

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再生医療等安全確保法の適用と運用および公衆衛生上の安全性の確保に向けた調査研究（23CA2021）
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6（2024）年 5月

研究要旨

2022年から2024年にかけて、遺伝子改変されたブタ由来心臓及び腎臓の移植が他の治療法のない末期4名の患者に対して米国で実施された。残念ながら3名の患者は移植後、数週間から2か月以内に亡くなられた。我が国でも、海外で開発された遺伝子改変動物の供与を受けて異種移植の開発を進める動きが出てきており、異種臓器移植を含めた異種移植の安全性やその評価の在り方を早急に検討する必要がある。

本研究班では、1)遺伝子改変された異種臓器移植における人獣共通感染症リスクについて、ウイルス安全対策を中心に異種移植に伴う感染症の伝播・発症リスクについて調査を行った。特に遺伝子改変された動物に起こりうる新たなリスクがないか、文献や専門家の意見を聴取した。異種臓器を移植するには様々な拒絶反応を制御するためにGal エピトープのノックアウト、ヒト補体制御因子の導入、さらにはグリコリルノイラミン酸（Neu5Gc）合成酵素のノックアウトなどが行われている。これらの遺伝子改変がウイルス等の感染症の伝播に影響を与える可能性があることから、未知ウイルスを含む迷入ウイルスの検出のための試験などの必要性やドナー動物の管理、検査のタイミングなどを含めて検討を行った。これらの検討結果を踏まえて「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」の改定案の策定を行った。

2)異種臓器移植は、基本的には再生医療等安全性確保法（安確法）の適用を受けることから、その審査対象となる製造工程の範囲、倫理委員会での審査の在り方や審査の専門家の要件を検討した。さらに、国での審査が必須と考えられることから、再生医療等評価部会の前に異種移植に特化した審査委員会での審査の提案を行うとともに、審査委員の要件についても議論を行った。

以上の検討により、遺伝子改変された異種臓器のヒトへの移植における感染症リスクを踏まえた指針の改定案の策定及び異種移植の製造・加工の範囲とその評価の要件、及び臨床研究等の実施に際してどのような審査体制を構築すべきかを明らかにした。

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

京都大学 中村克樹

医薬基盤・健康・栄養研究所 保富康宏

国立感染症研究所 水上拓郎

A. 研究目的

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ブタの心臓を人間に移植する手術が行われ、2023年には同様の遺伝子改変されたブタ心臓の2例目の移植が行われている。また、2024年3月には末期腎臓病患者に遺伝子改変されたブタの腎臓が移植された。これらを含めて4例の異種移植が実施され、現時点でそのうち3例の異種移植は2か月以内に患者が死亡している。残り1症例については情報が得られていない。FDAはこれらの異種移植の臨床試験を他に治療法がない患者を対象としていることを踏まえた compassionate use として新薬臨床試験開始申請 (emergency IND) として承認している。

遺伝子改変を行った異種臓器の移植は、ドナーとなるブタなどの動物の大量生産が

期待されるため、人の同種臓器移植のドナー不足を乗り越えるメリットがあげられている。その一方で、異種臓器に対する非常に激しい免疫拒絶をどのように制御していくのか、また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、同種移植以上に十分な安全性評価が求められる。

異種移植における感染症リスクへの対応としては、平成14年（平成28年に改定）に「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」が厚生労働科学特別研究事業の成果として作成され、発出されている。この指針は、改定版を含め、主としてブタ豚島細胞移植のような遺伝子改変されていない異種細胞移植を念頭おいて作成されたものであった。これに対して、現在開発が急速に進む異種臓器移植では、抗原性が大きく異なり超急性拒絶を引き起こす

異種臓器を人に導入するために多くの遺伝子改変が必要とされ、上記した3例の異種移植に用いられたドナーブタも10個の遺伝子改変が行われている。

これまで異種臓器移植用動物の作成は、その大きさや機能的類似性などからミニブタを用いた開発が進められており、また遺伝子改変についてもそれぞれ開発企業によって異なる戦略が用いられているとされている。一方で、超急性拒絶を引起す、糖鎖末端のGal α 1-3Gal(Galエピトープ)を除去するためにGal転移酵素のノックアウトやヒト補体制御因子の導入などが行われている。異種抗原や自然免疫の制御が異種臓器移植においては必須の改変操作である。これらの遺伝子を改変することにより、ブタ臓器の霊長類への移植では1年以上の長期生着が認められるようになってきている。このような成果に基づいて例外的INDとして米国で3例の異種移植がおこなわれたといえる。

多くの遺伝子を改変した動物を作製できるようになったのは、ゲノム編集技術の進展が大きく寄与している。また遺伝子改変したドナー動物を得るためのクローン胚の作成技術も重要な要素であり、そのクローン胚を借腹動物に移植することでドナー動物が作成可能となる。このような新たな技術開発が異種臓器移植に重要な役割を果たしていることになるが、その一方でこれらの新たな技術に内包されている、感染症リスクや動物管理をどのように行うか、その規制の範囲についても新たな視点が必要となっている。

本研究では、昨年度に行った遺伝子改変された異種臓器移植における課題の調査研

究を踏まえて、遺伝子改変した異種移植の実用化が迫ってきていることを踏まえ、「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」(異種移植指針)の改訂を行うことを目的の一つとした。特に遺伝子改変によってこれまでの経験や知見を越える異種動物由来の感染症リスクが惹起される可能性があるのかを踏まえて議論を行うこととした。さらに遺伝子改変したドナー動物を得るためには、クローン胚を作製する工程、借腹動物の生育工程、ドナー動物作製工程など非常に多くの生産工程が必要であることから、それぞれの生産工程での生産管理や実施すべき試験、データの評価などについて議論を行った。また臨床研究等の実施に際して国の関与や求めるべきデータ等について議論を行うとともに、審査体制の在り方についても検討した。その成果として「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」の改定を提案するとともに、審査体制等についての考え方を提示した。

B. 研究方法

1. 専門家へのヒアリング

研究会議は全てweb会議にて実施した。研究会議では、異種移植の開発を行っている専門家に加え、特定の臓器を作るマスター遺伝子をノックアウトした動物の胚にヒトiPS細胞を導入し、動物体内でヒト臓器の作成を行っている研究者、遺伝子改変されていない動物からの臓器を移植材料として開発を行っている研究者にもヒアリングを行った。

また研究班のメンバーであり、実験霊長類の専門家である保富先生に霊長類の感染

症のみならず移植における感染症について講演をしていただいた。

2. 文献調査

今年度は、開発が進む遺伝子改変されたドナーブタの開発と、遺伝子改変によって感染症伝播にどのようなリスクが生じるのかをまず検討した。ヒト霊長類の進化における Gal エピトープの喪失が大きな影響を与えた点についての文献や、補体制御因子の導入とウイルス改変リスクについて、さらに N-グリコリルノイラミン酸 (Neu5Gc) を人霊長類のみが欠失していることなどの点から、このような遺伝子改変が感染症に与える影響について考察した。

3. 遺伝子改変ブタの作製工程を見据えた製造工程での管理の在り方

異種移植製品の製造工程での管理の在り方について、FDA のガイドラインや専門家のヒアリングでの情報を踏まえ、動物群の飼育施設への導入から定期的な検査や飼料を含めた飼育のあり方などについて、検討した。特に感染因子の混入を防止するための対策については、移植時までを含めてあり方を検討し、その成果を改定指針に取り込んだ。

4. 海外規制動向

昨年は FDA の異種移植に関して、73rd Cellular, Tissue and Gene Therapies Advisory Committee Meeting (June 29–30, 2022) について検討と行ったが、本年度は FDA の異種移植ガイドラインを詳細に解析し、昨年の会議での報告と合わせて、米国での異種移植に関する動向としてまとめた(参考資料1)。

5. 異種移植を開発しているわが国の専門家との議論

わが国でも遺伝子改変された異種臓器移植の開発が行われているが、それ以外に遺伝子改変されていない臓器を用いた胎児治療や、ヒト iPS 細胞を動物に移植し、動物体内でヒト細胞に由来する臓器を開発する研究なども行われている。このような最新の研究についても調査を行うため、計5回にわたり外部専門家(研究班内の専門家を含む)を招聘し、下記のミニレクチャーを行っていただいた。

研究班外部専門家によるミニレクチャー

第一回班会議 横尾 隆先生 東京慈恵会医科大学 「異種移植に係る諸課題」

第二回班会議 保富 康宏先生 医薬基盤・健康・栄養研究所 「カニクイザルを使った免疫抑制と移植」

第三回班会議 東京医科歯科大学 中内啓光先生 「iPS 細胞から臓器を作る一拒絶反応のない臓器移植を目指して」

第四回班会議 明治大学 長嶋 比呂志先生 「遺伝子改変ブタを用いる異種臓器移植の臨床研究実現に向けての取り組み」

第五回班会議 国立成育医療研究センター 和田 誠司先生 「胎児治療の概要」

C. 研究結果

1. 現行指針「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」の改定について

現行の指針は、主として動物の臍島細胞を分離し、免疫隔離膜に封入して1型糖尿病患者に投与する製品が開発されつつあることから平成28年に改定指針が作成されたという経緯があり、このような遺伝子改変されていない異種細胞を想定した指針となっている。また、基本的には隔離膜

を通してウイルスなどの感染因子が伝播するリスクがあり、そのような点を考慮した指針となっている。

一方、2022年から実施されたブタ心臓及び腎臓のヒトへの移植では、遺伝子改変されたブタがドナーとして用いられている。このために遺伝子改変したクローン胚の製造工程、クローン胚を移植してドナーブタを製造するための借腹ブタの生産工程、さらに借腹ブタにクローン胚を移植してドナーブタを生産する工程が必要となり、それぞれのブタの繁殖、検査、飼育管理体制などが感染因子の制御には求められることになる。さらに現行では10個の遺伝子が改変されたブタが使用されているが、このような遺伝子改変はブタに潜在しているウイルスや、迷入してくるウイルス等の感染因子の特性にも影響を与える可能性が懸念される。

すなわち、現行指針ではこのような複雑な工程を利用し、かつ遺伝子改変したドナーブタを用いた製法を想定した記載にはなっていないことから、新たな視点から指針の見直しを行った。

遺伝子改変したブタ体細胞の核を、核を取り除いた卵子に移植してクローン胚を取得するまでの工程をふまえた安全対策や、借腹ブタの安全対策を考慮した。特に借腹ブタは、直接ドナーブタを生産するための生産基材となることから、十分な感染因子の検査を行い、その適格性を確認しておくことが求められると考えられた。

さらに、借腹ブタから帝王切開で取り出したドナーブタについてはDPFの適用が想定されるが、どの時点でどのブタ(例えばドナーブタと同じ群れ)を対象としてウイ

ルス検査を実施すべきかが課題とされた。特にヒトにブタ臓器を移植する際には、その臓器そのものを検査することが困難であり、かつその結果が臓器移植の前に得られない可能性があること、また検査そのものがドナー動物への侵襲と感染リスクをもたらす可能性がある点なども考慮して検査の実施が求められることが議論された。このような観点も含めて、ドナーブタそのものの試験とドナーブタの群れとの同等性を十分考慮した試験の実施、非臨床試験での試験検査のあり方と、臨床適用実施の前に試験検査法の評価を行うことの重要性が指摘された。

2. 現行指針の改定ポイント

現在国内開発中の異種臓器移植の専門家のヒアリングを実施した結果、必ずしもすべての移植臓器が遺伝子改変を行っているわけではないことが明らかになった(表1)。ブタ胎仔腎臓のヒト胎児への移植では免疫拒絶が非常に低いことが想定されており、遺伝子改変されていないブタを用いることが想定されている。一方、ヒトiPS細胞を用いて動物体内でヒト臓器を作成する技術開発ではブタ由来の細胞の混入が課題となっている。この開発では遺伝子改変による感染因子のリスクは従来の豚島移植と同等である可能性が考えられた。これらの開発状況を踏まえ、遺伝子改変したドナーブタを用いた方法と遺伝子改変していない異種移植を書き分ける案も検討したが、全体を2つにかき分けるのは非常にわかりにくくなることから、「遺伝子改変によって想定されるリスク」を前提として追記することとした。また、前回

の改定から 10 年ほど経過していることから、この間の科学の進展についても取り込むようにした。

DPF 検査と迷入ウイルス(未知ウイルスを含む)の検査については、新たに見いだされているブタウイルスがあることも含め、DPF の例示について、提示されているウイルス等の感染症で十分とするのではなく、最新の知見に基づいた感染因子を対象とした検査の実施を求めることとした。DPF 検査をどの段階で実施するかは、現行の指針でも明確ではないが、遺伝子改変されたブタの製造が複数のステップから構成されていることから、その適切性を考慮した試験実施を求めることとした。すなわち、ドナーブタの要件としてどのステージで検査を実施するかを含めて DPF 試験の実施を求めることとしている。例えば、FDA は群れの検査として実施したうえで、個別ドナー動物でも再検査を求めているが、異種移植には非常にバリエーションあることから、それぞれの開発に応じた試験を求めることとした。

また、ドナーブタからの採取前のみならず、採取した臓器ないしは細胞を対象としての検査が求められること、さらに移植後のモニタリングとして移植時のみならず、それ以降の患者検体の検査やドナーブタと同じ群れの一部のブタを長期飼育してフォローアップすることも記載した。

2. 遺伝子改変によって惹起される新たな感染因子のリスク要因

2.1 Gal エピトープの改変

異種移植においては、Gal エピトープが超急性期拒絶の本質としてその合成酵素遺

伝子をノックアウトすることが必須とされている。この Gal エピトープをノックアウトすることによって惹起される可能性のあるリスクについては令和 4 年度の研究班でも検討したが、今年度はさらに、Gal エピトープが霊長類の進化との関係で Gal エピトープの喪失は旧世界ザルやヒトへの進化圧になっていたことを示す多くの文献を調査し、Gal エピトープをノックアウトした場合にどのような新たな感染リスクが生じる可能性があるのか検討した(参考資料 2)。

Gal エピトープをノックアウトした動物では、本来は Gal エピトープを持ちヒトに存在する抗 Gal 抗体で不活化される動物由来エンベロープウイルスが、Gal エピトープを持たないウイルスに変化すると考えられる。このようなウイルスは、抗 Gal 抗体では不活化されない(Gal エピトープを持つノンエンベロープウイルスは Gal 抗体に迅速に不活化されること、Gal エピトープを持たないように改変したマウスは Gal エピトープ抗体を産生する能力を獲得し、マウスウイルスであるリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(LCMV)の感染に抵抗性)。したがって、Gal エピトープをノックアウトすることにより種の壁を越えた新たな感染リスクが生じる可能性を考慮すること、さらにそのためにはインビトロウイルス試験など未知のウイルスを検出可能な試験の有用性について記載した。

2.2 補体制御因子とウイルス感染性

異種移植では、移植された臓器が補体による攻撃から逃れるためにヒトの補体制御因子の遺伝子が導入されている。補体制御因子は細胞膜に発現され、移植された臓器の細胞膜にも局在する。このため、ヒト体内

に移植された時に補体による移植臓器の細胞膜への攻撃を回避することを目的としている。ドナー動物もそれぞれ動物由来の補体制御因子を細胞膜に発現しているが、補体制御因子には種特異性があり、ヒト体内に移植された異種臓器のヒト体内で補体の攻撃を回避するにはヒト補体因子の導入が必要とされている。

一方、エンベロープウイルスは、感染した細胞が発現している細胞膜上の補体制御因子をそのビリオンにコートして出芽してくる。細胞膜に局在する補体制御因子は、補体活性化のカギとなる C3b や膜溶解性複合体 (C6-9) を阻害することにより、ウイルスが補体で不活されることを防ぐ作用がある。このために感染した種の補体制御因子をそのビリオンにコートすることにより、感染した動物種へ感染した場合に補体による不活化を回避できるとされている。すなわち、移植ドナーとなるブタにヒト補体制御因子を導入することにより、その臓器を移植した時に補体による臓器への攻撃を避けられる反面、ドナーブタに存在するウイルスや迷入するウイルスも人の補体からの攻撃を回避してしまう可能性が生じると考えられる (参考資料 2)。

ヒト補体制御因子の導入という遺伝子改変によりドナー動物に由来する感染因子に関する新たなリスクが生じる可能性があるといえる。このリスクについては未知・未経験であり、リスクそのものが想定上のものともいえるが、Gal エピトープのノックアウトのみならず、ヒト補体制御因子を導入するリスクについて考慮することを改定指針に記載することとした。

また補体制御因子を感染の受容体とする

多くのウイルスが存在する。このため、本来動物に感染しないヒトウイルス等が、ドナー動物に導入されたヒト補体制御因子を介してドナー動物に感染してしまうリスクもあり得る。この点についても指針に記載することとした。

2.3 グリコリルノイラミン酸の除去

ウイルス感染に関連する遺伝子改変として、N-グリコリルノイラミン酸(Neu5Gc)生合成遺伝子のノックアウトされたドナーブタが用いられている点についても議論した。これまで人に移植された臓器のドナーブタは、すべてこの Neu5Gc がノックアウトされている。ヒトのみがこの Neu5Gc を欠損しており、そのような獲得性質が成立したのは 200 万年～300 万年前に Alu 配列の融合により Neu5Gc 合成酵素の機能喪失 (欠失) が起きたといわれている。この欠失により多くの人が Neu5Gc に対する抗体を持っており、おそらく感染症に対する選択圧としてヒトが獲得した特性とされている。この Neu5Gc のノックアウトが及ぼす異種移植における感染症のリスクの程度についても現時点では不明であるが、少なくともこのような選択圧として成立した遺伝特性であることは念頭に置いておくべきと考えられた。

2.4 指針の改定におけるポイント

上記の改定に加えて、次のようなポイントについても議論を行った。

ドナー動物群の DPF 検査及び迷入 (未知ウイルス) ウイルス検査に関連して開発初期から非臨床試験ステージにかけて以下のような検討を行う必要性を記載した：

- 必要に応じて迷入ウイルス等を含めた

試験法の開発やアッセイ法の最適化の必要性及びその検証

- 移植後の感染症発症をモニタリングするための検査や検体の保管。感染症の徴候を示す有害事象が疑われた場合に、感染性を評価可能な条件での検体の保管。その検証
- 非臨床試験でのアッセイ法の評価と妥当性の説明
- 臨床試験開始前の検査（臓器移植では移植されるドナー臓器そのものの検査には限界）
- 臓器に付随する検体の検査や保管
- 投与後のモニタリング

上記に加え、遺伝子改変した異種臓器を移植することから、従来の人獣共通感染症の概念を超えた感染が惹起されるリスクが想定されることの記載。特に種の壁を越えた感染が起きた場合には、公衆衛生への影響も考慮した対応が必要との認識の記載を行った。これらのリスクがどれほど起こりうるものかは、これまでの知識や経験では推定することができず、杞憂にすぎない可能性もあるが、未知ゆえに最新の技術等を用いた対応を取っておくことが必要とのスタンスで改定作業を行った。

以上の検討結果を踏まえ、「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」の改定案を作成した（別紙1）。

3. 遺伝子改変を行った異種移植技術の範囲

遺伝子改変を行った異種臓器の製造は、遺伝子改変した体細胞核を別の動物の卵に移植するクローン胚の作製、クローン胚

を移植する仮腹動物の生産、借腹動物へのクローン胚の導入によるドナー動物の生産、と非常に複雑な製法を必要としており、それぞれの工程をどのように評価するのか、また審査等での評価ポイントについて、議論を行った。異種臓器移植が安確法における再生医療等に該当することから、再生医療等としての特定細胞加工物の採取・製造の工程をどのようにとらえるかが課題となった。

異種移植においては、ドナー動物からヒトに投与する臓器を採取し、ヒトに移植するまでの製造工程を想定した（図2. 遺伝子改変した異種臓器移植の開発ステージ）。この移植に用いるドナー動物を仮腹動物から取り出し、飼育する工程やそれ以前のすべての工程は原材料の調製工程となると想定している。

もちろん、安確法においては製造工程以前の工程に用いるそれぞれの動物はすべて管理されたものでなくてはならない。これらの工程の重要性や求められる対策について指針に追記することとした。さらに、遺伝子改変した異種臓器移植の開発での具体的な工程を想定し、それぞれの工程について、審査をどのように行うか、特定認定再生医療等委員会での審査や国での審査のあり方、審査を行う国の委員会のあり方なども含めて議論を行った。

また異種移植ではこれまでの人獣共通感染症の経験や知見を超える感染症が発症するリスクも想定し、移植患者や患者の近親者等を含めて長期のモニタリングを行うとともに、何らかの感染症の兆候が認められた場合のために過去の患者検体や記録を保管する必要がある。このために、

これらの検体や記録の保管を実施医療機関の責務とした。その一方で、医療機関が閉院すること等も踏まえ、検体や記録の保管を長期にわたって継承する方策が必要とされた。ただ、どのように責任をもって継承を行うのか、また国への連絡やその管理体制については今後の課題とされた。

4. 遺伝子改変を行った異種臓器移植の実施に当たって求められる手続き

遺伝子改変を行った異種臓器移植については、現行の安確法を制定した時点での法制度の中では想定されていなかった技術であるために、審査体制や審査に参画すべき専門家についてもこの新たな技術に対応することが求められると考えられる。そのために、この新しい技術とそれを審査する専門家について議論を行った。

まず、現在開発中の遺伝子改変等を行った異種臓器移植の具体事例を取り上げ、その製造工程全般を含めた技術を考慮し、次のような点について検討を行った：

- 異種臓器移植の臨床適用（臨床研究等）に際して求められる手続き
- 臨床適用（臨床研究等）の審査において、その品質や安全性に関する評価を行うために参画すべき専門家
- 国における審査として再生医療等評価部会で行う審査の前に異種臓器移植を事前審査する専門委員会の設置
- 異種移植を審査する特定認定再生医療等委員会の設置と審査に参画すべき専門家の要件

4. 1 異種移植指針で規定する審査委員会の構成について

異種移植が安確法における再生医療等と

して実施される場合は、異種移植実施医療機関がその安全性等の確保の一義的な責任を担うべきであり、異種移植の計画について、まずは、現行の異種移植指針に定める通り、当該医療機関の審査委員会で提供計画の妥当性や安全性について議論を行うことが求められるとされた。

遺伝子改変を行った異種臓器移植を審査する際、移植実施機関の審査委員会の構成としては、現行の異種移植指針の定める審査委員会の構成に加えて、対象疾患に係る臨床医、獣医／人獣共通感染症、トランスジェニック動物の作製やその管理についての識見を有する者の参加が求められるとされた。

4. 2 認定再生医療等委員会の構成について

さらに、安確法においては、動物細胞を使用していることから、遺伝子改変されている異種臓器移植を含めて第1種再生医療等に該当すると考えられる。このために、特定認定再生医療等での審査が求められると考えられ、その審査での要件の議論を実施した。

安確法ですでに規定されている構成要件に加えて、特定認定再生医療等委員会に参画が求められる技術専門委員としての専門家の案として、対象疾患に係る臨床医が含まれていることが必要とされた。動物臓器を生産・管理するという視点から、獣医あるいは人獣共通感染症についての識見を持つ専門家の参画は必須と考えられた。

遺伝子改変した動物の飼育はトランスジェニック(Tg)動物を用いたバイオ医薬品製造としての動物工場と類似した工程であり、Tg動物の作製やその評価の専門家も求め

られるとされた。

さらに現在開発中の異種臓器の製造においては、遺伝子改変技術を駆使することが必要であり、この遺伝子改変技術に関連する安全性の評価において、遺伝子治療や遺伝子治療の臨床適用に関する専門的な知識や経験を十分に有している専門家の参画が求められるとした。特に遺伝子改変では、従来の遺伝子導入技術のみならずゲノム編集技術を駆使した遺伝子改変技術が用いられることになることから、遺伝子改変に伴うオンターゲット効果やオフターゲット効果の評価も必要であり、関連するリスクについての評価が必要とされた。但し、以上の専門家については、それぞれの専門性について重複して兼ねることも可能とされた。

異種移植を審査可能な特定認定再生医療等委員会の構成として、審査にあたる審査委員の専門性が異種移植指針に定められている移植実施機関の審査委員会の専門家と重複する可能性がある。このために、実施機関が異種移植の審査に参画すべき専門家が参画している特定認定再生医療等委員会を設置している場合には、審査委員会と特定認定再生医療等委員会を兼ねることも可能とではないかとされた。

5. 国における異種移植の審査体制

一方、遺伝子改変された異種臓器については未知・未経験の技術であり、その審査は国レベルでも行うべきとされた。さらに異種移植が再生医療等に該当し、その技術内容から第1種再生医療等として再生医療等評価部会での審議が行われると想定される。

このために、国での審査は十分な時間を要すると考えられるために、異種移植を専門に審査する審査委員会を再生医療等評価部会の下に設け、部会前の「異種移植審査委員会」で十分な審査を経たのち、部会で審議とすべきとされた。

異種移植審査委員会の構成としては、部会前に当該異種移植研究（医療提供は当面ないとの前提）について多面的な角度から評価を行うことが必要とされ、そのため異種移植の品質や安全性などの審査が可能な専門家の参集が求められるとした。異種臓器移植のドナー動物の作成では多くの遺伝子の挿入やノックアウトなどの遺伝子改変が必要であり、その改変の評価やエピジェネティックな影響について、ゲノム編集技術を含めた遺伝子治療の専門家が求められるとした。多様な臓器が移植の対象となる可能性あり、それぞれ専門性が異なることが想定される。このために、対象となる臓器に対応した専門性をもった移植医の評価が必要とされた。遺伝子改変動物の生産、群れの管理などを含めた評価においては、異種移植の専門家や動物工場の専門家の評価が必要とされた。実験製造・加工工程や細胞加工物等として投与される異種臓器の品質や安全性を評価するために、動物飼育の専門家や人獣共通感染症の専門家の評価が必要とされた。臨床適用に際しては、同種移植と異なる免疫抑制療法の適用も考えられ、移植免疫制御の専門家の参画も必要とされた。さらに倫理や法律の専門家に加えて、生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい意見を有する者が参画すべきではと提案されたが、再生医療等評価部会での審査との

重複性について議論がなされた。異種移植では、感染症伝播においてこれまで想定されていないリスクが生じる可能性があり、患者本人にばかりでなく、患者と密接に接触する家族等の第三者も感染症のモニタリングの対象にすべきとされた。このような点を考慮すると、移植を受けた患者の家族等のモニタリングを求める必要性があることから、そのような同意を得ることを含めて倫理や法律の専門家の参画が必要であるとされた。これらを含め想定される専門家は以下の通りとされた：

