



INTERNATIONAL  
SOCIETY FOR  
STEM CELL  
RESEARCH

2024年10月15日  
Web会議 (Zoom)

慶應義塾特定認定再生医療等委員会 (2024-07)

# 国際幹細胞学会 (ISSCR) 「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」について



佐藤 陽治

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部長

日本再生医療学会 理事

ISSCR Manufacturing, Clinical Translation  
& Regulatory Committeeメンバー



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## Standards for Human Stem Cell Use in Research

JUNE 2022  
www.isscr.org

SUPPORTED  
BY:

BURROUGHS  
WELLCOME  
FUND

DD  
DORIS D. DUKE  
CHARITABLE FOUNDATION

SFARI



## サマリー（本文書の要約）

- ヒト由来の組織幹細胞や多能性幹細胞（ES/iPS細胞）と、それらを活用したin vitroのモデルシステムを研究で利用する場合の品質基準を明確にするとともに、中核的な基本原則について概説したもの。
- 研究施設内・施設間または細胞株間での幹細胞研究の再現性の向上を実現するためのベストプラクティス（作業基準）
- ヒト幹細胞を扱う基礎研究を行う研究施設の研究者や学生、技術者に向けた、特性評価や報告事項の最低限の基準

## SnapShot

# Reporting practices for publishing results with human PSCs and tissue stem cells

ISSCR Task Force for Basic Research Standards<sup>1</sup>

<sup>1</sup>International Society for Stem Cell Research, Skokie, IL 60077, USA

## STEM CELL REPORTS



Standards  
for Human  
Stem Cell  
Use in  
Research

### Metadata

<i>Describe the source of the cells/cell line including:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Name (or names)/alias of line	1.4; 5.1.2	
Unique ID/registry # (name of registry)	1.4	
Source (vendor and catalog number if obtained commercially); biopsy site and derivation details (if derived)	4.1.1; 5.1	
Additional metadata as applicable (e.g., sex, ethnicity, disease information, known mutations, etc.)	4.1.2; 5.4.1	

### Culture details

<i>Describe methods used for isolation, maintenance, and preservation of the cells including:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Passaging/dissociation/split ratio	3.2; 4.2.2; 5.1.1	
Freezing and thawing	5.1.1	
Culture reagents used (e.g., media, matrices, growth factors, etc.) with vendor and catalog number	4.2.2; 5.1.1	
The passage number of the cryopreserved/characterized Master Cell Bank or Working Cell Bank stocks used, and the number of subsequent passages prior to and during experimentation	1.2; 3.2.2; 5.1.1	

### Basic characterization

<i>Describe the assessment of the following including when they were performed relative to the experiments:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Authentication	1.3; Appendix 1	
Mycoplasma	1.6; Appendix 1	
Sterility (bacteriostasis/fungistasis)	1.6; Appendix 3	

### Genomic characterization

<i>Describe the genomic characterization including:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Methodology used including sufficient detail to allow an assessment of sensitivity (e.g. the number of cells analyzed/resolution/depth of analysis)	3.1; 5.3; Appendix 5	
Timing of analysis in relation to key experiments reported	3.2	

### Characterization of pluripotency and the undifferentiated state (PSCs only)

<i>Describe the following:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Assay methodology	2.1; 2.2; 5.2; Appendix 4	
Quantitative results along with statistical analysis	2.1; 2.2; 5.2; Appendix 4	
Timing of analysis in relation to key experiments reported	2.1; 2.2; 5.2	

### Confirmation of cell type (TSCs only)

<i>Describe the characterization of the following:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Starting population(s) with recognized markers and methods	4.1; 4.3.1; 5.4.1	
Phenotype of expanded cells	4.1; 4.3.1; 5.4.1	
Demonstration of lineage potential	4.1; 4.3.1	

### Molecular characterization

<i>Describe the following:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Confirmation of disease mutation (if applicable)	4.3.4	
Confirmation of genetic modification (if applicable)	4.4.3; 4.4.4	

### Experimental details

<i>Describe the following:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Information regarding the experimental unit or sample type for each experiment (e.g. individuals, cell lines, clones, tissues, organoids, devices, batches, cells, etc.)	4.4.4; 5.4.2	
Number of replicates (biological/technical)	4.2.2; 5.4.2	

### Data practices

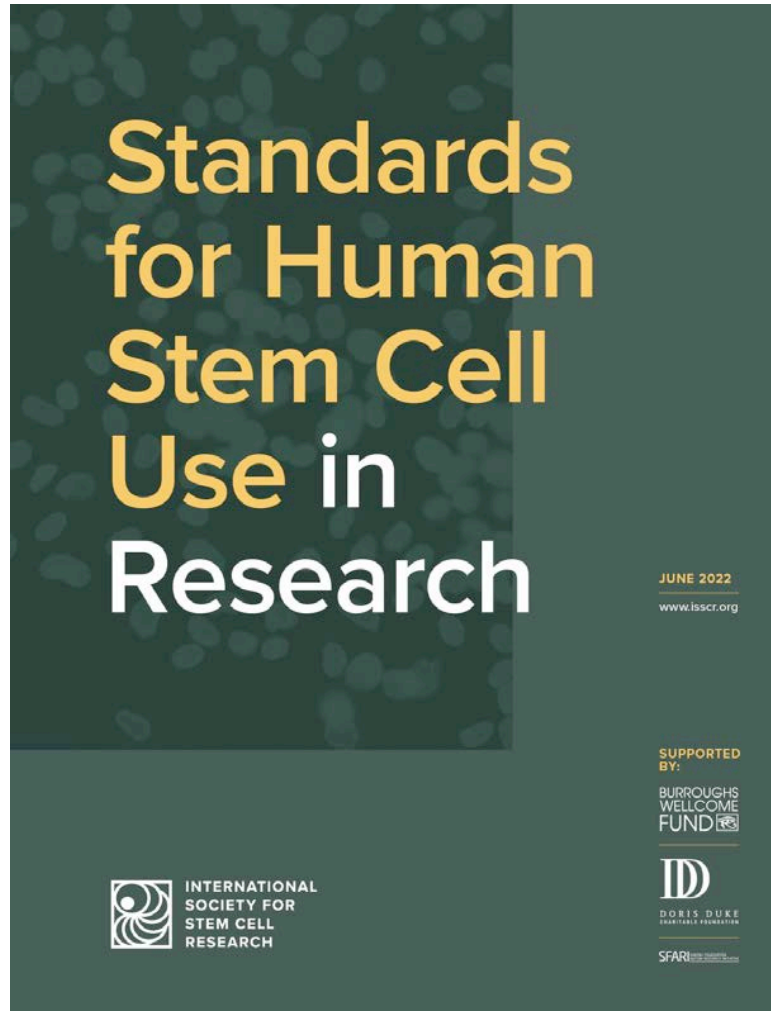
<i>Information on:</i>	Reference section	Page reported in manuscript
Statistical methods used	4.4.1; 5.4.2	
Inclusion of the data and annotation code/software used for phenotype classification for computationally derived classifiers (if applicable)	5.4.4	
Verification that FAIR ( <a href="https://www.go-fair.org/fair-principles">https://www.go-fair.org/fair-principles</a> ) and CARE ( <a href="https://www.gida-global.org/care">https://www.gida-global.org/care</a> ) data management principles were followed	5.4.4	

