

幹細胞関連出願の審査に関する 日米欧の三極比較

平成 20 年度バイオリフサイエンス委員会第 2 部会

反町 洋, 田坂 一郎, 齋藤 健治
福所しのぶ, 小池慎太郎, 小合 宗一, 松任谷優子

1. はじめに
2. 幹細胞について
 - 2.1 定義
 - 2.2 用途
 - 2.3 分類
 - 2.4 まとめ
3. 調査方法
4. 幹細胞関連発明の審査事例
5. 全体のまとめ
 - 5.1 審査実務における日米欧の判断の相違
 - 5.2 出願に際しての留意点
6. おわりに

1. はじめに

近年、人工多能性幹細胞 (iPS) の発見に端を発し、幹細胞関連の研究がバイオ分野において特に注目されている。幹細胞は、いずれも優れた分化能を有することから、再生医療への応用が期待される。しかしながら、幹細胞に関しては技術的に未確立な点も多く、また、受精卵を用いて幹細胞を製造する場合には倫理的側面からの制約も生じうる。このような問題を有する幹細胞を、いかに特許保護の対象とするかについて確立した国際的基準はなく、その特許保護のあり方については議論も高まっている。そこで、各国の審査実務における判断の相違や、国際出願に際しての留意点など、幹細胞の国際的特許保護に資する知見を得ることを目的として、日米欧の具体的な事例に関する比較調査を行った。

2. 幹細胞について

2.1 定義

幹細胞 (stem cell) は、一般的には、細胞分裂を経ても同じ分化能を維持する、細胞系譜の幹 (stem)

となる細胞として知られる。また、専門的には、幹細胞とは、無限に分裂する能力を有し、かつ、より特殊化した細胞になることができる細胞とも定義されている⁽¹⁾。幹細胞は、細胞分裂によって「自分自身 (幹細胞)」と「他の細胞に変化する細胞」とを同時に作っている。そのために、どんなに他の細胞を作っても、幹細胞がなくなることはない。

2.2 用途⁽²⁾

人体を構成する細胞のうち、幹細胞以外の細胞は、分裂が数十回しかできない。またいったん筋肉、神経、消化器等の特定の機能を担うように特殊化してしまった細胞が他の細胞に変化することはない。そこで事故や疾病で身体の一部が失われると、従来の医学では他人の臓器を移植する他に治療法がなかった。しかし、俗にトカゲの尻尾切りとして知られるとおり、下等動物でみられる再生現象では身体の臓器・器官の一部が失われたときに残った部分から修復することができる。人間の幹細胞をとりだして、分裂増殖させ、思い通りに特殊化させることができれば、他人の臓器を移植しなくても、自分自身の臓器を再生することができる。このように人間の幹細胞を自由に操作して再生による治療法を開発する分野を再生医療 (regenerative medicine)⁽³⁾ という。幹細胞は、再生医療の他、患者由来の幹細胞を使った疾患の原因解明や新薬の安全性・有効性試験にも有用である。

2.3 分類

(1) 幹細胞は採取する生体の発生段階および臓器等によって以下のとおり分類される。

①胚性幹細胞 (embryonic stem cell)

胚とは、受精卵が分裂を繰り返して主要臓器、顔、

手足等の形態ができるまで（人間では受胎後8週間まで）の発生段階をいう。その後出産までの発生段階を胎児という。子宮に着床する前の胚の細胞には、外胚葉（表皮、神経）、中胚葉（筋肉、骨、血液、結合組織）および内胚葉（呼吸器、消化管、泌尿器）のように将来胎児になる細胞と、将来羊膜、胎盤等の胚外組織になる細胞とが含まれる。胚の細胞は、細胞分化能力はあっても、一過性の存在であって、数回の分裂を行うと全て分化してしまう。つまり、胚には幹細胞は存在しない。しかし、胚を破壊して、将来胎児になる細胞を解離し、一定条件下で培養すると、胚性幹細胞が得られる。

②成体幹細胞 (adult stem cell) ; 体性幹細胞 (somatic stem cell)

成体、すなわち、出産後の人体には、さまざまな幹細胞が存在する。皮膚や血液の細胞は古くなると死んでいき、常に新たな細胞が分化することはよく知られているが、他にも、神経、肝、生殖細胞、骨格筋等で幹細胞がみついている。

③臍帯血幹細胞 (cord blood stem cell)

臍帯血は、胎児と胎盤との間を循環する血液で、出産直後のへその緒から採取される。臍帯血幹細胞は、血液細胞の他、血管細胞にも分化することができる。臍帯血幹細胞は実用化が最も進んでおり、組織適合型ごとに分類して臍帯血バンクで冷凍保存され、白血病等の治療に用いられている。

④人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell)

Oct4, Sox2, Klf4 および c-Myc のようなリプログラミング因子を線維芽細胞等の成体由来の細胞に導入することによって得られる。京都大学の山中教授らによって開発された。原法 (2006年)⁽⁴⁾ ではウイルスベクターによって遺伝子を強制発現させたが、2009年5月には精製キメラタンパク質を培養液中に添加する方法が報告された^{(5), (6)}。

(2) 幹細胞は分化できる細胞のレパートリーの広さによっても分類される⁽⁷⁾。

①多能性幹細胞 (pluripotent stem cell)

胚性幹細胞および人工多能性幹細胞のように、成体を構成する全ての細胞に分化することができる幹細胞をいう。多能性幹細胞は着床前の胚に移植すると成体の全ての細胞に分化することができるが、直接成体に移植すると細胞分裂能力が消えずに腫瘍となる。この腫瘍は奇形腫とよばれ、腫瘍組織には、未分化の幹細胞

と、外胚葉、中胚葉および内胚葉系の分化細胞をいずれも含む。

②複能性幹細胞 (multipotent stem cell)

全ての血液細胞に分化することができる造血幹細胞や、血液細胞および血管細胞に分化することができる臍帯血幹細胞や、グリア細胞とニューロンに分化することができる神経幹細胞のように、複数の細胞に分化することができる幹細胞をいう。複能性幹細胞および以下の単能性幹細胞は、成体に移植すると全て分化してしまうことはあっても、細胞分裂能力が消えずに腫瘍を形成することは少ない。

③単能性幹細胞 (unipotent stem cell)

精子や赤血球の前駆細胞（それぞれ精原細胞および赤芽細胞）のように、分化できる細胞のレパートリーが1種類しかない細胞をいう。

2.4 まとめ

以上に説明したとおり、幹細胞は、他の細胞に分化できる能力と、細胞分裂により幹細胞状態のまま自己複製する能力を併せて備えている必要がある。

また主要な用途が再生医療であることから、幹細胞が由来する生物種にヒトを含むことが好ましい。

さらに、発明の詳細な説明においては、いかなる組織からどのような方法で採取するか、どのようにして未分化状態を保って細胞分裂させることができるかを記載することによって、幹細胞を生産することができることを示し、どのようにして細胞を分化させるかを記載することによって、当該幹細胞を使用することができることを示す必要がある。

3. 調査方法

まず、検索のツールとしてNRIサイバーパテント(野村総合研究所グループ)を用い、検索パラメーターとして、請求項キーワード「未分化細胞」×「幹細胞」×「分化」×「脱分化」、査定状況「(特許査定) or (拒絶査定)」を選択し、国内出願の検索を行った。次に、この検索によりヒットした案件の中から、日米欧で比較対象となり得る出願が存在し、かつ審査経過において違いが見られるものを選択した。この結果、以下の5事例を検討することとした。

4. 幹細胞関連発明の審査事例

【事例番号】事例1

【発明の名称】 歯に由来する多能性胚性様幹細胞およびその使用

【出願人】 シュティフトゥング カエザール

【出願番号】 PCT/EP2003/066840 (WO2003/066840); JP Appl. No. 2003-566191 (特許査定: JP 4125241), EP Appl. No. 03704549.9 (特許査定: EP 1456357), US Appl. No. 10/497,206 (拒絶査定)

【事例の内容】

(1) 最終クレーム

① JP Appl. No. 2003-566191 (JP 4125241)

【請求項 1】 ヒトの歯または智歯の歯嚢から単離された非胚性組織から得ることができる、in vitro で自己再生でき、かつ分化することができる、ネスチンを分化前後に発現し、かつ DSPP を発現しない幹細胞。

② EP Appl. No. 03704549.9 (EP 1456357)

1. A pluripotent stem cell which is obtainable from the non-embryonic tissue isolated from the dental follicle of tooth or wisdom tooth which is capable of self renewal and able to differentiate in vitro, into a periodontal ligament like membrane structure.