- 遺伝子編集技術の専門家（遺伝子治療の開発経験や臨床試験の経験）
- 異種移植免疫の専門家
- 動物工場の専門家（臓器自体の品質評価を担う）
- 複数の臓器移植の専門家
- 動物飼育施設の専門家
- 人獣共通感染症や微生物学を熟知した感染症の専門家
- ドナー動物種の畜産学と感染症を熟知した獣医師
- 院内疫学又は感染防止対策の専門家
- 臨床微生物検査の専門家
- 低免疫状態の患者の感染管理に詳しい者
- 倫理や法律の専門家

D. 考察

遺伝子改変された異種臓器移植は、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に苦しむ多くの患者の期待も大きい。米国での遺伝子改変されたブタの心臓や腎臓移植のプレスリリース等も報道を受けて、我が国においても

実施が近づいているとの期待もある。その一方で、異種臓器移植の実用化に向けては安全面から倫理面での社会的合意を含めて多くの克服すべき課題がある。海外での異種移植は、米国で FDA の *compassionate-use program* に則り、他の治療法のない末期患者へ移植されている。これまで長期にわたる生着は認められてはいないが、投与後に移植された臓器は期待された臓器機能を果たした点は確認できたとはいえる。現在までのところ、米国以外では異種移植の臨床適用は行われていない。

一方、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開発を進めており、一部には米国で用いられた遺伝子改変動物の提供を受けて、臨床開発を目指す動きがある。遺伝子改変されたドナー動物の提供を受けることができれば、独自開発よりも早く研究が進む可能性がある。

本研究では、我が国で遺伝子改変された異種臓器移植の臨床開発が進められる可能性を見据えて、対象とするドナーとなる動物の開発ステージからの評価や倫理委員会での審査、国の関与を中心に議論を行った。特に、異種移植に附随する人獣共通感染症の伝播リスクとその対応については、「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」が発出、改定も行われている。ただし、この指針は睥島細胞を単離し、免疫隔離膜に包埋して移植することを想定して作成されたものであり、現在開発が進められている異種移植では、遺伝子改変された動物由来臓器を対象とするところが大きく異なっている。臓器という複雑な構造物の感染症評価では、試験検体のサンプリングをどのように行うのか、移植前の評価

などいくつか課題がある。特に遺伝子改変を行うことにより、ドナー動物に内在する感染因子の特性が変化してしまう可能性があり、さらに本来ドナー動物に感染しないウイルス等が感染する可能性も危惧される。

Gal エピトープは動物と霊長類（新世界ザルを除く）を分ける種の壁を形成しているといわれており、異種臓器移植の超急性拒絶を回避するにはこの抗原の合成に関与する遺伝子をノックアウトすることが必須である。一方、その改変は Gal エピトープを持たない感染因子を作ってしまう可能性がある。この点については昨年度の研究報告でも議論をすでに行ってきた。

本年度は、異種臓器移植の補体による拒絶を避けるためのヒトの補体制御因子の導入やグリコリルノイラミン酸の欠損の改変についても議論を行った。

これらにより想定されるリスクが移植後に起きうるものかについて現時点では十分な知見や経験が不足している。その評価にあたっては、短期的なモニタリングのみではなく長期にわたるモニタリングや評価が重要と考えられる。ワーストシナリオとして種の壁を越えた感染因子の伝播を想定した対応とそのための検査体制、臨床適用後のモニタリングやそのための検体の保管などについて改訂を行った。

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。このために患者本人ばかりでなく、患者の家族等の第三者への情報提供や検査への協力が必須と考えられ、このような幅広い倫理的課題があることを認識することも重要とされた。

結語

本年度は、指針の改定に加えて、安確法の対象となる遺伝子改変された異種臓器移植の審査において対象となる技術の範囲についても検討を行った。異種臓器移植は再生医療等に該当するとされたことから、安確法の対象となる工程とそれ以外の工程の区分や、どの工程まで審査を行うかについても議論を行った。遺伝子改変された動物の製造には複雑な複数の工程が必要であり、これらのすべての工程がその品質や安全性の評価の対象となるとした。

また、審査を行う倫理委員会や国での審査体制、審査に参加すべき専門家についても提案をまとめた。

特に公衆衛生への影響がありうる可能性について、広く国民的合意が必要と考えられた。

E. 参考文献

1. Griffith BP, Goerlich CE, Singh AK, Rothblatt M, Lau CL, Shah A, et al. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(1):35-44.
2. Uzoigwe CE, Ali O. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(14):1337.
3. Fishman JA. Risks of Infectious Disease in Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(24):2258-67.

4. Denner J. Virus Safety of Xenotransplantation. *Viruses*. 2022;14(9).
5. Ghielmetti M, Millard AL, Haeberli L, Bossart W, Seebach JD, Schneider MK, et al. Human CMV infection of porcine endothelial cells increases adhesion receptor expression and human leukocyte recruitment. *Transplantation*. 2009;87(12):1792-800.
6. Galili U. Biosynthesis of α -Gal Epitopes (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R) and Their Unique Potential in Future α -Gal Therapies. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021;8.
7. Galili U, Tanemura M. Significance of .ALPHA.-Gal (Gal.ALPHA.1-3Gal.BETA.1-4GlcNAc-R) Epitopes and .ALPHA.1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. 1999;11(62):317-27.
8. Welsh RM, O'Donnell CL, Reed DJ, Rother RP. Evaluation of the Gal α 1-3Gal epitope as a host modification factor eliciting natural humoral immunity to enveloped viruses. *J Virol*. 1998;72(6):4650-6.
9. Galili U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogenesis and clinical benefits. *Immunology*. 2013;140(1):1-11.
10. Joziassse DH, Shaper JH, Van den Eijnden DH, Van Tunen AJ, Shaper NL. Bovine alpha 1----3-galactosyltransferase: isolation and characterization of a cDNA clone. Identification of homologous sequences in human genomic DNA. *The Journal of biological chemistry*. 1989;264(24):14290-7.
11. Larsen RD, Rivera-Marrero CA, Ernst LK, Cummings RD, Lowe JB. Frameshift and nonsense mutations in a human genomic sequence homologous to a murine UDP-Gal:beta-D-Gal(1,4)-D-GlcNAc alpha(1,3)-galactosyltransferase cDNA. *The Journal of biological chemistry*. 1990;265(12):7055-61.
12. Galili U, Swanson K. Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(16):7401-4.
13. Galili U, Clark MR, Shohet SB, Buehler J, Macher BA. Evolutionary relationship between the natural anti-Gal antibody and the Gal alpha 1----3Gal epitope in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(5):1369-73.
14. Houle JJ, Hoffmann EM. Evidence for restriction of the ability of complement to lyse homologous erythrocytes. *J Immunol*. 1984;133(3):1444-52.
15. Harris DG, Benipal PK, Cheng X, Burdorf L, Azimzadeh AM, Pierson RN. Four-dimensional characterization of thrombosis in a live-cell, shear-flow

- assay: development and application to xenotransplantation. *PloS one*. 2015;10(4):e0123015.
16. Mehlhop E, Diamond MS. Protective immune responses against West Nile virus are primed by distinct complement activation pathways. *The Journal of experimental medicine*. 2006;203(5):1371-81.
17. Delgado MF, Polack FP. Involvement of antibody, complement and cellular immunity in the pathogenesis of enhanced respiratory syncytial virus disease. *Expert Rev Vaccines*. 2004;3(6):693-700.
18. Stoermer KA, Morrison TE. Complement and viral pathogenesis. *Virology*. 2011;411(2):362-73.
19. Ma D, Hirose T, Lassiter G, Sasaki H, Rosales I, Coe TM, et al. Kidney transplantation from triple-knockout pigs expressing multiple human proteins in cynomolgus macaques. *Am J Transplant*. 2022;22(1):46-57.
20. Kulick DM, Salerno CT, Dalmaso AP, Park SJ, Paz MG, Fodor WL, et al. Transgenic swine lungs expressing human CD59 are protected from injury in a pig-to-human model of xenotransplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000;119(4 Pt 1):690-9.
21. Ménoret S, Plat M, Blancho G, Martinat-Botté F, Bernard P, Karam G, et al. Characterization of human CD55 and CD59 transgenic pigs and kidney xenotransplantation in the pig-to-baboon combination. *Transplantation*. 2004;77(9):1468-71.
22. Agrawal P, Nawadkar R, Ojha H, Kumar J, Sahu A. Complement Evasion Strategies of Viruses: An Overview. *Front Microbiol*. 2017;8:1117.
23. Kumar J, Yadav VN, Phulera S, Kamble A, Gautam AK, Panwar HS, et al. Species Specificity of Vaccinia Virus Complement Control Protein for the Bovine Classical Pathway Is Governed Primarily by Direct Interaction of Its Acidic Residues with Factor I. *J Virol*. 2017;91(19).
24. Seya T. CD46, a complement regulatory protein/measles virus receptor, and its relation to hematological disorders. *Int J Hematol*. 1996;64(2):101-9.
25. Santoro F, Greenstone HL, Insinga A, Liszewski MK, Atkinson JP, Lusso P, et al. Interaction of glycoprotein H of human herpesvirus 6 with the cellular receptor CD46. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(28):25964-9.
26. Ward T, Pipkin PA, Clarkson NA, Stone DM, Minor PD, Almond JW. Decay-accelerating factor CD55 is identified as the receptor for echovirus 7 using CELICS, a rapid immuno-focal cloning method. *The EMBO journal*. 1994;13(21):5070-4.

27. Bergelson JM, Chan M, Solomon KR, St John NF, Lin H, Finberg RW. Decay-accelerating factor (CD55), a glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory protein, is a receptor for several echoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(13):6245-8.
28. Wang W, Wang X, Yang L, Fu W, Pan D, Liu J, et al. Modulation of host CD59 expression by varicella-zoster virus in human xenografts in vivo. *Virology*. 2016;491:96-105.
29. Stehle T, Khan ZM. Rules and exceptions: sialic acid variants and their role in determining viral tropism. *J Virol*. 2014;88(14):7696-9.
30. Alisson-Silva F, Liu JZ, Diaz SL, Deng L, Gareau MG, Marchelletta R, et al. Human evolutionary loss of epithelial Neu5Gc expression and species-specific susceptibility to cholera. *PLoS Pathog*. 2018;14(6):e1007133.
31. Campanero-Rhodes MA, Smith A, Chai W, Sonnino S, Mauri L, Childs RA, et al. N-glycolyl GM1 ganglioside as a receptor for simian virus 40. *J Virol*. 2007;81(23):12846-58.
32. Deng L, Song J, Gao X, Wang J, Yu H, Chen X, et al. Host adaptation of a bacterial toxin from the human pathogen *Salmonella Typhi*. *Cell*. 2014;159(6):1290-9.
33. Kyogashima M, Ginsburg V, Krivan HC. *Escherichia coli* K99 binds to N-glycolylsialoparagloboside and N-glycolyl-GM3 found in piglet small intestine. *Arch Biochem Biophys*. 1989;270(1):391-7.
34. Martin MJ, Rayner JC, Gagneux P, Barnwell JW, Varki A. Evolution of human-chimpanzee differences in malaria susceptibility: relationship to human genetic loss of N-glycolylneuraminic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(36):12819-24.
35. Wielgat P, Rogowski K, Godlewska K, Car H. Coronaviruses: Is Sialic Acid a Gate to the Eye of Cytokine Storm? From the Entry to the Effects. *Cells*. 2020;9(9).

表1. 異種移植について現行の開発候補品を想定し、技術ごとにどこまでを審査で評価するか

	具体例	適用条件	特徴	課題
遺伝子組換えされていない異種細胞を用いた技術	ブタ由来豚島細胞	免疫隔離膜等による拒絶回避が必須	分泌タンパク質成分等が通過	現行の膜技術ではウイルス等は隔離することは現状で困難
遺伝子改変されていないブタ胎仔腎臓のヒト胎児への移植	母ブタから胎仔を摘出し、その胎仔ブタのクロアカを摘出	胎児への投与により免疫拒絶が回避可能 長期にわたる生着を目指すさない	生理機能としての尿の貯留とドレナージによる排出が可能	胎盤通過性を持つウイルス感染症。未知ウイルス
遺伝子改変された異種臓器	遺伝子改変クローン胚を移植された借腹胎仔を飼育し臓器を摘出	免疫拒絶を回避するために遺伝子改変操作が必須	臓器として人体内で機能すること	人獣共通感染症に加え、遺伝子改変によるウイルス伝播リスク

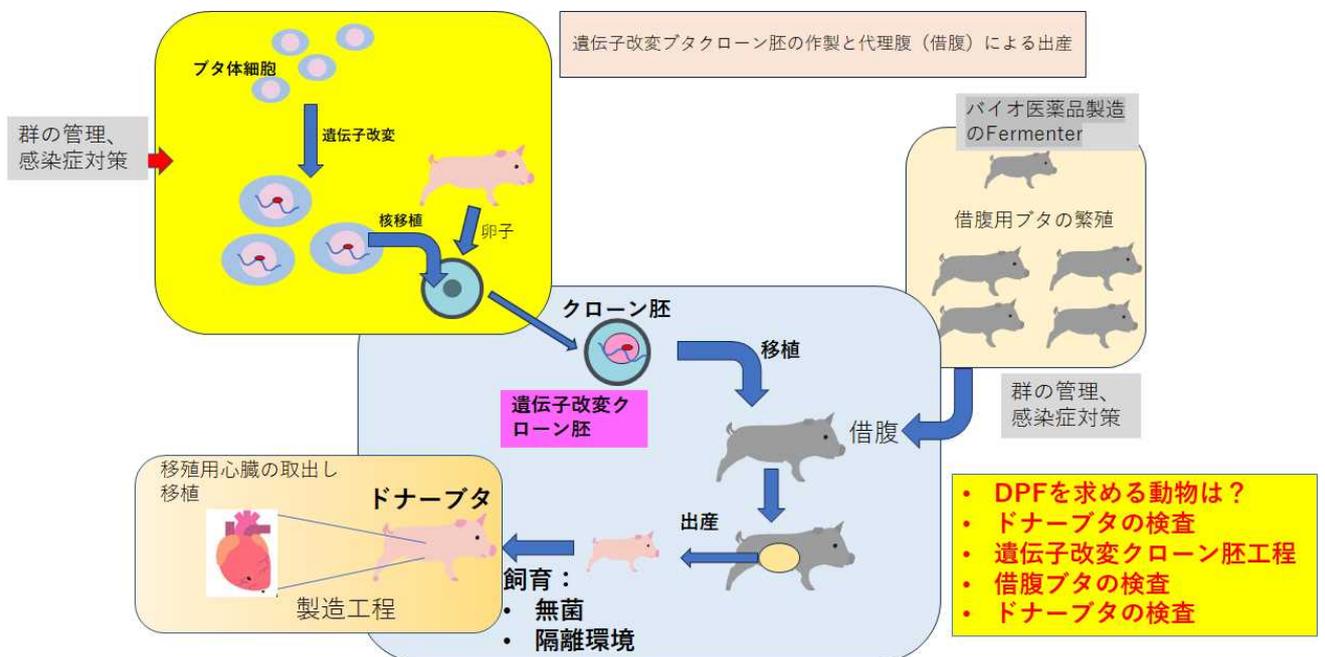


図2. 遺伝子改変した異種臓器移植の開発ステージ

参考資料 1

参考資料 1

FDA：異種移植製品のヒトへの使用に関するドナー動物、製品評価、前臨床および臨床上の課題 産業界向けガイダンス

本ガイダンスの追加コピーは、以下より入手可能です。Office of Communication, Outreach and Development (OCOD), 10903 New Hampshire Ave., Bldg. 71, Rm. 3128, Silver Spring, MD 20993-0002、電話：1-800-835-4709 または 240-402-8010、Eメール：ocod@fda.hhs.gov、インターネット：<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm>

本ガイダンスの内容に関するご質問は、上記の OCOD の電話番号または E メールアドレスまでお問い合わせください。

U.S. Department of Health and Human Services

Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research

April 2003

Updated December 2016

Table of Contents

I.	序	1
II.	背景	2
III.	定義と略語	3
IV.	規制責任	7
V.	ソース動物の特性評価	7
A.	一般的な検討事項	7
B.	動物福祉への懸念	8
C.	動物由来	9
D.	動物の健康と飼育	11
E.	異種移植製品の製造に使用するための、ヒト以外の生きた細胞、組織、または臓器の採取	17
F.	異種細胞株のソース動物の履歴	20
G.	動物の処分と副産物の利用	21
VI.	異種移植産物の特性評価	21

参考資料 1

A.	一般的な検討事項	21
B.	異種移植製品のクラスに関する考察	22
VII.	異種移植製品の微生物学的検査.	24
A.	一般的な検討事項	24
B.	異種移植製品のクラスに関する考察	25
C.	感染物質検出のためのアッセイデザイン	27
VIII.	異種移植製品の採取と加工に関する製造・工程関連 GMP の考慮事項	31
A.	一般的な検討事項	31
B.	汚染／交差汚染に関する注意事項	31
C.	妥当性確認と適格性確認	33
IX.	異種移植に関する前臨床試験での考察	35
A.	一般的な検討事項	35
B.	感染症に関する問題	36
C.	異種移植製品-宿主間相互作用	37
D.	ヘテロな異種移植製品の使用に関する考察.	39
E.	移植を意図した異種移植製品の in vitro および in vivo 腫瘍原性モデル	40
F.	異種移植製品とデバイスの組み合わせ	41
X.	異種移植の臨床的問題点	43
A.	一般的な検討事項	43
B.	臨床プロトコールのレビュー	43
C.	異種移植施設	43
D.	患者選択の基準	43
E.	リスク／便益分析	44
F.	感染因子のスクリーニング	44
G.	患者のフォローアップ	50
H.	患者血漿及び組織検体の保存	50
I.	健康記録とデータ管理	52
J.	インフォームド・コンセント	54
K.	新しい科学的情報を患者に伝える際のスポンサーの責任	58
XI.	参考文献	59

ヒトにおける異種移植製品の使用に関する原動物、製品、前臨床および臨床上の問題点

産業界向けガイダンス

I. I. 序

米国食品医薬品局 (FDA) は、異種移植製剤のスポンサーおよび申請者に対し、プロトコル作成中および FDA への提出書類 (治験薬製造販売承認申請書 (IND) や生物製剤承認申請書 (BLA) 等) の作成中に、製剤の製造、試験、評価に関する最新情報を提供するために本ガイダンスを発行する。このガイダンスはまた、動物由来の感染因子のヒト集団への導入と拡散を防止することを目的とした、最新の参考文献と FDA の慣行を含んでいる。本ガイダンスは、2003 年 4 月付けの同タイトルガイダンス (2003 年 4 月ガイダンス) を修正するものである。

本文書では、異種移植とは、(a) ヒト以外の動物由来の生きた細胞、組織、臓器、または (b) ヒト以外の動物の生きた細胞、組織、臓器と生体外で接触したヒトの体液、細胞、組織、臓器のいずれかをヒトのレシピエントに移植、移植、または注入する方法を指す。また、本ガイダンスの目的上、異種移植産物には異種移植に使用される生きた細胞、組織または臓器が含まれる。ただし、本ガイダンスの目的上、異種移植には、移植、植え込み、またはその他の無細胞動物組織の使用は含まれない。異種移植片と呼ばれる動物組織由来の細胞性製剤は、本ガイダンスの適用範囲外である (本書 III 章の定義を参照)。

本ガイダンスを含む FDA のガイダンス文書は、法的強制力のある責任を定めるものではない。その代わり、ガイダンスはトピックに関する FDA の現在の考え方を記述したものであり、特定の規制または法的要件が引用されていない限り、勧告としてのみ見なされるべきである。

FDA のガイダンスにおける should の使用は、提案または推奨を意味し、必須の意味ではない。

II. 背景

1990 年代半ば、移植用ヒトアログラフトの不足を回避するメカニズムとして、異種移植が提案された。提案された異種移植プロトコルには、ヒト以外の動物由来の生きた臓器、組織、細胞をヒトに移植する方法や、ヒト細胞がヒト以外の細胞、組織、臓器と生体外で接触する方法が含まれていた。異種移植製剤を用いる処置の例としては、臓器不全を治療するための異種心臓、腎臓、膵臓組織の移植、神経変性疾患を改善するための神経細胞の移植、生きた非ヒト動物の抗原提示細胞またはフィーダー細胞と生体外で培養したヒト細胞の投与、肝不全を治療するための無傷の動物臓器または装置に含まれる単離された細胞を通して灌流された患者の血液または血液成分の体外灌流などがある。

異種移植製品の使用は、以下のような潜在的な公衆衛生上のリスクをもたらす：

1. ヒトには病原性を示すが、感染源となる動物の宿主では病原性を示さない、あるいは検出すらできない可能性のある感染因子の伝播；
2. 通常、ヒトでは病原性を示さないが、免疫抑制者や免疫不全者では病原性を示す可能性のある生物の感染、
3. 感染因子、特にウイルスが、非病原性または内因性のヒト感染因子と組換えまたは再組換えを起こし、新たな病原体を形成すること。

ヒトと動物との通常の接触と、レシピエントと異種移植産物との接触には大きな違いがあるため、自然発生する人獣共通感染症の分析に基づいてのみ、異種移植産物のレシピエントに疾患を引き起こす可能性のある感染因子を予測することは困難である。例えば、異種移植産物の移植や脈管形成、あるいは脈管形成されていない細胞や組織の移植、あるいは異種移植産物の材料とレシピエントの細胞、組織、体液との密接な近接や接触を引き起こす生体外操作によって、レシピエントにおける物理的な障壁や距離は排除される。免疫不全宿主や異所性免疫抑制宿主におけるウイルス適応の可能性、および以前に潜伏していたウイルス感染が検出されずに広がる可能性が特に懸念される。これらの理由から、製品開発においては、レシピエントとその関係者だけでなく、一般の人々の安全性についても考慮することが重要である。これらの問題については、以前、FDA の生物学的反応調節剤諮問委員会 (BRMAC) -異種移植に関する小委員会、保健福祉省 (DHHS) の異種移植に関する長官諮問委員会 (SACX)、およびその他の公的な場で公開討論が行われた。

i 異種移植に関する BRMAC 小委員会 (SACX) は 2001 年に発足し、2005 年に廃止された。異種移植に関するさらなる議論は、細胞・組織・遺伝子治療諮問委員会 (CTGAC) で行われてきた。さらに 2009 年には、「1 型糖尿病または急性肝不全の治療を目的としたブタの異種移植製品の動物モデル」というテーマで議論が行われた。

1996 年、公衆衛生局 (PHS) は「異種移植における感染症問題に関する公衆衛生局 (PHS) ガイドライン草案」(61 FR 49920, September 23, 1996) を発表し、寄せられ

たパブリックコメントと異種移植[1]に関連する分野の進歩に基づき、2001年1月29日に改訂発行された(66 FR 8120)(以下「PHS ガイドライン」という。)。このFDAガイダンス文書は、PHSガイドラインの多くの概念を再掲したものであるが、それに加えて、異種移植製品の開発・製造および異種移植臨床試験のあらゆる側面に関する具体的な助言を含んでいる。

PHS ガイドラインの発表後、世界保健機関（WHO）は「異種移植臨床試験の規制要件に関する第2回世界協議」を発表した。[2]

FDA は、異種移植の分野における科学的知識が蓄積され続けるにつれて、異種移植製品の規制に対するアプローチが進化していくことを予期していた。2003年の最終ガイダンスの発行以来、FDA は特定の異種移植製品に関連する勧告を含む追加ガイダンスを発行している。例えば、動物飼育に関する勧告の一部は、十分に特異化され、長い間確立された動物細胞培養株またはそのような株と共培養されたヒト細胞からなる異種移植製品には必要ないかもしれない。

III. 定義と略語

Act: 連邦食品医薬品化粧品法 The Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (21 U.S.C. 321 et seq.).

AAALAC: Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care, International の略。生物医学動物施設を検査・認定する組織。

Agents of concern: この文書の目的上、懸念される病原体とは、レシピエントおよび／または公衆にリスクをもたらす可能性のある感染性病原体、すなわち、ヒトに感染する可能性のある病原体、感染する可能性のある病原体、またはヒトに感染する能力の定義が不十分な病原体をいう。

ATCC: American Type Culture Collection. (アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション)

BLA: 生物製剤承認申請。生物製剤許可申請書の承認または生物製剤許可証の発行は、当該施設および製品が、当該製品の継続的な安全性、純度および効力を確保するために適用される要件を満たしているという決定を意味する。

BSL: バイオセーフティ・レベル。BioSafety Level.

CDC: 疾病管理予防センター。Centers for Disease Control and Prevention.

CDRH: Center for Devices and Radiological Health.

cGMP: current good manufacturing practice の略。生物学的製剤を含む医薬品に関する cGMP 規制は、21 CFR Part 210 および 211 に記載されている。生物学的製剤については 21 CFR Part 600 Subpart B および Part 610 を参照のこと。血液および血液成分については、21 CFR Part 606 に追加規制がある。機器については、品質システム規制は 21 CFR Part 820 に記載されている。

Closed herd or colony: 標準作業手順書 (SOPs) により管理された群れまたはコロニー。

CPE: 細胞変性効果。いくつかのウイルスによって引き起こされる試験管内の有核細胞に対する作用で、顕微鏡的に観察可能なもの。

CVM: Center for Veterinary Medicine.