ヒト幹細胞を用いた研究結果の発表時の開示事項





# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」



<https://www.isscr.org/standards-document>

日本再生医療学会  
による日本語訳  
も閲覧できます。

# ヒト幹細胞加工製品の前臨床研究を含むヒト幹細胞研究において ISSCRが科学者に推奨する品質基準と基本的な基本原則



## Standards for Human Stem Cell Use in Research

JUNE 2022  
www.isscr.org

SUPPORTED  
BY:

BURROUGHS  
WELLCOMBE  
FUND

DD  
DORIS DUKE  
CHARITABLE FOUNDATION

SFARI



### Steering Committee

Tenneille Ludwig, Co-Chair  
*WiCell Research Institute (USA)*

Peter Andrews, Co-Chair  
*The University of Sheffield (UK)*

Ivana Barbaric  
*The University of Sheffield (UK)*

Nissim Benvenisty  
*Hebrew University (Israel)*

Madeline Lancaster  
*MRC Laboratory of Molecular Biology (UK)*

Christine Mummery  
*Leiden University Medical Center (Netherlands)*

Martin Pera  
*The Jackson Laboratory (USA)*

Yoji Sato  
*National Institute of Health Sciences (Japan)*

Glyn Stacey  
*International Stem Cell Banking Initiative (UK)*

Christine A. Wells  
*University of Melbourne (Australia)*

Tongbiao Zhao  
*Institute of Zoology Chinese Academy of Sciences, Beijing  
Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine, Beijing  
(China)*

### Working Group Members

#### Genomic Characterization

Ivana Barbaric, Co-Chair  
*The University of Sheffield (UK)*

Tenneille Ludwig, Co-Chair  
*WiCell Research Institute (USA)*

Peter Andrews  
*The University of Sheffield (UK)*

Nissim Benvenisty  
*Hebrew University (Israel)*

Martin Pera  
*The Jackson Laboratory (USA)*

Yoji Sato  
*National Institute of Health Sciences (Japan)*

Claudia Spits  
*Vrije Universiteit Brussel (Belgium)*

Tongbiao Zhao  
*Institute of Zoology Chinese Academy of Sciences, Beijing  
Institute for Stem Cell and Regenerative Medicine, Beijing (China)*



執筆メンバーの大半は、幹細胞研究者であり、  
規制当局者や規制科学研究者でない。



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

4.0 幹細胞ベースのモデルシステム

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と  
多系統分化のモニタングのための  
マーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表において  
開示すべき事項



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 【本日のお話】

### ヒト幹細胞由来の特定細胞加工物の品質・実験データの再現性の評価にも関係のある事項を中心に

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と多系統分化のモニタングのためのマーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表において開示すべき事項

ヒト組織の生理機能の *in vitro* 模倣システム



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

### サマリー（要約）

#### 緒言

#### 1.0 基本的な特性評価

#### 2.0 多能性および未分化状態

#### 3.0 ゲノムの特性評価

#### ~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

#### 5.0 結果発表時の開示事項

#### 付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

#### 付録 2 命名基準

#### 付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

#### 付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と 多系統分化のモニタングのための マーカー

#### 付録 5 遺伝子解析法の評価

#### 付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表におい て開示すべき事項





# 緒言（抜粋）

- 幹細胞研究の主な目標の1つは、幹細胞の挙動を制御する機序を特定し、それらを利用することで、基礎研究や前臨床研究で有益な様々な細胞種または組織の生成を可能にすることにあります。
- 研究の結果と成果に正確性と頑健性をもたせるには、再現性と信頼性を保証する高い基準をあらゆるステージの研究に適用する必要があります。
- 基準を設定しそれに従うことは、研究者を成功に導き、前臨床研究の厳密性を確保するものであり、最終的に患者のための治療薬のパイプラインを強化するものです。



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と  
多系統分化のモニタングのための  
マーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表におい  
て開示すべき事項



# 1.0 基本的な特性評価

## 1.1 原材料の入手

1.2 幹細胞株樹立・入手後のバイオバンク化

1.3 同一性（取り違えのないこと）の確認・保証

1.4 命名法

1.5 リプログラミング用導入遺伝子の除去の検証

1.6 細胞の清浄性の保証

に関する具体的な推奨事項



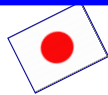
# 1.0 基本的な特性評価

## 1.1 原材料の入手

### 推奨事項 1.1.1:

原材料（例：ドナーサンプル、初代組織、または細胞株）は、当該のドナーおよび供給元/提供者のすべての制約を取り込んだ適切な研究材料提供契約書(MTA)を使用し、研究施設間で譲渡する必要があります。研究者および研究施設のスタッフは、いかなる実験も、その開始前に上述の契約書を読んで理解し、そのほかに材料および当該データの使用に関連する現地（例：機関、地方自治体、政府）の規則ならびに義務に精通している必要があります。

#### 【参考】日本の主な規制



- 人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針
- ヒトES細胞の樹立に関する指針，ヒトES細胞の分配機関に関する指針，ヒトES細胞の使用に関する指針
- ヒトに関するクローン技術等の規制に関する法律、特定胚の取扱いに関する指針
- 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律
- （臨床応用時に適用）再生医療等提供基準，生物由来原料基準，薬機法





# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と  
多系統分化のモニタングのための  
マーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表において  
開示すべき事項

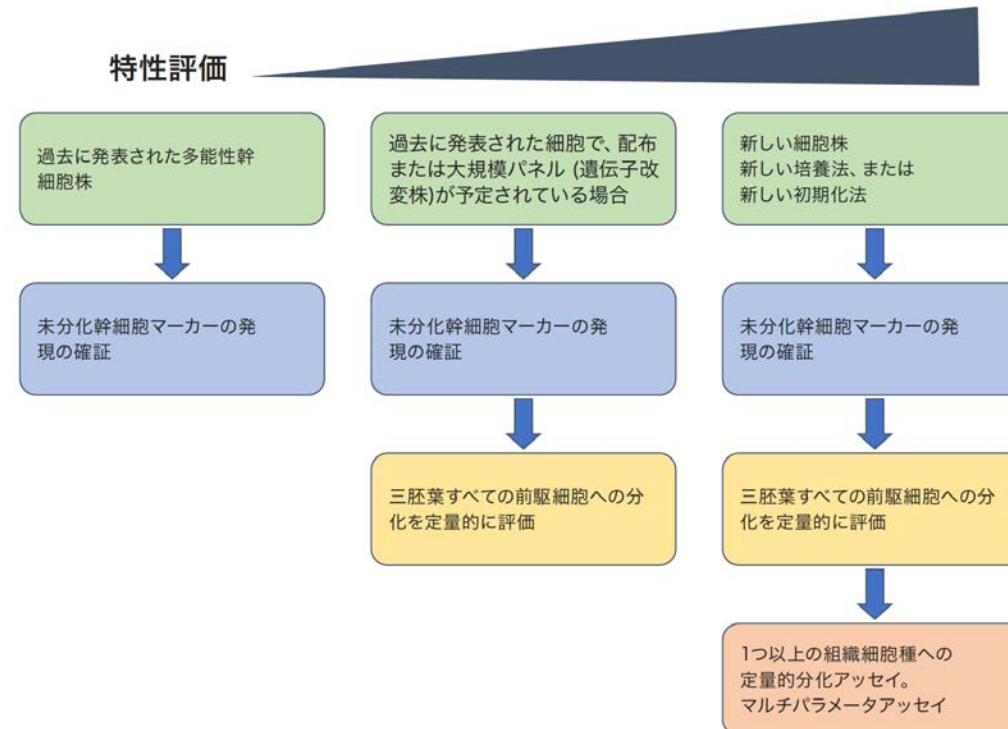


## 2.0 多能性および未分化状態

### 2.1 多能性の評価

#### 推奨事項 2.1.1:

ヒト細胞の多能性については、分化能を評価するアッセイで実験的に証明する必要があります。分化能は、未分化状態のマーカーの消失に加え、外胚葉、内胚葉、中胚葉の三胚葉系統を代表する複数のマーカーを定量的に測定することで示すものとしします。





