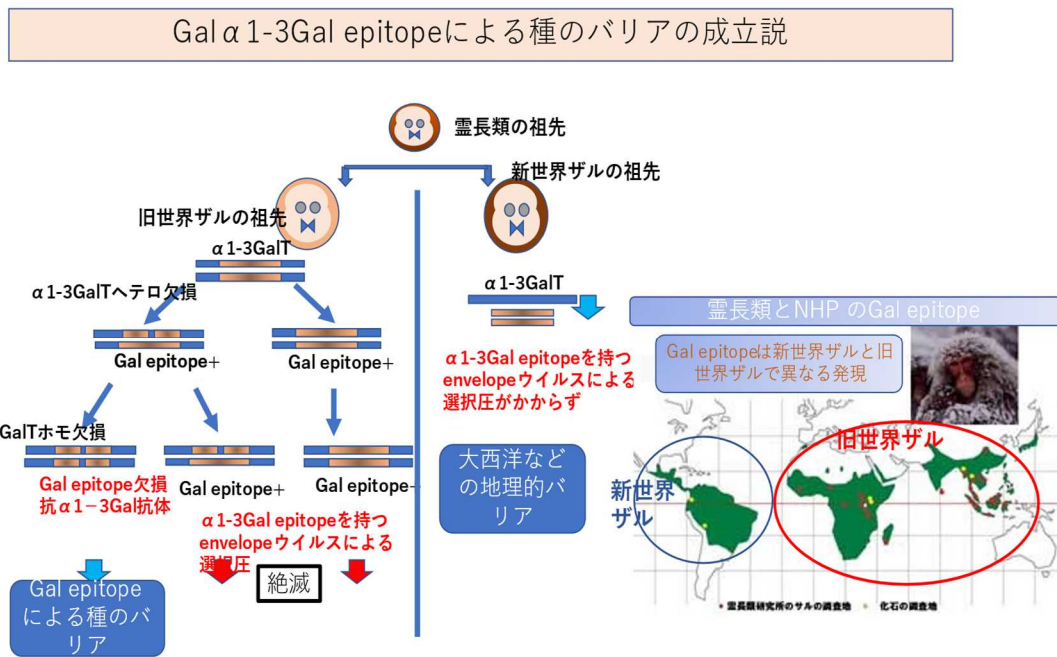


図1. Gal epitope による種の壁

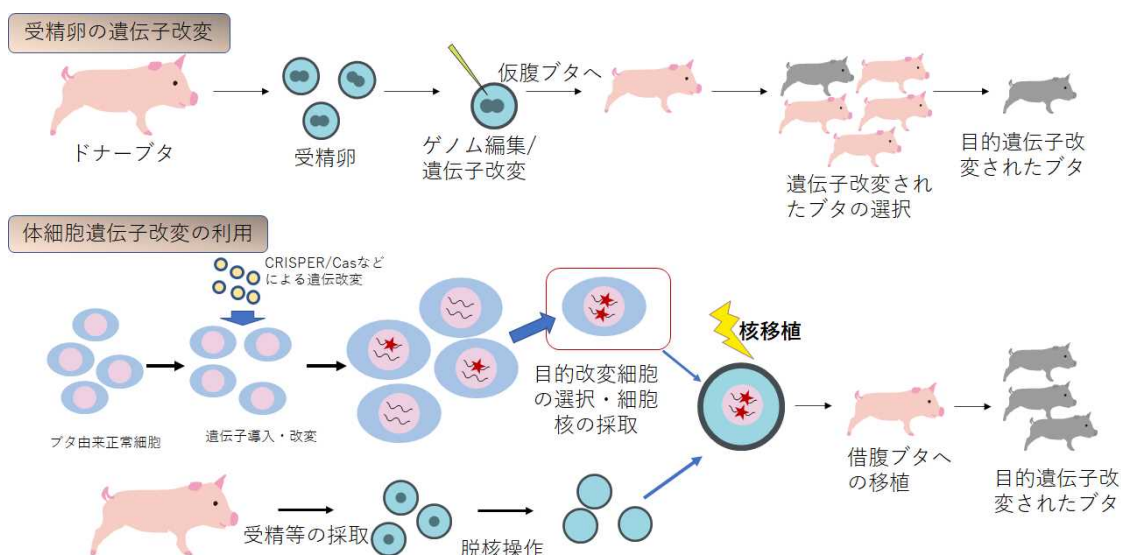
表 3. ゲノム編集技術を用いた遺伝子治療用製品等の共通事項

オフターゲット作用

In silico 解析に加え、GUIDE-seq、DIGENOME-seq、CIRCLE-seq、SITE-seq 等の実験的手法を用いたヒトゲノム全体のオフターゲット候補サイトの解析が必要である。そこでの実際の切断や欠失の有無の確認手法として、ゲノム編集を実施した細胞の全ゲノムシーケンス (WGS) の確認や、amplicon sequence 等が想定されるが、次世代シーケンシング技術 (next-generation sequencing: NGS) のエラーの頻度のために、0.1%以下の頻度で起こるオフターゲット作用の検出は極めて困難である。

オフターゲット作用の検出方法				
カテゴリー	方法	例	長所	短所
全ゲノムシーケンス	Hi-seq など		正確?	高価 低感度
コンピューター予測	DNA配列の 相同性など		容易	不正確
細胞内	DNA二本鎖切断 を同定	BLESS, BLISS, GUIDE-seq	実際の細胞内での 二本鎖切断	一部の細胞種でのみ 可能
試験管内	酵素反応	Digenome-seq, CIRCLE-seq	高感度 SNPも区別	細胞内反応では ない

図 2. 遺伝子改変ブタの作製法



<別添>

異種移植に関する FDA のスタンス

異種移植の定義

異種移植の定義には、次のような製品を人に投与、移植あるいは体外循環により接触させることが含まれる

- a) ヒト以外の動物由来細胞、組織、器官