③ US Appl. No. 10/497,206

1. A stem cell which is obtainable from the non-embryonic tissue isolated from the dental follicle of tooth or wisdom tooth which is capable of self renewal and able to differentiate in vitro.

(2) 発明の要旨

本件は、歯嚢から単離された非胚性組織から取得される、幹細胞に係る発明に関する事例である。

本件の幹細胞は、由来組織、およびその分化能により主に特徴づけられている。具体的には、本件の幹細胞の由来種はヒトであり、歯周靱帯様膜構造、セメント芽細胞などの石灰化組織様構造への分化能を有している。

また、本件の幹細胞は、マーカーに関して、①象牙芽細胞特異的マーカー DSPP について陰性であり②デキサメタゾンによる分化の前後においてネスチンを発現する、との特徴を有している。

(3) 審査経緯

① JP Appl. No. 2003-566191 (JP 4125241)

(i) 審査当初クレーム

「【請求項 1】 歯または智歯の歯嚢から単離された非胚性組織から得ることができる、in vitro で自己再生でき、かつ分化することができる、幹細胞。」

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知

審査官は、歯嚢から幹細胞が単離され、歯嚢様の構造を形成することが記載された引例、マウスの門歯の上皮から幹細胞の性質を有する細胞が単離されたことが記載された引例に基づき、新規性、進歩性が否定された。

併せて、記載不備について、「細胞」が起源と機能のみによって特定されているが不十分である、と指摘された。

出願人の応答

出願人は、補正により、細胞の起源について「ヒトの」との限定を加え、さらに、幹細胞の発現マーカーに関する「ネスチンを分化前後に発現し、かつ DSPP を発現しない」との要件を付加した。さらに、意見書において、本件の幹細胞と、引用文献に記載の細胞とは、由来種および組織並びに発現マーカーが相違し、格別顕著な効果として、セメント芽細胞への分化能を示す、と反論した。

この結果、拒絶理由は解消し、特許査定となった。

② EP Appl. No. 03704549.9 (EP 1456357)

(i) 審査当初クレーム

1. A stem cell which is obtainable from the non-embryonic tissue isolated from the dental follicle of tooth or wisdom tooth which is capable of self renewal and able to differentiate in vitro.

(ii) 審査の内容

補正

出願人は、まず、自発補正によって、クレーム 1 において、分化能に関する要件（「多能性 (pluripotent)」、 「歯周靱帯様膜構造に分化することができる (into a periodontal ligament like membrane structure)」) を付加した。

拒絶理由通知

審査官は、日本と同様の引用例を挙げ、本件の幹細胞と、引例の幹細胞とは、物として区別しうる技術的特徴を有さない旨指摘した。

出願人の対応

出願人は、本件と引例との相違点として、分化能、由来組織、由来種を指摘した。さらに、本件の幹細胞と、引例の幹細胞とは、ネスチン、DSPP をはじめとする多数の発現マーカーの相違がある点を指摘し、物として峻別しうると反論した。

この結果、上記反論は受け入れられ、特許査定となった。

③ US Appl. No. 10/497,206

(i) 審査当初クレーム

1. A stem cell which is obtainable from the non-embryonic tissue isolated from the dental follicle of tooth or wisdom tooth which is capable of self renewal and able to differentiate in vitro.

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知

審査官は、マウス由来の歯嚢由来幹細胞が、セメント芽細胞に分化しうることが記載された引例を挙げ、マーカーについても、本願と同様のマーカーを発現することが予測されるから、本件の幹細胞と引例の幹細胞とは峻別しえない旨指摘した。

出願人の応答

出願人は、分化能、由来種が異なる点を主張したが、反論は受け入れられず、拒絶査定となった。

(4) 考察

日本では、幹細胞の由来種をヒトに限定し、さらに、発現マーカーの要件を付加した結果、幹細胞自体の物としての新規性が認められた。

また、欧州では、最終的な分化対象組織をクレーム中に記載し、発現マーカーが相違する点を意見書で主張した結果、新規性が認められた。

また、米国では、日本、欧州と異なる文献が引用され、由来組織、分化能、および発現マーカーの相違が争点になり、拒絶査定となった。

三極の審査経過を比較すると、日米欧いずれにおいても、当初クレーム中に記載された、由来組織および分化能の要件の他、発現マーカーによって、本願発明と従来の幹細胞とを峻別できるかが一つの争点となった。

これら審査経過から、日米欧を対象とする国際出願を検討する際には、幹細胞の由来組織または種、分化能の他、発現マーカーの要件を、いずれかのクレームに記載しておくことが好ましいと考える。

また、日本と欧州の最終クレームを特に比較すると、日本クレームは、発現マーカーの要件を有し、分化対象組織の要件を有さないのに対し、欧州は、発現マーカーの要件を有さず、分化対象組織の要件を有している。

日本クレームのように、分化対象組織の要件を有さ

ず、発現マーカーの要件がある態様は、用途の限定はなく、その権利範囲は文言上広いものといえる。

一方で、欧州クレームのように、分化対象組織がクレーム中に記載された場合、この分化対象組織は最終用途と密接に関連しており、クレームの権利範囲は、最終用途との関係から限定して解されるおそれもあると思われる。

幹細胞の新規性を確保する際には、公知細胞と峻別しうる技術的特徴に加え、最終的な権利範囲に留意して、付加する要件を決定すべきであろう。

(担当：田坂一朗，反町 洋)

【事例番号】 事例 2

【発明の名称】 組織脂肪由来幹細胞および格子状物質

【出願人】 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシティ オブ カリフォルニア

【出願番号 1】 PCT/US00/06232 (WO00/053795) ;

・ EP Appl. No. 00913860.3 (審査中),

・ US Appl. No. 09/936,665(特許査定：US6,777,231)

【出願番号 2】 PCT/US02/024374(WO03/022988)(上

記出願の CIP 出願を優先権主張) ;

・ JP Appl. No.2003-527053 (拒絶査定後取下げ),

・ JP Appl. No.2007-200588 (Appl. No. 2003-527053 の分割出願, 拒絶査定後審判請求中),

・ US Appl. No. 10/740,315(特許査定：US7,470,537)

【事例の内容】

(1) 最終クレーム

① Appl. No.2007-200588 (分割出願の審判請求中)

② Appl. No.1165830 (審査中)

③ US Appl. No. 09/936,665(特許査定：US6,777,231)

1. An isolated adipose-derived stem cell that can differentiate into two or more of the group consisting of a bone cell, a cartilage cell, a nerve cell, or a muscle cell.

④ US Appl. No. 10/740,315(特許査定：US7,470,537)

1. An isolated population of stem cells, obtained from human adipose tissue having a CD marker profile comprising a combination of STRO-1+, CD29+, CD44+, CD71+, CD49D+, low or undetectable levels of CD 106, CD90+, and CD105+.