## 2.0 多能性および未分化状態

### 2.2 未分化の状態

#### 推奨事項 2.2.1:

既知の細胞表面マーカーや遺伝子発現は、細胞株の未分化状態の評価およびモニタリングに使用できます。ただし、そのようなマーカーの発現は機能的多能性を示すものではありません。

- 未分化細胞に存在するマーカー（OCT4やNANOGなど） はいずれも多能性幹細胞だけに特異的に発現するものではないにもかかわらず、多能性幹細胞を同定するために誤って使用 されることが多々あります。
- これらの未分化細胞マーカーの発現だけによって多能性を定義することができないため、多能性マーカーと呼ぶべきではありません。



# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と  
多系統分化のモニタングのための  
マーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表において開示すべき事項





## 3.0 ゲノムの特性評価

- 幹細胞は、培養時に遺伝子変異を獲得します。
- 変異体は最初は単一の異常細胞として出現しますが、それらのモザイクのレベルは、変異が細胞に付与する特性に応じて経時的に変化する可能性があります。
- たとえば、培養時に選択的に優位な増殖性をもつ変異細胞は急速に増殖し、野生型細胞をしのいで圧倒的多数となることができます。
- 増殖の優位性とは別に、遺伝子の変異は幹細胞の表現型や挙動のさまざまな特徴を変化させる可能性があります。
- さらに、培養中に獲得された遺伝子変異は、変異を持った幹細胞に由来する分化細胞の挙動にも影響を与える可能性があります。
- 遺伝子改変は細胞の性質を変化させることにより幹細胞やそれに由来する分化細胞から得られた結果の空間再現精度や併行精度に影響を与える可能性があります。
- したがって、本セクションでは、**培養によって獲得される遺伝的变化がありうるということから幹細胞のストックや培養細胞をモニタリングすることを提唱しています。**



## 3.0 ゲノムの特徴評価

### 3.1 遺伝子状態の評価

#### 推奨事項 3.1.1:

培養時に獲得される遺伝子変異について培養細胞をモニタリングすることが望ましいと考えられます。遺伝子変異は幹細胞とそれを分化させた後の細胞に対して、たとえば増殖速度、造腫瘍性、分化能力、機能における変化などの不可逆的な影響を及ぼす可能性があり、収集したデータの再現性と信頼性に大きな影響を与える可能性があるからです。



## 3.0 ゲノムの特性評価

### 3.1 遺伝子状態の評価

#### 推奨事項 3.1.1（続き）：

どんな細胞培養物も培養による遺伝子変異を受けやすく、経時的な遺伝子組成の一貫性を確保するにはモニタリングが必要となります。

##### hPSCで一般的に獲得される遺伝的变化の例：

- 1番、12番、17番、20番染色体もしくはX染色体またはその一部の重複
- TP53における一塩基変異

したがって、**hPSC**のルーチンのモニタリングでは、染色体対の解析を行い、染色体数および染色体の構造上の異常を検出することが望ましいと考えられます。

これまでに判明している**hPSCで培養により獲得される変異**の多くは染色体の数的および構造的な異常であるため、この解析は、発生しうる大規模な異常のほとんどを検出するのに十分であると見込まれます。

ただし、研究者は、わずかなコピー数変異（CNV）や一塩基変異（SNV）など、染色体対の解析では検出できない**hPSC**で頻発することが知られている変化ならびにTP53およびその他のがん関連遺伝子を含む一塩基変異体などを特定するため、より高分解能の検出法が必要かどうかについて、リスク評価をすることが望ましいと考えられます。



## 3.0 ゲノムの特性評価

### 3.1 遺伝子状態の評価

#### 推奨事項 3.1.1（さらに続き）：

遺伝子変異の評価方法は多岐にわたりますが、**現在のところ、遺伝子変異のすべてのタイプを等しく高い感度と特異性で検出する単一の方法はありません。**

したがって、特定の試験方法を選択して陰性結果の解釈を行う際には、**アッセイの特異性と検出限界を考慮することが望ましい**と考えられます。つまり、モザイクとして、あるいは選択したアッセイの検出限界を下回るような分解能では変異が存在する可能性があるということです

さらに、この分野は常に進化しているため、注目すべき特定の変化や用いるべき最適な方法については、定期的に見直しを行う必要があります。



米国FDAのガイダンス案(2024年4月)

# 細胞利用医療製品での使用のために増殖させたヒト同種細胞の安全性試験



## V. 拡大増殖させた細胞の試験に関する推奨事項

### A. マスター・セルバンク

「連続継代性細胞株とゲノム編集細胞の細胞バンクでは、全ゲノムのシーケンシングと解析を実施することが望ましい (should)」

「最終製品の成分細胞となるように拡大増殖させた初代細胞に対し、遺伝学的な検査または全ゲノムシーケンシングを実施することが望ましい (should)」。

上記の全ゲノムシーケンシングは、ゲノムの完全性を検査するために推奨される方法 (the recommended method) です。

【課題】 とはいえ、現在、バリデートされ、標準化された全ゲノム解析方法はない！  
さらに・・・

# The human body is a mosaic of different genomes

*Survey finds that 'normal' human tissues are riddled with mutations.*

Nature (NEWS on 06 June 2019)

<https://www.nature.com/articles/d41586-019-01780-9>

## RESEARCH ARTICLE

### RNA sequence analysis reveals macroscopic somatic clonal expansion across normal tissues

Keren Yizhak<sup>1</sup>, François Aguet<sup>1</sup>, Jaegil Kim<sup>1</sup>, Julian M. Hess<sup>1</sup>, Kirsten Kübler<sup>1,2,3</sup>, Jonna Grimsby<sup>1</sup>, Ruslana Frazer<sup>1</sup>, Hailei Zhang<sup>1</sup>, Nicholas J. Haradhvala<sup>1,2</sup>, Daniel Rosebrock<sup>1</sup>, Dimitri Livitz<sup>1</sup>, Xiao Li<sup>1</sup>, Eila Arich-Landkof<sup>1,2</sup>, Noam Shores<sup>1</sup>, Chip Stewart<sup>1</sup>, Ayellet V. Segrè<sup>1,3,4</sup>, Philip A. Branton<sup>5</sup>, Paz Polak<sup>6</sup>, Kristin G. Ardlie<sup>1</sup>, Gad Getz<sup>1,2,3,7,\*</sup>

<sup>1</sup>Broad Institute of MIT and Harvard, Cambridge, MA, USA.