- b) ヒト体液、細胞、組織、器官を体外で生きている細胞、組織、器官と接触させること

異種移植製品事例

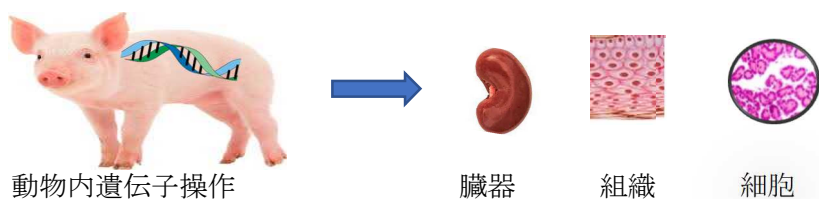
- 異種移植製品には次のような製品が含まれる:
 - 非ヒト由来の器官そのもの人に投与
 - ヒトに投与される細胞や組織
 - 動物由来細胞や組織に対してヒト血液を環流する行為（動物の肝臓還流?）
 - 体外で異種細胞と共培養したヒト細胞のヒトへの投与（異種細胞のストローマ細胞として利用?）
- 異種移植:

ブタインスリンや心臓弁などに限定されるわけではないが、このような動物由来の生物製品、生細胞を含まない細胞、組織、器官由来に由来する医療機器

異種移植製品の規制

動物用医薬品センター

生物薬品の評価センター（CBER）



異種移植製品の使用に伴うリスク

- 既知及び未知の感染症伝播リスク
- 人獣共通感染症伝播リスクが患者、患者近親者、医療従事者ばかりでなく一般市民にも起こりうること

- ・ 異種細胞やその細胞が産生する分子に対する炎症性の副反応や免疫毒性
- ・ 炎症や免疫応答によって引き起こされる移植した細胞、組織、器官への拒絶反応
- ・ 移植した臓器と人との生理学的、代謝学的な不適合による有害反応
- ・ 免疫抑制剤の使用に伴う様々な有害事象（感染症、発がん等）

73回 細胞・組織、遺伝子治療諮問委員会（CTGTAC）での議論

June 29 – 30, 2022

<https://www.fda.gov/advisory-committees/advisory-committee-calendar/cellular-tissue-and-gene-therapies-advisory-committee-june-29-30-2022-meeting-announcement-06292022>