(2) 発明の要旨

① JP Appl. No.2007-200588 (分割出願, 拒絶査定後審判請求中)

特定の表面抗原 (STRO-1 および CD49d) を発現し、

特定の表面抗原（CD106）の発現が検出不可能または低レベルであることを規定し、このような表面抗原パターンを有する脂肪組織由来幹細胞（ADSC）は、新規な幹細胞であることを特徴として主張した。

② EP Appl. No.1165830（審査中）

出願時には、脂肪由来幹細胞を初めて見出した点を特徴として記載した。

③ US Appl. No. 09/936,665（特許査定：US6,777,231）

骨細胞、軟骨細胞、神経細胞または筋細胞の2種以上に分化可能な単離された脂肪由来幹細胞であることを特徴としている。公知文献に記載の脂肪由来幹細胞で、2種以上の上記細胞に分化が確認されたものは引例に記載されていない。

④ US Appl. No. 10/740,315（特許査定：US7,470,537）

ヒト脂肪組織幹細胞の単離された集団であって、幹細胞のCDマーカーがSTRO-1、CD29、CD44、CD71、CD49D、CD90、およびCD105を発現し、かつ、CD106を低発現もしくは検出限界以下のものに限定したことが特徴である。この特許以前に公知の脂肪由来幹細胞は、これらのCDマーカーの一部が異なるものが知られており、この出願の幹細胞は新規であって、そのようなCDマーカーパターンの幹細胞を得ることは予測性がないと認定された。

(3) 審査経緯

① JP Appl. No.2007-200588（親出願：JP Appl. No. 2003-527053）

(i) 審査当初クレーム

・親出願：JP Appl. No.2003-527053

【請求項1】単離された組織脂肪由来幹細胞（ADSC）。

・分割出願：JP Appl. No.2007-200588

【請求項1】STRO-1およびCD49dを発現し、かつCD106の発現が検出不可能なレベルかまたは低レベルであることを特徴とする、単離された脂肪組織由来幹細胞（ADSC）。

(ii) 審査の内容

<親出願>

拒絶理由通知

引例1（WO00/53795）は、ヒト脂肪由来の幹細胞を単離したこと、該細胞および格子を含む組成物を得ること、細胞に遺伝子を導入すること、細胞が分化する条件で培養し、脂肪等の中胚葉を発生させること、実施例1で脂肪由来幹細胞を取得する過程で脂肪細胞を含まない濃縮分画を得ることを記載しているため、

本願は新規性および進歩性を有しない。

引例2（WO01/21767）には、さまざまな組織由来の多能性胚様幹細胞が記載され、組織としては脂肪組織等が挙げられ、幹細胞が内胚葉、外胚葉および中胚葉に分化すること、ヒト由来であること、幹細胞に遺伝子を導入することも記載されているため、本願は新規性および進歩性を有しない。

出願人の応答

補正書

【請求項1】CD29、CD44、CD71、CD49d、CD90、SH3、CD105またはそれらの組み合わせを含む群別指定（CD）マーカーの発現プロフィールを示すことを特徴とする、単離された組織脂肪由来幹細胞（ADSC）

意見書

本発明は、単離、培養が困難であった骨髄由来間葉系幹細胞に代わり、豊富に存在しかつ即時使用可能な供給源である脂肪組織から分化した組織および構造物をin vivo およびin vitro の両方で作製する能力を有する組織脂肪から多分化能力を有する単離された幹細胞（ADSC）を得たことを特徴とすると主張。一方で引例1は、ADSCが示すCDマーカーの発現の記載がなく、引例2については、脂肪組織から単離されるADSCを実施例で得ていないこと、得られた幹細胞は、CD44、CD49d、CD71、およびCD105抗原は発現しない旨が明示されており、CDマーカーの発現が異なることが記載されていることから、本発明の脂肪由来幹細胞は、引例1、2に記載されていないし示唆もないと主張した。

拒絶査定

引例1の幹細胞も同じく脂肪組織由来の幹細胞であって多分化能性幹細胞であるから、マーカーの特定はされていないが、本願請求項1の細胞と同一のものである蓋然性が極めて高く、細胞としては区別することができない（新規性無し）。

<分割出願>

拒絶理由通知

引例1には本願請求項1あるいは2に記載されたマーカーについて記載されていないが、引例1の幹細胞も同じく脂肪組織由来の幹細胞であって多分化能性幹細胞であるから、マーカーの特定はされていないものの本願請求項1の細胞と同一のものである蓋然性が極めて高く、細胞としては区別することができない（新規性無し）。

出願人の応答意見書

参考資料1に、少なくともADSCのうちにはCD106を発現するものが存在し、またSTRO-1の発現が検出不可能であるものも存在することが示されており、引例1におけるADSCに関する開示は、本発明において特定されるCDマーカーの発現プロファイルを示さない(新規性あり)。

拒絶査定

引例1においてはCDマーカーの発現プロファイルを調べていないが、引例1においても本願と幹細胞の取得方法が特に異なるとは見受けられないので、上記のことが必ずしも本願発明の細胞と引例1に開示された細胞とが異なることの証明にはならず、本願は単に細胞のCDマーカーの発現プロファイルを調べたにすぎない(新規性無し)。

<審判請求>

【請求項1】STRO-1およびCD49dを発現し、かつCD106の発現が検出不可能なレベルかまたは低レベルであることを特徴とする、単離された脂肪組織由来幹細胞(ADSC)。

拒絶査定不服審判が請求され、上記のように請求項1が補正されている。

② EP Appl. No.1165830

(i) 審査当初クレーム

1. A mammalian lipo-derived stem cell substantially free of mature adipocytes.

(ii) 審査の概要

拒絶理由通知(1回目)および出願人の応答

本願は、D1(Hauner H, et al., J. Clinical Investigation, New York, Vol.84, 1989)により新規性がないと指摘された。出願人は、D1は脂肪細胞前駆細胞が記載され、幹細胞か記載されていないと反論した。

拒絶理由通知(2回目)

審査官は、本願優先権書類に「プレ脂肪細胞は過去に記載されかつ脂肪組織から単離されたが、脂肪吸引組織から自家ヒトプレ脂肪細胞を製造スケールで単離する方法は記載していない」とされているので、本願の細胞は、出願前公知であること、D2(Winter A et al. Arthritis & Rheumatism, (2003), Vol.48, No.2, 418-429)はD1に記載の方法により脂肪組織由来ストロマ細胞(ATSC)が単離され、かつ、この細胞は脂肪系統、軟骨系統、骨系統、筋系統に分化可能な多能

性幹細胞であることを記載しているので、D2を根拠に、新規性・進歩性を否定した。出願人は物質クレームを削除し、脂肪吸引流出物から1種以上の幹細胞を単離する方法(下記クレーム1)に補正した。

出願人の応答補正クレーム

1. A method of isolating one or more stem cells from liposuction effluent, comprising separating one or more stem cells from effluent obtained from a liposuction procedure.

拒絶理由通知(3回目)

審査官は、前回の補正クレームが新規事項を追加しないことを説明することを求め、新規性に関し新たにD3(WO99/28444)を引用し、方法クレームの新規性を否定した。出願人は、補正クレームが出願時の明細書に記載されたものであって新規事項を追加しないこと、クレーム1を以下のように補正し、D3に対する新規性・進歩性を主張した。

出願人の応答補正クレーム

1. A method of isolating one or more stem cells from liposuction effluent, comprising separating one or more stem cells from effluent obtained from a liposuction procedure, wherein the stem cell or cells have at least three developmental phenotypes.