<sup>2</sup>Center for Cancer Research, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA.

<sup>3</sup>Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

<sup>4</sup>Ocular Genomics Institute, Department of Ophthalmology, Massachusetts Eye and Ear, Boston, MA, USA.

<sup>5</sup>Biorepositories and Biospecimen Research Branch, Cancer Diagnosis Program, National Cancer Institute, Bethesda, MD, USA.

<sup>6</sup>Oncological Sciences, Icahn School of Medicine at Mount Sinai Hospital, New York, NY, USA.

<sup>7</sup>Department of Pathology, Massachusetts General Hospital, Boston, MA, USA.

\*Corresponding author. Email: gadgetz@broadinstitute.org

Hide authors and affiliations

Science 07 Jun 2019:  
Vol. 364, Issue 6444, eaaw0726  
DOI: 10.1126/science.aaw0726

### Somatic mosaicism in normal tissues

Somatic cells can accumulate mutations over the course of an individual's lifetime. This generates cells that differ genetically at specific loci within the genome. To explore how this genetic diversity in individuals contributes to disease, Yizhak *et al.* developed a method to detect mutations from RNA sequencing data (see the Perspective by Tomasetti). Applying this method to Cancer Genome Atlas samples and normal samples from the Genotype-Tissue Expression (GTEx) project generated a tissue-specific study of mutation accumulation. Somatic mutations were detected in nearly all individuals and across many normal human tissues in genomic regions called cancer hotspots and in genes that play a role in cancer. Interestingly, the skin, lung, and esophagus exhibited the most mutations, suggesting that the environment generates many human mutations.

【課題】 「本当に危ない変異」を見分ける方法がない

*"Researchers now need to find ways to sort out which of those cells will become tumours and which are 'normal' "*

*Cristian Tomasetti, Johns Hopkins Medicine*

Promoting excellence in stem cell science and applications to human health.

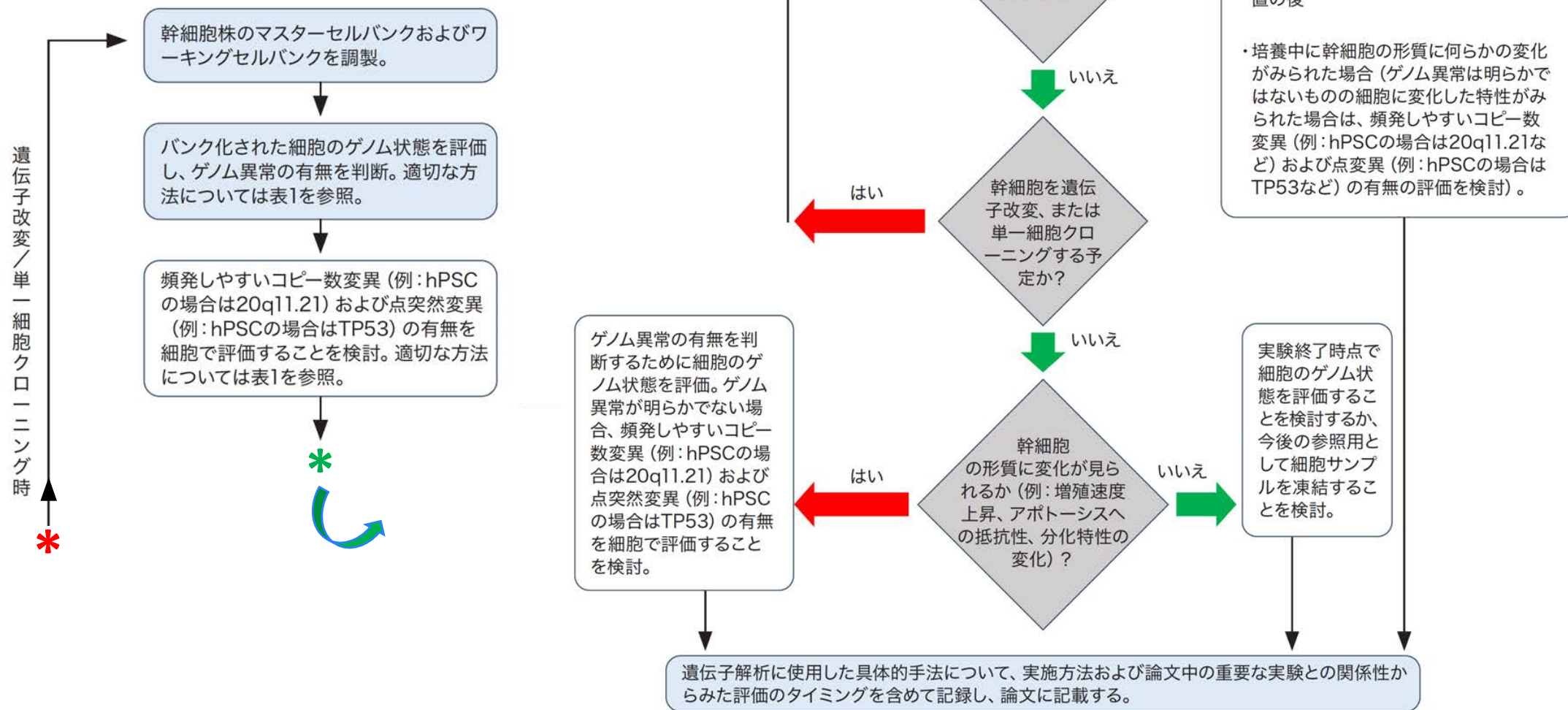


# 3.0 ゲノムの特性評価

## 3.2 評価のタイミング



Standards  
for Human  
Stem Cell  
Use in  
Research





# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」

## 構成

サマリー（要約）

緒言

1.0 基本的な特性評価

2.0 多能性および未分化状態

3.0 ゲノムの特性評価

~~4.0 幹細胞ベースのモデルシステム~~

5.0 結果発表時の開示事項

付録 1 幹細胞の標準的特性評価の推奨事項

付録 2 命名基準

付録 3 細胞培養における衛生的作業の基準

付録 4 未分化型ヒト多能性幹細胞の同定と  
多系統分化のモニタングのための  
マーカー

付録 5 遺伝子解析法の評価

付録 6 ヒト幹細胞研究の結果の公表におい  
て開示すべき事項





## 5.0 結果発表時の開示事項

### 5.3 ゲノムの特性評価

#### 推奨事項5.3.1 :

報告された主要な実験について、ジェノタイピングに使用した方法は、その実施方法（例：分析された細胞の数）とタイミング（継代数/細胞倍加時間）を含めて報告する必要があります。

- ジェノタイピングに使用する方法については特定のものを推奨するわけではありませんが、アッセイの範囲（すなわち、検出された可能性のある遺伝子変異の範囲）とその感度（すなわち、モザイク培養条件における変異細胞の検出限界）が読者に明確になるように、特定の方法論を十分に詳細に説明する必要があります。
- 論文の著者は、研究の重要なデータを生成する特定の一連の実験に関連して、ジェノタイピングの実施時期を明確に示す必要があります。特に、ジェノタイピング時の継代数と重要な実験に使用される細胞の継代数との関係を明確にしておくことが求められます