細胞・組織、遺伝子治療諮問委員会の目的

異種移植製品の有効性及び安全性を担保するために求められる視点や考え方を FDA、異種移植を開発している企業、および利害関係者に提供すること

注：具体的な異種移植製品については、今回の会議では議論されなかった。

諮問事項 1 感染リスクについて

ブタは移植組織や器官の機能や安全性に重要な影響を与える内在性のウイルスを持っている可能性があり、そのような内在性のウイルスは患者や患者と密接に接触する第3者に重篤な感染症を引き起こす可能性がある。ブタサーコウイルス3（PCV3）やブタ内在性レトロウイルスが移植された臓器を通じて患者にこれらのウイルスが伝播され、移植された臓器の機能に重大な悪影響を与える可能性がある。さらにそのような感染症の伝播が起こった場合には、患者に密に接する第3者や公衆衛生にも重大な影響を与える可能性がある。

- 異種移植に用いるブタの感染因子を検出可能な高感度系について。これらの感染因子の検出に際しては多面的な手法を用いることの必要性
- 非臨床試験による検討において移植ブタからレシピエントのヒヒに PCV3 が感染したとの報告がある。PCV3 のヒトへの感染リスクについて評価する必要性について議論。
- PCV3 に感染したブタでは心臓を含め多臓器の炎症反応が認められている。PCV3 の移植臓器への影響についての評価の必要性
- 3種類（A, B, C）の PERV 及び PERV A/C 組換え体が飼育されているブタで検出されている。どの PERV が最もリスクが高いのか、またリスクの低減策や回避策は？
- 異種移植によって引き起こされる可能性のある新興再興ウイルスについて？

委員会での議論

- ・ 感染因子についての網羅的解析を行うためのゴールドスタンダードとなる

ようなプラットフォームは存在しない

- ドナー豚の新興感染症を検出するための新しいアッセイ法を開発する必要がある。
- 正常なヒトの細胞でブタウイルスが検出されないことは、ブタウイルスが免疫不全の状態にある異種移植患者に感染する能力を持たないという結論を導けない可能性がある。

諮問事項 2 ウイルス否定試験について

ドナー動物由来製品や移植を受けた患者サンプルの保存期間は？現在の FDA では「ヒトにおける異種移植製品の使用に関するソース動物、製品、前臨床、および臨床の課題」（2016年12月 FDA 発行）と題するガイダンスに概説されているように、最大で 50 年間はソース動物、製品、患者サンプルを保存すべきではないかとされている。保存されたサンプルは移植直後のみならず将来の有害事象時における調査の助けとなる。移植を受けた患者サンプルを保存するかどうかは、保存期間やサンプルサイズの点について検討すべき課題について

- a. 保存要件への対応策として、ドナー臓器に付随する試料の分析に使用できる感度の高い技術の必要性。患者フォローアップの要件について変更を行う場合の要件。
- b. ドナー由来感染に対する患者のフォローアップをいつまで継続すべきか、その妥当性を含めて要件等。
- c. 異種移植製品のレシピエントが血液や組織・臓器の提供を禁止されるべきとするものの妥当性。ドミノ移植の禁止の必要性

委員会での議論

- DNA、RNA、PCR および血清学試験など適切な感染因子検出手法が必要
- 次世代ゲノム解析法は、これらの解析法よりも高感度であるが、非常に高価なアッセイ法であり、インプットされている情報による限界が存在する
- 50 年間の保管について；
 - 50 年間保存した検体の利用可能性やその保管費用から現実的ではない
- 患者フォローアップで期待されることは、移植を受けた患者の疾患発症、既知の感染症や新興感染症の罹患がある。
- 異種移植を受けた患者に関して多くの不明な点があり、血液、組織、臓器のドナーになれないとすべき。