拒絶理由通知(4回目)

審査官は、補正が新規事項を含まないことは認めたが、本願はD1, D3, D4(WO99/02654)により新規性を有しないと指摘した。現在、第4回目の拒絶理由通知の応答期間内である。

④ US Appl. No. 09/936,665(特許査定: US6,777,231)

(i) 当初審査クレーム

1. A mammalian lipo-derived stem cell substantially free of mature adipose.

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知(1回目)

- (a) 『実質的に成熟脂肪細胞を含まない』と記載されたClaim1は不明瞭。
- (b) 前記脂肪由来幹細胞は天然物と解されるので特許を認めない。
- (c) 先行文献に、成熟脂肪細胞を実質的に含まない哺乳類(ヒト)脂肪由来幹細胞を10%のウシ胎児由来血清を含むDMEM培地で、少なくとも

も 15 世代分化させることなく継代培養することで、2 以上の発生的表現形を有することが教示されている。

出願人の応答

補正書

Claim1. An isolated adipose-derived stem cell which is substantially free of mature adipocytes and which can differentiate into two or more developmental phenotypes selected from the group consisting of adipogenic, chondrogenic, cardiogenic, dermatogenic, hematopoietic, hamangiogenic, myogenic, nephrogenic, neurogenic, neuralgigenic, urogenitogenic, osteogenic, preicardiogenic, perioneogenic, preulogenic, splanchnogenic, and stromal developmental phenotypes.

意見書

(a) に対して、明細書内に記載があると反論した。(b) に対して、補正にて『Isolated』を追加して対応した。(c) に対して、引例は中胚葉系細胞への分化のみであるとし、補正にて各種分化可能な細胞を列挙し、分化多能性であることを明確にしたと主張した。

拒絶理由通知 (Final)

明細書に「ectodermal」「endodermal」の記載が無く、列挙された細胞種の記載から生物学的な根拠も見あたらないので、明確に記載されたものではない。意見書にて、引例では多能性が示されていないと反論したが、多能性に関し「multipotent」(本願の記載)と「pluripotent」(引例に記載)は近い意味を持つ。引例に、10%の FBS 入り DMEM を使用することや少なくとも 15 継代の培養することの記載がある。

出願人の応答

補正書

Claim1. An isolated adipose-derived stem cell that can differentiate into two or more of the group consisting of a bone cell, cartilage cell, a nerve cell, or muscle cell.

意見書

補正のように、Multipotent (脂肪、骨、軟骨、神経、筋肉細胞の 2 以上の細胞へ分化すること) は引例に記載されていない事などを主張した後、特許査定となった。

⑤ US Appl. No. 10/740,315(特許査定: US7,470,537)

(i) 審査当初クレーム

Claim1. An isolated adipose-derived stem cell

(ADSC) having a CD marker profile comprising any of CD29, CD44, CD71, CD49d, CD90, SH3, and CD 105 or a combination thereof.

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知 (1 回目)

Gronthos et al に、CD29, CD44, CD49d および CD105 を発現している脂肪組織由来ストロマ細胞が開示されているので新規性が無い。US 6,555,374 に CD29, CD44, CD49d および CD105 を発現し、CD31 と CD45 を発現していないヒト脂肪組織ストロマ細胞が開示されているので新規性が無い。

出願人の応答

補正書

Claim1. An isolated population of stem cells obtained from adipose-tissue having a CD marker profile comprising any of CD29, CD44, CD71, CD49d, CD90, SH3, and CD 105 or a combination thereof.

意見書

脂肪由来幹細胞は、脂肪組織から得られた幹細胞の単離された集団に補正し、これにより § 112 は解消し、かつ、脂肪組織から得られた多能性 (multipotent) 幹細胞は本願で初めて得られたものであると反論した。

拒絶理由通知 (Non-final)

現在のクレーム 1 において、CD マーカーは、CD29 等の現在の Claim1 に記載の 1 つでも有していればよく (any of), そうであれば、本願の特定の CD マーカーを有する脂肪組織から得られた幹細胞の単離された集団は、引例から容易に得られると認定した。

出願人の応答

補正書

Claim1. An isolated population of stem cells obtained from adipose tissue having a CD marker profile comprising (a) STRO-1; (b) CD49d; (c) low or undetectable levels of CD 106; and (d) any one or more of CD29, CD44, CD71, CD90, SH3, and CD 105.

意見書

上記補正クレーム 1 の幹細胞の単離された集団は、先行文献に開示はなく、このような集団が得られることについての予測性はないと主張した。

拒絶理由通知 (Final)

審査官は、WO01/4268 を新たに引用した。この引例は、骨髄由来の間葉系幹細胞であるが、low levels of CD 106 を最大限広く解釈すると、本発明と区別が

付かないとし、「low or undetectable levels of CD 106」を減縮すれば、この拒絶理由は解消すると示唆した。

出願人の応答

補正書

Claim1. An isolated population of stem cells obtained from human adipose tissue having a CD marker profile comprising (a) STRO-1; (b) CD49d; (c) low or undetectable levels of CD 106; and (d) any one or more of CD29, CD44, CD71, CD90, SH3, and CD 105.

意見書

WO01/4268 で得られた細胞は、non-dividing in vivo と記載され、CD106 positive cell であり、「low level of CD 106」に該当しないことを主張した。

Advisory Action

電話面接を行い、審査官が提案したクレームに補正して特許査定された。

(4) 考察

日本では、CD マーカーを規定したが、同じ脂肪由来幹細胞が公知になっていたため、マーカーを規定するだけでは新規性および進歩性を認めないとして審査では拒絶された。

欧州では、先行文献では脂肪由来幹細胞を記載したものはないが、脂肪由来前駆細胞が文献に記載され、この細胞と同じ方法で単離した細胞が多能性幹細胞であることが出願後の文献により実証されていることを根拠にして新規性が否定される結果となった。

米国では、脂肪由来幹細胞を記載した先行文献が引用されたが、Multipotent（脂肪、骨、軟骨、神経、筋肉細胞の2以上の細胞へ分化すること）は引例に記載されていないことを主張して、特許査定された。米国では、複数の細胞系統に分化されることを示すことで、物質としての同一性を深く議論することなく幹細胞（物質特許）が成立する可能性があることに注意すべきである。

(担当：斎藤健治)

【事例番号】事例3

【発明の名称】フィーダー細胞を含まない培養物中で、霊長類由来始原幹細胞を増殖させるための方法および材料

【出願人】ジェロン・コーポレーション

【出願番号】PCT/US98/22619 (WO99/20741)

JP Appl. No. 2000-185486 (特許査定：JP 3880778 B)

(原出願：特願 2000-517062 号 (JP 3880795 B))

EP Appl. No. 98956192.3 (審査中：EP 1 025 204 A1)

US Appl. No. 09/530,346 (特許査定：US 6800480 B)

【事例の内容】

(1) 最終クレーム

① JP Appl. No. 2000-185486 (JP 3880778 B) (全8項：以下、請求項1および4を抜粋)

【請求項1】増殖する霊長類始原幹 (pPS) 細胞を含む組成物であって、該組成物は本質的にフィーダー細胞を含まないが、細胞外マトリックスおよび栄養培地を含み、それによってインビトロにおける前記組成物の培養が実質的に未分化状態での pPS 細胞の増殖を引き起こし、前記細胞外マトリックスが、以下の特性の少なくとも1つを有し、

- a) 該細胞外マトリックスが、線維芽細胞を培養し、該線維芽細胞をインサイチュで溶解し、次いで溶解後に残ったものを洗浄することによって調製される線維芽細胞マトリックスである、
- b) 該細胞外マトリックスが、マトリックス成分またはマトリックス成分の組み合わせから調製された規定マトリックスである、あるいは、
- c) 該細胞外マトリックスが、胎盤マトリックス、フィブロネクチン、ラミニン、メロシン、テネイシン、ヘパリン硫酸、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、アグレカン、ビグリカン、トロンボスポンジン、ビトロネクチン、およびデコリンからなる群より選択されるマトリックス成分を含む、