DPF: Designated pathogen free (指定病原体フリー)。この用語は、指定された病原体が存在しないことを保証するために、指定された病原体の検査、厳格な SOP (標準作業手順)、および牛群飼育と獣医学的ケアの実践のために、明確に定義されたルーチンを用いて維持されている動物、動物群、または動物施設について、厳密に文書化され、指定された病原体が存在しないことが証明された動物、動物群、または動物施設を指す。

EM: 電子顕微鏡。細胞内粒子などの非常に小さな物体、またはウイルスなどの感染性物質を可視化するために使用される方法。

FDA: 食品医薬品局。

GE: 遺伝子組換え。

Gnotobiotic (グノトビオティック): 実験動物を飼育する科学で、その微生物叢および微生物相の全体が特に知られている。

GVHD: 移植片対宿主病。

HEPA: 高効率微粒子空気。

IACUC: Institutional Animal Care and Use Committee の略: Institutional Animal Care and Use Committee の略。施設の動物プログラム、施設、および手順を監督するために設置される地域の施設委員会。IACUC は、半期に一度、プログラムレビューと施設点検を実施し、すべての動物使用プロトコールと動物福祉に関するあらゆる懸念事項を検討する。(実験動物の人道的ケアと使用に関する公衆衛生局の方針、2015 年改訂版参照)。

IBC: Institutional Biosafety Committee: 施設バイオセーフティ委員会。その機関で実施される基礎研究および臨床研究を審査・監督するために設置される地域の機関委員会。IBC は研究の安全性を評価し、公衆衛生または環境に対する潜在的リスクを特定する。(組換えまたは合成核酸分子を含む研究に関する NIH ガイドラインの IV-B-2 項を参照のこと)。

ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals For Human Use の略。

IDE: 治験機器免除申請。ヒトを対象とした臨床試験において未承認の機器を使用することを求める申請書。法的要件は連邦食品医薬品化粧品法 (FDA 法) 第 520 条(g) (21 U.S.C. 360(g)) にあり、施行規則は 21 CFR Part 812 に記載されている。

IND: 治験薬申請。これらの申請は、未承認医薬品を含む臨床試験を実施しようとする者 (法 505 条(i) (21 U.S.C.355(i)) または PHS 法 351 条 (42 U.S.C.262) の免許条項の対象となる者を含む) に義務付けられている。法的要件は法 505 条(i) (21 U.S.C. 355(i)) にあり、IND 規則は 21 CFR Part 312 にある。

INAD: 動物用治験薬。

IRB: Institutional Review Board (施設審査委員会)。IRB: Institutional Review Board (施設審査委員会) 被験者 (ヒトを対象とする生物医学的及び行動学的研究) の権利及び福祉を保護するために、ヒトを対象とする生物医学的及び行動学的研究を審査し承認するために設置された、機関によって指定された委員会、委員会、またはその他のグループ (21 CFR Part 56 「施設審査委員会」を参照のこと)。

ロット (lot): 21 CFR 210.3(b)(10)において、特定の限度内で均一な性状および品質を有するバッチまたはバッチの特定の特定された部分として定義され、21 CFR 600.3(x)において、1つの容器内で完全に混合されたと製造業者により確認された均一な材料の量として定義される。最終製品の各ロットは、臨床使用のために製品を出荷する前に、仕様の遵守を確認するために適切な試験に供される。認可された

生物学的製剤は、21 CFR 610.2(a)に記載されているように、ロットリリースの対象となる場合がある。しばしば、異種移植製品の場合、ロット全体が一人のレシピエントの治療に使用される。

マスターファイル：マスターファイルは FDA に提出され、製品の製造や一般的な手順など、製品に関する情報を含む。マスターファイルに含まれる手順や情報は、マスターファイルのスポンサーからの書面による許可があれば、IND や IDE で相互参照することができるが、マスターファイル内の情報の機密性は維持されます。(21 CFR 314.420 を参照)。

NADA: 動物新薬承認申請。PBMC：末梢血単核球。

PCR：ポリメラーゼ連鎖反応：ポリメラーゼ連鎖反応。短い DNA 配列の合成を触媒する熱酵素を用いた酵素的手法で、特定の DNA 配列の増幅により核酸の検出を可能にする。

PERV：ブタ内在性レトロウイルス。

PHS 法：公衆衛生サービス法 (42 U.S.C. 201 et seq)。

PMA: 市販前承認申請。同法第 515 条に基づく特定の機器の販売申請である。PMA に関する規則は 21 CFR Part 814 に記載されている。

Recipient (レシピエント)：レシピエント (Recipient)：異種移植製品 (異種移植で定義される) の生体外曝露を受ける、または受ける個人。

RT：逆転写酵素。RNA から DNA の合成を触媒する、特にレトロウイルスに見られる酵素。

SAF：ドナー動物飼育施設。

センチネル動物：通常、常駐する群れまたはコロニーと同種の動物で、群れまたはコロニー内の不定因子 (ウイルス性、真菌性、細菌性疾患、内部および外部寄生虫を含む) を検出する目的で、監視および検査される動物と直接接触するように収容される動物。

SOP：標準作業手順。

由来動物：異種移植に使用する細胞、組織、臓器が得られる動物。

TSE：伝達性海綿状脳症。TSE は、特徴的な神経病理学 (すべての哺乳類の脳に存在するプリオンタンパク質の異常型の海綿状変化と沈着) を伴う、ヒトおよび動物の致死的な亜急性の変性疾患である。TSE は、病変組織の接種または摂取によって実験的に伝播する。異常なプリオンタンパク質が感染の原因であると考えられている。あるいは、他の未同定の補因子、あるいははまだ未同定のウイルス年齢が原因である可能性もある。

WFI：注射用水。

異種移植片製品：異種移植片製品は、動物組織由来の無細胞製品である。これらの異種移植片は、本ガイダンスの適用範囲外である。異種移植片製品に関するガイダンスについては CDRH を参照されたい[9]。

異種移植：本ガイドラインでは、(a) ヒト以外の動物由来の生きた細胞、組織、臓器、または (b) ヒト以外の動物の生きた細胞、組織、臓器と生体外で接触したヒトの体液、細胞、組織、臓器のいずれかを、ヒトのレシピエントに移植、移植、または注入する手順を指す。

異種移植製品：異種移植製品：本文書において、異種移植製品とは、異種移植（上記定義）に使用される生きた細胞、組織、または臓器を含む。

人獣共通感染症：人獣共通感染症：自然条件下でヒトに感染する可能性のある動物の病気（ブルセラ症、狂犬病など）。

人獣共通感染症：動物と人間の通常の接触による感染因子の移動から生じる疾病に関する。

IV. 規制責任

FDA は、非ヒト動物由来の生きた臓器、組織、細胞を含む異種移植製品、またはカプセル化された形態で使用される異種移植製品材料、またはヒト以外の生きた臓器、組織、細胞がヒトの体液、細胞、組織、または臓器と生体外で接触し、その後ヒトのレシピエントに投与される異種移植製品を規制監督している。異種移植製剤を臨床研究に使用する場合は、適切な治験薬申請を行う必要がある（例：21 CFR Part 312）。FDA はほとんどの異種移植製品を生物学的製剤として規制する。CBER は、PHS 法 351 条（42 U.S.C. 262）および同法（21 U.S.C. 321 et seq）の権限に基づき、細胞治療を含む生物学的製剤を規制する。医薬品、生物学的製剤、および機器に関する規制は、連邦規則集第 21 編に記載されています（例えば、IND に関する規制は 21 CFR Part 312、IDE に関する規制は 21 CFR Part 812、生物学的製剤のライセンスに関する規制は 21 CFR Part 601）。細胞治療製品の開発者が FDA に IND を提出する際の手助けとなるよう、FDA は体細胞治療と遺伝子治療の開発における規制上の考慮事項、および細胞治療製品の IND のための化学、製造、管理情報の内容と審査に関するガイダンスを公表している[3, 10]。さらに、GE 動物由来の製品については、21 CFR Part 511 および Guidance for Industry を参照

のこと：また、遺伝子組換え動物に由来する製品については、21 CFR Part 511 および Guidance for Industry: Regulation of Genetically Engineered Animals Containing Heritable Recombinant DNA Constructs[4]を参照してください。臨床試験の実施計画およびモニタリングの第一義的責任は治験依頼者にある（例：21 CFR 312.23(a)(6)(iii)(d)および 312.50）。本書において「あなた」とは、治験依頼者、治験責任医師、又は治験依頼者が推奨する機能を果たすよう指定した者（例：SAF スタッフ、検査担当者等）を指す。

一部の製品は、体外血液灌流に使用される機器に含まれる異種細胞のように、生物学的製剤と機器からなる組み合わせ製品である可能性がある。組合せ製品の市販前審査のための規制および割り当てに関する問題については、21 CFR Part 3 を参照のこと。

V. ドナー動物の特性評価

A. 一般的な考慮事項

特定の動物病原体の種を超えた感染リスクは、ドナー動物の選択において最も考慮すべき事項である。ヒトとドナー動物との解剖学的および生理学的な適合性を考察することもまた重要である。例えば、臓器が移植される患者にとって適切な大きさであることや、種の壁を越えて適切に機能するかどうかを考慮すべきである。また、非ヒト動物の生きた細胞、組織、臓器に対する拒絶反応を予防的に抑制するための現行の治療レジメンをどのように当てはめることができるかといった医薬品の適合性など、免疫学的な適合性についても考慮すべき点である。ドナーとして使用する生物種は、絶滅危惧種や保護種を対象とするものなど、他の連邦法や規制（例えば、16 U.S.C. 1538 を参照）の対象となる可能性があることに留意すべきである。申請書を提出する前に、異種移植に関するすべての PHS および FDA のガイダンスを参照すべきであり、特に、「Guidance for Industry」文書を参照すべきである：特に、異種移植製品の供給源として非ヒト霊長類を使用する申請を FDA に提出する前に、「産業界向けガイダンス：ヒトにおける非ヒト霊長類の異種移植片の使用がもたらす公衆衛生上の問題」[11]を参照されたい。（上記文書で使用されている "異種移植片" という用語は、"異種移植製品" という用語と同義であるが、現在使用されているこれらの用語はもはや同義ではない（「定義」を参照）。

異種移植製品の使用に際しては異種動物に由来する潜在的な感染症リスクがあり、ドナー動物の適切性を評価するための要件及び基準を開発すべきである。これら

の資格要件には、ドナー動物の群の管理、感染因子の予防とスクリーニングのためのプログラムを含むべきである。最終的な異種移植製品の感染性病原体検査は極めて重要であるが、動物の供給源と飼育管理の適切な管理は、既知の病原体のみならず潜在的に未知の病原体の両方による感染を制御することにより、このような製剤の安全性を保証する重要な補完的として用いることができる。従って、ドナー動物の群(herd)やその中の個々のドナー動物の飼育、給餌、獣医学的ケア、薬物投与や生物学的治療を含む動物の飼育に関して、スポンサーが提供する具体的な情報は、開発目的とするドナー動物由来の細胞、組織、または臓器が安全に使用の可能性であることを FDA が評価するために極めて重要である。

動物飼育施設、製造工程、記録は、法 704 条 (21 U.S.C. 374) および PHS 法 351 条 (c) (42 U.S.C. 262(c)) に基づき、FDA の査察の対象となる。

B. 動物福祉への懸念

ドナー動物飼育施設および異種移植製品の製造業者にとって考慮すべきもう一つの課題は、移植臓器を提供するドナー動物の福祉である。動物飼育、組織採取、および動物の処分の手順は、動物福祉法 (7 U.S.C. 2131, et seq.) について、また PHS から資金援助を受けている場合は、PHS 法第 495 条 (42 U.S.C. 289(d)) に従い、PHS Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals (実験動物の人道的な飼養および使用に関する PHS 方針) に従って実施する必要がある。我々は、ドナー動物飼育施設が AAALAC の認定を受けることを推奨する。米国国立衛生研究所から資金提供を受ける場合の認定施設の基準は、米国国立研究評議会の実験動物研究所の「実験動物の飼育と使用の手引き」に記載されている。

C. ドナー動物の由来について

1. ドナー動物と群の管理とその適切性

異種移植製品の供給源となるドナー動物は、文書化された健康診断プログラムに沿った管理が行われており、外界から隔離・閉鎖された動物群からのみ調達すべきである。飼育動物の感染症について十分な知識と経験をもった責任者が、対象とする動物群に対して、ウイルス、細菌 (リケッチア属を含む)、マイコプラズマ、真菌、伝達性海綿状脳症 (TSE)、寄生虫を含めたスクリーニングリストを作成し、治験申請 (IND など) パッケージの一部としてこれらの情報を FDA に提供すべきである。ドナー動物種に感染することが知られている全ての感染因子を考慮する必要がある。FDA への治験申請 (IND) において、群に対するスクリーニングリストからドナー動物種で見出されたことのある病原体の検査を除外する場合には

その根拠となる妥当性が説明できなければならない。例えば、動物の群の地理的位置により、特定の感染因子を除外可能であると説明できることが必要である。TSE に感受性のあるドナー動物では、TSE 病や TSE 関連病原体[12]がないことが証明された閉鎖・隔離された群からのみ入手する必要がある (V.C.3.c.の項も参照)。対象とする動物種に TSE が存在することが知られている地域から入手した動物をドナーとして使用しない。FDA への異種移植製品の治験薬として使用する治験申請書 (IND など) には、スクリーニングの頻度、アッセイの方法、群の中のどの動物をどのような頻度でサンプリングするかを決定する方法について記載し、その妥当性を示す必要がある。製品の安全性を証明するデータが蓄積され十分な根拠が得られてくる場合には、スクリーニングプログラムをより合理的な内容に変更することはできる。

2. ドナー動物の育種歴

治験実施者は、ドナー動物およびその動物が属する群の地理的起源、種、系統および系譜を文書化して保管しておくべきである。ドナー動物の育種履歴についての文書には、TSE の発生源やその他の懸念される外来性病原体または感染因子に動物が暴露された可能性など、レシピエントにリスクをもたらす可能性のある全ての要因を記述しておくべきである (セクション III の定義を参照)。ドナー動物は厳密な管理のもとに飼育・繁殖され、閉鎖・隔離された群に由来するものでなければならない。人工授精、胚移植、クローン作製、子宮摘出術に代理親による繁殖、適切な給餌を実施することによって、風土病を含む病原体の少ない動物群を確立することができる。特に PHS ガイドラインでは、繁殖プログラムでは可能な限り、帝王切開由来の動物を使用することを推奨している[1]。

3. 米国外からの動物の供給

a. 異種移植製品の生産動物として、米国外の国からの動物やその第一世代の子孫を使用すべきではない。ただし、その動物が米国内で入手できない種や系統である場合、またはトランスジェニック動物のように臨床上の特性によって科学的に妥当性を示すことができる特別な性質を持った動物を用いる場合はこれによらない。ただし、米国では入手できない種や系統の動物、あるいはトランスジェニック動物など、臨床上の特別な特性を持つことを科学的に説明できる特別な性質を持つ動物も例外として認められる。

b. 米国外からの原動物の使用が必要かつ妥当であるとき、米国内で繁殖されたドナー動物と同じ試験や配慮をこれらの動物に適用すべきである

(例えば、動物の健康と飼育に関するセクション V.D.を参照)。懸念される感染因子がないことを証明するのに十分な長さの検疫期間を実施し、動物の安全性にかかわる広範なスクリーニングを実施すべきである。異種移植製品の治験製品としての使用を申請する FDA への IND 申請書には、用いるドナー動物が外界から閉鎖・隔離された群に由来し、適切な条件下で飼育され、推奨される健康維持手順とスクリーニングを受け、少なくとも 2 世代にわたってレンダリングまたはリサイクルされたような哺乳動物材料を与えられていないことを証明できる文書を提出する必要がある。ドナー動物の原産国に特有な風土病についても適切なスクリーニングを実施すべきである。異種移植製剤の研究使用を申請する FDA への IND 申請書などには、輸入動物の輸送方法と条件を記述しなければならない。説明文書には、隔離、ケージ、動物の飼育、動物処置、同種または異種の他の動物の存在を含む輸送手段および輸送中の飼育条件を含むべきである。米国以外の国からの動物が必要な場合は、使用前に長期間に渡って十分に特性を把握できるように、導入動物から国内群を樹立するための基礎試験として使用すべきである。

c. ドナーとなる牛に TSE が存在することが知られている国や地域からドナー牛を輸入すべきではない。これらの目的のためには、牛の BSE リスクが「無視できる」ものとして世界動物衛生機関 (OIE) によりリストアップされている国のみが許容範囲とみなされるべきである。[13]。(9 CFR Part 92-96 および 98) のウシおよびウシ製品の輸入に関する規制と一致している [14]。

d. 動物または動物組織の輸入に関する要件については、米国農務省 (USDA)、必要に応じて CVM および CDC に問い合わせること。

4. 放飼いの動物及び野生動物

放飼いで飼育されているドナー動物を使用すべきではない。このようなドナー動物は他の動物、鳥、昆虫、または制御不能な環境要因にさらされる可能性があるため、感染因子を保有する可能性が高くなる。野生で捕獲された動物をドナー動物として使用すべきではない。

5. 食肉処理場または屠殺場から入手した動物由来原料

と畜場または食肉処理場からの動物は、原動物として使用するには安全でない。と畜場からの動物は地理的に離れた農場または市場から入手されることが多く、輸送中またはと畜場到着後の他の動物または潜在的な感染源への暴露の有無が不明であるため、と畜場からの動物の適切な基準への適合性に関する文書および履歴が入手できない場合がある。従って、このような動物をドナーとして使用すべきで

はない。

6. 精液ドナー

例えば、精液によって伝染する可能性のある感染因子のスクリーニングなどが実施される必要がある。

D. 動物の健康と飼育

異種移植製品として使用する生きた細胞、組織、臓器の供給源としてのドナー動物の生産には、適切に設計された施設と、動物が感染因子にさらされるのを最小限に抑えるための施設運営プログラムが必要である。

ドナー動物はドナー動物飼育施設からのみ入手すること。FDA への申請及び提出書類には、ドナー動物を維持・管理するための詳細な計画を含める必要がある。これらの計画には、動物の封じ込めの収容施設、給餌と飼料、水、敷料の入手、健康診断の実施とモニタリング、生産飼育場からの搬出とドナー動物の副産物の処分方法、個々の動物の識別と施設内、施設外への移動の記録について詳述した SOP が含まれるべきである。これらの手順は、ドナー動物種と異種移植製品としての適切性を考慮したものでなければならない。

1. 施設

全米研究評議会（National Research Council's Institute for Laboratory Animal Research）の「Guide for the Care and Use of Laboratory Animals（実験動物の飼育と使用のためのガイド）」に記載され、AAALAC によって認定された勧告に従って建設・運営された専用施設に動物を収容すべきである。感染源となったり、バイオセキュリティを脅かす可能性のある生産活動や農業活動が行われているような施設に地理的に近い場所にドナー動物飼育施設を設置すべきではない。

ドナー動物飼育施設に関しては、21 CFR 600.10 および 600.11 の動物および職員に関する要件を含む、施設基準に関する 21 CFR Part 600, Subpart B の規制の対象となる。ドナー動物飼育施設はまた、検査に関する 21 CFR Part 600, Subpart C の規制の対象でもある。これらの施設は、臨床プロトコールを実施するスポンサーおよび公衆衛生機関の指定された査察官による査察の対象となる。

FDA への提出書類（例えば、IND またはマスターファイル）には、ドナー動物を収容するための施設と運営手順の詳細な説明を含める必要がある。提供する情報には、シェルター、給餌エリア、洗浄エリア、フェンス、空気処理システム（特に検疫エリア）、照明、温度、および動物環境のその他の飼育施設の物理的属性についてのデザインが含まれるべきである。

施設要件としては、動物に伝染する可能性のある感染源となる因子を媒介する可能性のある昆虫、鳥類、その他の動物からの曝露を排除または最小減にするための物理的バリアおよび運用対策に関する情報も含めるべきである。動物飼育環境に対する生物学的または物理的な危害、およびこの問題に対応するために取られた措置の記録を保管する必要がある。

これらの説明には、動物飼育域施設内のゲージやその清掃やその他の日常的なメンテナンスの手順とスケジュールも記載する。動物の排泄物の除去手順も記載すること。ドナー動物がどのように適格に収容されることになるか（例えば、バッチとして、または個体として）、およびドナー動物が使用された後に収容していた施設をサニタリング（汚染除去）するために使用される方法を説明書に含める。ドナー動物飼育施設のスタッフには、施設で飼育される特定の動物種で流行している感染症や病原体に対する専門知識を持つ獣医師が含まれるべきである。感染症の専門知識を有する獣医師がスタッフにいない場合は、感染症に関する専門知識を有する適切な者が相談に応じることができることを示す文書を IND 申請書などに記載すること。スタッフには、収容される生物種のケアと健康に関する適切な訓練を受けた適切な数の飼育係も含めるべきである（例えば、21 CFR 600.10 と 600.11）。異種移植製品の開発者は ISO 9001:2015[15]の認証を受けることを検討すべきである。[15]

2. ドナー動物の維持

a. 一般考慮事項

動物種、異種移植製品、および目的とする臨床応用に適切な標準業務手順書（SOP）に従って、ドナー動物を管理・維持しなければならない。SOP は、ドナー動物飼育施設とドナー動物プールへの新しい動物の受け入れ、検疫、および疾病を持つ罹患動物の除去、隔離、または排除について規定すべきである。これらの情報を IND 申請書などで FDA に提供すべきである。病気や感染によりドナー動物プールから排除された動物をドナー動物飼育施設に再度受け入れてはならない。

ドナー動物の群やコロニーの健康に悪影響を及ぼすような事故や事象が生じてい

ないかを特定するための手順を策定するべきである。この情報はすべての異種移植製品申請の安全性審査に関連する。得られた情報を FDA に報告し、また IND 申請書などの一部として情報を収集する手順を作成する必要がある。

b. 健康診断

i. 指定病原体が存在しないと考えられる隔離施設で、ドナー動物を維持すること。このような隔離施設は "指定病原体フリー" (DPF) と呼ばれ、この施設から得られた動物は "DPF 動物" と呼ばれる。このような施設が DPF のステータスを維持していることを確認するためには、最初のスクリーニングと定期的なモニタリングが非常に重要である。疾病と感染因子のためにドナー動物群をモニタリングするためのプロトコルを作成しておくべきであり、SOP そのものあるいはその要約を治験薬申請する FDA への IND 申請書類などに含めるべきである。申請までに実施したスクリーニングから得られたデータを用いて生産システムの信頼性が確立されれば、検査の頻度を変更することも可能である。感染症専門のコンサルタント、ウイルス学者、微生物学者、認定微生物学的検査機関、獣医師など適切な専門家に相談し、すべてのドナー動物に対してスクリーニングすべき病原体のリストと適切な診断検査のリストを作成すべきである。特定の感染因子のスクリーニングに加え、より標準的な検査法を使用して、多様なクラスの感染因子を検出する必要がある。例えば、寄生虫感染の証拠がないか、ドナー群の糞便を定期的に検査する。免疫抑制を受けたレシピエントが感染する可能性のある含む感染性因子がドナー動物の腸内細菌叢を確認された場合、そのような動物の使用は避けるべきである。そのような動物をどうしても使用する必要がある場合は、CBER に相談すること。

ii. ドナー動物の不顕性感染は、生細胞、組織、臓器の採取時には明らかでない場合があり、遡及的にしか特定できない場合がある。スクリーニングのためにドナー動物の生産群から何頭かの動物をサンプリングし、センチネル動物 (代替動物) として検査に使用することにより、不顕性感染に関するリスクを最小限にするために役立つはずであり、移植後のレシピエントにおける感染の特定に役立つ可能性がある。定期的な剖検と広範な組織学的・病理学的評価を含むセンチネル動物プログラムの確立を検討すべきである。スクリーニング手順は、動物種、異種移植製品、臨床応用に適したものでなければならない。具体的なスクリーニング手順には、適切な健康状態の身体検査と動物から得た検体を対象として検査が含まれるべきであり、ドナー動物が由来し、維持されている動物種または地理的地域に存在することが知られている人獣共通感染症を検出できるものでなければならない。例えば、反芻動物のためのセンチネル動物プログラムでは、一部の動物を老齢まで維持

し、剖検時に、その反芻動物群から排除されたすべての罹患動物に加えて、センチネル動物について、米国農務省が承認した BSE の死後診断検査を、米国農務省が指定する方法で採取した脳幹組織を用いて実施することと規定することができる。[16]

iii. 以下の V.D.4.b.及び PHS ガイドラインで議論されているように、細胞、組織、臓器を採取する前に、個々の供給源動物を検疫し、スクリーニングすべきである。[1].

c. 健康管理

ドナー動物群の健康状態のサーベイランスシステムには、ドナー動物が受けた全ての獣医学的治療について包括的に記載された文書が含まれるべきである。このなかには、各々の動物が発症した病気、受けたすべての医療、処置、投与された薬剤、ワクチン接種、定期健康診断、およびあらゆる治療についての記録が含まれるべきである。細胞、組織、または臓器を投与されるアレルギーのあるレシピエントに対する潜在的なリスクを評価するため、ドナー動物に投与された抗菌剤の使用を注意深く文書に残しておくべきである。また薬剤等の投与された動物から採取した細胞、組織、臓器において、残留薬物濃度が十分な安全域であることの検証は行うべきである。

一般的に、不活化ワクチンを使用することは、原動物とその動物の群れの両方に対して妥当と考えられる。一方、生ワクチンの使用は、ワクチン接種のための代わりになる免疫抗原が利用できない場合に限り、また、ワクチン治療を受けた動物の生きた細胞、組織、または臓器がヒトのレシピエントに対して感染のリスクをもたらさないことを裏付ける科学的根拠が存在する場合に限って使用すべきである。群れの健康に影響を及ぼす病気やその他の事態に対処する手順を、FDA への IND 申請書に記載しなければならない。閉鎖・隔離されている群れの外部の動物から得られた血液、血液製剤、または組織による治療を必要とする動物をドナー動物として使用すべきではなく、これらの動物を群れから取り除くべきである。すべての非経口投与による介入に際しては、無菌技術と無菌器具を使用すること。

d. 飼料

飼料、水、その他の消耗品の保管と配送については、FDA への治験薬申請書 (IND など) に記載する必要がある。記録には製造者、バッチ番号、その他の関連情報を記載し、SOP に記録保存手順を記載すべきである。異種移植に使用される生きた

細胞、組織、または臓器の供給源として使用する前に、少なくとも 2 世代前にわたって供給源動物に与えられた飼料の製造業者とその内容を個々のドナー動物の記録に記載すべきである。2008 年に拡大された FDA の飼料禁止令で禁止されている動物性タンパク質やその他の畜産資材を含む飼料をドナー動物に使用すべきではない (21 CFR 589.2000) [17]。重大な薬物汚染や残留農薬、除草剤が使用された飼料をドナー動物に使用すべきではない (21 CFR 589.2001) [9]。害虫や感染因子に暴露される潜在的风险を最小化するために、乾草のような天然の非滅菌飼料を使用すべきではない。水は、動物が特定の感染因子や想定外の病原体に暴露されるのを防止するために十分な品質のものをを用いるべきである。薬剤、殺虫剤、除草剤、および肥料についても同様である。飼料として低温殺菌乳製品を与えることは可能である。生まれたばかりの動物に初乳やミルクを与えるのは、ドナー動物群の資格認定に使用されるのと同じ手順で、雌親による飼育は特別にその適格性が認定されている場合に限る。

e. 飼育員

治験薬使用を申請する FDA 申請書 (IND など) に動物の飼育員の SOP を記載し、出入りの手順、衣服の要件、動物とのすべてのやりとり (例えば、給餌、給水、運動、予防接種および投薬の提供など) を含めるべきである (例えば、21 CFR 600.11)。cGMP 規則 (21 CFR 211.11) に記載されているように、要員のための文書化された訓練プログラムがあるべきである。(21 CFR 211.25)。

動物に接触するヒトの健康状態を日常的にモニターすべきである [18]。スクリーニング情報を最大化するために、飼育員およびその他のスタッフのスクリーニングおよびモニタリングのためのプログラムを事前に決定し、最適化しておくべきであり、SOP にそのプログラムを記載すべきである。