## 5.0 結果発表時の開示事項

### 5.3 ゲノムの特性評価

#### 推奨事項5.3.2 :

実験手順中に出現する遺伝的変異は、その潜在的な影響が適切に考慮されている限り、研究発表に差し支えありません。

- **今のところ、ヒト多能性幹細胞またはその分化細胞、およびヒト体細胞の形質に対して、培養過程で獲得されるゲノム変化の影響を予測する一般的なアプローチはありません。**
- これは、細胞形質が複数の突然変異の複雑な効果を反映している可能性があり、突然変異が細胞形質に及ぼす影響は、細胞種や周囲環境に左右される可能性があるためです。
- **したがって、培養に関連する細胞形質の変化と培養で獲得した後天的なゲノム変異との関係に関する知識を蓄積していくことは、幹細胞の研究コミュニティにとって、実験結果を科学的に正しく解釈するための情報を提供する共通のリソースとして重要です。**

# ISSCR「ヒト幹細胞の研究利用に関する基準」 におけるゲノム特性評価の位置づけ



Standards  
for Human  
Stem Cell  
Use in  
Research

- ISSCRは現在、科学者がPSC(およびPSC由来製品)のゲノムに関するデータを蓄積することを奨励していますが、その理由は、実験結果の有効な科学的解釈のための情報を提供する共通のリソースとして幹細胞研究コミュニティにとって重要だと認識しているからであり、少なくとも今のところはヒトにおける細胞治療製品の造腫瘍性や安全性を評価するためではありません。

# ISSCR の「次の基準」



多能性幹細胞研究における細胞品質情報のガイドラインから多能性幹細胞加工製品の実用化のガイドラインへ

## Phase One

✓ Scope

✓ Funding

Explore the Standards  
Document



## Phase Two

Clinical Standards  
2023-24+

✓ Scope

✓ Timing

✓ Steering Committee

# ISSCR の「次の基準」



多能性幹細胞研究における細胞品質情報のガイドラインから多能性幹細胞加工製品の実用化のガイドラインへ

## Phase One

✓ Scope

✓ Funding

Explore the Standards  
Document



基礎研究の基準と同じ原則に基づき、  
規制当局の審査、細胞製造・細胞治療のスケールアッ  
プやスケールアウトを合理化・促進するための推奨事  
項をまとめる予定

(対象：アカデミア・バイオテック／製薬企業)

## Phase Two

Clinical Standards  
2023-24+

✓ Scope

✓ Timing

✓ Steering Committee

2025年中に公表予定



# ISSCR の「次の基準」



多能性幹細胞研究における細胞品質情報のガイドラインから多能性幹細胞加工製品の実用化のガイドラインへ

## Steering Committee

Kapil Bharti, Co-chair, National Institutes of Health, USA

Jacqueline Barry, Co-chair, CATAPULT Cell and Gene Therapy, UK

Ricardo Baptista, Alder Therapeutics, Sweden

Melissa Carpenter, ElevateBio, USA

Derek Hei, Clade Therapeutics, USA

Ana Hidalgo-Simon, European Medicines Agency and Leiden University Medical Center, Netherlands

Deborah Hursh, Hursh Cell Therapy Consulting, LLC, USA

Jung-Hyun Kim, Korea National Stem Cell Bank, Korea

Tenneille Ludwig, WiCell Research Institute, USA

Hideyuki Okano, Keio University School of Medicine, Japan

John Rasko, Centenary Institute, Australia

Yoji Sato, National Institute of Health Sciences, Japan

Glyn Stacey, International Stem Cell Banking Initiative, UK

Clive Svendsen, Cedars Sinai Regenerative Medicine Institute, USA



Phase Two

Clinical Standards

2023-24+



# ISSCR の「次の基準」



Phase Two

Clinical Standards  
2023-24+

## Working Groups

### WG1: Starting Materials

- Co-chair: Kapil Bharti, NIH, USA
- Co-chair: Tenneille Ludwig, WiCell, USA
- Member: Catharina Brandsten, Takara, USA
- Member: Elizabeth Csaszar, Notch Therapeutics, Canada
- Member Mark Tomishima, Blue Rock Therapeutics, USA
- Member: Jacqueline Barry, CAPULT CGT, UK
- Member: Indumathi Mariappan, LV Prasad Eye Institute

### WG2: Banking

- Co-chair: Jung-Hyun Kim, Ajou University, Korea
- Co-chair: Glyn Stacey, ISCBI, UK
- Member: Jie Hao, National Stem Cell Resource Center, China
- Member: Elsa Abranches, AstraZeneca, Sweden
- Member: Hyunyoung Kim, KNIH, Korea
- Member: Ricardo Baptista, Alder Therapeutics, Sweden
- Member: Tenneille Ludwig, WiCell, USA

### WG3: Ancillary Raw Materials and Devices

- Co-chair: Ricardo Baptista, Alder Therapeutics, Sweden
- Co-chair: Uma Lakshmipathy, Thermo Fisher, USA
- Member: Annaelie Persson, AstraZeneca, Sweden
- Member: Beverly Orozco, Collectis, USA
- Member: Shuyan Wang, Zephyrum, China
- Member: Claudia Zylberberg, Akron Bio, USA
- Member: Tamar Harel-Adar, MatriCelf, Israel

### WG4: Regulatory

- Co-chair: Jacqueline Barry, CATAPULT CGT, UK
- Co-chair: Deborah Hursh, Hursh Consulting, USA
- Member: Killian Kelly, Cynata, Australia
- Member: Somya Viswanathan, UHN, Canada
- Member: Ana Hidalgo-Simon, LUMC, Netherlands
- Member: Yoji Sato, Japanese NIHS, Japan
- Member: John Rasko, Centenary Institute, Australia
- Member: Michaela Gabaldo, IRCCS Ospedale San Raffaele, Italy



### WG5: Drug Substance/Drug Product

- Co-chair: Derek Hei, Clade Therapeutics, USA
- Co-chair: Jennifer Hollands, Cell Therapies Pty Ltd, Australia
- Member: Mashiro Kino-Oka, Osaka University, Japan
- Member: Dhruv Sareen, Cedars Sinai, USA
- Member: Ricardo Baptista, Alder Therapeutics, Sweden
- Member: Kate Fynes, eXmoor pharma, UK
- Member: Melissa Carpenter, Carpenter Consulting, USA



### WG6: Preclinical

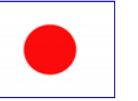
- Co-chair: Yoji Sato, Japanese NIHS, Japan
- Co-chair: Jeanne Loring, Aspen Neuroscience, USA
- Member: Joy Cavagnaro, Access Bio, USA
- Member: Lila Collins, CIRM, USA etc.



