

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^{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 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^{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注3)。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。

(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リル頻度)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、低アリル頻度遺伝子変異の分析学的検出限界など、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。