動物と接触するヒトの健康モニタリングには、基本的な健康診断と、指示された場合、供給されるドナー動物と頻繁に密接に接触する特定の飼育員については血清または血漿の定期的なサンプリングと保存をすること。また、時々接触する飼育員についてはそれほど厳密なモニタリングを要しないかもしれないが適切なモニタリングを実施するべきである。すべての飼育員からの感染症の対策として検体を得るべきである。

3. ドナー動物施設への動物の搬入及び搬出と人員の往来

動物の出入りに関する SOP を作成すべきであり、その SOP には施設への動物の搬入および施設からの動物の輸送を含むべきである。施設に入室する全ての動物について、定められた検疫期間を設定し、スクリーニング手順を完了できるようにすべきである。医薬品等の製造に使用される動物の最低検疫期間は 7 日間である (21 CFR 600.11(f)(2))。しかし、ドナー動物飼育施設に入る動物については、ドナー動物種における感染因子の潜伏期間を超える、より長い検疫期間を設定すべきである。施設内の個々の動物を識別できる追跡システムを考案すべきである。伝染性病原体への曝露を避けるため、動物施設へのスタッフの出入りを最小限に抑えるべきである。FDA は、感染源となる可能性のある動物を適切に移動させるために、「オールイン／オールアウト」またはバッチ方式により搬入、搬出をすることを、感染因子の伝播の可能性を最小化する方法として推奨している。

治験薬使用 (IND など) を申請するために FDA に提出する書類には、人員の移動パターンを記載し、感染因子の伝播を最小限に抑える方策を示すべきである。飼育員は 2 つ以上の動物施設で、または 2 つ以上の動物種で作業すべきではない。飼育員は、「飼育員の汚染除去および消毒のための有効な SOP」が使用されない限り、1 日の内に 1 つ以上の隔離された動物のグループまたは 1 つ以上の群れで作業を許可すべきではない。

4. 製品ごとのドナー動物の適格性

a. 感染症の検査

ドナー動物群の適格性確認において実施されたものと同じ感染因子の有無を、すべてのドナー動物を対象として同じスクリーニングをすべきである。さらに、ドナー動物の血液または組織の適切なサンプルについて、異種移植製品の検査に関するセクション V. に記載されているように、感染因子の追加の検査 (例えば、ウィルス共培養アッセイ) を実施すべきである。ドナー動物として胎仔または新生仔を使用する場合、技術的・時間的な問題により胎仔または新生仔の試験が実施不可能な場合は、その胎仔や新生仔の母親を対象として試験を実施し、胎仔または新生仔の試験に代えることができる。

実施可能であれば、対象動物の生細胞、組織、臓器またはその他の関連組織 (例えば、腎移植片の代用となる対側の腎臓や心臓の代用となる胸部組織) の生検を病理組織学的に検査するとともに、適切なアッセイ法により感染因子の検査を行うべきである。生検を行う際には、新たな微生物汚染物質を持ち込まないように、滅菌手

技に細心の注意を払うべきである。セクション V.E.3 に記載されているように、残った生検組織を保管しておくべきである。

すべての検査は、生きた細胞、組織、臓器の採取日にできるだけ近く、かつ使用前に結果を得ることができる時期に行うべきである。原動物の最初の検査または生検から 3 ヶ月以上経過している場合は、採取前に再検査を行うべきである。

ドナー動物群のサーベイランスの特徴、時期、結果を考慮する必要がある。

b. 検疫 (Quarantine)

通常、個々のドナー動物から生細胞、組織、または臓器を採取する前に少なくとも 3 週間検疫期間を設定すべきである。個々の検疫期間は、ドナー動物の群れの特徴や監視体制、施設の設計、臨床適応症によって変更することが適切である必要がある場合もあり得る。検疫期間を短くする場合は、FDA への IND 申請書などにその理由を正当化できる根拠を記載する必要がある。検疫期間中、感染因子の検査に加えて、ドナー動物は獣医師による健康診断（総血球数算定、末梢血塗抹、寄生虫の糞便検査など）を受けるべきである。

E. 異種移植製品の製造に使用するための、ドナー動物の生細胞、組織、または臓器の採取

1. 採取と記録

ドナー原動物から生細胞、組織、または臓器を採取するために使用する手順や手術施設については、治験申請にあたって申請書に詳細に記載して FDA に提出する必要がある。異種移植製品の採取中の感染因子の侵入を避けるための適切に管理された手順が整備されていること。採取及びスクリーニング手順の適格性の評価では、ドナー動物から、同一性、力価（又は活性）、及び安全性（例えば、微生物学的無菌性）を含むロット出荷基準を満たす生細胞、組織又は臓器を採取することができていることを裏付ける、工程評価手順が含まれるべきである。またその工程については文書化しておく必要がある。ドナー動物に施す麻酔薬は、ヒトのレシピエントに有害なものであってはならない。ドナー動物に関する健康記録の要約（例えば、健康状態および微生物学的スクリーニング報告書、ロットリリース試験の結果、および関連する場合は使用した麻酔薬）を異種移植製品に添付し、レシピエントの記録に組み込むべきである。

SOP は、個々のドナー動物からレシピエントまでの組織の迅速、正確、容易な追跡を可能にできるものでなければならない。

2. 輸送

ドナー動物の輸送は、閉鎖系で育種されるドナー動物群に想定外のリスクに遭遇させてしまう可能性があり、可能であれば移送は避けるべきである。従って、特にドナー動物の組織や細胞が使用前にさらに処理工程が必要とされる場合には、生細胞、組織、または臓器を出荷前に動物施設で採取することを推奨される。場合によっては、特に異種移植製品が採取後すぐに移植をする必要がある臓器である場合には、動物を生きのまま輸送する必要があるかもしれない。輸送が必要な場合には、輸送中に動物が汚染されないように、輸送中における管理をドナー動物飼育施設と同等かそれ以上のバリアー機能を保持されたものでなければならない。輸送は、ドナー動物が他の動物と接触しない専用の車両で行い、FDA への IND 申請書類等にその方法を文書化して提示すべきである。輸送において感染因子からの封じ込め手順の妥当性に疑問がある場合は、閉鎖系のドナー動物群に新しい動物が入るときと同様の方法で動物を検疫し、再スクリーニングすること。

輸送ミスの回避、汚染の回避、正しく患者のもとへ、ドナー動物材料を移送するための手順を文書化しておくことが重要である。実施に際してはその SOP に沿って実施すべきである。生きた動物の細胞、組織、または臓器を採取場所から異種臓器を臨床的に移植する場所するまでの輸送方法を、治験薬使用を申請する FDA への IND 申請書などに詳細に記載すべきである。

3. ドナー動物由来検体の保管

a. 試料採取のタイミング

生細胞、組織、または臓器が採取された時点でドナー動物の処置を行った場合、肉眼的、組織病理学的、および微生物学的評価を含む完全な剖検を実施し、V.E.3.b.に記載されているように、保存用試料の一部を含む保管用試料を入手すべきである。

ドナー動物が細胞、組織、または臓器が採取された時点でサクリフェイスされなかった場合、ドナー動物から採取された試料、血漿および白血球の一部を保存し、さ

らにドナー動物の健康状態を終生モニターすべきである。

ドナー動物が死亡または安楽死させられた場合、完全な剖検を実施し、V.E.3.b.項に記載されている保存用試料を入手すべきである。

b. 保管検体と保存条件

ドナー動物の組織や体液などの保管試料は、後の解析が可能な-70°C以下で保存するか、試料を固定化して室温で保存する。PHS ガイドライン[1]の 3.7.1 項では、クエン酸または EDTA で抗凝固処理した血漿の 0.5cc 程度を 10 本以上と、白血球をそのバイアビリティを保持した状態でバイアルを 5 本以上（核酸やタンパク質の単離、あるいは共培養や他の組織培養アッセイ用の生存細胞源として使用するため、1 バイアルあたり 1×10^7 個）を凍結保存することを推奨している。保存期間中、細胞の viability が維持されるように、バイアブルな細胞検体の凍結保存を適用する必要がある（セクション V.E.3.c.を参照）。生細胞、組織、臓器が採取された時点で、ホルマリン固定、パラフィン包埋、凍結保存のための適切な組織試料をドナー動物から収集すべきである。

剖検時に、ドナー動物の主要臓器系（脾臓、肝臓、骨髄、中枢神経系、肺など）を代表的な組織サンプルを回収し、凍結保存すべきである。異種移植製品の調製に不都合なく実施できるのであれば、製品の調達時や剖検時に、脳脊髄液などのこれら以外の体液を保管すること。代替動物を使用する場合は、剖検時に得られた組織検体や体液も保管すること。

c. 試料保管の根拠、期間、責任

PHS ガイドライン[1]は、3つの異なる用途のために十分な量の材料を採取し、凍結保存することを推奨している：

i. PHS が使用する専用サンプル、

ii. レシピエントの診断と治療に必要な場合に使用する。

iii. 適宜、スポンサーが使用するため。

FDA への治験薬申請（IND 等）の際には、保存試料の入手と保存に関する詳細な計画を記載しておくである。PHS ガイドライン[1]は、試料を取得してから 50 年

間保存することを推奨している。保存施設の責任と検体への誰がアクセス可能かを明確にしておくべきである。

4. ドナー動物群の記録

移植用のドナー動物と施設に関する記録を保管しなければならない。これらの記録は査察の対象となり、異種移植に使用する動物由来の生細胞、組織、または臓器を採取・調製した日から 50 年間は記録を保存しなければならない。

5. ドナー動物供給施設の閉鎖に伴う記録の処分

ドナー動物飼育施設の運営を停止・閉鎖した場合、すべての記録と保存試料は各スポンサーに移管されるべきである。事業所が操業を停止した場合でも、要求された期間、すべての記録が維持されるような措置を講じるべきである。スポンサーが事業を中止する予定になった場合には、記録と保存サンプルの処分について FDA に相談すること。

F. 異種細胞株の由来となった動物の履歴

動物由来の細胞株を樹立し、異種移植製品の製造に使用されることがある。FDA への IND 申請書には、用いる細胞株の採取から継代、樹立に至る履歴を記載する必要がある。特に長期培養を実施する場合、上述してきたドナー動物やドナー動物施設に関するすべての詳細な情報を必ずしも含める必要はない。しかし、最低限、由来する動物種と組織についての情報は必要とされる。可能な限り、細胞を採取した由来動物の年齢や性別、由来施設、採取日、細胞株の直接の提供者などの情報も含めるべきである。短期間の培養（例えば、細胞の調製後 1 年未満）の場合は、細胞の由来する使用された動物の由来およびその動物群やコロニーの飼育状態や健康状態についての記述も含めるべきである。また、細胞株の開発にフィーダー細胞や *in vivo* 継代のような技術が用いられた場合は、フィーダー細胞や *in vivo* 継代に用いられた動物に関する上記の情報も記載する必要がある。細胞株の由来や維持に用いられた動物由来製品のサプライヤーや原産国に関する情報も履歴に含めるべきである。セクション VII に記載されているように、最終製品の特性評価と試験検査を行う必要がある。生物学的製剤の製造、同定、特性評価に関する適切な推奨事項については、「生物学的製剤の製造に使用される細胞株の特性評価における

留意点」 [19] も参照されたい。 [20]

FDA は、このガイダンスが 2001 年 8 月 9 日に発出したヒト胚性幹細胞 (hES) 株とどのように関連する事項があるかを検討した。この hES 細胞株はネズミのフィーダー細胞を使用していたため、本ガイダンスと PHS ガイドラインで使用されている異種移植の定義にあてはまることになる。ただ FDA は、異種移植の規制がこれらの hES 細胞株の使用を妨げる新たな規制を行うことは考えていない。既存の hES 細胞株由来の幹細胞製品を臨床試験で検討したいスポンサーは、その hES 細胞株がマウス感染因子を含まないことを FDA に証明する必要があるかもしれない。現在の技術を考慮すれば、スポンサーは過度な負担なくこれを行うことができるはずである。例えば、スポンサーがマウスのフィーダー細胞に由来するマウスの完全な動物飼育情報を FDA に提供する必要はないと想定している。マウスフィーダー細胞が hES 細胞株の拡大培養に継続的に使用することが計画されている場合、FDA はスポンサーに対し、そのようなマウスフィーダー細胞に用いられるマウスのコロニーが、安全性を確保するために適切に維持されていることを証明するよう要求することがある。(本ガイダンスのセクション V. 及び PHS ガイドライン [1] のセクション 3 参照)。非ヒト動物細胞との共培養歴のあるヒト細胞を含む他の異種移植製品についても同様の勧告が適用される。

G. 動物の処分と副産物の利用

遺伝情報の挿入・改変に失敗した動物 ("ノー・テイク") や、異種移植製品の生産に使用するために繁殖された動物の代替として検査を行う動物 (特に通常食用に使用される種の動物を含む)、供給源動物の最終的な処分に関する事前の計画をたてておくことが求められる。このような動物に由来する食品または飼料は、同法に基づき不適格となる可能性がある。一般的に、そのような動物をミルクや肉を介して人間の食料源として、または他の動物の飼料の原料として使用してはならない。そのような動物は、直接またはレンダーリングプロセスを通じて、食品／飼料チェーンに入る可能性があるため、さらにペットまたは繁殖動物としても使用すべきではない。提供された動物は、連邦、州、および地域の要件に準拠し、医療廃棄物の処分と一貫した方法で処分する必要がある。

異種移植施設からの動物が、レンダーリング処理によって処分された場合、人間の食用または飼料原料として安全であると考えられる状況がまれに存在する可能性がある。動物をヒトの食品または動物用飼料の供給に供しようとする者、または食品安全性に疑問がある者は、まず FDA 獣医学センターに相談すべきである。CBER

はスポンサーからの食品安全問題を CVM に照会するが、CVM には直接、Division of Compliance, HFV-235, FDA, Center for Veterinary Medicine, 7500 Standish Place, Rockville, MD 20855, 240-276-9227 から連絡することもできる。

VI. 異種移植製品の特性評価

A. 一般的な評価・解析項目

一般的に、異種移植製品についてその安全性、同一性、純度、力価について特性解析試験を実施する必要がある。パート 610 (21 CFR Part 610) には、承認された生物製剤に要求される試験法の例示が記載されている。製品開発の治験段階においても同様の試験を実施する必要がある。感染性物質試験やエンドトキシン試験を含む安全性試験のための試験法については、本書のセクション VII. で詳しく説明する。同一性 (確認試験) 及び効力を試験するためのアッセイは、製品自体によって異なることになる。純度試験には、エンドトキシンまたはパイロジェンに対する試験を含めるべきであり、特定の異種移植製品については、異種移植製品中の細胞集団の解析測定を含めるべきである。この点についての詳しいガイダンスについては、参考文献を参照されたい。[20-22]

微生物学的検査に関するその他の推奨事項とコメントは、本文書のセクション VII. にある。

B. 異種移植製品のクラスに関する考察

1. ドナー動物から採取した直後に使用される異種移植製品

異種移植製品をドナー動物から摘出後、すぐに移植しなければならない製品の場合、最終製品についてすべての検査を実施し、その結果を使用前に入手することができない可能性がある。しかし、異種移植製品のアッセイには、臓器の生検または移植製品に関連する代替検体試料 (例えば、隣接組織または対となっている臓器) を使用して試験を実施すべきである。安全性分析には、真菌、細菌の無菌性、マイコプラズマ、ウイルス検査を含めるべきである。また、エンドトキシンやパイロジェンの検査も行うべきである。これらの検査結果が移植前に得られないことは十分あり得るが、その場合であってもアッセイまたはアッセイするための培養工程を完了し、得られたデータを記録しておくべきである。適切に適用が可能であれば、

異種移植製品の保管サンプルまたは生検で実施した隣接組織などの組織学的検査を用いて、産物の同一性を確認し記録しておくべきである。

2. 保存または加工された異種移植製品

採取後、動物の体外で保存、加工処理、拡大培養等が実施される異種生細胞又は組織については、安全性試験に加えて、同一性、純度、力価を測定するための製品の特性を評価するための試験を実施すべきである。可能な限り、これらの試験結果は異種移植前に入手し、ロットリリースに際して患者への適用の可否の判断に使用されるべきである。また、ヒト以外の細胞や組織と、例えば共培養によって生体外で接触したヒト細胞で構成される異種移植製品にも、これらと同じ製品特性評価ステップを適用すべきである。

a. 安全性

一般的に安全性試験と考えられている細菌、真菌の無菌性、マイコプラズマ、ウイルスに関する試験については、本文書のセクション VII.で詳しく説明する。

b. 同一性（確認試験）

異種移植製品の活性成分の同一性（確認試験）を評価する手段を開発すべきである。これには、免疫学的、免疫組織学的、または生化学的な細胞マーカーを用いて、目的とする細胞や組織の種類を同定することが含まれる。場合によっては、組織学的評価を適用することも可能と考えられる。製造工程によっては、ドナー動物飼育施設が複数の系統または動物種を扱う場合などにあっては、最終製品の種または系統の同一性の検証が必要な場合がある。

c. 純度

最終製品が異種移植製品、すなわち、数種類の細胞から構成されるような組織製品、あるいは生体外での培養の際に目的外の外来組織や細胞の除去が不完全になり、目的外の細胞が混在してしまう可能性のある細胞移植製品である場合、製品の中の目的とする細胞集団の純度を明らかにすることは特に重要である。最終製品に含まれる目的外の細胞の種類だけでなく、想定している活性を持つと考えられる細胞種の存在（純度）を評価する定量的方法を開発すべきである。

例えば、形態学的、組織学的、分子遺伝学的、生化学的、免疫細胞化学的手法を用

いて、目的外の細胞等を同定することが必要である。ヒト由来でない細胞や組織と生体外で接触したヒト細胞製品については、最終産物中の目的とするヒト由来でない異種細胞の存在を評価する定量的な試験法を実施するべきである。また純度試験の精度や感度を検証すべきである。純度試験には、恒常性のある製品を常に製造するために非常に重要である。可能であれば、このような試験の結果をロットリリースの規格として用いるべきである。最終製品が、樹立された細胞株のような、単一または数種類の細胞から構成される集団である場合にも、製品の純度試験を行うべきであり、それぞれ細胞の同定試験を開発すべきである。

最終製品のエンドトキシンレベルを測定し、その結果をロットリリース規格として設定するようにすべきである。エンドトキシンの検査については、感染因子の検査（第 VII.C.3.）を参照すること。

d. 効力

最終製品の目的とする生物学的活性を測定し、その生物活性を評価可能な力価測定試験を実施すべきである。例えば、サイトカイン、ホルモン、神経伝達物質など、異種移植製品によって分泌／産生される生物学的に活性な分子を測定することができる。必要であれば、適切な力価測定法の開発を製品開発とともに進めるべきである。さらに、細胞生存率をアッセイし、その結果をロットリリースの規格に含めるべきである。[5]

VII. 異種移植製品の微生物学的検査

A. 一般的な検討事項

1. フレームワーク

本ガイダンスのこの項では、異種移植製品の微生物学的検査の一般的なフレームワークについて情報を提供している。具体的な検査例と想定される感染因子についていくつかの提案をしている。しかし、スポンサーには、入手可能なすべての最新情報を考慮したうえで、潜在的な病原体リスクを考慮して自らの試験の設定戦略を立て、検査システムを評価し、感染の可能性のある病原体を特定できるような試験を行うべきである。そのうえで CBER と協議の上、自らの戦略と開発した試験の適切性と妥当性を説明することを推奨する。製品開発の初期段階では、標準的な無菌性試験を除き、すべての試験法について完全なバリデーションの実施は

必要ないかもしれない。しかし、可能な限り、感染性物質を検出するために使用されるすべての手順について、特異性、感度、再現性を確認する必要がある。

2. 生物学的製剤基準

生物製剤の感染性因子の試験に関する一般的な基準については、21 CFR Part 610 を参照のこと（参考文献参照）。[3, 10, 20-22]

異種移植に関連する感染因子の試験については、PHS ガイドラインの 3.3 節にもガイダンスが掲載されている。[1]

3. 感染因子の不活性化または除去

異種移植製品の機能と有効性を損なわない範囲で可能な限り、不特定多数の病原体、感染性因子、その他の微生物学的汚染物質の不活化または除去のための有効な手順を開発し、異種移植製品の製造工程に組み込むことが推奨される。

4. アーカイブ（試料保管）

最終的な異種移植製品（細胞、組織、臓器の生検など）のサンプルは、採取後の新鮮なものであれ、生体外で培養したものであれ、必要に応じて凍結保存し、追加の検査の可能なように保管すべきである。場合によっては、例えば、異種移植製品が機能する臓器全体である場合、関連する代用となる検体試料（例えば、隣接組織または対側臓器）を保管することで代用することもある。最終製品がヒト細胞から構成される場合、ヒト以外の動物の生細胞、組織、または臓器と生体外で接触した組織または臓器、および最終製品とヒト以外の動物の細胞、組織、または臓器の試料を保管すべきである。

臓器の場合には、動物由来試料（第 V.E.3.c.項参照）の場合と同様に、異種移植製品として以下の 3 つの異なる用途のために十分な量と数の検体を採取し、凍結保存しなければならない。:

- a. PHS[1]のみが使用する専用サンプル；
- b. レシピエントの診断とケアに必要な場合に使用する。

c. スポンサーが必要に応じて使用するため。

FDA への治験薬申請書 (IND など) に、保管用試料の入手と保存に関する詳細な計画を記載すること。異種移植製品の製造時から 50 年間、検体を保管すべきである。保存施設の責任と検体へのアクセスについて明確に記述すること。

スポンサーは、事業所が操業を停止した場合、すべてのサンプルと付随する記録が要求された期間維持されるよう規定する必要がある。

B. 異種移植製品のクラス別での対応事項

1. ドナー動物からの採取直後に使用される異種移植製品

臓器全体の異種移植のように、異種移植製品がドナー動物から取り出された直後に移植される必要がある製品では、異種移植産物の試験結果が臨床使用前に得られないことがある。このような場合、移植用のドナー動物そのものを検査することが、移植前に実施可能な検査となる可能性がある。このような異種移植製品そのもの、あるいは移植臓器の代替となる生物学的な代用物、例えば移植臓器の隣接組織や対側臓器から採取した試料の検査結果は、結果が投与の後に得られたとしても患者の感染の有無や健康管理に寄与する可能性があるため、異種移植製品の使用前に結果が得られなくても、そのような検査は非常に重要である。(VI.B.1 項も参照のこと)。

2. 保存または加工された異種移植製品

生体外で保存、処理、拡大培養等が実施される異種細胞や組織については、異種移植の前に感染因子の検査を完了するか、最低限実施可能な試験を開始すべきである。細胞や組織が培養状態で維持される場合、異種動物由来の感染因子や他の細胞培養過程で混入する可能性のある感染因子の両方を含む微生物の無菌性を維持するための細胞培養プロトコールや試薬の妥当性を確認しておくべきである。培養期間中、定期的に検査を実施すべきである。サンプリングした全ての時点の検体をすべて試験する必要はないかもしれないが、FDA にどのようなサンプリングを行っているかなどの情報を提供する必要がある。

各時点で実施する検査内容の選択の妥当性をしめす科学的根拠を IND 申請などの一部として FDA に提出しなければならない。例として、以下のようなサンプルを

検査することができる:

- a. 生体外での培養開始時;
- b. 製造段階として凍結保存が行われる場合は、その前;
- c. 最終結果 (又は有用な予備結果) が製品の発売及び使用前に得られるよう、培養中のできるだけ遅い時期;
- d. 臨床使用の 2~3 日前 (例えば、ロットリリースに使用される微生物培養の場合)。
- e. 最終製品として調製直後 (ただし、臨床使用前に結果が得られない場合もある)。

3. 異種移植製品/機器組み合わせ製品

異種動物由来生体組織や細胞と特定のデバイスを組み合わせ製品では、用いるデバイスによる物理的バリアが異種成分とヒトの体液または組織から隔離する機能を持つことになり、特定のクラスの感染因子の伝播を防止または減少させる可能性がある。このような機能が期待されるとする場合、または暗黙のうちにそのように期待されている場合、あるいは感染リスクを低下させるために他の特定の予防措置の代わりに物理的バリアの存在を使用する場合、いずれにおいても想定される特定の感染因子の伝播の阻害およびデバイス/バリアの完全な隔離能が維持されていることを証明するバリデーション試験の結果を、IND 申請書などの一部として FDA に提出する必要がある。この種の試験のデザインに関する具体的なガイダンスについては、参考文献[23]を参照されたい。例えば、このような主張が患者へのインフォームド・コンセント文書でなされるのであれば、治験薬としての使用を要請する FDA への申請において、これらの試験の結果を提供すべきであり、このような主張が承認後の市販製品の説明の中でなされるのであれば、販売申請においてデータを提供すべきである。これらの試験のデザインは、以下のパラメータを考慮すべきである:

- a. 異種移植製品/デバイス組合せ製品が通常の生理学的使用条件、および組み合わせ製品が物理的・生物学的ストレスにさらされる条件;
- b. 異種移植製品に潜在的に存在する代表的な感染因子を使用しての評価。この場合には、異種移植製品に存在する可能性のある代表的な感染因子を使用して隔離能の有効性をしめすこと。選択された感染因子の大きさと可塑性を考慮すること。

- c. バリアの物理的特性（すなわち、サイズ、電荷、疎水性、形状など、特性の異なるウイルスまたは他の粒子に対する透過性）を示す薬剤等の使用。

このような研究から得られた裏付けデータがない限り、バリア内にある異種移植製品が、バリア内にはない異種移植製品よりもヒトへの感染リスクが低いと考えるべきではない。

C. 感染物質検出のためのアッセイデザイン

1. 一般的考慮事項

試験検査の選択（対象感染因子を含む）は、動物の種、系統、地理的疫学情報、組織の種類、使用前の組織の処理、意図する使用形態または臨床的適応を含めて提供されるドナー動物によって異なる。ドナー動物に存在する可能性のある感染因子および人獣共通感染症を引き起こすことが知られている感染性因子については、特に配慮すべきである。検査する感染因子のリストは、個々のドナー動物の適格性確認に使用されたものを基に設定すべきである。これについては CBER との協議を推奨する。FDA の治験薬申請書には、感染因子を検出するための採用した新規アッセイの特異性、感度、再現性を証明するデータを含めるべきである。

2. 細菌、真菌、マイコプラズマの検査

製造承認されている生物製剤中の細菌、真菌及びマイコプラズマの検出に使用される方法の種類に関する基準は、21 CFR Part 610 に記載されている。製品開発中にはその代替法を使用することは可能であるが、そのような代替法を使用する場合は、その方法の感度、特異性、再現性に関するデータによって試験法の妥当性を示す。

必要があります。異種移植製品については、ドナー動物の種、ドナー動物の地理的起源、および使用する細胞、組織、臓器に適した感染系を用いて、必要なデータを入手する必要がある。これらのデータを治験薬申請の際に FDA に提出する必要がある。