### WG7: Clinical Trials

- Co-chair: Roger Barker, University of Cambridge, UK
- Co-chair: John Rasko, Royal Prince Alfred Hospital, Australia
- Member: Kirsty Wydenbach, ex-MHRA Consultant, UK
- Member: Claire Henchcliffe, University of California, Irvine, USA
- Member: Hideyuki Okano, Keio University, Japan



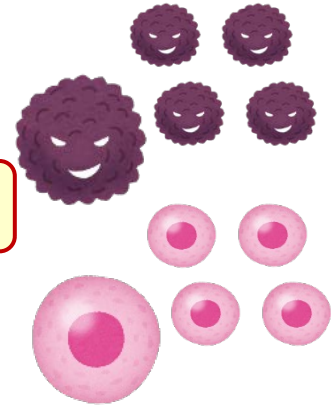
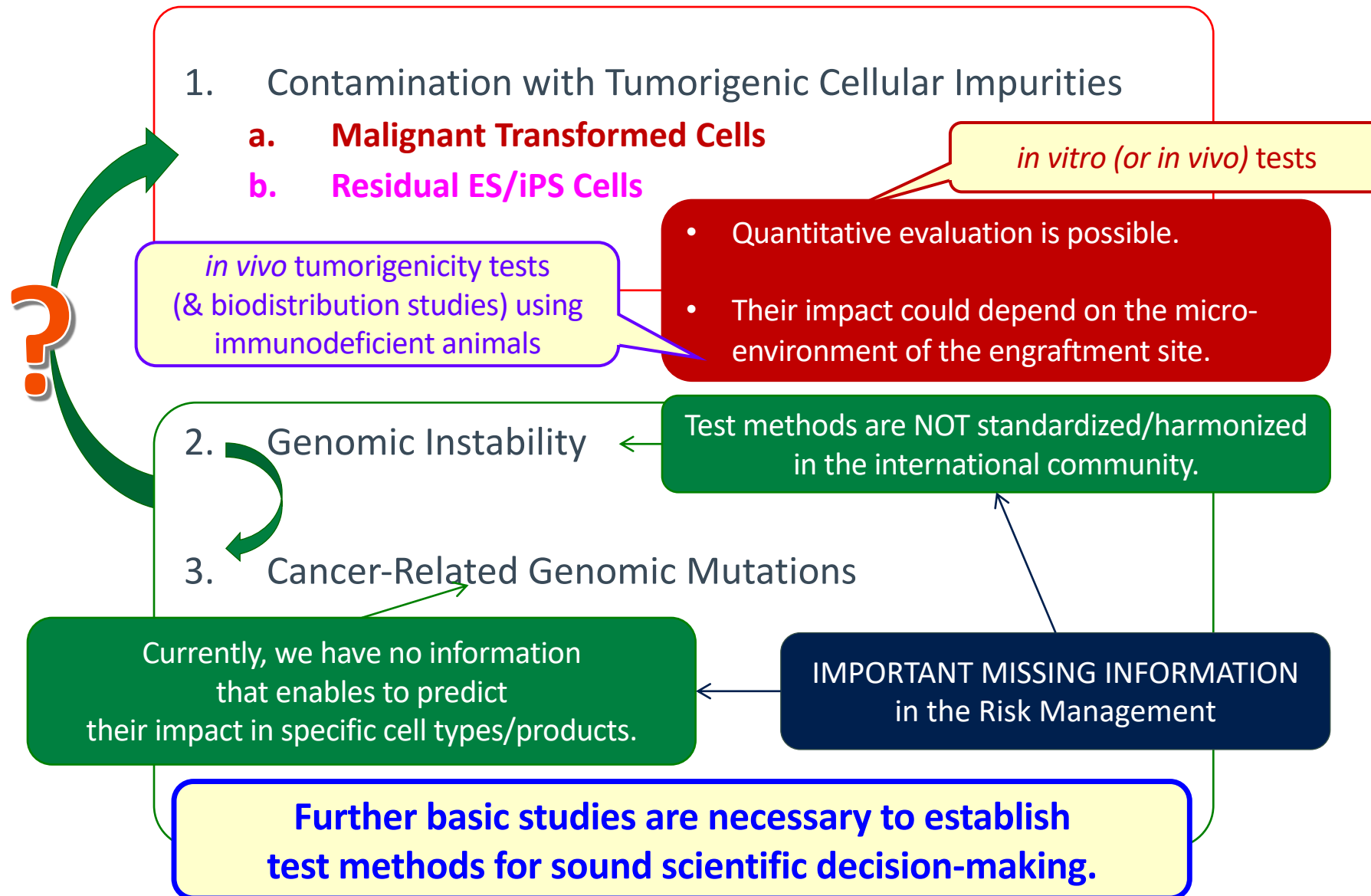


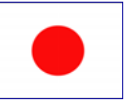
# Supplements

---

Japanese Guideline Documents for the RM Safety Act (non-commercial clinical studies) and the PMD Act (commercial clinical trials)

# Potential Hazards for the Tumorigenicity Risk of Pluripotent Stem Cell-Derived Therapeutic Products





# Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

by the Director of **Research and Development Division, Health Policy Bureau, MHLW**

A Revised Version of the Annex of  
Notification 0613-3 issued June 13, 2016

## Title:

“Points for certified special committees for regenerative medicine to consider when evaluating tumorigenicity assessment in provision plans of regenerative medicine using human pluripotent stem cells”

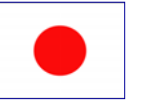
## Scope:

Regenerative medicine using hPSCs under the Act on the Safety of Regenerative Medicine (RM Safety Act)

## Contents:

Discussions of a scientific research group of MHLW on safety assessment of transplanted cells for implementing clinical research using iPS/ES cells

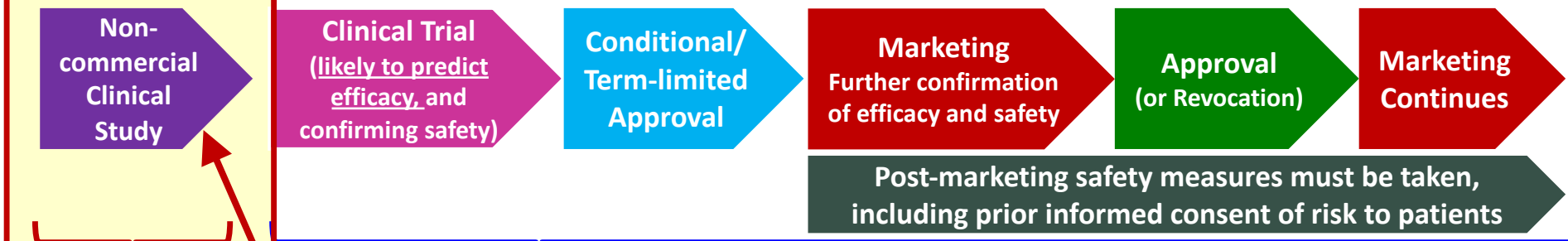
# Development Pathways for RM products in Japan



## □ Conventional development pathway



## □ Special development pathway that accommodates early practical application of RM products



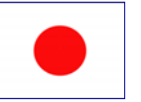
RM Safety Act  
(including GCTP)

PMD Act + GCTP (GMP for RM products) + the other GXP

Reviewed by PMDA and MHLW

Reviewed by Accredited Committees (or Accredited Special Committees) for Regenerative Medicine, not by PMDA

the Scope of Annex of Notification 0309-1 (2021)



Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

# PTC for evaluation of tumorigenicity assessment in provision plans of RM using human PSCs

## 0. Introduction

### 1. Points to consider on safety required in pluripotent stem cells as raw material

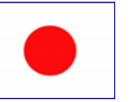
- (1) Surplus embryos and cells as raw materials
- (2) Genomic indicators that cannot rule out tumorigenicity in pluripotent stem cells to be used as raw material