前記栄養培地が、以下の特性の少なくとも1つを有する、前記組成物。

- a) 該栄養培地が、ピルビン酸ナトリウムおよびヌクレオシドを含有し、そして低内毒レベルを有する、
- b) 該栄養培地が、始原幹細胞の未分化増殖を促進する1つ以上の因子であって、TGF- β 、IL-11、IL-6、IL-6 レセプター、IL-1、LIF、IL-17、LIP、MCP-1、bFGF、FGF-4、PDGF 可溶性レセプター A、フォルスコリン、ならびに IL-8、TGF- β 、BDNF、TNF- β 、VEGF、および EGF に対する抗体からなる群より選択される因子を含有する、あるいは、
- c) 該栄養培地が、培養中の線維芽細胞または他の分化した細胞から培地を回収することによって得られる馴化培地である。

【請求項4】前記pPS細胞が胚幹細胞である、請求項1～3のいずれか1項の組成物。

② EP Application No. 98956192.3 (EP 1 025 204 A1) (Pending Claims: 全32項: クレーム1および12を抜粋)

1. A cell culture consisting of primate primordial stem (pPS) cells, wherein the culture is in fluid contact with a cell culture medium comprising a basic medium, a nutrient serum, and an extracellular matrix component, such that the cells grow in an undifferentiated state when cultured and passaged using said culture medium.

12. The culture or composition of any preceding claim, wherein the pPS cells are human embryonic stem cells.

③ US Application No. 09/530,346 (US 6800480 B) (全44項; クレーム1, 21, および29を抜粋)

1. A cellular composition comprising undifferentiated primate primordial stem (pPS) cells proliferating on an extracellular matrix, wherein the composition is free of feeder cells.

21. A cell population consisting essentially of primate embryonic stem (ES) cells proliferating in culture on an extracellular matrix in a manner such that at least 50% of the proliferating ES cells are undifferentiated.

29. The cell population of claim 21, wherein the ES cells are human embryonic stem cells.

(2) 発明の要旨

未分化の、全能性の、霊長類由来始原幹細胞の培養物を長期間にわたって維持するための新規な材料および方法を提供することを目的とする。本質的にフィーダー細胞を含まない、増殖する霊長類始原幹(pPS)細胞を含む細胞性組成物に関する。

(3) 審査経過

①日本: JP Appl. No. 2000-185486 (JP 3880778 B)

(i) 審査当初クレーム

【請求項1】本質的にフィーダー細胞を含まない、増殖する霊長類始原幹(pPS)細胞を含む、細胞性組成物。

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知

1回目: 下記理由1～3の指摘

2回目: 1回目に引き続き理由2の指摘

36条6項2号(理由1): 本質的にフィーダー細胞を含まないで霊長類の始原幹細胞が増殖することが述べられているだけで、発明の具体的構成が不明確。

36条6項2号(理由2): 本発明の組成物が増殖する霊長類始原幹細胞(pPS)脂肪を含むことに加えて、「細胞性」であるとは、「細胞性」という文言が何を意図しているかが明確でない。

36条4項(理由3): (本願出願時にヒト胚性幹細胞は樹立されていなかった事情から)ヒト胚性幹細胞は当業者がその実施をできないところ、霊長類には「ヒト」が含まれているため、発明の詳細な説明は、当業者が発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されていない。(ヒト始原幹細胞を含む組成物は、細胞自体でなくとも特許法32条の公序良俗に関する問題も懸念される。請求項において、「霊長類(ヒトを除く)」とヒトを対象としていないことが明確になれば、当該拒絶の理由は解消する)

出願人の応答

36条6項2号: pPS細胞を含む組成物の培養環境の条件を、明細書の記載に基づき特定した。

36条6項2号: 「細胞性」の文言を削除し、「細胞を含む組成物」とした。

36条4項: 以下の5点に基づいて、本願出願時の技術を適用することにより、過度の実験を行うことなくヒト胚性幹細胞をも入手できたことを主張した。

- (1) 霊長類胚性幹細胞として、マーモセット由来、アカゲザル由来の胚幹細胞の作成方法が本願出願時(原出願時)において公知;
- (2) ヒト細胞とサル細胞には類似点が多く、サル脂肪はヒト細胞のモデルとして用いられている;
- (3) 結果的には、マーモセット胚幹細胞、アカゲザル胚幹細胞の作成方法とヒト胚幹細胞の作成方法はほとんど同じ。また、これらの胚幹細胞の特徴もかなり類似;
- (4) 米国において、実施例にはマーモセット胚幹細胞、アカゲザル胚幹細胞の作成方法を記載したケースについて、ヒト胚幹細胞に関する発明についても認められた事例を紹介;
- (5) 分類学的にはマーモセットとアカゲザルよりも、ヒトとアカゲザルの方が近い関係にある。

結果

いずれの拒絶理由も解消し特許査定された。特許法

32条の公序良俗違反については、拒絶理由として指摘されることなく、ヒトについても実施可能と判断された。

②欧州：EP Application No. 98956192.3 (Pending)

(i) 審査当初クレーム(クレーム 1, 14 および 15 を抜粋)：

1. A cellular composition comprising proliferating primate primordial stem (pPS) cells, which is essentially free of feeder cells.

14. Isolated pPS cells, obtained by harvesting pPS cells from the cellular composition of any preceding claim.

15. The cellular composition or isolated cells of any of claims 1-14, wherein the pPS cells are human embryonic stem cells.

(ii) 審査の内容

第1回拒絶理由通知で種々の拒絶理由(新規性(Art. 54 EPC)；進歩性(Art.56 EPC)；記載要件／サポート要件(Art 83, 84 EPC)；非特許事由(Art. 53 (a), Rule 23d (c) EPC))が指摘されたが、第2回拒絶理由通知では、非特許事由(Art. 53 (a), Rule 23d (c) EPC)についての拒絶に対して結論が出るまではその他の事項についての判断をしない旨通知されている。ヒト胚性幹細胞を含む発明についての拡大審判部による解釈(G2/06)を受けて審査するものとして、審査がステイしている状態である。

③米国：US Application No. 09/530,346(US 680480 B)

(i) 審査当初クレーム(クレーム 51, 64, および 65 を抜粋)

51. A cellular composition comprising proliferating undifferentiated primate primordial stem (pPS) cells, which is essentially free of feeder cells.

64. Isolated undifferentiated pPS cells, obtained by harvesting pPS cells from the cellular composition of claim 51.

65. The cellular composition or isolate cells of claim 51, wherein the pPS cells are human embryonic stem cells.

(ii) 審査の概要

拒絶理由通知(1回目：112条第1パラグラフ, 第2パラグラフ, 102条)

112条第1および第2パラグラフ：<“essentially free of feeder cells”との表現は明細書に記載された事

項の範囲内ではなく、new matterである。明細書にはどの程度の細胞数が存在していれば“essentially free”といえるのかについては言及していない。

112条第1パラグラフ：明細書は、アカゲザル胚性幹細胞である未分化の霊長類始原PSC43異数体変異体を含む組成物について実施可能であるように記載しているが、すべての霊長類および／またはヒト胚性幹細胞についてまで実施可能と合理的に判断できる程度には記載していない。

102条(b)：Thomson et al. (PNAS 92：7844-7848, 1995)は細胞株R278.5と称するアカゲザルから単離された霊長類胚性幹細胞を教示しているとして、本願発明の新規性を否定。

102条(b)：Damjanov et al. (Lab. Invest. 68：220-232, 1994)はヒト生殖細胞株NCCITを教示しているとして、本願発明の新規性を否定。

出願人の応答

112条第1および第2パラグラフ：「当業者であれば、フィーダー細胞としての役割を有する細胞が組成物中に存在せず、そしてpPS細胞は未分化の表現型を維持するために組成物中の別の細胞に依存しないことを容易に理解する」旨の意見した。