最終製品では細菌検査に加え、すべての異種移植最終製品に由来する適切なサンプルを対象にグラム染色を行うこと。これらの染色結果は、製品をヒトに使用前に入手可能であるべきであり、グラム染色陰性をロット出荷基準として設定す

べきである。

3. エンドトキシン試験

製品開発段階では、ウサギパイロジェンテストの代わりに細菌由来エンドトキシン試験を実施してもよい。

(21 CFR 610.13(b))。FDA に提出する治験薬申請書には、エンドトキシン試験法の種類とその特異性および感度を記載する必要がある。ライセンス取得後にウサギパイロジェンテストの代わりにエンドトキシンアッセイを使用する場合は、ライセンス申請時またはそれ以前に、目的とする異種移植製品についてパイロジェンテストとの同等性を証明する必要がある (21 CFR 610.9)。

エンドトキシンアッセイは通常数時間以内に試験を完了することが可能であるため、最終製品について適切なアッセイ法を用いて試験を実施すべきである。培養、保存、処理された異種移植製品については、臨床使用前にアッセイ結果を入手できるようにすべきである。

これらの結果をロットリリース規格として使用すること。USP<85>及び FDA の "Guidance for Industry "を参照すること： Pyrogen and Endotoxins Testing： 細菌性エンドトキシン試験に関する情報については、"Guidance for Industry: Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers"[6]を参照のこと。

1. ウイルス

a. 培養アッセイ

異種移植に使用される異種細胞（初代細胞または培養細胞）は、汚染しているウイルスを増幅させる可能性があるために、適切な *in vitro* 指標細胞パネルと共培養して検査する必要がある。この分析に使用する細胞パネルには、移植に用いる動物種を代表する細胞株、異種移植製剤の製造に使用される動物組織の種類を代表する細胞株、ヒト細胞株を含めるべきである。「生物学的製剤の製造に使用される細胞株の特性評価における留意点」[19]を参照されたい。この文献は、げっ歯類の異種移植製品における不特定多数のウイルス検査に特に有用な情報を提供している。可能であれば、末梢血の細胞などのレシピエント細胞と、加工調製された細胞、あるいは加工操作されていない動物由来細胞を共培養すべきである。共培養系では、CPE、プラークアッセイ、RT 活性、細胞増殖の変化やその他の予期せぬ細胞の変化について経時的に観察すべきである。形態学的変化や特定のウイルスを同

定するために、共培養産物を電子顕微鏡によって観察することが推奨される。抗体などのウイルス特異的プローブを用いたイムノアッセイ、PCR、その他のアッセイ法を用いて、検出されたウイルスを同定することを試みるべきである。培養期間の終わりに、異なる3種の赤血球を用いて、培養物の赤血球凝集能と赤血球吸着能を検査する必要がある[19]。検出されたウイルスが新規のものであったり、特異的なプローブがまだ利用できないものであったりする場合は、検出されたウイルスの特性を明らかにするためにさらなる努力が必要な場合がある。

検体を用いて得られたデータに基づいて設定されたロットリリース（出荷）規格を設定すべきである。凍結保存が可能な製品など、異種移植製品の出荷規格にはヒトへの投与前に結果を入手できるように設定すべきである。生体外で培養操作などがされる細胞については、時間が許せば、培養または操作の期間中にウイルス検査を実施し、レシピエントへの投与前に結果が得られるようにすべきである。使用前に結果を得ることが不可能な場合でも、製品ロットごとに検査を実施すべきである。このような場合、ヒトでの臨床試験を開始する前に、アッセイ方法の適格性を確認し、代表的な最終製品ロットのデータを取得すべきである。

b. 潜伏（潜在性）ウイルスの活性化

感染が成立しても潜伏状態で存在することが知られているウイルスの検査には、特別な配慮が必要である。臨床的に長い潜伏期の後に顕在化してくるようなウイルスの伝播は、症状や疾患の徴候がないにもかかわらず、レシピエントからレシピエントの接触者（近親者）にこれらのウイルスが伝播する可能性があるため、特に懸念される点である。免疫抑制と移植医療は、単独またはこれらを併用することで、潜伏ウイルスを活性化させる可能性がある[24]。生体外での細胞の操作や培養も、潜伏ウイルスを活性化させる可能性がある（参考文献を参照）[25, 26]。動物の細胞、組織、臓器における潜伏ウイルスを検出するために、どのような実験が適切かは、組織の種類や問題のウイルスによって異なる。ウイルスの活性化を検出するために使用され、異種移植製品の設定に有用と思われる実験の例には、以下のようなものがある。:

- i. 内在性レトロウイルスの発現が *in vitro* での培養によって誘導される；または
- ii. ヨードデオキシウリジンまたは5-アザ-シチジンなどの脱メチル化剤による処理[27]。

iii. 単純ヘルペスウイルスに潜伏感染した神経節を *in vitro* で培養すると、感染性ウイルスが産生される [28]。

場合によっては、陽性の結果が得られても、そのような組織の使用は必ずしも禁止されることがないかもしれない（ブタ内在性レトロウイルス（PERV）を含む異種移植産物に関する情報については、VII.C.4.d.項を参照のこと）が、得られたウイルスの同定と特性評価は、異種移植製品のレシピエントに対して、潜在化しているウイルスが将来顕在化することがないかのモニタリングにおいて有用な情報と材料を提供するかもしれない（X.F.3.項を参照のこと）。

異種移植製品の加工または臨床使用が潜在ウイルス（例えば、PERV）を活性化する可能性を、使用前に評価するよう試みるべきである。

c. ウイルス検出のための *in vivo* アッセイ

試験管内での培養法では検出されない可能性のある特定のウイルスを検出するために、異種移植製品を動物体内でアッセイする試験を適用する必要がある。例えば、コクサッキー A ウイルスの多くの血清型は、新生マウスに接種して初めて検出されることが知られている [28]。したがって、信頼できる *in vitro* 試験法がない場合には、適切な *in vivo* 試験法を適用することが推奨される（「生物学的製剤の製造に使用される細胞株の特性評価における留意点」 [19] 及び「ヒト又は動物由来の細胞株由来のバイオテクノロジー製品のウイルス安全性評価 Q5A(R1)」参照。「抗体産生アッセイなどの特定の *in vivo* アッセイは、げっ歯類ウイルスの検査に特に有用である可能性がある [19, 23]。

d. ブタ内在性レトロウイルス（PERV）の検出に適したアッセイ法

ブタに由来する全ての生きた細胞、組織、臓器は、そのゲノム中に PERV の配列を含んでいる [28]。ブタの初代細胞の一部でこれらの配列が発現し、感染性レトロウイルスを産生することがありうることが報告されている。PERV が *in vitro* でヒト細胞株に感染することを示すデータ [19, 23] を考慮すると、すべてのブタ由来の異種移植製品は、感染性レトロウイルスの産生について適切なアッセイを用いて評価することが推奨される。各異種移植製品の複数のロットを評価する必要がある。新しいドナー動物供給源やドナー動物群の使用、製品の調達方法など、製造上の大きな変更が起こるたびに、感染性 PERV の検査を繰り返すべきである [29]。

異種移植製品（例えば、異種移植製品の新鮮なサンプル、または移植製品を対象とできない場合の関連する代用組織、例えば、目的臓器に隣接する組織、対側臓器または培養異種細胞）を、感染性レトロウイルスを増幅するための適切な指標細胞と共培養することによって検査すべきである。PERV の複製に permissive であることが証明されている指標細胞には、ヒト胚性腎臓細胞株 293(American Type Culture Collection (ATCC CRL-1573))、ミンク肺線維芽細胞(ATCC CCL-64)、ある種のネコ細胞株(PG-4、ATCC CRL-2032 など)、ブタ精巢(ST)細胞株(ATCC CRL-1746)などがある。

ブタの異種移植製品または適切な関連代替組織の初期分析には、これらの細胞株の一つ以上を選択すべきである。少なくとも 30 日間、あるいは 10 回の細胞継代で共培養した後、最適化された RT アッセイ、あるいは PCR を用いて逆転写されたウイルス RNA あるいは細胞 RNA を増幅するための PERV 特異的プライマーを用いて、ブタ細胞から指標細胞への PERV の移行について分析すべきである。ウイルス産生の証拠があっても、必ずしも異種移植製品が臨床使用に適さないとみなされるわけではない。むしろ、レシピエントのフォローアップ (X.F.項) に適切な試薬が利用できるようにするために、生物製剤評価研究センター (CBER) と協議の上、ウイルスの特性解析を追加すべきである。追加の特性解析には、異種移植製品に存在する PERV の特定の株による感染に最も感受性のある細胞基質の解析と、異種移植製品によって産生された感染性ウイルスの配列解析が含まれる。これらの段階は、感染の証拠に対するレシピエントのフォローアップのためのプロトコルを最適化するための重要な情報と診断ツールの開発を提供することになる (X.F.項)。

VIII. 異種移植製品の採取と加工・製造工程に関する GMP の考慮事項

A. 一般的な検討事項

異種移植製品の採取や加工工程では、採取・加工された異種細胞、組織、又は臓器の汚染や、これらの細胞、組織、又は臓器のロット間の交差汚染の可能性をできる限り低減化するように設計された施設を使用すべきである。

治験責任者は、臨床試験が生物学的製剤としての IND 承認申請 (BLA 等) を進める過程、及び治験の実施段階で、本項に記載されたバリデーション活動を段階的に実施しているべきである。ただし、無菌性保証のバリデーションは例外であり、臨

床試験を開始する前に完了しておくべきである。製造工程管理に関しては cGMP 規則 (21 CFR Part 210 及び 211) を遵守すべきである。IND 規則 (21 CFR 312.23(a)(7)) では、開発段階に応じた適切な管理を導入することを認めてられている。

B. 汚染／交差汚染に関する注意事項

異種細胞や組織の採取や操作の際には、汚染や交差汚染を防ぐためにそれを予防する対策を講じるべきである。そのために次のような点について配慮すべきである：

- 施設に出入りする人員、動物、材料および廃棄物の流れ；
- 空気清浄度分類案；
- 使用される洗浄／消毒剤、および施設の分離株、ウイルス、およびその他の潜在的な不定病原体に関するその有効性の証明、および
- 環境モニタリングおよびガウン着脱手順の設定。

1. 手順

施設は、人員、動物、材料、製品、廃棄物の出入りが、「清潔な」活動と「汚染リスクのある」活動を明確に区別できるように設計されるべきである。理想的には、作業等の流れは一方通行とし、人員、動物、材料、製品が別々に出入りするようになる。このための施設の設計を用いるためには、廃棄物は指定されたエアロック、パススルー、および／またはオートクレーブからのみ出ることになる。あるいは、その手続きや時間により活動の分離を達成することもできる。この場合、汚染や相互汚染を避けるために特別な注意を払う必要がある。

例えば、より厳密な洗浄・消毒スケジュールを実施する。

特に懸念されるのは、動物の採取区域（すなわち、手術室）への移動である。動物施設から持ち込まれる可能性のある機材等の表面を汚染する物質を排除するような方法で、動物が準備されていることを確認すべきである。

2. 洗浄・消毒材

作業表面および機器、ならびに採取および加工エリアのその他の表面（例えば、床、

壁)の洗浄および消毒に使用される薬剤が、施設の分離株、ウイルス、およびその他の潜在的な不特定病原体に対して効果的に作用できていることを実証しなければならない。特定区域で行われる活動に関連して、許容可能な管理を維持する清掃スケジュールを確立すべきである。使用薬剤の有効性を実証するバリデーション試験は、製造販売承認申請に向けて試験を進める中で実施されることが期待されている。

3. 環境モニタリング

関連する製造工程の重要性に基づき、採取・加工区域の環境モニタリングのためのプログラムを確立すべきである。

採取及び加工区域の空気清浄度分類を検証するために、環境微粒子モニタリングを実施すべきである(推奨される空気清浄度分類については、セクションVIII.C.1を参照)。この検証には、ドナー動物からの採取区域の層流区域および加工区域の生物学的安全キャビネットが含まれるべきである。最初のベリフィケーションの後、決められた空気清浄度分類の維持を証明するために、決められた間隔で微粒子のモニタリングを実施しなければならない[30]。

微生物は、様々な技術を用いてモニタリングすることができる。採取及び加工作業中の落下細菌検査プレートの使用は、定量的ではないが、環境の質が損なわれていないことをある程度担保することができる。販売申請に向けた臨床試験が進むにつれ、定量的な方法を確立する必要がある。施設等の洗浄方法の有効性が継続できていることを立証するために、接触プレート又はスワブを用いて、生産活動を行う人員(例えば、手袋をした手)の表面を含む施設等の表面汚染を監視し、人員の無菌状態を維持すべきである。ドナー動物からの採取および加工活動に直接従事する要員は、各重要活動(例えば、手術、無菌手術)の終了時に尾妹尾の有無をモニターすることが推奨される。さらに、細胞増殖活動を行うオペレーターを無作為にサンプリングすることも有用である。

交代手順

異種移植製品の原材料を採取する工程での汚染を防ぐためのチェンジオーバーの手順を確立し、文書化する必要がある。これらの手順には、手術室または細胞処理キャビネットからのすべての材料および廃棄物の除去、および表面の洗浄/消毒が含まれるべきである。さらに、複数の異種細胞や組織のロットを同時に処理する場合は、それぞれの細胞・組織の操作を隔離して実施する手順にも取り組むべきで

ある。処理容器（例えば、組織培養フラスコ）の適切なラベリング、装置または装置の一部（例えば、インキュベーター内の棚）の専用化は、そのような分離手順の例である。

処理に使用される遠心分離機は、交差汚染の点で特に懸念される。一度に 1 ロットの異種細胞または組織のみを遠心分離することを推奨する。可能な限り、遠心分離チューブまたは採用した閉鎖系が完全であることを示すべきである。各ロットの操作の間に遠心機を十分に洗浄すること。

C. 妥当性確認と適格性確認

前述したように、臨床試験の進行に伴い、バリデーションと適格性確認の努力は継続されるべきである。最低限、システムや機器がその目的に応じて機能していることが保証されることが期待される。進行中の治験ファイルの一部として、バリデーションプロトコールとデータサマリーを FDA に提出し、レビューを受ける必要がある。

1. エアハンドリングシステム

HVAC システムは、異種移植製品の採取および処理に適切な空気品質を提供するように設計されるべきである。採取作業中に高品質の空気を供給するために、手術台の上に層流ユニットを使用してもよい。処理中の無菌状態を維持するために、生物学的安全キャビネットを使用してもよい。FDA は、この設備が、最も重要なプロセスにおいて、クラス 100 の条件を作り出すことができることが必要と考えているが、この条件を維持することは、採取の全ての間で適用できない場合あることも理解している。最低限、クラス 100 の層流ユニット及び／又は生物学的安全キャビネットを取り囲む環境は、クラス 100,000 であるべきである。免許取得に向けて、重要なクラス 100 の工程を取り囲む区域は、クラス 10,000 の条件を満たすべきである。

これらのシステムおよび装置のバリデーションは、空気変化および圧力差の検証を含むべきであり、望ましい清浄度レベルを達成すべきである（セクション VIII.B.3.を参照）。システムに含まれる HEPA フィルターの試験は、完全性および効率に対処すること。

定期的な環境モニタリング（セクション VIII.B.3.を参照）、圧力差チェック、および HEPA フィルターの再認証は、所望の条件の維持を実証するものとする。

2. 水

異種移植製品の製造に必要な試薬等を調製するため、または重要な洗浄目的（すなわち、採取および加工区域の機器および表面）で使用される水は、米国薬局方 USP<1231>の「医薬品用水に関するモノグラフ」[31]に適合するものを使用することが期待される。WFI（精製水調製ろ過機）を購入する場合は、ロット別の試験を実施し、開封時の容器の保持時間を検証する必要がある。WFI を施設内で生成する場合は、適切なバリデーションを行い、継続的な品質を確保するためにシステムを定期的に監視する必要がある。

3. 機器・装置

異種細胞・組織の採取及び／又は処理に使用する機器は、適切に校正され、適格性が評価されたものであるべきである。そして、冷蔵庫／冷凍庫やインキュベーターなどの温度管理された機器を日常的にモニターし、適切な状態が維持されていることを保証すべきである。細胞の拡大培養に使用されるインキュベーターに供給される炭酸ガスは、コンタミネーションの可能性を最小限にするため、0.2 ミクロンのフィルターを使用すべきである。水浴槽を使用する場合は、水質の維持管理手順を用いるべきである。これには、汚染を制御するための薬剤の添加が含まれる。

4. 無菌操作

一般に、異種細胞や組織の操作や拡大は、完全に無菌的なプロセスが求められる。すなわち、調製された製品の最終的な滅菌濾過等が適用できないために無菌的に調製することが最も重要となる。このプロセスを検証するために、培地充填（培地を製品に置き換えてもよい）を行い、無菌性が一貫して維持されていることを証明する必要がある。最終製品の無菌性の保証は、初期の臨床試験から求められる[32]。これらの機能を実行する作業には適切な訓練を実施し、その操作を監視することによって、製造工程全体に亘る、一貫した性能を保証すべきである。

細胞や組織を無菌的に処理する場合、製品に接触する器具はすべて無菌であり、パiroジェンを含まないものでなければならない。可能であれば、使い捨ての実験器具を使用してもよい。最終製品に使用される容器や栓の無菌性と脱パiroジェン性は特に重要である。滅菌される機器や部品については、オートクレーブによるのと同じレベルの無菌性保証を提供するようバリデートされているという証拠が必

要である。最低限、基本的な負荷構成を確立し、それに従うべきであり、各負荷内に生物学的指標を置き、それらの致死性を確認することによって、無菌化を検証すべきである。研究が進むにつれて、すべての滅菌／脱パイロジェン化工程の正式なバリデーションが実施されることが期待される。

Process Validation

最終的には、認可又は製品承認の前に、製品の製造に使用されるすべての重要な工程のバリデーションを実施する必要がある。工程バリデーションは、ウイルスクリアランス（除去／不活化）を実証するために実施される試験を除き、プロスペクティブかつフルスケールの製造工程で実施されることが期待されている [7, 32]。実験室研究はまた、適切な操作及びプロセスパラメーターの確立に役立ち、製法確立の研究の支援に使用される可能性がある。検証プロトコールに関する情報およびその実施から得られたデータの要約が、ライセンス申請書に記載されることが求められている。

IX. 異種移植に関する非臨床試験 A. 一般的な考慮事項

本項では、異種移植製品の臨床試験で使用する前に実施すべき非臨床試験における一般的な考慮事項のポイントを記載している。また、適用が可能な事項については ICH バイオテクノロジー由来医薬品の安全性に関するガイドライン (ICH S6R) に記載されている一般原則を異種移植製品に適用することもできる (参考文献 [33] 参照)。一般に、治験薬の安全性評価をサポートするための試験は、異種移植製品を投与されるモデル動物に対する意図しない毒性 (off-target 毒性) のみならず、異種移植製品が目的とするヒトの病態生理学的な疾病への意図する作用 (すなわち、活性によるもの ; on-target 作用) にも着目すべきである。この前臨床試験研究では、臨床で起こりうるリスクの推定とその程度を評価する役割を果たし、FDA に提出する申請の重要なドキュメントである。前臨床試験の目的は、倫理的または実施可能性という観点からヒトレシピエントでは評価することができない安全性の問題を推定するために大きな価値がある。

従って、全体的な非臨床安全性試験デザインを計画立案する際には FDA の "Guidance for Industry : [34] を参照されたい。

異種移植製品の安全性をサポートすることを目的とした非臨床試験のデザインに

おける具体的な考慮事項は以下のような点である：

1. 異種移植製品の供給源となる動物；
2. 対象とする動物組織のヒトとの解剖学的および生理学的類似性（相同性）；
3. 異種移植製品の期待される生物学的機能の同定；
4. 異種移植製品の機能を評価するためにモデル動物系；
5. 異種移植製品と同時に使用される装置等の適合性（装置が使用される場合）；
6. 投与量レベル（移植製品からの生物活性分子の薬理的/代謝活性またはその放出量等、組織質量に基づく評価）ほか以下の点；
 1. 投与経路（移植／注射部位、体外又は生体外使用）；
 2. 試験期間（ヒトへの曝露期間に相当する期間での評価を可能とする試験期間）；
 3. ドナー動物と宿主の免疫学的観点からの反応・応答性；
 4. 種を超えた外挿可能性（例えば、受容体における分泌タンパク質／ホルモンの種を超えた相互活性）；及び
 5. 装置の生体適合性。

非臨床動物試験及び *in vitro* 試験の第一の目的は、臨床使用にあたっての潜在的なリスク因子を同定することである。この評価では、被験物質、投与経路及び投与レジメンにおいて、動物とヒトの試験の類似性を最大限に高めることに重点を置く戦略をとるべきである。異種移植の動物モデルは、ヒトでの使用を検討する細胞、組織、臓器の種類を評価する異種移植システムを利用すべきであり、臨床的に適切な免疫抑制療法を利用すべきである。前臨床試験と臨床試験のデザインの比較可能性を確保するためには、厳密な前臨床試験プログラムデザインが必要であり、適切な臨床適応症の選択、組み入れ／除外基準、レシピエントモニタリング計画、投

与量、併用療法など、臨床試験プログラムを計画する上で重要である。

B. 感染因子に関する注意事項

ある動物が特定の感染因子に対して自然宿主となっている場合には、その感染因子が、潜伏性、あるいは非病原性である場合がある。このためそのような感染因子を持つ動物由来の異種移植製品が免疫抑制患者に投与される場合、重篤な疾病を引き起こす可能性があるため、前臨床試験のデザインにおいては、レシピエントの免疫状態だけでなく、異種移植産物が担う微生物学汚染をどの程度持っている可能性 (Bio-burden) があるのかを考慮すべきである。さらに、前臨床試験のデザインには、以下を組み入れるべきである：

1. 感染の初期徴候に注意するために、獣医師によって動物を注意深く観察すること。
2. 移植された動物が死亡した場合、死亡原因を特定するために必要な処置 (病原体の有無を検出するための適切な血清学的または免疫組織化学的同定を用いる)。

すでに存在が知られている感染因子のみならず潜在的な感染因子の拡散伝播を防止するため、必要に応じて投与された動物の隔離を含む適切な予防措置を施したうえで動物を飼育管理する必要がある。異種の生細胞、組織、臓器の拒絶反応を回避し、概念実証 (PoC) のデータを得るために、ヒトに使用する場合よりも意図的に極端に多い免疫抑制レジメンを用いていたためにモデル動物が感染症によって死亡する可能性がある。

従って、死因 (例えば、異種感染因子や宿主の潜伏感染の活性化) を特定しその詳細なデータは、ヒトでのリスクを予測するのに役立つ、モデル動物を用いた実験系を改良するのに役立つ。一方で、種を超えた感染性情報の外挿性については不確実性が伴うと考えられる。例えば、非人霊長類以外の動物のみならず、たとえ霊長類を用いた検討を行って、前臨床試験で感染がおこらなかったことを示すデータが得られたとしても、その異種移植製品をヒトに投与した場合に、異種移植製品に由来する感染症に罹患しないことを保証することができるわけではないことを十分に認識するべきである。

移植を受けた動物での免疫抑制剤の種類や量の最適化は、移植動物の感染因子に

対する抵抗性を評価することから得られる可能性もある。異種移植製品中に含まれる可能性のある病原体を含め、様々な病原体による感染に対する抵抗性を評価することで、宿主の免疫能力を評価することが可能である。

C. 異種移植製品-宿主間相互作用

1. 免疫学的拒絶反応

モデル動物へ移植される異種細胞、組織、臓器の体内での生存性：

- a. 異種移植製品への免疫細胞または炎症細胞の浸潤、または血液や脳脊髄液などの他の関連区画におけるそのような細胞の変化を同定すること；
- b. 異種移植製品の線維性被包化（例えば、線維性被包化をともなう移植臓器や組織の機能障害や異種移植製品の損消失が引き起こされる）；
- c. 異種移植片の壊死；
- d. 移植片対宿主病（GVHD）の兆候；
- e. 拒絶反応または炎症反応を低減化させるためのカプセル化またはバリアが移植された動物内でのバリア機能や耐久性；
- f. 異種移植製品の移植部位と移植部位の特に関連する懸念事項。
- g. 特定の異種移植片（製品）に拒絶反応が起きた場合に、その移植片拒絶反応によって、あらたに実施する移植あるいは同種移植片の拒絶反応をレシピエントに強く引き起こす可能性。

2. 免疫抑制

免疫抑制処置を行いながら実施するモデル動物で異種移植を行う前臨床試験では、ヒトに投与した場合の臨床薬理学、毒性学、免疫応答性について関連性のあるデータが十分に得られないことも想定され、モデル動物を用いて得られた前臨床試験の結果についてどのようにヒトに外挿できるかという懸念が生じる場合がある。

例えば、免疫抑制のために用いている腎毒性のある免疫抑制剤がモデル動物の肝

酵素で代謝されることもあり、薬剤の応答性についてモデル動物と投与に用いられる異種移植製品の両方の種が免疫抑制剤に対してどのような代謝能があるかなどを考慮する必要がある。このため、免疫応答性の評価において得られたデータの解釈では免疫抑制剤の代謝に種差が存在することを考慮して結果を解釈することが重要である。免疫抑制剤はその薬物動態及びその代謝が移植をされるモデル動物と異種移植製品のドナーとなった動物種で大きく異なることがあるために、治療効果と毒性のバランスが極めて限定された範囲量で起きてしまうこともしばしばある。すなわち、免疫抑制剤による移植を受ける動物に対する毒性と異種移植製品に対する毒性とが区別できるよう努めなければならない。

移植を受けてモデル動物の免疫を抑制する免疫抑制剤の投与がGVHDを惹起する可能性がある。想定可能かどうかを判断することは困難であるが、ドナー動物から移植された臓器や組織にドナーの免疫反応性を有している細胞が含まれている場合に、そのドナー由来の免疫細胞によって起こされるGVHDの懸念がある。このため、移植される異種生細胞、組織、臓器によって引き起こされる免疫抑制にともなう活性を考慮して評価を行うべきである。

3. 免疫抑制剤を投与された異種移植を受けた動物での腫瘍原性

さらに、移植されたモデル動物体内での細胞増殖制御の変化や移植された動物の処置される免疫抑制に起因する、異種移植製品の腫瘍化の可能性も重要な懸念事項である (IX.E.項参照)。

4. 生理活性分子の異種間での適合性

サイトカインやホルモンのような生理活性分子を生産することを有効性の作用機作とする異種移植製品については、治験申請書の中に、産生された目的生理活性物質がヒトにおいて期待される活性を持つことを裏付ける前臨床実験のデータをFDAに提出しなければならない。