### 2. Points of review for tumorigenicity assessment of pluripotent stem cell-derived products

- (1) Quality of raw materials
- (2) In vitro study of the final product
- (3) In vivo tumorigenicity test of the final product
- (4) Risk management plan
- (5) Appropriateness of the provision plan from the viewpoint of potential benefit

## 3. Reference information





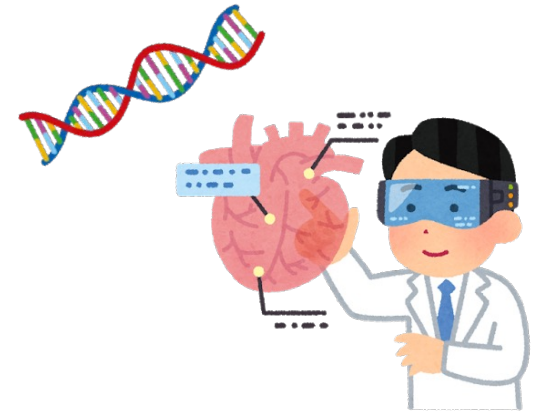
Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

## Introduction (excerpt)

“Among non-clinical studies for the risk assessment of products derived from pluripotent stem cells (PSCs), the requirements for the evaluation of their tumorigenicity have not yet been established.”

“The purpose of this report is to accumulate scientific data that will contribute to the future development of therapies using PSC-derived products

in order to bring them to patients safely and as quickly as possible.”



**Note: Unlike in the case of commercial clinical trials under the PMD Act, the costs of WGS conducted prior to non-commercial clinical studies of PSC-derived products under the RM Safety Act are usually covered by public research funds.**



## 5.0 Reporting

### 5.3 Genomic Characterization



“The purpose of this report is **to accumulate scientific data that will contribute to the future development of therapies using PSC-derived products**

in order to bring them to patients  
safely and as quickly as possible.”

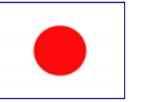
does not preclude  
considered.

**-acquired genomic  
man somatic cells.**

and the effects of mutations  
on the traits may depend on the cell type of interest and their surrounding environment.

- Therefore, **the accumulation of knowledge on the relationship between culture-associated cellular trait changes and culture-acquired genomic mutations is important as a common resource for the stem cell research community** to inform the scientifically valid interpretation of experimental results.





Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

# PTC for evaluation of tumorigenicity assessment in provision plans of RM using human PSCs

## 0. Introduction

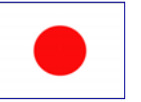
### 1. Points to consider on safety required in pluripotent stem cells as raw material

- (1) Surplus embryos and cells as raw materials
- (2) Genomic indicators that cannot rule out tumorigenicity in pluripotent stem cells to be used as raw material

### 2. Points of review for tumorigenicity assessment of pluripotent stem cell-derived products

- (1) Quality of raw materials
- (2) In vitro study of the final product
- (3) In vivo tumorigenicity test of the final product
- (4) Risk management plan
- (5) Appropriateness of the provision plan from the viewpoint of potential benefit

## 3. Reference information



Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

## Genomic indicators that cannot rule out tumorigenicity in pluripotent stem cells to be used **as raw material** (excerpt)

“Confirm:

- Chromosomal abnormalities (conventional karyotyping or G-band)
- SNVs/Indels of tumor-related genes (COSMIC Cancer Gene Census Tier1 <http://cancer.sanger.ac.uk/census> ,  
“Shibata’s list” <https://www.pmda.go.jp/files/000152599.pdf> )  
& Structural abnormalities including copy number variants (CNVs)
- Significant residual external factors that may promote tumors

approx. 600 genes in total

If an abnormality related to any of the above 3 items is found, a strict assessment of risks and potential benefits should be conducted to determine the appropriateness of clinical use. PSCs that satisfy these items may be allowed for clinical use under the Act on the Safety of Regenerative Medicine. The explanation document upon consent to the subject(s) should be confirmed to obtain a clear explanation about genomic analysis of pluripotent stem cells to be used as raw material, including the fact that there are still many unknown factors.”



Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

# PTC for evaluation of tumorigenicity assessment in provision plans of RM using human PSCs

## 0. Introduction

### 1. Points to consider on safety required in pluripotent stem cells as raw material

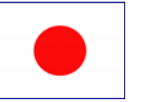
- (1) Surplus embryos and cells as raw materials
- (2) Genomic indicators that cannot rule out tumorigenicity in pluripotent stem cells to be used as raw material

### 2. Points of review for tumorigenicity assessment of pluripotent stem cell-derived products

- (1) Quality of raw materials
- (2) In vitro study of the final product
- (3) In vivo tumorigenicity test of the final product
- (4) Risk management plan
- (5) Appropriateness of the provision plan from the viewpoint of potential benefit

## 3. Reference information





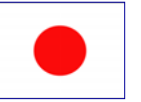
Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

## *In vitro* study of **the final product** (excerpt)

### “Confirm:

- A) **Chromosomal abnormalities (conventional karyotyping or G-band)**
- B) **SNVs/Indels of tumor-related genes**  
(COSMIC Cancer Gene Census Tier1 <http://cancer.sanger.ac.uk/census>  
and “Shibata’s list” <https://www.pmda.go.jp/files/000152599.pdf> )  
& Structural abnormalities including copy number variants (CNVs)
- **Mutations added by updating the list of cancer-related genes** [If they are found in the final product already administered in a clinical trial, the risk should be assessed, and the information should be provided to the subject(s)].
- **Residual undifferentiated PSCs**
- **Unexpected cell transformation & abnormal growth of cells other than the desired cells** when cultured longer than the culture period.

If an abnormality related to any of the above 4 items is found, use is not recommended in principle, but in some cases, use may be justified after a strict assessment of risks and potential benefits to validate the target disease, administration method, etc. The explanation document upon consent to the subject(s) should be confirmed to obtain a clear explanation about the risks and benefits.”



Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

# PTC for evaluation of tumorigenicity assessment in provision plans of RM using human PSCs

## 0. Introduction

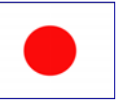
### 1. Points to consider on safety required in pluripotent stem cells as raw material

- (1) Surplus embryos and cells as raw materials
- (2) Genomic indicators that cannot rule out tumorigenicity in pluripotent stem cells to be used as raw material

### 2. Points of review for tumorigenicity assessment of pluripotent stem cell-derived products

- (1) Quality of raw materials
- (2) In vitro study of the final product
- (3) In vivo tumorigenicity test of the final product
- (4) Risk management plan
- (5) Appropriateness of the provision plan from the viewpoint of potential benefit

## 3. Reference information



Annex of Notification 0309-1 issued March 9, 2021

# Reference Information (excerpt)

“If any mutations could be scientifically apparent as having a relationship with safety, such as tumorigenicity in cell products, tests such as the following would improve the safety of cell products:

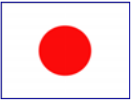
- (1) Test to detect known tumor-related SNV/Indel and CNV after long-term culture
- (2) Test to detect known tumor-related epigenome changed after long-term culture
- (3) Test to detect genomic mutations with known correlation with functional abnormalities in differentiated cells of cell products or with known relationship with the target disease

However, in particular with pluripotent stem cell-derived products, it is still extremely novel and risk prediction is difficult. Therefore, it is **recommended** to confirm genomic mutations that are known to be related to any tumor occurrences and to other adverse events, as reference information (supplementary information for reassurance) for discussions on ensuring safety.