112条第1パラグラフ：発明の範囲を実施例に限定して解釈するのは妥当でない旨意見すると共に、デクレーションを提出して対応した。

102条(b)：Thomson et al.に記載の発明は、フィーダー細胞を必ず含むものであり、本発明とは異なる旨意見した。また、フィーダー細胞なしにはアカゲザル胚性幹細胞は分化するか死滅してしまう旨を教示しており、本願発明に想到する動機付けを与えていない旨意見した。

102条(b)：Damjanov et al.に記載の癌細胞から単離された胚性癌腫細胞は「始原幹細胞」の範疇には入らない、旨意見した。

拒絶理由通知(2回目：102条(e))

102条(e)：Gearhart et al. (US Patent No. 6,245,566 B1)に対する本願発明の新規性を否定。

結果

Gearhart et al.は有効な102条(e)の引例としての適格がなかったため、拒絶理由は解消し、最終的に許可された。

(4) 考察

1) 3 極審査の特徴

(日本)

日本出願では、出願時におけるヒト胚性幹細胞が未知であることを理由に実施可能要件違反が指摘されたが、遺伝学的に近い他の哺乳類（アカゲザル）の胚性幹細胞が公知であり、ヒト胚性幹細胞についても同様にして得られた事実などを挙げた結果、実施可能要件を満たすものと判断された。また、ヒト胚性幹細胞を含む組成物について公序良俗違反（特許法第 32 条）の可能性についての示唆が示されたものの、結局拒絶理由となることはなく、特許査定となった。

なお、実施例は、アカゲザル由来 ES 細胞についての培養条件を検討した結果を記載しており、そしてこの細胞は Thomson らの文献（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1995, 92 : 7844-7848）に記載の方法により取得された旨、記載している。ここで、Thomson らの文献におけるアカゲザル由来 ES 細胞は、胚盤胞から取得（すなわち、胚の破壊を必要とする）されたものである。

そのような事情があるものの公序良俗違反の拒絶理由が指摘されなかったのは、特許請求の範囲の記載からは胚を破壊する過程を含むことが明らかではなく、そして、発明の本質が既に取得された結果物としての細胞の取扱いに関する方法であったこと、が判断のポイントとなっているためであろう。

(欧州)

欧州出願では、本願発明はヒト胚性幹細胞を含む発明と認定されており、ヒト胚性幹細胞の取扱いについての拡大審判部による判断を踏まえて審査するものとして、審査がステイしている状態である（2009 年 5 月 28 日現在もステイ中）。その他の実体的要件についても判断がなされていない。なお、拡大審判部による G2/06 審決は 2008 年 11 月 25 日付でなされており、ヒト胚の破壊が不可避である方法によって調製されたヒト ES 細胞組織のクレームは、たとえその方法がクレームの一部を構成していない場合でも拒絶される、と判断されている。したがって、本件においてもヒト胚性幹細胞を含みうる態様での記載は認められない方向で判断されるものと思われる。

(米国)

米国出願では、アカゲザル胚性幹細胞についての実施例によるサポートのみでは、霊長類全般についてま

で実施可能と合理的に判断できない旨が指摘されたが、デクラレーションで遺伝学的に近い他の哺乳類の胚性幹細胞が公知であり、ヒト胚性幹細胞についても同様にして得られた事実などを述べた結果、実施可能と判断された。米国特許法においては日本や欧州のように公序良俗違反の非特許事由の規定がなく、ヒト胚性幹細胞を含む発明について制約が緩やかであるため、倫理的観点からの指摘はなされなかった。“細胞性組成物 (a cellular composition)” のみならず、“細胞集団 (a cell population)” としても許可されている。

2) ヒト胚性幹細胞の取扱い

ヒト胚性幹細胞を含む発明に関しては、米国においては特許適格性についてゆるやかであり、多様な記載方法が可能である一方、日本においては胚を破壊する過程を含まず、既に取得された結果物としての細胞の取扱いに関する発明として記載することで公序良俗違反をさけることができ、欧州においてはヒト胚性幹細胞を含みうる場合はいかなる場合も拒絶される可能性が高い、という違いがある。

(担当：福所しのぶ)

【事例番号】 事例 4

【発明の名称】 単球を起源に持つ、脱分化したプログラム可能な幹細胞およびそれらの製造と使用

【出願人】 プラスティコン ビオテクノロジー シュフォーニング ゲーエムベーハー

【出願番号】 PCT/EP2003/003279 (WO2003/083092)

JP Appl. No. 2003-580528 (特許査定：JP 4146802)

EP Appl. No. 03727271.3 (特許査定：EP 1436381)

US Appl. No. 10/401026 (特許査定：US 7138275)

【事例の内容】

(1) 最終クレーム

① JP Appl. No. 2003-580528

【請求項 1】 ヒト単球起源の、脱分化した、プログラム可能な幹細胞の生成のためのプロセスであって、該プロセスは、以下：

- a) 単離したヒト血液から得られた単球が、細胞増殖因子 M-CSF を含む、細胞培養培地中で増殖すること；
- b) 該単球が、工程 a) と同時かまたは工程 a) の後に、M-CSF, IL-3, およびウシ胎仔血清またはヒト AB 血清を含む培養培地中で培養されること；および
- c) 該ヒトの成熟した脱分化したプログラム可能な

幹細胞が、培養培地から該細胞を分離することによって得られること；

を特徴とする、プロセス。

【請求項 14】膜結合型単球特異的表面抗原である CD14 と、CD117、CD123 および CD135 からなる群から選択される少なくとも 1 つの多能性マーカーとによって特徴付けられる、ヒト単球起源の、脱分化した、プログラム可能な幹細胞であって、請求項 1-13 のプロセスによって得られた、幹細胞。

② EP Appl. No. 03727271.3

1. Process for the production of dedifferentiated, programmable stem cells of human monocytic origin, characterised in that a) monocytes are isolated from human blood; b) the monocytes are propagated in a suitable culture medium, which contains the cellular growth factor M-CSF; c) the monocytes are cultivated simultaneously with or subsequently to step b) in a culture medium containing IL-3; and d) the human adult dedifferentiated programmable stem cells are obtained by separating the cells from culture medium.

21. Dedifferentiated, programmable stem cells of human monocytic origin, characterised by the membrane associated monocyte-specific surface antigen CD 14 and at least one pluripotency marker selected from the group consisting of CD117, CD123 and CD135.

③ US Appl. No. 10/401026

1. Dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin expresses a CD 14 a CD90 antigen, and CD123 antigen.

3. A dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin expresses a CD14 antigen, a CD90 antigen, and a CD135 antigen.

5. A dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin expresses a CD14 antigen, a CD123 antigen, a CD90 antigen, and a CD135 antigen.

10. A dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated,

programmable cell of human monocytic origin expresses a membrane associated monocyte-specific surface antigen, CD14 and a CD90 antigen.

13. A dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin expresses a CD14 antigen, a CD90 antigen, and has a capacity to differentiate into a cell type selected from the group consisting of neurons, endothelial cells, adipocytes, hepatocytes, keratinocytes, and insulin-producing cells.

14. A dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin, wherein said dedifferentiated, programmable cell of human monocytic origin expresses a CD14 antigen a CD90 antigen, and has a capacity to differentiate into any cell type from the group consisting of glia cells, neurons, neuronal precursor cells, endothelial cells, adipocytes, hepatocytes, keratinocytes, and insulin-producing cells.