この問題に対応するために、用量依存性の視点から評価できるような試験をすべきである。実験は *in vitro* や *in vivo* の適切な前臨床モデルで行うべきである。

異種移植製品が単一の細胞種で構成されている場合でも、移植された細胞がモデル動物での正常な生理機能に異常を起こす可能性がある意図しない生理活性物質を分泌する可能性がある。さらに、移植を受けたモデル動物の機能が移植製品由来の生理活性物質によって影響を受ける可能性もある。したがって、前臨床試験では、

異種移植製品を移植されたことによる応答性だけでなく、モデル動物の全般的な健康状態（すなわち、健康状態として肉眼的病理学的所見、病理組織学的所見）を評価すべきである。毒性試験と生理活性の応答性を組み合わせることにより、異種移植製品の潜在的な治療効果や製品としての機能の両方を評価することもできる。場合によっては、移植された異種移植製品を定期的に生検できることによって、製品の病理組織学的状態や宿主の免疫反応を評価するマーカーとして使用できる可能性があり、特に臨床化学的な評価と組合わせて生理機能の評価することが有効である。また、異種移植製品の治療的調達に使用された部位とは異なる組織化学的部位から採取された生細胞、組織、または臓器の *in vivo* での影響を調べる比較試験を行うこともできる。これには、異種移植製品の治療用に採取された部位とは異なる薬理的活性をない解剖学的部位から細胞、組織を含む異種移植製品の種類と予想される採取された生きた異種細胞または組織を採取し、インビボでの対象試験を実施するというものである。（この助言は、IX.D.2.項で述べるヘテロな異種移植製品にも適用されることに留意されたい）。

5. 移植された異種細胞製品に含まれる細胞の移植動物内での再分布

異種移植製品に含まれる細胞が投与されたモデル動物体内で移動・再分布する可能性があり、再分布した細胞のもつ生理活性や望ましくない解剖学的障害に起因する副作用が起こる懸念がある。このことは、特に十分に分化していない細胞（IX.D.3.項を参照）が含まれる場合にそのリスクが生じやすい可能性があり、動物では病理組織学的検査、場合によっては蛍光色素で標識した細胞を用いたり、懸念が想定される細胞に対する種特異的抗体のような高感度の検出技術、あるいはPCRのようなより感度の高い技術と組み合わせることでその再分布を評価することも考慮すべきである。

D. ヘテロな異種移植製品の考慮事項.

ヘテロな異種移植製品の臨床使用の前に潜在的な副作用リスクを推定するとともにそのリスクへの対応を考察するために、異種動物間での移植を利用した前臨床試験をデザインする際には、以下の原則を適用すべきである。すなわち、異種移植製品が多種多様な細胞から構成される組織や固形臓器である場合、あるいは、組織からの分離の際に除去が不完全であったり、生体外での短期培養により、目的外の細胞・組織を含む細胞移植製品である場合、ヘテロな異種移植製品とみなされる。

1. ヘテロな異種移植製品を構成する細胞種の特異性解析評価

前臨床試験において、異種移植片の採取、単離、さらに活性化、増殖といった操作をする場合は、臨床試験で予定している手法や手順と同様に実施するべきであり、臨床試験で提案されている同等の試験実施方法で、異種移植製品に含まれる細胞特性を明らかにする必要がある。ヘテロな異種移植製品の純度の評価法については、VI.B.2.c.の項を参照されたい。

2. 異種移植製品による生理活性分子の分泌

異種移植製品に含まれる特性解析されていない細胞や組織が、意図しない生理活性を持つ分子を産生する可能性がある。異種移植製品に含まれる目的細胞種及び目的外の細胞種のいずれについても、このような生理活性物質の分泌を通じて生物学的に重要な作用を発揮する可能性があり、目的の異種移植製品から放出される生理活性物質（例えば、神経伝達物質、ホルモン、サイトカイン）を同定するための解析を試験法の妥当性が実証されている手法を用いて行うべきである。例えば、移植準備段階での組織サンプルを可能であれば *in vitro* で維持または培養し、その上清の活性または関連する特性指標を検査することも考慮するべきである。

このような試験に関するガイダンスについては、バイオテクノロジーにおける安全性前臨床評価に関する ICH ガイダンス文書 (ICH S6R) を参照すべきである [33]。

インビトロでの評価に加え、適切な動物モデルを用いてヘテロな異種移植製品を評価すること。(このトピックに関する追加の議論については、IX.C.4.項を参照)。

3. 不均一な細胞から構成される異種移植製品における分化や脱分化

動物胎仔由来細胞、脱分化された細胞、インビトロで増幅させた細胞や組織などに由来する異種移植製品は、不均一な分化段階の細胞集団から構成されている可能性がある。どのような不均一性があるかは、目的とする異種移植製品の細胞や組織の種類、どの発生ステージの胎仔から得られたかや培養時間に依存することになる。このような製品の場合、前臨床試験では、移植された製品に含まれる生存している細胞と、移植後に異種移植製品中に存在している細胞種とを比較すべきである。ただこのような比較を行うには、移植後に継続的に移植を行った動物を犠牲にした生検を用いた試験が必要になるかもしれない。免疫組織化学染色、トリパンブルー染色による死細胞との区別、バイオアッセイ、PCR アッセイなどの技術を用

いることで、ヘテロな細胞の分化を同定することができるかもしれない。移植された異種移植製品が分化することによって目的とする機能に関する分化の影響を評価するための評価系を開発すべきである。例えば、異種移植製品の効能とは関連しない物質を産生する可能性のあることを含めて生物学的に活性を持つ分子が放出・分泌されるもの測定するなどが求められる。生着が期待される異種移植製品では、宿主環境に応答・適応することにより、移植された体内で機能的な役割を果たすことによって移植後にその特性が変化していく可能性がある。従って、臨床でどのようなことをモニタリングしていくかを明らかにするために、細胞生存率、形態、機能的エンドポイント（例えば、内分泌、行動、免疫学的）を経時的にモニタリングすることも考慮すべきかもしれない。

E. 異種移植製品の *in vitro* および *in vivo* 造腫瘍性評価モデル

造腫瘍性を評価する前臨床試験は、生体外で加工操作される特定の異種移植製品において重要な評価課題である。腫瘍原性の評価に適用すべき基本的なガイドランスについては、参考文献を参照のこと [3, 10, 33, 34]。

異種移植製品は、トランスジェニック改変に伴うリスク、内在性ウイルス、生体外での培養に伴うリスク、移植を受けたモデル動物に処置される免疫抑制剤などの様々な要因により、新たな腫瘍形成を示す可能性がある。したがって、移植する異種移植製品について、*in vivo* および *in vitro* での腫瘍原性の評価の必要性について検討するべきである。

1. *in vivo* での造腫瘍性リスクを評価するために複数のモデルが存在する。免疫ストレス、免疫抑制剤、ある種の感染性物質への曝露がもたらす影響を評価することなどは、前臨床試験で扱うことができ、造腫瘍性の関する懸念を評価するために重要な手法になりえる。

前臨床実験では、対照群、陽性対象として造腫瘍性を持つ細胞の増殖性、腫瘍発生率、腫瘍の種類、腫瘍発生部位、および長期間にわたる腫瘍の出現などを比較して評価すべきである。これらの実験では、主要エンドポイントとして組織病理学的評価を利用すべきである。

2. 軟寒天培地でのコロニー形成（クローン形成アッセイ）および器官培養での異常増殖を測定することによって、特に細胞株の造腫瘍性の *in vitro* アッセイとして有用であろう。これらの解析では、細胞株の安定性や異常な増殖特性が起きないかについて情報が得られる可能性があり、動物での検査と同等の感度を有する

ことを証明できれば、動物での造腫瘍性検査の代わりになる可能性がある。

生体外で増殖させた細胞より構成される異種移植製品については、細胞増殖パターン、形態、増殖因子依存性の変化を解析することにより、形質転換の可能性を示唆すること可能性があり、陽性反応が得られた場合には、さらに詳細な解析の必要性を示唆するかもしれない。

F. 異種移植製品とデバイスの組み合わせ

異種移植製品の臨床適用に際しては、デバイスと共に移植される製品や異種移植製品の体外での操作で用いられるデバイスなどが想定される。IX.節の前述した考え方は、このような製品にも適用される。このようなデバイスとの複合製品では、デバイスの生物学的機能と生体適合性について、前臨床試験で評価を行う必要がある。多くの場合、前臨床試験には、実験用の小動物用に作成された相同製品ではなく、ヒトでの使用を意図した同等の大きさの装置の特性評価が必要となる。このため、血液量や大きさ、場合によっては解剖学的構造がヒトと類似している動物種を選択して前臨床試験を実施することが求められることもある。

デバイスの審査は、CBER と Center for Devices and Radiological Health (CDRH) のスタッフと共同で審査されることになる。動物組織をレシピエントから隔離する役割を果たすようなデバイス（例えば、隔離膜やフィルター）の不具合は、CDRH の審査官が扱う安全性評価の重要なポイントとなる。CDRH のスタッフによって考慮されるその他の器具の毒性問題は、国際標準化機構 (ISO) によって発行された生体適合性ガイダンスに沿って評価されることになる。

インプラントは、人体内に継続的または永続的に体内に移植されることを意図している場合がある。これらは長期にわたる機能を果たすことを期待される埋め込み型デバイスであり、移植された異種移植製品／デバイスの組み合わせの場合の長期的なリスク（慢性炎症、発がん性、再移植による影響、局所／全身毒性など）については、製品の製品としての承認の前、あるいはヒトにおける治験の開始前に評価する必要があるかもしれない。臨床試験開始前の試験期間は、通常最低 3 ヶ月が想定されている。

微小な孔の空いている膜を用いることにより装置内に入れられた異種組織の移植を受けたレシピエントの免疫細胞による攻撃からある程度隔離できると想定されるが、異種細胞・組織からの分泌される生理活性タンパク質や病原体は、目的とす

る薬理的な活性を持つ分子とともに移植されたレシピエントの体内に放出される可能性が高い。

このような装置は、異種感染のリスクをある程度減少させることはできるが、排除することはできない。また、包埋されたインプラントがレシピエントに対して作用し、局所の炎症やフィブリン沈着を引き起こすこともある。さらに癒着や肉芽腫が宿主組織内に形成される可能性があり、インプラントに生じた沈着物は移植細胞の生物活性や生存性を阻害する可能性がある。生理活性物質が浸透するように意図されたカプセル封入異種移植製品（カプセル封入豚島など）を移植前に活性評価し、動物に投与後、定期的に製品を回収して活性、カプセルの完全性、組織の生存性を評価すべきである。

想定している臨床投与経路（例：インプラント部位）及び、臨床試験に用いる製品と同等のデバイスを用いて、長期的な動物試験（例：12～24ヶ月）を実施すべきである。デバイスのみに対する反応を明らかにするだけでなく、異種移植製品の臨床使用と同じように含む製品の臨床用量およびそれを超える臨床用量に曝露した群も含めるように試験を計画すべきである。

既に異種移植など細胞を含まない形で臨床使用されたことのあるバイオアテリアルについて毒性試験の結果は、異種移植片とそのようなバイオマテリアルとの組合わせた製品の安全性についての情報を提供してくれるかもしれないが、異種移植製品と合わせて使用する場合の毒性評価に必要な情報をすべて提供してくれるわけではない。さらに異種移植製品の製法が変更された場合、新たな毒性試験が必要になる可能性があることに留意すべきである。

血液の体外灌流に使用される装置については、体外回路とつないだ時や循環を中止した場合に血行動態への影響、装置内に還流された細胞・組織から放出される産物（例、例えば、アナフィラキシー反応を引き起こしたり、意図しない自己免疫応答を刺激したりする可能性のあるタンパク質）、血液細胞（血小板など）などが装置チューブまたは他のコンポーネントへの接着、凝固または補体の活性化が起きる可能性、さらには装置内での細胞代謝によってレシピエントの循環から投与されている必要な薬剤が除去される可能性なども考慮する必要がある。異種移植製品との併用薬剤のレシピエント内での生物学的活性の評価は、前臨床安全性で評価すべき重要なポイントである。例えば、生命維持に必要な薬理的又は代謝的活性を維持するために、適切な間隔で装置の生物学的コンポーネントを交換できるように、細胞（例えば、細胞カートリッジ）活性の持続時間とそれが惹起される可能性を評価する必要がある。

まとめると、通常の前臨床試験と同様に、異種移植製品とデバイスの組み合わせの動物実験をデザインする際には、予定している臨床試験の対象患者集とあらゆる側面から、異種移植製剤の望ましい活性と望ましくない活性の両方を明らかにすることが必要であり、局所および全身レベルでの毒性を考慮する必要がある。

異種移植の臨床的課題

A. 一般的考慮事項

この章では、具体的な指針を示すというよりは、一般原則を示している。異種移植に利用可能な基本的知見や臨床データは限られているため、新たな知見が得られた場合には以下に記載されている課題が解決されていく可能性がある。その一方で、現時点では想定されていない新たな懸念事項が出現してくることもあり得る。

B. 臨床プロトコールのレビュー

スポンサーは、施設内の倫理審査委員会 (IRB)、実験動物審査委員会 (IACUC)、バイオセーフティ委員会 (IBC) を含む機関内の審査機関による適切な審査を受けて、臨床開発を実施する責務を有する[1]。

異種移植臨床試験プロトコールの機関内審査では、その IRB は従来から対象としてきた製品の投与を受ける被検者の保護に加えて、以下の問題についても評価を行う必要がある：

1. 被験者と密接に接触する第 3 者 (医療提供者、家族、友人、地域社会全般を含む) に対する感染の潜在的リスク；
2. 感染源となるかもしれない動物の飼育方法 (スクリーニングプログラム、動物検疫など)。
3. ヒトおよび人獣共通感染症に関する問題 (ウイルス学、病原体の検出等のための検査システム、疫学、リスク評価を含む) にどのように対処するか の提案とその科学的根拠。

C. 異種移植施設

PHS ガイドラインは、すべての臨床異種移植は、同種移植に匹敵する適切な経験と専門知識を有し、in vitro および in vivo の方法を用いて、ウイルス検出のために培養法やウイルス病原体を検査・同定する能力を有する移植センターであることが求められている。さらに、移植施設で、その検査等を含めた文書化されたプロトコールに従って検査等が実施されることを推奨している[1]。

D. 患者選択の基準

人獣共通感染症をもたらす公衆衛生上の重大なリスクを内包している可能性があるため、異種移植は、非常に高い安全性が保証されている場合を除き、十分に安全で効果的な代替療法が利用できない重篤な疾患または生命を脅かす疾患の患者に限定して実施すべきである。また移植後において、QOL（生活の質）が向上し、臨床的に有意な改善が期待できる患者を対象とするべきである。また、長期的なモニタリングを含め、プロトコールに記載されている公衆衛生上の措置を遵守できる患者を対象とすることも考慮すべきである。

E. リスク／ベネフィット分析

FDA は、他の治療法がないことや疾病の重篤性ゆえに、患者個人にとってはリスクに対するベネフィットの比率が高くなることを理解している。しかし、異種移植のリスクとベネフィットバランスの評価は、レシピエントのベネフィットのみならず公衆衛生上のリスクを考慮したうえでの対処が求められる。ベネフィット対リスクの分析を行う際には、以下の点を考慮する必要がある。感染症は、異種移植製品の使用によってレシピエントと公衆の双方にもたらされる潜在的なリスクの一つである。以下に述べる潜在的なレシピエントのみならず公衆衛生上の影響が惹起される可能性とその不確実性を明確にしたうえで、評価を実施すべきである。異種移植製品からの病原微生物の伝播は、レシピエントにおける全身性疾患（例えば、感染症や新生物）のみならず異種移植製品の機能不全につながる可能性がある。さらに、感染因子の伝播は、人獣共通感染症の発生、潜伏感染するウイルスによるステルス感染、さらには新興感染症を引起す病原体の伝播をもたらす可能性がある。

（ヒト免疫不全ウイルスなど）病原体が同定されるより前に、新たな病原体が広範に水平的または垂直的に伝播している可能性があることを経験的に示されていることがその根拠となる。上記以外の異種移植製品に起因する、レシピエントのみならず公衆衛生にも重大な影響を及ぼす可能性のある有害事象が惹起される可能性とその不確実性を踏まえた臨床試験実施の妥当性を検討すべきである。同様に、生

きた異種細胞、組織、臓器の拒絶反応や、場合によっては GVHD を含む免疫学的リスクについても記載しておく必要がある。

F. 感染因子のスクリーニング

異種移植製品の投与を受けたレシピエントの検査に関するガイダンスと関連情報については、PHS ガイドライン[1]を参照すること。

1. 懸念される感染症

懸念される感染症をおこす因子は、ドナー動物の種や、ドナー動物のどの細胞・組織を用いるかによって異なってくる。従って、目的とする異種移植製品について、製品ごとに臨床検査を実施する必要がある。懸念される感染性因子としては、細菌（リケッチアなど）、真菌、マイコプラズマ、ウイルス、TSE の原因物質が含まれる。

感染源となりうるドナー動物が持つ病原体や、*in vivo* または *in vitro* でヒト細胞に感染することが知られている病原体など、潜在的に存在している可能性のある病原体を検出可能な試験法を開発するべきである。また、異種移植を実施する時点ではその存在そのものが知られていない可能性のある新たな病原体に対しても臨床検査法を開発し、その試験法の妥当性を確認できるような体制を整えておくべきである。また、異種移植の時点では認識されていない新規の病原体に対する試験検査法の開発とその検証に備えるべきである。（検査に関する追加情報については X.F.3.項を参照）。

2. 臨床検体の採取とその分析

異種移植は、感染症を引き起こすような病原体の分離と同定に関する知識と経験を持ったスタッフを配置し、最先端のウイルス学と微生物学の研究室が整備されている臨床施設でのみ行うべきである。さらに、有精卵や胎仔あるいは乳のみマウスなど、インビボでのウイルス増幅が可能な試験施設へアクセスできるようにすることも求められる。

ベッドサイドで患者より検体を採取すると共にすぐにウイルス輸送培地に入れ、4°Cで保存し、採取後できるだけ早く、少なくとも 24 時間以内に細胞培養用培地にアプライする必要がある。どのような検体を培養するかは、レシピエントの臨床症状によって決める必要がある。FDA への IND 申請書などには、用いる組織細胞培養に用いる細胞を記載すべきである。これには、初代ヒト及び霊長類由来胚性腎臓細胞、連続細胞株でないヒト二倍体細胞、連続ヒトヘテロ二倍体細胞などが含ま

れる。それでも単離が困難な場合は、例えば、胚性鶏卵細胞や乳のみマウスへの *in vivo* 接種が必要かもしれない。培養に加えて、EM で組織を調べることも考慮すべきかもしれない。適切な抗体やプローブがあれば、免疫組織病理学、免疫蛍光抗体、ラジオイムノアッセイ、酵素結合免疫吸着アッセイ、PCR なども有用である。

3. レシピエントの感染性病原体の検査と検査スケジュール

FDA への IND 申請書には、レシピエントからどのような検体を採取し、懸念の高いどのような感染因子を対象として検査を行うかを記載しておく必要がある。また検査の手法、例えば血清学的検査か培養法などについての記載も必要である。また、ドナー原動物に潜伏感染していることが知られている病原体（例えば、レトロウイルス、ヘルペスウイルス）の検査についても記載しておくべきである。アッセイでは、ドナー動物種に存在していることが知られている病原体とヒトに感染することが知られている同種の感染因子とを区別できるようにしておくべきである（例ば：ブタとヒトのサイトメガロウイルス（CMV））。使用経験の少ない全ての検査や新たに開発した検査については、特異性、感度、再現性を実証するデータが入手可能にしておく必要がある。場合によっては、ある程度の有用性、特異性、再現性が証明されている新規検査法を臨床試験開発と同時に進め、その間にバリデーションをとっておくことも考慮すべきである。

また、レシピエントの感染症スクリーニングのスケジュールを IND 申請書に記載する必要がある。

a. 急性感染症

レシピエントは、同種移植を受けた人に共通の感染症を引き起こすリスクがある。一般的に、これらの感染症は免疫抑制剤の使用に関連したものであり、レシピエントの持つ内因性細菌叢（マイクロバイオーーム）、潜伏感染因子の再活性化、および外的環境からもたらされる。これらの疾患に有用な検出方法は、同種移植後の感染検出に使用される方法と変わらないであろう。

以上の感染症リスクに加え、レシピエントは異種移植製品に含まれる病原体による感染症のリスクにもさらされる可能性がある。

異種移植製品からヒトに感染する異種感染因子の臨床経験はほとんどない。FDA は、レシピエントは移植後数ヶ月の間、感染の危険に最もさらされると予想している。しかし、感染症の顕在化が臨床投与から大幅に遅れて起こる可能性もある。ま

た感染エピソードの発生時期は、免疫抑制状態によって異なる可能性がある。臨床試験中およびレシピエントの生涯にわたって感染症の徴候に関するデータを収集し、急性感染の徴候が見られた場合には迅速に適切な検査を実施することが重要である。免疫抑制患者において、このような感染症の診断症状や徴候を予測することは困難である。レシピエントの移植後に発症した疾病の原因が不明な場合は、適切な体液や組織検体を対象とした検査を行うべきである。このような検査には、血清学的検査だけでなく、様々な培養細胞を用いた培養システム、in vivo 移植法などを使用する必要がある。培養法を用いることにより、血清学的検査等では見落とされた感染症を発見できる可能性がある（例えば、免疫抑制された移植レシピエントが病原体に対して通常の免疫学的反応を起こせない場合など）。

急性感染症を呈している患者を担当する医療スタッフは、医療器具の取り扱い、消毒・滅菌、感染性廃棄物の処理について推奨されている手順に従って実施すべきである[35]。異種感染の可能性が疑われる場合や、異種由来の感染症ではない可能性が排除できない場合などにおいては、速やかに FDA に連絡すること。さらに、異種の可能性のある原因感染因子が特定された場合は直ちに FDA に通知すること。

b. 慢性感染

免疫抑制状態のレシピエントは、同種移植においてもみられる病原体に対する感染リスクにさらされていることになる。さらに、ドナー動物に由来する可能性のある病原体の感染についても考慮する必要がある。トキソプラズマなどの寄生虫の感染も考慮する必要があるが、前臨床試験や異種移植製品での感染所検査が十分に実施されている場合には、動物由来の慢性感染症を引起す病原体としては、内因性または外因性のウイルスが最も可能性が高いと考えられる。

c. 臨床的不顕性感染とセロコンバージョンの定期スクリーニング

レシピエントが病気になった場合の診断検査に加え、継続的なレシピエントの感染症に関するスクリーニング・プログラムを確立しておくことが重要である。スポンサーは、以下の点を考慮し、そのスクリーニング・プログラムの妥当性を申請書で説明し、検証しておくべきである。

ドナー動物種と使用される細胞、組織、臓器の種類を考慮する。

i. 受動的スクリーニング・プログラム

受動的スクリーニング・プログラムでは、血液、血漿、尿などの適切な臨床検体が定期的に採取され、将来感染症が発症した場合の検査のために保存される。あるレシピエントにおいて感染と診断された場合、または感染と思われる徴候が発現した場合、保管されているこれらの検体は症状の有無にかかわらず、異種移植製品の適用を受けた患者に共通または類似の曝露が起こっている可能性があるためにそれらのレシピエントへのレトロスペクティブ・スクリーニングに利用できる。我々は、無症状のレシピエントからの日常的な検体採取と保管のスケジュールを確立することにより、受動的スクリーニング・プログラムを確立しておくことを推奨する。このような受動的スクリーニング・プログラムは、PHS ガイドライン[1]に記載されているように、PHS 用に指定された生物学的製剤検体の採取と保存のプログラムに追加で実施されることになるであろう。

しかしながら、PHS ガイドラインが PHS 用に指定された検体の保存に適切であると指定している採取タイミングは、受動的スクリーニング・プログラムの一環として検体を採取し、保管する際の最低限の必要タイミングとしての頻度と考えられる。これらの採取タイミングには以下が含まれる：

- 異種移植前（1 ヶ月間隔で 2 検体）；
- 移植時
- 移植直後
- 移植 1 ヶ月後と 6 ヶ月後；
- 最初の 2 年間は毎年、その後は
- その後 5 年ごと。

場合によっては、より頻繁な試料採取が適切な場合もあり得る。スポンサーは、受動的スクリーニング・プログラムで使用するスケジュール及び実施する試験を提案する際に、ドナー動物の供給体制及び製品の種類を考慮すべきである。

採取された試料の数、サイズ、使用及び保存期間に関する推奨事項については、X.H. 項を参照のこと。

ii. 受動的スクリーニング

受動的スクリーニング・プログラムに加え、能動的スクリーニング・プログラムも検討すべきである。想定される能動的スクリーニングの実施法として考えられるのは、レシピエントから検体を採取した直後から、受動的スクリーニング・プログラ

ラムで採取した検体に対して特定の感染症に対する検査を定期的実施することである。さらに、新興感染症発症を示唆する徴候を検出するために、日常的に収集される臨床データの集中的なレビューし、その徴候をとらえることを検討すべきである。

PHS ガイドライン[1]の4.1.1.2項では、患者が異種移植製品の投与を受けてから、2、4、6週間後に採取した検体を検査することで、異種移植製剤に含まれることが知られている感染因子に対する受動的スクリーニング・プログラムを提案している。

この能動的スクリーニング・プログラムの重要な利点は、症状がない場合でも感染の証拠を前向きに検出できる可能性があることで、レシピエントで発生している可能性のある感染と疾患のパターンを事前に把握できることである。積極的なスクリーニングにより、無症状のレシピエントにおいて新規感染症を発見し、二次的なヒトからヒトへの感染や公衆への広範な伝播の前に、たとえ関連疾患の発現がなくても（全くない場合もあれば、単に発症が遅れている場合もある）、その感染症を封じ込めるための感染防止対策を実施できる可能性である。感染因子を保有していることが明らかになった異種移植製品が異種移植にすでに使用されていた場合、その感染因子に対する積極的なスクリーニングを実施すべきである。例えば、ブタの細胞、組織、臓器を使用する異種移植製品のすべてのレシピエントに、PERV による感染の証拠があるかどうかを評価すべきである[29]。理想的には、以下のすべての検出方法を用いるべきである；

- レシピエントの PBMC を PCR して PERV DNA 配列が検出されないかを調べる、
- -PERV 特異的抗体の血清学的検査。
- ウイルス RNA の検出のための RT-PCR や逆転写酵素（RT）活性の検出のための高感度法などの血漿中に含まれるビリオンを検出できるアッセイ[29]。

検査の必要性が生じた場合、将来の使用のために保管できるよう、能動的スクリーニング・プログラムで各試料を十分な量収集・保管しておくべきである。採取した検体の数、サイズ、使用、保管期間に関する推奨事項については、セクション X.H. を参照のこと。