It's just a recommendation for reassurance, not a strict regulatory requirement.

In other words, it is **necessary to clarify the functionality of testing methods, such as the analytical limit of detection** of low-allele frequency genomic mutation, and confirm the above points (1) to (3). The decision on clinical administration of pluripotent stem cell-derived products that have been detected to have the mutations in points (1) to (3) should be made, considering the seriousness of disease of the patient and urgency for treatment.”

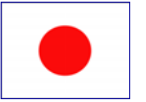
“Validation of analytical procedures” is critical.



**“Points to Consider for Detection of Undifferentiated Pluripotent Stem Cells/Transformed Cells,  
Tumorigenicity Testing and Genomic Stability Evaluation of Human Cell-Processed Products”**  
**(Annex of Notification No. 0627-1 Issued on June 27, 2019, Pharmaceutical and Food Safety Bureau, MHLW)**

**Table of Contents**

- 1. Introduction**
- 2. Position of This Document**
- 3. Glossaries**
- 4. General Considerations**
- 5. Tumorigenicity Tests for Human ES/iPS Cell-Processed Products**
  - 5.1 Tumorigenicity Tests for Quality Characterization of Starting Cell Substrate
  - 5.2 Tests for Quantification of Tumorigenic Cells in Intermediate or Final Products
    - 5.2.1. Tests for detection of undifferentiated pluripotent stem cells in intermediate or final products
      - 5.2.1.1. In vitro studies
      - 5.2.1.2. In vivo studies
    - 5.2.2. Tests for detection of transformed cells in intermediate or final products
      - 5.2.2.1. In vitro studies
      - 5.2.2.2. In vivo studies
  - 5.3 Tests to Evaluate the Tumorigenic Potential of End-product Cells at the Site of Engraftment in Human
    - 5.3.1. Selection of test animals
    - 5.3.2. Selection of control cells
    - 5.3.3. Number of test animals
    - 5.3.4. Site, repeat number and mode of cell administration
    - 5.3.5. Duration of observation
    - 5.3.6. Observation of the site of administration
    - 5.3.7. Pathological evaluation of the site of administration
    - 5.3.8. Interpretation of the results
- 6. Tumorigenicity-related Studies for Human Somatic Cell-processed/Somatic Stem Cell-processed Products**
  - 6.1. Tumorigenicity Tests for Quality Characterization of Starting Cell Substrate
  - 6.2. Considerations for Tumorigenicity Testing for Final Products
- 7. General Considerations for Genomic Stability**
  - Reference literature
  - Tables Details of detection methods for residual undifferentiated iPS/ES cells and malignant transformed cells
  - Reference information (experimental protocols of the test methods)



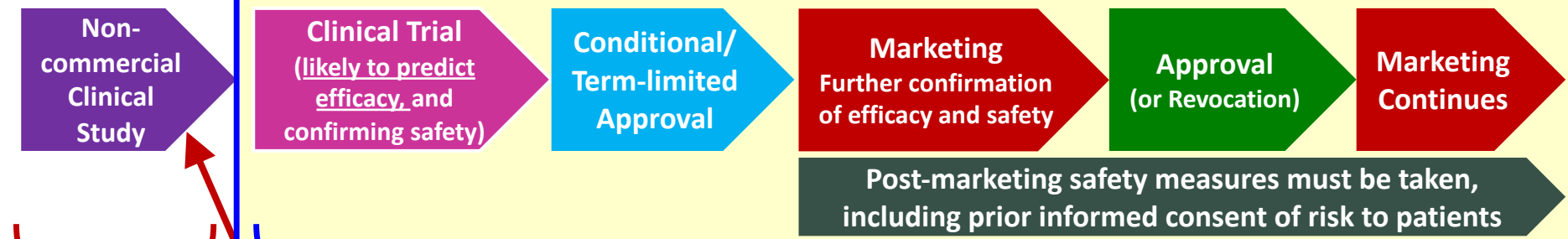
# Development Pathways for RM products in Japan

the Scope of Annex of Notification No. 0627-1 (2019)

## Conventional development pathway



## Special development pathway that accommodates early practical application of RM products



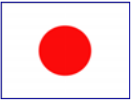
RM Safety Act  
(including  
GCTP)

PMD Act + GCTP (GMP for RM products) + the other GXP

Reviewed by PMDA and MHLW

Reviewed by Accredited Committees (or Accredited Special Committees) for Regenerative Medicine, not by PMDA





**“Points to Consider for Detection of Undifferentiated Pluripotent Stem Cells/Transformed Cells,  
Tumorigenicity Testing and Genomic Stability Evaluation of Human Cell-Processed Products”  
(Annex of Notification No. 0627-1 Issued on June 27, 2019, Pharmaceutical and Food Safety Bureau, MHLW)**

**Table of Contents**

- 1. Introduction**
- 2. Position of This Document**
- 3. Glossaries**
- 4. General Considerations**
- 5. Tumorigenicity Tests for Human ES/iPS Cell-Processed Products**
  - 5.1 Tumorigenicity Tests for Quality Characterization of Starting Cell Substrate
  - 5.2 Tests for Quantification of Tumorigenic Cells in Intermediate or Final Products
    - 5.2.1. Tests for detection of undifferentiated pluripotent stem cells in intermediate or final products
      - 5.2.1.1. In vitro studies
      - 5.2.1.2. In vivo studies
    - 5.2.2. Tests for detection of transformed cells in intermediate or final products
      - 5.2.2.1. In vitro studies
      - 5.2.2.2. In vivo studies
  - 5.3 Tests to Evaluate the Tumorigenic Potential of End-product Cells at the Site of Engraftment in Human
    - 5.3.1. Selection of test animals
    - 5.3.2. Selection of control cells
    - 5.3.3. Number of test animals
    - 5.3.4. Site, repeat number and mode of cell administration
    - 5.3.5. Duration of observation
    - 5.3.6. Observation of the site of administration
    - 5.3.7. Pathological evaluation of the site of administration
    - 5.3.8. Interpretation of the results
- 6. Tumorigenicity-related Studies for Human Somatic Cell-processed/Somatic Stem Cell-processed Products**
  - 6.1. Tumorigenicity Tests for Quality Characterization of Starting Cell Substrate
  - 6.2. Considerations for Tumorigenicity Testing for Final Products
- 7. General Considerations for Genomic Stability**
  - Reference literature
  - Tables Details of detection methods for residual undifferentiated iPS/ES cells and malignant transformed cells
  - Reference information (experimental protocols of the test methods)



## 7. General Considerations for Genomic Stability (excerpt)

“Reduced genetic stability is a potential hazard with respect to tumorigenic risk because it is presumed to increase the probability of transformed cells through the increased probability of karyotypic abnormalities and genetic mutations.

....

Information from FISH and next-generation sequencing should be scientifically validated for relevance to tumorigenicity and evaluated for appropriateness for use as a test method, while the sensitivity of detection to genetic changes (type of mutation and its allele frequency) and the availability of appropriate controls should be considered as issues.”