諮問事項 3 品質管理

ヒトに投与・移植されるブタ細胞や異種臓器は FDA の基準に沿った規制を受けるとともに、

規制的要件として同一性の確認試験、純度、力価を設定する必要がある。臓器ドナーの安全性や有効性を評価するために移植間に実施すべき試験法や評価戦略についての議論を

21CFR610 生物由来製品基準としての要求事項

<ul style="list-style-type: none"> • 安全性 <ul style="list-style-type: none"> • 感染症検査 <ul style="list-style-type: none"> • 飼育動物 herd の感染症サーベイランス • 個体レベルでの試験 • 採取した器官や臓器に付属する組織の試験 <ul style="list-style-type: none"> • 保管検体について • 確認試験 <ul style="list-style-type: none"> • 目的とした遺伝子改変 <ul style="list-style-type: none"> • 世代間での改変の維持病原性 • 外観検査 <ul style="list-style-type: none"> • レシピエントとの大きさの適合性 	<ul style="list-style-type: none"> • 純度試験 <ul style="list-style-type: none"> • エンドトキシン • 無菌 • 輸送液の残存性 • 力価 <ul style="list-style-type: none"> • 移植臓器のバイアビリティの評価 <ul style="list-style-type: none"> • 異種臓器の目視での機能性評価、解剖学的所見、腫瘍臓器の有無 • 取り出した臓器の生理機能検査 • 移植臓器の投与の評価のために複数のポイントでの試験 <ul style="list-style-type: none"> • 個体の移動前後の評価 • 臓器を摘出した後の個体の試験 • 移植サイトでの投与前の検査
---	--

委員会での議論

- 臓器移植前の in vivo 検査についての FDA の提案に同意
- ドナー動物の遺伝子改変の確認は特性解析の項に含めるべき

諮問事項 4 拒絶反応の抑制

動物の細胞や臓器をヒトに移植する場合、超急性拒絶反応、血管障害、細胞媒介性拒絶反応、慢性拒絶反応などが起こりえる。拒絶反応を抑制する方法として、ドナーであるブタの遺伝子改変やレシピエントの免疫反応の調節がある。豚の臓器に対する拒絶反応を防ぐための最も有望な戦略手段について議論した。また、遺伝子組換えや免疫反応の調節と、移植の有害な結果をもたらす可能性との間のバランスを考慮した戦略についても検討を諮問

委員会での議論

- a. ドナー動物の遺伝子改変の最適化が必要となる

- b. 遺伝子改変（によってもたらされる拒絶反応の抑制）とレシピエントの免疫抑制のバランスについて、さらなる検討が必要である。
- c. NHP を用いた前臨床試験については、種固有の要件を考慮する必要がある（ヒトの拒絶反応を抑制する必要性について修正すると、拒絶反応を誘発するエピトープの発現が NHP 上で誘導されることが示されている）。

諮問事項 5 移植臓器の機能評価

移植前後のブタ臓器の機能を担保するために、追加の研究が必要と考えている。以下について、入手可能なデータまたは必要なデータを作成するために求められる研究について諮問をしたい：

- a. ヒトの薬剤の薬力学および薬物動態な知見から、用いる薬剤のブタの臓器に対する想定される毒性に関する知識。
- b. 時間の経過とともに予想されるブタ由来臓器機能に関連する加齢の影響。
- c. 特定のブタ臓器が、ヒトの臓器機能を完全に保管できる能力。

委員会での議論

- 委員会は、ヒトとブタの腎臓生理学の相同性に関するデータや知見が不十分であることに同意した。
- 移植された臓器の成長の可能性については、さらなる研究が必要である。

異種移植に関してこれまでどのような検討が行われてきたか？

非臨床動物試験	脳死患者へのブタ腎臓の移植	ブタ心臓のヒトへの移植
<ul style="list-style-type: none">● 遺伝子改変ブタの腎臓、心臓、肝臓、肺、非人霊長類に移植された● 様々な遺伝子の改変されたブタ臓器の移植と免疫抑制剤の使用により限定的ではあるが一定の生存が被検動物で観察された● 限定的ではあるが生理的、薬理苦学的な研究の実施	<ul style="list-style-type: none">● 研究はFDAの事前評価を受けずに実施されたが、機関内の倫理委員会の承認を受けている● 研究によって得られたデータは臨床試験をサポートする結果は得られていない● 本研究の限界: 致死性疾患を持つ患者の救命を目指す医療介入や心臓の拍動への薬剤の効果生命の安全を脅かす疾患への評価	<ul style="list-style-type: none">● 移植後の臓器の異常増殖を制限するための改変も含めて10個の遺伝子を改変したブタの心臓を人に移植● 臨床研究結果: 移植を受けた患者は49日目に死亡● 結論: ブタとヒトの解剖学的な差異について注意深く検討する必要がある● Shah, et. al., JACC Case Reports, 2022

異種移植の最新の開発状況と審査体制

- 実施中の異種移植臨床試験はない
- Pre-pre-INDs/INTERACT 面談
- Pre IND 面談
- ブタ組織、臓器等
 - ・ 臍島
 - ・ 皮膚
 - ・ 心臓
 - ・ 腎臓