- d. レシピエントにおける異種レトロウイルスの同定

特に懸念されるのは、ブタ由来の異種移植製品のレシピエントの場合、PERV のような異種レトロウイルスの感染の可能性である。ブタ由来の異種移植製品の開発での臨床試験を実施する場合、レシピエントが PERV または他のレトロウイルス類の異種感染因子の存在に対して陽性と判定される結果が得られた場合の対処方針の計画を作成する必要がある。計画では以下の点を含めるべきである。:

- i. スクリーニング検査により陽性シグナルが得られた場合、その結果の確認するための戦略（例えば、感染と偽陽性の区別）。例えば、ブタの異種移植製品の場合、PERV 遺伝子配列の検出のためにレシピエント PBMC から単離した DNA に PERV に由来する配列がないか PCR で検証することが推奨される。しかし、この分析で陽性の結果が得られた場合でも、検体にブタ細胞が存在していた可能性も考えられる。従って、陽性結果の原因がブタのレトロウイルスに感染したヒト細胞からではなく、ブタ細胞のマイクロキメリズムを検査することによってブタ細胞に由来する可能性がないかを決定することが有用である。そのためブタ由来の Alu 反復配列の有無を検出するための追加の PCR 検査を行う必要がある。この分析が後者の可能性を示唆する場合、適切な共培養アッセイで関連するレシピエント検体からウイルスを分離する試みするなどの追加分析を実施する必要がある；
- ii. 適切なアッセイ法（例えば、共培養法）を用いた感染性因子の同定、及び必要に応じて追加的な感染因子の特性解析；
- iii. FDA、開発にかかわっている他の共同スポンサー、治験責任医師及び適切な IRB に通知する計画；
- iv. 臨床試験を変更するための緊急時対応計画（登録の一時停止または終了を含む）；
- v. 治験患者の急性期およびフォローアップの医療およびカウンセリングに関する規定。
- vi. 必要な場合には、レシピエントと緊密に接触する第 3 者の安全のため、及び起こりうる公衆衛生上のリスクに対処するための追加措置。

e. 死後の薬剤検出と剖検検体の保管

レシピエントが死亡した場合、レシピエントのすべての病理組織学的検査とその培養を含む、完全な死後の病理検査を依頼するべきである。死後、顕微鏡および電子顕微鏡による病理検査のために、体組織のサンプルを採取して固定し、包埋すべきである。異種移植製品のみならず、必要に応じて、レシピエントの死亡に至った、重篤性にかかわる、すべての主要臓器から、あるいは原因不明であった臨床症候群

に関連した細胞・組織などのサンプルを採取すべきである。X.H.1.で述べたように、レシピエントの死後 50 年間は、組織および体液サンプルを、サンプルの保存に適切な-70°C以下で保存する必要がある。

4. レシピエントの接触者における感染

FDA は、異種移植にかかわる医療従事者を教育、監督すると共に、レシピエントの他の親密に接触する第三者（例えば、レシピエントが体液の親密な交換をもたらす可能性のある活動を繰り返し行う人）の健康状態サーベイするプログラムを開発することを推奨する。これらのグループでは、受動的スクリーニング (X.F.3.c.i.項参照)を実施することが適切であろう。血漿のベースライン検体を採取して-70°Cで保存し、医療従事者が臨床チームに新たに加わる時などに白血球を採取して液体窒素で保存すべきである。また、そのような接触者に対し、潜在的なリスクに関する助言とカウンセリングを確実に行うべきである。

G. 患者のフォローアップ

治験責任者は、異種移植プロトコールにおけるレシピエントの臨床的フォローアップのための計画を、FDA への IND 申請書に提案し、提出しなければならない。この計画は、受動的スクリーニング・プログラムのための検体採取と保存のスケジュールを考慮し、レシピエントの生涯に及ぶものでなければならない (X.F.3.c.i.項参照)。フォローアップの頻度は、処置後、時間の経過とともに減少することが可能である。臨床モニタリング及びフォローアップの頻度を漸減するよう計画することは妥当であるが、何らかの懸念が生じていると思われる事象が発生した場合には、個々のレシピエント又は臨床試験に参加したすべてのレシピエントに対して頻度を増加させる柔軟性を持たせるべきである。

H. 患者血漿及び組織検体の保存

1. 患者を異種移植製品を投与する前に、レシピエントスクリーニングの一部として保存された検体、死後採取された検体、PHS 使用の検体を含め、患者の組織と体液のすべての検体を保存するためのプロトコールまたは SOP を作成すべきである。

a. レシピエントから臨床検体を採取する際は、適切なバイオセーフティ予防措置を講じて行うべきである。レシピエントから血液を採取する際には、標準的 PHS ガイドライン[1]は、臨床検体の操作には少なくともバイオセーフティ・レベ

ル (BSL) -2 の封じ込め施設と BSL-3 の実施を推奨している。

- b. PHS が推奨する生物学的検体の保存スケジュールについては、文献 1 及び本文書の X.F.3.c.i.項を参照のこと。特定のプロトコールまたはレシピエントの臨床経過により、より頻繁な保存が指示される場合がある。
- c. 急性感染エピソード中の患者や医療従事者から得られた検体を含め、PHS ガイドライン[1] で推奨されている手順に従い、保存された全ての検体を管理する計画が存在すべきである。
- d. 患者の血液および血漿検体は、動物の血漿および血球検体に関する勧告 (V.E.3.b.項参照) に従った量を保管すべきである。

スクリーニング・プログラムや死後に採取されたレシピエントサンプルに加え、異種移植のレシピエント組織が診断目的の生検など、何らかの医療目的で採取された場合、そのような組織のサンプルも保管する必要がある。サンプルの保存には-70°C以下が適切である。

2. 検体の保存

- a. 血漿、血液、その他の検体の保存については、PHS ガイドライン[1]および本文書 X.F.3.c.i.項の勧告に従うこと。PHS が主導して行う調査の必要性が生じた場合に、PHS が利用できるように、予備の検体を収集、保管しておくべきである。PHS ガイドライン[1]は、既知のヒト病原性持続性ウイルスの潜伏期間や米国労働安全衛生局の記録保存要件に関する判例に基づき、PHS が使用する生物学的試料を異種移植の日から 50 年間保存することを推奨している。
- b. 指定された PHS 試料に加え、スポンサーは、臨床経過観察用及び受動的スクリーニング・プログラムの一環として、患者の血漿、血液細胞、異種移植産物、その他の組織の試料を上記と同様に保存しておくべきである (X.H.1 項参照)。(X.H.1.項参照)。
- c. PHS が使用するため (X.H.2.a.項参照)、あるいは受動的スクリーニング・プログラムによるレシピエントのモニタリングのため (X.H.2.b.項参照) に保存された試料を、研究のような他の目的に使用すべきではない。

I. 健康記録とデータ管理

1. レシピエントのカルテには、レシピエントの健康状態、処置手順、異種移植製品の説明、異種移植製品の処置に伴って生じた有害事象を含むすべての異種移植関連情報が記載されているようにしておく必要がある。さらに、異種移植製品の投与を受けた全レシピエントについて適切なフォローアップシステムを構築

し、異種移植製品に関連した重篤な有害事象が発生した場合にすべての被験者に連絡を行うために、追跡情報として活用すべきである。異種移植の投与処置に関して、また有害事象の発生時、さらにフォローアップでの臨床検査時の情報を収集するべきである。

報告様式は統一したものとし、レシピエントに関連する必要性の高い情報を含めるべきである。収集・追跡する情報には、最低限以下の情報を含めることを推奨する：

- a. 施設情報 - スポンサーは、ドナー動物及び異種移植製品に関連する動物施設、製造施設の情報、さらにレシピエントが手術を受けた臨床センターに関する情報を記録しておくべきである。
- b. レシピエント情報 - レシピエントにコード番号の付与、あるいは他の識別情報によって正確に識別できるようにし、それに基づいた追跡システムとリンクさせて関連情報が得られるようにする。
- c. 手術情報 - 各々の異種移植手順の投与手術に関する情報を記録すべきである。この情報には以下が含まれるが、これらに限定されるわけではない：
 - i. レシピエントの識別情報
 - ii. 処置をおこなった日付；
 - iii. 手技が実施された臨床センター；
 - iv. 手技を実施した医師または治験責任医師；
 - v. 異種移植製品の適用症となる臨床的効能；
 - vi. 移植手術時に投与された薬剤および処置内容；
 - vii. 異種移植製品についての記載；
 - viii. ドナー動物の確認情報；

- ix. ドナー動物の飼育施設情報；
 - x. 異種移植製品製造施設。
 - xi. その他の関連臨床情報。
- d. 有害事象報告 - 治験実施依頼者（スポンサー）は、有害事象を記録し、現行の規則（21 CFR 312.32）に従って FDA に報告しなければならない。スポンサーは各有害事象の記録を保管しておくことが求められる。
- e. レシピエントの臨床フォローアップ検査-異種移植製品のレシピエントの臨床症状に関する情報を定期的に収集する必要がある（X.F.項参照）。この情報には以下が含まれるが、これらに限定されない：
- i. フォローアップでの臨床検査を実施した日付；
 - ii. フォローアップで臨床検査の実施場所；
 - iii. レシピエントに埋め込まれた異種移植製品の状態；
 - iv. 新たな重大な合併症；
 - v. レシピエントの最後の臨床フォローアップ検査以降に必要な入院処置。
- f. 動物健康イベント - 動物施設ではドナー動物の健康状態に関する情報を記録しておくべきである。これらのイベントには以下が含まれるが、これらに限定されない：
- i. 隔離されている動物施設に設置された環境バリアの破損；
 - ii. 疾病の発生。
 - iii. 原因不明の、または予期せぬ動物の突然死。

動物施設は IND を実施するスポンサーに動物の健康事象を報告すべきである。スポンサーは、この情報を投与を受けた患者の追跡システムに入力すると共に FDA

への報告に含めるべきである。

g. レシピエントの死亡報告 - スポンサーは、レシピエントが死亡した場合その死亡報告書を保管する必要がある。この情報には、受領者の識別情報、死亡日、および死因が含まれるべきである。可能であれば、死亡診断書と剖検情報を記録すること。また、死亡を FDA に報告しなければならない。

2. 移植日から少なくとも 50 年間は健康記録を保存する必要がある。

3. スポンサーは、施設が操業を停止した場合、すべての記録とサンプル（死後サンプルを含む）を要求された期間維持するための対策と規定を設けるべきである。

J. インフォームド・コンセント

1. 一般的なコメント

インフォームド・コンセント文書には、21 CFR Part 50 に記載された標準的な内容を含めること。

2. 異種移植製品特有の課題

インフォームド・コンセント文書の患者説明文章の中には、レシピエントに提供すべき異種移植製品に関連する情報を含める必要がある。

a. 本調査への参加

i. レシピエントに人獣共通感染症、日和見感染症などの異種感染症が発症するリスクが、レシピエントの家族または親密な接触者にも及ぶ可能性があるため、移植を受ける患者は、現在のみならず将来にわたって親密に接触する第三者に、ドナー動物由来の潜在的なリスクがあること、さらに献血影響を延期しなければならないことを通知することに同意してもらうべきである。異種移植製品レシピエントの親密な接触者とは、異種移植製品レシピエントと血液または唾液を含む体液の密接な交換をもたらす可能性のある生活活動を繰り返し行う者が含まれる。親密な接触の例としては、性的パートナー、カミソリや歯ブラシを共有する家族、経皮的、粘膜的、またはその他の直接診療などで接触を繰り返す医療従事者ま

たは研究所職員が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。単なる住居の共有や唾液の交換を伴わないハグやキスのような気軽な接触は、親密な接触とは解釈しなくてよい。レシピエントの求めに応じて、これらの点の教育プログラムへのアクセス法など、被接種者へサポートできることを伝えるべきである。この話し合いには、万が一が一人獣共通感染症や日和見感染症が発生した場合、レシピエントが人獣共通感染症や日和見感染症に感染する可能性があること、また、乳幼児、妊婦、高齢者、慢性疾患や免疫抑制状態にある人など、人獣共通感染症や日和見感染症のリスクが高い可能性がある人への感染リスクが高まる可能性についても含めるべきである。

ii. 異種移植に関するリスクの内容が明確になったり、異種移植に関する公表情報や議論が尽くされない限り、異種移植製品のレシピエントとその親密な関係者 (X.J.2.a.i.項を参照) は、全血、原血漿と白血球成分を含む血液成分、組織、母乳、卵子、精子、またはヒトへの適用に資する細胞や組織の提供を停止すべきである。より詳細な情報については、FDA の次の "Guidance for Industry" を参照されたい: Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps) の「ドナーの適格性評価」 [8] を参照されたい。

iii. その他必要な行動変容について、被投与者にカウンセリングを行うべきである。必要に応じて、性行為中の感染因子の伝播を防止するための物理的バリアーの使用や、性行為以外の接触に対する適切な予防措置の使用に関して助言すべきである。

iv. インフォームド・コンセント文書には、すべてのレシピエントに対する生涯にわたるサーベイランスの提案と、その間のある臨床検査モニタリングの必要性に関する情報を含めるべきである。可能な限り、そのような臨床および検査のモニタリング・スケジュールを説明すべきである。

v. 文書は、異種移植による疾患が懸念される場合の分析のために、ドナー動物からのみならずレシピエントからの血漿及び組織検体を保存する必要性について説明すべきである。文書では、このような検体は将来、異種移植によって引き起こされ感染に関する懸念を評価するために、必要に応じてスポンサーまたは PHS 機関によって検査される可能性があることを説明すべきである。

vi. 文書は、生涯にわたる健康状態のサーベイランスを可能にするために、住所または電話番号を変更した場合、治験責任医師または指定された担当者に通知する責務があることを通知すべきである。

vii. 文書は、適切な公衆衛生機関（例えば、FDA、CDC）からレシピエントの医療記録への長期的なアクセスの必要性を通知すべきである。適用される法律や規則により許される範囲において、医療記録の機密性が保持されるべきである。

viii. レシピエントまたはそのレシピエントの適切な代諾者が署名したインフォームド・コンセント文書で、死亡時の剖検の要請を含めるべきである。

b. レシピエントとその親密な第3者に対するリスク

i. インフォームド・コンセント文書は、ドナー動物種に関連する既知及び未知の人獣共通感染症のみならず、ドナー動物種に直接関連しないプロトコル全般に関連する既知のリスクについても説明すべきである。インフォームド・コンセントでは、感染またはその伝播のリスク、および不確実ではあるが腫瘍発生のリスクについて言及すべきである。懸念される有害事象が起こるまで長期にわたる潜伏期間が存在する可能性についても言及すべきである。予防的な抗菌薬、抗ウイルス薬、その他の化学療法や免疫療法の必要性とそれに伴うリスクを明記すべきである。レシピエントとその家族のために、このような予防的治療を行う理由を説明文書で示すべきである。

ii. 加えて、行動の束縛、個室管理、その他の特殊な隔離された生活が必要になる場合について、そのような隔離の予想される期間も含めて記述されなければならない。特殊な食事、旅行、その他の注意事項についても、可能な限り詳細に記述すること。

iii. 疾病の発生と伝播のリスクについて、既知の臨床経過の情報を含めておくべきである。TSE およびその他の異常な病原体を含め、潜伏期間が長引く感染症について説明すること。

iv. ブタ由来の異種移植製品固有の課題として、インフォームド・コンセント文書には以下の情報を含めるべきである：

- PERV は培養中のブタ細胞からヒト細胞に感染することができ、このウイ

ルスは培養中のヒト細胞株から他のヒト細胞株に感染することができる。

- この観察の臨床的意義は不明であり、活発な研究が行われている分野である。しかし、PERV と構造が似ているある種の C 型レトロウイルスに感染すると、特定の動物モデルにおいて、神経障害やリンパ腫や他の悪性腫瘍などの病気を引き起こすことが知られていることなど。

c. 潜在的利益

インフォームド・コンセントでは、個々のレシピエントに対して、異種移植が第一選択療法、第二選択療法、救済療法のどれによって研究されているかを明確にすべきである。例えば、限定的な生存期間の延長、特定の臓器機能の改善、同種移植片が利用可能になるまでの異種移植製品によるサポート、または、有益性が知られているか予測されない実験的使用などである。

d. 代替治療

また、インフォームド・コンセント文書では、異種移植製品が不成功に終わった場合に、参加者が利用できると予想される他の治療法の選択肢を詳細に説明すべきである。

e. 起こりうる結果とその後の治療方法

インフォームド・コンセントの文書では、可能な限り、異種移植製品に拒絶反応が起きたり、不可逆的な拒絶反応が起きた場合の患者への影響について、異種移植製剤が拒絶された後に不可能となる可能性のある他の選択肢（例えば、同種移植など）についての明確かつ十分に説明すべきである。

f. 機密保持の問題

インフォームド・コンセントでは、追跡期間中に収集されたデータを含め、すべてのデータが PHS 機関に提供される可能性があることを患者に知らせるべきである。

K. 新しい科学的情報を患者に伝える際のスポンサーの責任

レシピエントの臨床経過に関連するリスク、有益性、追加治療の必要性に関する新たなデータが入手可能になった場合、または必要になった場合には、可能な限り

速やかにレシピエントに最新の情報を提供することを約束すべきである。レシピエントが死亡し、その潜在的曝露に関連する新たな安全性情報が判明した場合には、レシピエントの家族に長期にわたって情報を提供することを確認すべきである。もしあなたが治験依頼者であれば、治験責任医師もレシピエントとその家族に新しい情報を提供することを約束する意思があることを確認すべきである。

X. 参考文献

1. PHS Guideline on Infectious Disease Issues in Xenotransplantation; January 2001.
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Xenotransplantation/ucm074727.htm>
2. Second WHO Global Consultation on Regulatory Requirements for Xenotransplantation Clinical Trials; October 2011.
http://www.who.int/transplantation/xeno/report2nd_global_consultation_xtx.pdf
3. Guidance for FDA Reviewers and Sponsors: Content and Review of Chemistry, Manufacturing, and Control (CMC) Information for Human Somatic Cell Therapy Investigational New Drug Applications (INDs); April 2008.
<http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Xenotransplantation/ucm074131.htm>
4. Guidance for Industry: Regulation of Genetically Engineered Animals Containing Heritable Recombinant DNA Constructs; #187; June 2015.
<http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/GuidanceComplianceEnforcement/GuidanceforIndustry/ucm113903.pdf>
5. Guidance for Industry: Potency Tests for Cellular and Gene Therapy Products; January 2011.
<http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM243392.pdf>
6. Guidance for Industry: Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers; June 2012.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM310098.pdf>
7. Guidance for Industry: Process Validation: General Principles and Practices; January 2011.
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/UCM070336.pdf>
8. Guidance for Industry: Eligibility Determination for Donors of Human Cells, Tissues, and Cellular and Tissue-Based Products (HCT/Ps); August 2007.

- <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Tissue/ucm091345.pdf>
9. Medical Devices Containing Materials Derived From Animal Sources (Except for In Vitro Diagnostic Devices) - Draft Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff; January 23, 2014. This document, when finalized, will supersede “Medical Devices Containing Materials Derived From Animal Sources (Except for In Vitro Diagnostic Devices)” issued November 6, 1998. <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/UCM381491.pdf>
 10. Guidance for Industry: Guidance for Human Somatic Cell Therapy and Gene Therapy; March 1998. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm072987.htm>
 11. Guidance for Industry: Public Health Issues Posed by the Use of Nonhuman Primate Xenografts in Humans; April 1999. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Xenotransplantation/ucm074730.htm>
 12. WHO Tables on Tissue Infectivity Distribution in Transmissible Spongiform Encephalopathies; 2010. <http://www.who.int/bloodproducts/tablestissueinfectivity.pdf>
 13. World Organisation for Animal Health (OIE). List of Bovine Spongiform Encephalopathy Risk Status of Member Countries. Negligible BSE risk. <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/official-disease-status/bse/list-of-bse-risk-status>
 14. Final rule: Bovine Spongiform Encephalopathy; Importation of Bovines and Bovine Products (December 4, 2013; 78 FR 72980). <https://www.federalregister.gov/documents/2013/12/04/2013-28228/bovine-spongiform-encephalopathy-importation-of-bovines-and-bovine-products>
 15. International Organization for Standardization, ISO 9001:2015 Quality Management Systems -- Requirements; September 2015. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_detail_ics.htm?number=62085
 16. USDA APHIS - BSE Diagnostics. https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/cattle-disease-information/sa_bse/ct_diagnostics

17. Final rule: Substances Prohibited From Use in Animal Food or Feed (April 25, 2008; 73 FR 22720).
18. Occupational Health and Safety in the Care and Use of Research Animals. The National Academies Press; 1997.
<http://www.nap.edu/catalog/4988/occupational-health-and-safety-in-the-care-and-use-of-research-animals>
19. Points to Consider in the Characterization of Cell Lines Used to Produce Biological Products; June 1984.
<http://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm081602.htm>
20. ICH Guideline: Derivation and Characterisation of Cell Substrates Used for Production of Biotechnological/Biological Products Q5D; July 1997.
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q5D/Step4/Q5D_Guideline.pdf
21. ICH Guideline: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances Q6A; October 1999.
<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
22. ICH Guideline: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products Q6B; March 1999.
<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
23. ICH Guideline: Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products Derived From Cell Lines of Human or Animal Origin Q5A(R1); September 1999.
<http://www.ich.org/products/guidelines/quality/article/quality-guidelines.html>
24. Michaels MG, Simmons RL. Xenotransplant-Associated Zoonoses. *Transplantation*. 1994;57:1-7.
25. Wilson CA, Wong S, Muller J, Davidson CE, Rose TM, Burd P. Type C Retrovirus Released from Porcine Primary Peripheral Blood Mononuclear Cells Infects Human Cells. *Journal of Virology*. 1998;72(4):3082-3087.
<http://jvi.asm.org/content/72/4/3082.full>
26. Martin U, Kiessig V, Blusch JH, Haverich A, von der Helm K, Herden T, Steinhoff G. Expression of Pig Endogenous Retrovirus by Primary Porcine Endothelial Cells and Infection of Human Cells. *The Lancet*. 1998;352:692-694.
<http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS014067369807144X.pdf>
27. Coffin J. Endogenous Viruses. In: Weiss R, Teich N, Varmus H, Coffin J, editors. *RNA Tumor Viruses: Molecular Biology of Tumor Viruses*. 2nd ed. Cold Spring

- Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1984. Chapter 10; 1109-1203.
28. McIntosh K. Diagnostic Virology. In: Fields BN, Knipe DM, Chenock, RM, Hirsch MS, Melnick JL, Monath TP, Roizman B, editors. Virology. 2nd ed. New York (NY): Raven Press; 1990
 29. Mattiuzzo G, Takeuchi Y, Scobie L. Potential Zoonotic Infection of Porcine Endogenous Retrovirus in Xenotransplantation. *Methods in Molecular Biology*. 2012;885:263-279. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22566002>
 30. International Organization for Standardization, ISO 14644-5:2004 Cleanrooms and Associated Controlled Environments -- Part 5: Operations;2013. http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=33445
 31. United States of Pharmacopoeia USP<1231> Water for Pharmaceutical Purposes. http://pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1231.html
 32. Guidance for Industry: Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing - Current Good Manufacturing Practice; September 2004. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070342.pdf>
 33. ICH Guideline: Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals S6(R1); June 2011. <http://www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html>
 34. Guidance for Industry: Preclinical Assessment of Investigational Cellular and Gene Therapy Products; November 2013. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/ucm376136.htm>
 35. Centers for Disease Control and Prevention 2007 Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings; 2007. <http://www.cdc.gov/hicpac/2007IP/2007isolationPrecautions.html>

遺伝子改変した異種臓器移植における感染症リスク WG レポート

山口照英、松山晃文、中村克樹、水上拓郎、保富康宏、内田恵理子

2024年3月までに、世界で3例のヒトへの異種臓器移植が実施され、2例はブタ由来心臓が、1例はブタ由来腎臓が他の治療法のない末期の患者に移植された(1)(2)。ドナーとして用いられたブタは様々な拒絶反応を抑えるためや移植臓器の機能のために10個の遺伝子が改変(ノックアウト・挿入)されており、特に免疫拒絶に関与する遺伝子改変が移植の成否に大きくかかわっていることが知られている。一方で、このような遺伝子改変が感染症伝播の観点からどのような作用を及ぼす可能性があるのか、その想定されるリスクについては十分に検討がなされていない。

これまで、非臨床試験としてサルでの長期の生着が認められており、その間、感染症伝播の徴候が認められなかったことから、異種感染症に対する安全性が担保されているとの意見もある(3)(4)。その一方で、サルでの長期の観察で異常がないことがヒトでの安全性を担保できるものではないこと、潜在性ウイルスは長期の潜伏期間の後に、臨床症状を示すことやがん化を引き起こすことが知られており、1-2年の観察での結果が必ずしも安全性を担保するものではないとの意見もある(FDA-GL)。特に潜在化することが知られているウイルスの検出は通常のアッセイ法では検出できないこともあり(5)、サルを用いた移植試験で感染症の安全性が担保されていると考えるのは尚早と思われる。

本文書では、異種移植による感染症伝播について、その遺伝子改変との関連を考察した。

1. Gal エピトープをノックアウトしたブタを用いることのリスク

糖鎖末端の Gal α 1-3Gal 構造(Gal エピトープ)はヒト及び多くの旧世界ザルを除く新世界ザルを含む多くの哺乳類が持つ糖鎖構造であり、この糖鎖構造を持つブタ臓器を人に移植した場合、超急性拒絶を引き起こすことから、この糖鎖末端に Gal を転移させる n-acetyl lactosaminide α 1,3 galactosyl transferase (Gal 転移酵素)のノックアウトが異種臓器移植に必須の遺伝子改変とされている。ゲノム編集技術を用いることにより Gal 転移酵素を容易にノックアウトすることができるようになった。Gal エピトープを発現しないドナー動物を容易に作成できることになり、超急性拒絶の制御が可能となった。その一方で、Gal エピトープのノックアウトが感染症、特にウイルス感染の制御に深く関与することが知られている(6)(7)(8)。そこで、Gal エピトープをノックアウトすることが動物に内在する感染因子に対してどのような影響を及ぼす可能性があるのか考察してみた。

ヒト霊長類、マダガスカルに生息するキツネザル類以外の旧世界ザルはこの Gal エピトープは持っておらず、そのために Gal エピトープに対して強い免疫応答を示すことが知られている(図1)。これは、腸内微生物などがもつ Gal エピトープの抗原刺激を受け、Gal エピトープに対して抗体産生が誘導されるためである。例えば、ヒトの IgG の約1%がこ