(2) 発明の要旨

本願発明は、所定の培養培地中での単球の培養による、ヒト単球由来の脱分化した、プログラム可能な成熟幹細胞の生成、および脱分化したプログラム可能な幹細胞等に関する。本願発明の幹細胞は、分化した単球の特徴的な CD14 表面抗体に加えて、CD117、CD123 および CD135 のうちの少なくとも 1 つ、好ましくは 2 つまたは 3 つを発現する。

(3) 審査経過

① JP Appl. No. 2003-580528 (JP 4146802)

(i) 審査当初クレーム

【請求項 1】ヒト単球起源の、脱分化した、プログラム可能な幹細胞の生成のためのプロセスであって、該プロセスは、以下：

a) 単離したヒト血液から得られた単球が、細胞増殖因子 M-CSF を含む、適切な培養培地中で増殖すること；

b) 該単球が、工程 b) と同時かまたは工程 b) の後に、IL-3 を含む培養培地中で培養されること；および

c) 該ヒトの成熟した脱分化したプログラム可能な幹細胞が、培養培地から該細胞を分離することによって得られること；

を特徴とする、プロセス。

【請求項 14】膜結合型単球特異的表面抗原である

CD14 と、CD117, CD123 および CD135 からなる群から選択される少なくとも 1 つの多能性マーカーとによって特徴付けられる、ヒト単球起源の、脱分化した、プログラム可能な幹細胞。

(ii) 審査の内容

<請求項 1 >

拒絶理由通知

発明の詳細な説明で具体的に開示された脱分化のための培地（実施例 2）は、M-CSF, IL-3, FCS, メルカプトエタノールおよび抗生物質を添加した栄養培地（PRMI 1640 培地）のみであったが、請求項 1 では、M-CSF と IL-3 を同時に添加せず、FCS およびメルカプトエタノールの添加を必須としていなかったため、記載不備であると認定された（特許法第 36 条第 4 項および特許法第 36 条第 6 項第 1 号違反）。

出願人の対応

出願人は、脱分化のための培地に、「M-CSF およびウシ胎仔血清またはヒト AB 血清」を加える補正をし、これにより当該拒絶理由は解消した。

<請求項 14 >

拒絶理由通知

実施例 2 においてヒト単球由来幹細胞の表面抗原について一応分析されてはいるが、そのみでプログラム可能な幹細胞を明確に特定できるわけではなく、請求項 14 に記載された表面抗原を有したヒト単球由来細胞の中からプログラム可能なものを選択することは、当業者にとって過度な負担であると認定された（特許法第 36 条第 4 項および特許法第 36 条第 6 項第 1 号違反）。

出願人の対応

出願人は、請求項 14 に「請求項 1-13 のプロセスによって得られた」という限定を加える補正をし、これにより当該拒絶理由は解消された。

② EP Appl. No. 03727271.3 (EP 1436381)

(i) 審査当初のクレーム

(最終クレームと実質的に同じであるので省略する。)

(ii) 審査の内容

EPO では、幹細胞の生成プロセスおよび幹細胞に関するクレーム、いずれについても特に問題とならず、特許査定となった。

また、EP03727271.3 に基づいて 2 つの分割出願（EP1506999A1 および EP149479A1）がされている。EP1506999A1 のクレームは EP03727271.3 の出願当初

のクレームであり、拒絶理由が出されているが、「Request for further processing」が繰り返され、具体的な対応はなされていない。EP149479A1 については、出願が取り下げられている。

③ US Appl. No. 10/401026 (US 7138275)

(i) 審査当初のクレーム

1. A process for the production of dedifferentiated, programmable stem cells of human monocytic origin, comprising : a) isolating monocytes from human blood; b) propagating the monocytes in a culture medium, which contains cellular growth factor M-CSF; c) simultaneously cultivating the monocytes with or subsequently to step b) in a culture medium comprising IL-3; and d) obtaining human adult dedifferentiated programmable stem cells by separating from culture medium.

16. A dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin, wherein said cell is characterized by exhibiting a CD14 antigen and a CD123 antigen.

18. A dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin, wherein said cell is characterized by exhibiting a CD14 antigen and a CD135 antigen.

20. A dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin, wherein said cell is characterized by exhibiting a CD14 antigen, a CD123 antigen and a CD135 antigen.

22. A dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin manufactured by a process comprising : a) isolating monocytes from human blood; b) propagating monocytes in a culture medium, which contains cellular growth factor M-CSF; c) simultaneously cultivating monocytes with or subsequently to step b) in a culture medium comprising IL-3; and d) obtaining human adult dedifferentiated programmable stem cells by separating from culture medium.

32. A dedifferentiated, programmable stem cell of human monocytic origin, wherein said cell is characterized by the membrane associated monocyte-specific surface antigen CD14 and at least one pluripotency marker selected from the group consisting

of CD117, CD123 and CD135.

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知

実施可能要件および記載要件は、限定要求に対して選択された請求項 16-21, 23-25 および 32-34 に記載の発明について、拒絶査定および継続審査請求の後の拒絶理由通知書で初めて取り上げられた。明細書の記載によると、本願発明の幹細胞は末梢血から遠心分離法で赤血球および死んだ細胞を分離しただけの単球分画であって、クレームに記載の表面抗原はこの幹細胞分画の細胞集団に発現していることを示す免疫組織化学的なデータしかなく、多重染色等の手法によって複数の種類の表面抗原が同一細胞に発現していることを証明したデータは全くない。そこで、審査官は、「開示した方法で調製される幹細胞の純度または均一性について出願人は実質的な証拠を示していないから、調製された細胞集団に間充織幹細胞が混在している可能性が否定できない。また、実施例においてニューロンその他に分化した細胞がもとは単球であったという証拠も示していない。そこで、当業者はクレームされた発明を実施できることの合理的な期待を抱かなかったであろう。」として、本願発明は実施可能要件を満たしていないと結論した。

出願人の応答

出願人は、本願出願後に発表された本願の発明者らによる学術論文に基づいて意見書において以下のとおり反論した。すなわち、本願の幹細胞の前駆細胞の 70～80%が単球のマーカーである CD14 を発現していること、単球の細胞系譜へのコミットメントを支配する 3 種類の転写因子が本願の幹細胞の前駆細胞に発現していること、CSF-R 遺伝子座のメチル化レベルの変化から、本願発明の実施例で肝細胞様に分化した細胞も単球の細胞系譜由来であることが前記学術論文に示されているから、本願発明の方法によって単球から幹細胞を作成することについて当業者が合理的な期待を抱くであろう、と主張した。実施可能要件についてはこの意見書により拒絶理由が解消され、特許査定された。

(4) 考察

日本については、拒絶理由通知書で特許法第 36 条第 4 項および特許法第 36 条第 6 項第 1 号を満たしていないと判断された請求項 1 および請求項 14 について取り上げた。請求項 1 (幹細胞の生成プロセス) に

関しては、培養培地中の成分をより特定することによって拒絶理由が解消し、請求項 14 (幹細胞) に関しては、「請求項 1-13 のプロセスによって得られた」という限定を加えることにより拒絶理由が解消した。細胞をクレームする場合、請求項 14 のように細胞表面抗原により細胞を規定することができる。しかし、表面抗原のみによって細胞を規定しても、本件のように記載要件違反であるとして拒絶理由の対象となってしまうことがある。このような場合に、拒絶理由を解消する 1 つの方法として、本件の請求項 14 に対してなされた補正 (すなわち、細胞の生成プロセスによって細胞を規定) が参考になるのではないかと思う。

欧州においては、幹細胞の生成プロセスおよび幹細胞に関するクレーム、いずれについても、日本のような記載要件不備については問題とならず、特許査定となった。

米国では、本願発明の幹細胞が表面抗原の発現パターンに基づいて選別された細胞ではないことが拒絶理由で指摘されていながら、CD14 と、CD117, CD123 および CD135 からなる群から選択される少なくとも 1 つのマーカーとの組み合わせの全てについて特許が認められた。