の Gal エピトープを認識する抗体であるといわれている(9)。これは Gal エピトープによって誘導された抗体が Gal エピトープを発現する異種微生物や毒素の中和に寄与していると考えられる。例えば、Gal エピトープを持つレトロウイルスをはじめ、多くのウイルスはヒト血清によって素早く中和されることが知られている(総説)。多くのエンベロープウイルスは宿主細胞膜をコートして出芽することから、宿主細胞膜に存在する糖鎖構造を持つことになる。このため、Gal エピトープの有無は、ウイルスが感染した細胞の特性に依存していることになる。Gal エピトープをノックアウトした遺伝子改変ブタに感染しているエンベロープウイルスでは、宿主と同様、Gal エピトープを持たずに出芽してくる。こ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、ヒトが持つ Gal 抗体による中和は期待できず、野生型ウイルスでは感染が起きない場合(種の壁)でも感染が成立する可能性がある。このようなリスクがどの程度起こりうるのか、Gal エピトープの発現と進化から考察してみる。

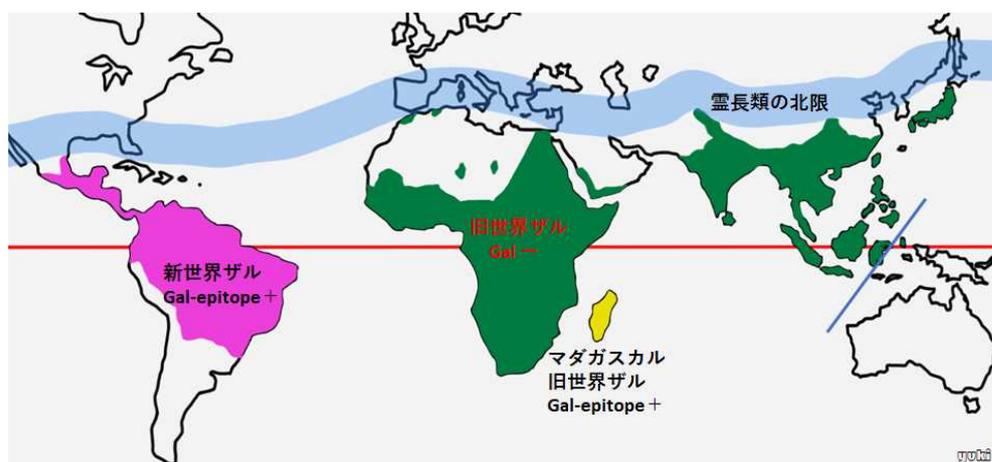


図 1 (霊長類分布の地理的すみわけ)

Gal エピトープの喪失は、ヒト霊長類が進化の過程で Gal 転移酵素のナンセンス変異(10), (11) (12)によって惹起された遺伝形質であり、そのゲノム解析からヒトや旧世界ザルの進化の過程において複数の変異を経てノックアウトされてきたと推察されている。この Gal 転移酵素がノックアウトされたことにより、これらの霊長類は Gal エピトープを異種抗原として強く認識するようになった。

一方、霊長類の進化の過程で Gal エピトープの喪失の経緯を系統発生から見た場合に、マダガスカル以外の地域に生息する旧世界ザルやヒト類人猿はすべて Gal エピトープを喪失している。一方、化石学から、新世界ザルと共通の祖先がアフリカ大陸にも存在していたこと、さらに分子進化から見た Gal エピトープの喪失時期はそれよりも後(図 2)であることなどから、アフリカには Gal エピトープを持つサルと持たないサルが混在していたことが化石学及び遺伝子進化学から推定されている(13)。また Gal 転移酵素のナンセンス変

異は 20 地質年代 (Ma) ごろに起きたと推察されている(12)。マダガスカルに移住したキツネザル類は、旧世界ザルに分類されるにもかかわらず Gal エピトープを持っているが、Gal 転移酵素の変異が旧世界ザルに出現するよりも前の時代にアフリカ大陸から地理的隔離を受けたことにより、アフリカ大陸で起こった Gal エピトープを持つサルの選択圧から逃れることができたと考えられている (図 2)。

一方、新世界ザルは旧世界ザルの Gal 転移酵素のナンセンス変異が成立する前に新大陸に移住していることが化石から知られており、このような選択圧を受けなかったために南米の新世界ザルはすべて Gal エピトープを持つことになったこと、さらに南米大陸ではアフリカ大陸で起きた Gal エピトープの有無による進化圧がなかったと推定されている(13) (8)。

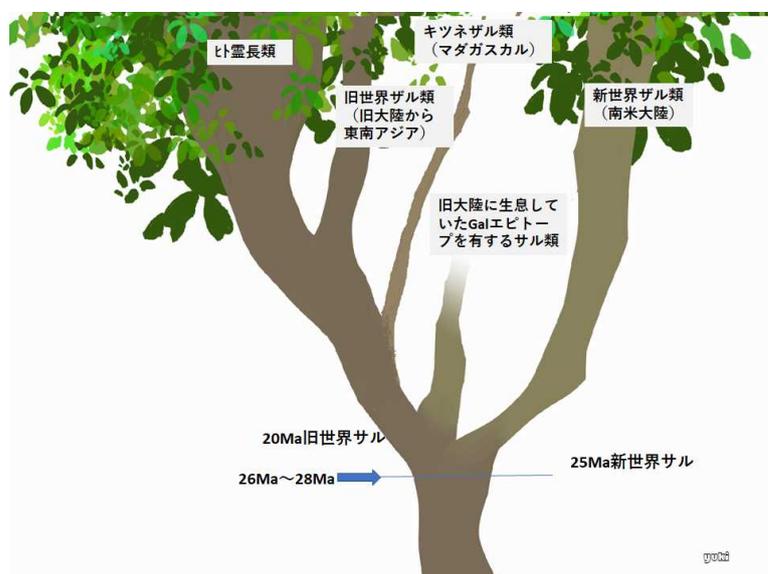


図 2. 霊長類の進化系統樹

以上のように、ヒト霊長類及び非ヒト霊長類が世界的に Gal エピトープの有無で地理的棲み分けが成立していることの要因 (進化圧) について様々な説がだされている。少なくともその解釈として、Gal エピトープを持つ非ヒト霊長類の中にそのエピトープを持たない新種が出現すると、Gal エピトープに対する抗体を持つ種のみが生存に適するという選択圧がかかってしまったことについては異論はない。その選択圧をかけた要因としては、ウイルス、細菌感染、寄生虫、さらにはこれらの微生物が産生する毒素など、様々な感染症に関連していることについても異論はない。以上のように、霊長類の進化において Gal エピトープに対して強い選択圧をかけたことは、ある意味 Gal エピトープが種の壁を形成していることに他ならない。

現在開発中の異種臓器移植では、種の壁として成立した Gal エピトープによる超急性拒絶を乗り越える必須の手段として遺伝子改変が用いられており、異種移植の実用化におい

で最も重要な改変技術となっている。その一方で、本来 Gal エピトープを持つことによって異種感染症（主にエンベロープウイルス）を伝播させないという種の壁を乗り越えて感染症を引起す潜在的なリスクがある。

ヒトや旧世界ザル以外の哺乳類に感染しているエンベロープウイルスは、宿主の糖鎖合成系の影響を受け、ビリオンの外側に Gal エピトープを持っている。現在開発中の遺伝子改変ブタでは Gal エピトープがロックアウトされているため、ブタに感染しているウイルスはこの Gal エピトープを持たないウイルスになると考えられる。こ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、ヒト体内で Gal エピトープ抗体によって不活化を受けることなく感染が成立してしまう可能性が想定される。Gal エピトープ抗体によってのみ感染防御が成り立っているわけではないが、Gal エピトープを持たないブタ由来ウイルスが、種の壁を越えて感染が成立する可能性を十分考慮する必要がある。

2. ヒト補体制御因子を遺伝子導入した組換えブタの創製とそれにとまなうウイルス安全性の懸念点 — ヒト補体制御因子の導入とウイルス感染特性の変化

異種移植において補体依存性の拒絶反応を抑制するために、ヒト補体制御因子の遺伝子をドナー動物に導入する遺伝子改変が試みられている。これは、ヒト補体制御因子を導入することにより、ドナー動物の異種臓器をヒト体内に移植した際に惹起される補体による移植組織の損傷を抑制することを目的としている。すなわち、ヒトの補体制御因子を導入するのはその補体制御作用に種特異性があり、異種移植においては臓器を移植されるヒトの補体制御因子の発現が必要なためである。この補体制御因子としては、CD46 (Membrane Cofactor Protein: MCP)、CD55 (decay-accelerating factor: DAF)、CD59 (Membrane Inhibitor of Reactive Lysis : MIRL) が知られている。

一方で、多くのウイルス（特にエンベロープウイルス）は、感染した宿主細胞膜の補体制御因子をその膜構造と共にコートして出芽してくる。すなわち、遺伝子改変された異種臓器移植においてヒト補体制御因子を導入することにより、ドナー動物に内在するウイルスにヒト補体制御因子を付与してしまうことが想定される。

補体反応では、C1 から C9 の分子が次々と活性化しているカスケードを形成しており、主として古典的経路 Classical pathway、C3 の活性化から始まる代替経路/第 2 経路 Alternative Pathway に加えてレクチンによる活性化（レクチン経路）が知られている。補体制御因子は補体活性化経路のキーとなる C3b や最終的な膜結合重合体 (C6-8/C9) を制御することにより、異常な補体活性化等を制御していることが知られている（図 1、表 1）。すなわち外来性感染因子に対する補体の活性化と、一方で、生体そのものに対する補体活性化による有害事象を避けるための活性化を制御する機構であり、その重要な役割をしているのが、膜結合性補体制御因子である。ウイルスはこの補体制御因子を巧妙に利用することにより、補体の攻撃から逃れるという戦略をとっている。すなわち、感染した細胞の補体制御因子をコートして出芽することにより補体の活性化を回避しようとしており、その補体

制御因子が種特異性を持つとされている(14) (15) (16) (17) (18)。

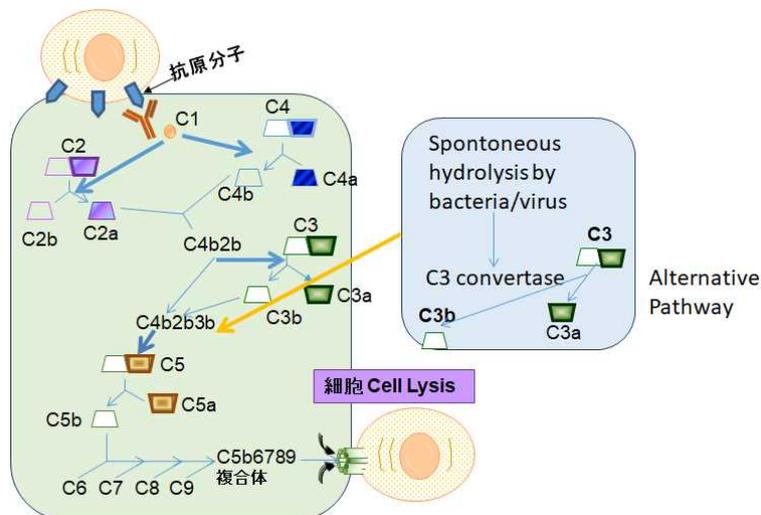


図 3 表題

表 1 (表題)

	Target 分子	カスケード	構造
CD46 (MCP)	C3b 及び C4b に結合して分解	補体の古典的経路または第二経路の調節に関与	膜貫通タンパク質
CD55	C3b/C3Bb 転換酵素 及び C4b/C4b2a 転換酵素	補体の古典的経路または第二経路の調節に関与	GPI リンカー膜タンパク質
CD59	活性化されて膜攻撃複合体 (MAC)を形成する際、C5b-8 への C9の結合を阻止	補体活性化によって形成される最終段階の膜障害性を回避	GPI リンカー膜タンパク

ドナーブタへのヒト補体制御因子の導入は、ヒト体内に移植された異種臓器に対する補体カスケードの活性化を制御するために重要な遺伝子改変であり、これまでのデータから非常に合理的な戦略といえる。本来、補体の活性化の制御に種特異的な補体制御因子を導入するのは、異種臓器を移植した時の補体に対する寛容性を目指す改変である。ただこの改変は、ドナー動物に内在するウイルスにも影響を与えることになる。

2022 年、2023 年に異種心臓移植に用いられたドナーブタでは、DAF (CD55) と CD46

の 2 つの膜結合性ヒト補体制御因子の遺伝子導入が行われていた(19)。DAF も CD46 も C3b を介する補体カスケードの活性化を阻害する。一方、ヒト CD59 遺伝子を導入した遺伝子改変ブタ肺を用いてヒト血液を還流した時の補体制御(20) や、CD59 と CD55 を同時に導入したブタ腎臓をヒヒに移植することも行われている(21) (21)。

ドナーブタにヒト膜結合性補体制御因子の遺伝子を導入することによって、ヒト体内に移植された臓器への補体による拒絶反応を回避できると期待されている。一方、ドナーブタに存在しているエンベロープウイルスがヒト補体制御因子をコートして、ヒトに移植されることがどのような影響を与えるかを考えてみる必要がある。すなわち、多くのウイルス（主としてエンベロープウイルス）が、感染時に宿主の補体活性化を避ける戦略として宿主の補体制御因子を利用していることの影響を考慮する必要がある。このような補体制御因子を利用して感染時の不活化を回避する戦略として、ウイルスは補体制御因子に類似した構造タンパク質の遺伝子を持つといった点からも重要な示唆が与えられる(22)。

上記した様に、補体制御因子の機能には種差があり、ウイルスが同じ種の宿主に感染する場合には、効率的に補体活性化を回避できる可能性が高いが、種の異なる動物への感染では必ずしもこの戦略が功を奏しない場合もある。現在開発されている遺伝子改変された異種動物はヒト補体制御因子を発現しており、ドナー動物のエンベロープウイルスはヒト補体制御因子をコートしてくる可能性が高い。このために、本来、異種のドナー動物ウイルスはヒトに感染しても補体系で不活化されることが期待されるにもかかわらず、ウイルスがヒト補体制御因子を持つことによって、ヒト体内での補体系による不活化を回避してしまう可能性がある。異種移植で、ヒト補体制御因子の導入によるこのようなリスクを明確に示すことは困難と思われるが、このような感染リスクについての対策を検討する必要がある。

ヒト補体制御因子の導入によって想定されるもう一つのリスクは、多くのウイルスが細胞膜に存在する補体制御因子を宿主感染への受容体として利用している点である。例えば、ワクシニアウイルス(23)、麻疹ウイルス(24)、ヒトヘルペスウイルス-6 (HHV-6)(25)は CD46 を、エコーウイルス(26)やコクサッキーB ウィルス(27)は CD55 を感染受容体として利用している。さらに Varicella-zoster virus は感染した細胞の CD59 発現を誘導し、補体系による細胞傷害を防ぐ働きをすることが報告されている(28)。

遺伝子改変された動物がヒト補体制御因子を発現することにより、本来ドナー動物に感染しないヒト指向性ウイルスが、種特異性を飛び越えてドナー動物に感染するリスクが想定される。さらに、これらの補体制御因子を受容体として利用しているヒトウイルスがドナー動物に感染するリスクも想定されるが、その詳細については不明な点もある。例えば HHV6 は霊長類には感染するがげっ歯類等には感染しないために、動物感染モデルがないことが報告されている。どれほどの交差性があるのかも十分な情報がない。

従って、補体制御因子の導入は、動物由来ウイルスの種を超えた感染とヒト等のウイルスの動物への感染の両面から検討が必要と考えられる。

3. グリコリルノイラミン酸 (Neu5Gc) ノックアウトブタ

異種抗原として Gal エピトープの他、Neu5Gc、Sda 抗原（血液型抗原）をノックアウトするブタ（トリプルノックアウト：TKO）を用いたドナーブタを eGenesis 社が作成しており、Gal エピトープ単独の KO より免疫拒絶が低いとされている(19)。Neu5Gc はヒトのみが発現していない抗原であり、Alu 配列の融合により 2 – 3 Ma にかけて機能を喪失したとされている(29)。ヒトは、本エピトープに対して強度の差異はあるものの抗体を有しているとされている。Neu5Gc の有無は、細胞間や細胞と細胞外マトリックスとの相互作用に大きな影響を与えるばかりでなく、非ヒト由来の感染因子や毒素に対する認識にも関与する。ウイルスや寄生虫、細菌などの認識機構として働くことが明らかにされている(30) (31) (32) (33); (34)。異種移植でのブタ臓器のサルへの長期生着は TKO を用いて達成されており(19)、またヒトへ投与されたブタ由来臓器は Neu5Gc を KO したブタが用いられている。

補体制御因子と同様に、膜糖タンパク質や糖脂質は、ウイルスの出芽とともにそのウイルスビリオンにコートされて出てくる。Neu5Gc をはじめとするノイラミン酸類は、ウイルス受容体としての特異性にも関与しており、ノイラミン酸の発現はウイルスの指向性に大きな影響を与える。Neu5Gc 転移酵素の喪失によって、ネアンデルタール人から現代人はこの Neu5Gc を喪失しているが、これはヒト進化の中では現代のヒト類の成立に非常に近いところであり、Neu5Gc を持たないことがヒト類の選択圧になったとされている。その選択圧として最も合理的な説明としては、Neu5Gc を持つウイルスや毒素などに対する防御機構として働いたというものである。Neu5Gc を持たない動物由来のウイルスは、異なった指向性を示す可能性がある(35)。

ただ、Neu5Gc 合成をノックアウトすることによって、どれほど異種感染症のリスクが増加するかは現時点では不明であり、Gal エピトープに対するリスクと同様に、潜在的なリスクが存在することを念頭に対策を考えるべきであろう。

4. 遺伝子改変と感染症リスクのまとめ

遺伝子改変された異種臓器移植では、拒絶反応の制御のため、1)Gal エピトープのノックアウト、2)ヒトの膜結合性補体制御因子遺伝子の導入、3)Neu5Gc のノックアウトなどが行われており、異種臓器の生着に有効な手段となっている。その一方で、これらの遺伝子改変が感染症伝播にどのようなリスクをもたらす可能性があるのかは、現時点で明確な答えはない。ただ、少なくとも遺伝子改変がウイルス感染などに影響を与える可能性は否定できず、むしろ現時点では十分な知見がないといえる。少なくとも、これまで経験のない種を超えた感染伝播が起きた場合には、患者のみならず患者家族、あるいは医療従事者に加え、公衆衛生に大きな影響を及ぼす可能性を認識しておく必要がある。例えば、種を超えた感染症（HIV、エボラウイルス、SARS 等）が大きなアウトブレイクを起こしたことも念頭におくべきであろう。

遺伝子改変に伴い想定されるリスクに対して必ずしも明確な対処法があるわけではない

が、特に潜伏感染するウイルスの場合や未知のウイルスに関しては、遺伝子解析によるアッセイ法が必ずしも有用とは言えず、可能な限りヒトへの感染症を引き起こす因子についてより広範なウイルスを検出できる検査を実施するとともに、異種移植臓器の製造において用いられるすべての動物の検査や管理を徹底することが重要と思われる。さらに事前の検査のみならず、移植後の患者や患者家族等のモニタリングにより感染の兆候を見逃さない対策が求められる。

参考文献

1. Griffith BP, Goerlich CE, Singh AK, Rothblatt M, Lau CL, Shah A, et al. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(1):35-44.
2. Uzoigwe CE, Ali O. Genetically Modified Porcine-to-Human Cardiac Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(14):1337.
3. Fishman JA. Risks of Infectious Disease in Xenotransplantation. *The New England journal of medicine*. 2022;387(24):2258-67.
4. Denner J. Virus Safety of Xenotransplantation. *Viruses*. 2022;14(9).
5. Ghielmetti M, Millard AL, Haerberli L, Bossart W, Seebach JD, Schneider MK, et al. Human CMV infection of porcine endothelial cells increases adhesion receptor expression and human leukocyte recruitment. *Transplantation*. 2009;87(12):1792-800.
6. Galili U. Biosynthesis of α -Gal Epitopes (Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc-R) and Their Unique Potential in Future α -Gal Therapies. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2021;8.
7. Galili U, Tanemura M. Significance of .ALPHA.-Gal (Gal.ALPHA.1-3Gal.BETA.1-4GlcNAc-R) Epitopes and .ALPHA.1,3 Galactosyltransferase in Xenotransplantation. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*. 1999;11(62):317-27.
8. Welsh RM, O'Donnell CL, Reed DJ, Rother RP. Evaluation of the Galalpha1-3Gal epitope as a host modification factor eliciting natural humoral immunity to enveloped viruses. *J Virol*. 1998;72(6):4650-6.
9. Galili U. Anti-Gal: an abundant human natural antibody of multiple pathogenesis and clinical benefits. *Immunology*. 2013;140(1):1-11.
10. Joziassse DH, Shaper JH, Van den Eijnden DH, Van Tunen AJ, Shaper NL. Bovine alpha 1-3-galactosyltransferase: isolation and characterization of a cDNA clone. Identification of homologous sequences in human genomic DNA. *The Journal of biological chemistry*. 1989;264(24):14290-7.
11. Larsen RD, Rivera-Marrero CA, Ernst LK, Cummings RD, Lowe JB. Frameshift and nonsense mutations in a human genomic sequence homologous to a murine UDP-Gal:beta-D-Gal(1,4)-D-GlcNAc alpha(1,3)-galactosyltransferase cDNA. *The Journal of biological chemistry*.

1990;265(12):7055-61.

12. Galili U, Swanson K. Gene sequences suggest inactivation of alpha-1,3-galactosyltransferase in catarrhines after the divergence of apes from monkeys. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88(16):7401-4.
13. Galili U, Clark MR, Shohet SB, Buehler J, Macher BA. Evolutionary relationship between the natural anti-Gal antibody and the Gal alpha 1---3Gal epitope in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(5):1369-73.
14. Houle JJ, Hoffmann EM. Evidence for restriction of the ability of complement to lyse homologous erythrocytes. *J Immunol*. 1984;133(3):1444-52.
15. Harris DG, Benipal PK, Cheng X, Burdorf L, Azimzadeh AM, Pierson RN. Four-dimensional characterization of thrombosis in a live-cell, shear-flow assay: development and application to xenotransplantation. *PloS one*. 2015;10(4):e0123015.
16. Mehlhop E, Diamond MS. Protective immune responses against West Nile virus are primed by distinct complement activation pathways. *The Journal of experimental medicine*. 2006;203(5):1371-81.
17. Delgado MF, Polack FP. Involvement of antibody, complement and cellular immunity in the pathogenesis of enhanced respiratory syncytial virus disease. *Expert Rev Vaccines*. 2004;3(6):693-700.
18. Stoermer KA, Morrison TE. Complement and viral pathogenesis. *Virology*. 2011;411(2):362-73.
19. Ma D, Hirose T, Lassiter G, Sasaki H, Rosales I, Coe TM, et al. Kidney transplantation from triple-knockout pigs expressing multiple human proteins in cynomolgus macaques. *Am J Transplant*. 2022;22(1):46-57.
20. Kulick DM, Salerno CT, Dalmasso AP, Park SJ, Paz MG, Fodor WL, et al. Transgenic swine lungs expressing human CD59 are protected from injury in a pig-to-human model of xenotransplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2000;119(4 Pt 1):690-9.
21. Ménoret S, Plat M, Blancho G, Martinat-Botté F, Bernard P, Karam G, et al. Characterization of human CD55 and CD59 transgenic pigs and kidney xenotransplantation in the pig-to-baboon combination. *Transplantation*. 2004;77(9):1468-71.
22. Agrawal P, Nawadkar R, Ojha H, Kumar J, Sahu A. Complement Evasion Strategies of Viruses: An Overview. *Front Microbiol*. 2017;8:1117.
23. Kumar J, Yadav VN, Phulera S, Kamble A, Gautam AK, Panwar HS, et al. Species Specificity of Vaccinia Virus Complement Control Protein for the Bovine Classical Pathway Is Governed Primarily by Direct Interaction of Its Acidic Residues with Factor I. *J Virol*. 2017;91(19).
24. Seya T. CD46, a complement regulatory protein/measles virus receptor, and its relation

- to hematological disorders. *Int J Hematol.* 1996;64(2):101-9.
25. Santoro F, Greenstone HL, Insinga A, Liszewski MK, Atkinson JP, Lusso P, et al. Interaction of glycoprotein H of human herpesvirus 6 with the cellular receptor CD46. *The Journal of biological chemistry.* 2003;278(28):25964-9.
26. Ward T, Pipkin PA, Clarkson NA, Stone DM, Minor PD, Almond JW. Decay-accelerating factor CD55 is identified as the receptor for echovirus 7 using CELICS, a rapid immuno-focal cloning method. *The EMBO journal.* 1994;13(21):5070-4.
27. Bergelson JM, Chan M, Solomon KR, St John NF, Lin H, Finberg RW. Decay-accelerating factor (CD55), a glycosylphosphatidylinositol-anchored complement regulatory protein, is a receptor for several echoviruses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(13):6245-8.
28. Wang W, Wang X, Yang L, Fu W, Pan D, Liu J, et al. Modulation of host CD59 expression by varicella-zoster virus in human xenografts in vivo. *Virology.* 2016;491:96-105.
29. Stehle T, Khan ZM. Rules and exceptions: sialic acid variants and their role in determining viral tropism. *J Virol.* 2014;88(14):7696-9.
30. Alisson-Silva F, Liu JZ, Diaz SL, Deng L, Gareau MG, Marchelletta R, et al. Human evolutionary loss of epithelial Neu5Gc expression and species-specific susceptibility to cholera. *PLoS Pathog.* 2018;14(6):e1007133.
31. Campanero-Rhodes MA, Smith A, Chai W, Sonnino S, Mauri L, Childs RA, et al. N-glycolyl GM1 ganglioside as a receptor for simian virus 40. *J Virol.* 2007;81(23):12846-58.
32. Deng L, Song J, Gao X, Wang J, Yu H, Chen X, et al. Host adaptation of a bacterial toxin from the human pathogen *Salmonella Typhi*. *Cell.* 2014;159(6):1290-9.
33. Kyogashima M, Ginsburg V, Krivan HC. *Escherichia coli* K99 binds to N-glycolylsialoparagloboside and N-glycolyl-GM3 found in piglet small intestine. *Arch Biochem Biophys.* 1989;270(1):391-7.
34. Martin MJ, Rayner JC, Gagneux P, Barnwell JW, Varki A. Evolution of human-chimpanzee differences in malaria susceptibility: relationship to human genetic loss of N-glycolylneuraminic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102(36):12819-24.
35. Wielgat P, Rogowski K, Godlewska K, Car H. Coronaviruses: Is Sialic Acid a Gate to the Eye of Cytokine Storm? From the Entry to the Effects. *Cells.* 2020;9(9).