本件においては、欧州は日本と比較して記載要件が比較的緩やかに判断されているようであった。特に、幹細胞関連の発明という観点からは、細胞表面抗原のみにより細胞が規定されていても記載要件違反であるとはしていない欧州の判断は興味深い。また、米国も、幹細胞の調製方法による限定を要求しない点で、日本と比較して緩やかな判断である。

(担当：小池慎太郎，小合宗一)

【事例番号】 事例 5

【発明の名称】 ネスチンを発現する毛包幹細胞

【出願人】 アンチキアンサー インコーポレーテッド

【出願番号】 PCT/US2002/030027 (WO2003/024406);

JP Appl. No.2003-528504 (特許査定：JP 3978179),

EP Appl. No.02773519.0 (審査中),

US Appl. No.10/251657 (放棄：2009 年 5 月)

【事例の内容】

(1) 最終クレーム

① JP Appl. No. 2003-528504 (JP 3978179)

【請求項 1】 ネスチンを産生する毛包幹細胞を分離するための方法であって、毛周期の休止期又は初期成長期段階にある個々の毛包を解剖顕微鏡下に置く工

程、ここで該毛胞は、ネスチンエンハンサーの制御のもとで蛍光タンパク質を産生するヒトを除くトランスジェニック哺乳動物から得られ、解剖顕微鏡モニタリングを使用して、該細胞を細かいシリンジに引き込むことにより、蛍光タンパク質を産生する毛包のバルジ領域から細胞を分離する工程、を含む方法。

② EP Appl. No.02773519.0 (Pending Claims)

1. A method to isolate hair follicle stem cells, which method comprises : isolating nestin-expressing cells from the bulge area of the hair follicle right below the sebaceous gland during the telogen or early anagen phase, wherein the isolation is based on the expression of the marker nestin.

6. Isolated hair follicle stem cells obtainable from the bulge area of the hair follicle right below the sebaceous gland during the telogen phase, which cells express nestin and which cells, when cultured in a medium comprising FBS, BDNF, PDGF or CNTF, differentiate into neurons, astrocytes, smooth muscle cells or adipocytes.

③ US Appl. No.10/251657 (Pending Claims)

24. A method to isolate hair follicle stem cells, which method comprises providing individual hair follicles from transgenic mice or transgenic rat that comprises cells that produce a fluorescent protein under control of nestin control sequences, and isolating cells producing the fluorescent protein from the bulge area of the hair follicle immediately below the sebaceous gland during the telogen phase or early anagen phase.

28. Hair follicle stem cells isolated by the method of claim 24.

30. A method to treat a disorder benefited by generation of differentiated cells which comprises administering the cells of claim 28 to a subject exhibiting the disorder.

(2) 発明の要旨

ネスチンが毛包幹細胞の特異的マーカーであることを見出し、この知見に基づき、毛包におけるネスチン発現幹細胞の局在 (localization 発現時期と発現部位) と多分化能を実証したことにある。

本発明は、ネスチンをマーカーとして毛包幹細胞を単離する方法、単離されたネスチン発現幹細胞、当該幹細胞を用いた再生医療を提供する。

なお、ネスチン発現幹細胞の localization は、ネスチン制御下で GFP を発現するトランスジェニックマウスを用いて、当該細胞を可視化することにより特定している。

*毛包に幹細胞が存在すること、ラット皮膚にネスチン発現幹細胞が存在することは公知。

(3) 審査経過

①日本：JP Appl. No.2003-528504 (JP 3978179B)

(i) 審査当初クレーム

【請求項 1】分離された毛包幹細胞。

【請求項 3】毛包を含有する皮膚から毛包幹細胞を分離することを含んでなる、請求項 1 に記載の毛包幹細胞を単離する方法。

【請求項 10】請求項 1 の幹細胞、もしくはそれから分化した細胞を、疾患を示す哺乳動物に移植することを含んでなる、疾患を治療する方法。

【請求項 18】請求項 1 に記載の分離された毛包幹細胞から分化した細胞。

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知

29 条 1 項 3 号：引用例 1 には、マウスの皮膚から幹細胞を分離したこと、該分離された幹細胞がネスチンを発現していたこと、該細胞がニューロン、グリア、平滑筋細胞および脂肪細胞に分化したことが記載されている。

29 条 2 項：ネスチン発現細胞がラット毛包周辺に見出されていること (引用例 2)、ネスチンエンハンサー制御下に緑色蛍光タンパク質を配置したベクターで形質転換した (ネスチン発現が GFP により可視化される) トランスジェニックマウス、該トランスジェニックマウスを利用して神経幹細胞を分離すること (引用例 3) は公知。

これらの記載に基づき、本発明は容易に想到しうる。

36 条 6 項：本願明細書には、ネスチンエンハンサー制御下に緑色蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックマウスを動物材料として、蛍光を指標として幹細胞を単離する方法しか記載されていない (実施可能要件)。

29 条 1 項柱書

出願人の応答

クレームを毛包幹細胞を分離する方法と、該方法で分離される毛包幹細胞に補正。

29 条 2 項：引用例 2 は、毛包周辺にネスチン発現

細胞が見出されていることを示すもので、幹細胞の分離を示すものではない。引用例3は、ネスチンエンハンサー制御下で緑色蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックマウスを用いて神経幹細胞を単離する方法を記載しているにすぎず、ネスチンの発現で毛包から幹細胞が分離できることを示唆するものではないと反論。

36条6項：分離方法を緑色蛍光タンパク質を用いた方法に限定したことで解消と主張。

拒絶査定

進歩性違反が解消せず拒絶査定。

審判請求

クレームを毛包幹細胞をネスチンエンハンサー制御下で緑色蛍光タンパク質を発現するトランスジェニック動物から分離する方法と、当該方法によって分離される毛包幹細胞に限定。

拒絶理由通知（最後：前置段階）

前置段階で、細胞については進歩性が認められない。トランスジェニック動物にはヒトが含まれるから公序良俗に反する（32条違反）として、拒絶理由が通知された。これに対し、細胞のクレームを削除、非ヒトトランスジェニック動物を用いた分離方法に限定する補正を行い、特許査定。

② EP Appl. No.02773519.0 (Pending)

(i) 審査当初クレーム（EP国内移行時の補正）

1. Isolated hair follicle stem cells.

10. A method of isolating hair follicle stem cells defined in claim 1, comprising isolating hair follicle stem cells from skin containing hair follicles.

18. Use of the stem cells of any one of claims 1, 2, 10 or 11 in the manufacture of a medicament for treating a disorder in a mammal exhibiting the disorder.

(ii) 審査の内容

拒絶理由通知（1回目）

D1にはラットの皮膚からネスチン陽性の幹細胞が単離されたことが記載されており、この細胞は50回継代でき、適切な増殖因子を添加するとニューロンに分化したことや、その医薬としての可能性も記載されている。よって、本発明は新規性を有しないというもので、日本の拒絶理由と類似している（主引用例D1は日本の引用例1と同じ）。

出願人の応答

今回の研究で明らかになった毛包幹細胞の特異的な

発現部位と発現時期を特定する記載をクレームに追加した。また、細胞は当該方法で単離された毛包幹細胞と補正した。

A method to isolate hair follicle stem cells, which method comprises : recovering nestin-expressing cells from the upper permanent bulge region of hair follicles in telogen or early anagen phase of the hair cycle; or isolating nestin-expressing cells from the upper root sheath of hair follicles in the middle or late anagen catagen stage of the hair cycle.

引用例は、皮膚からネスチンを発現している幹細胞が見つかったことを示すだけで、ネスチン発現幹細胞が毛包に存在することは記載していない。

拒絶理由通知（2回目）

補正が不適切である（新規事項追加）。明細書にはtelogen（休止期）の毛包バルジ領域に発現することは記載されているが、early anagen（初期成長期）の発現については記載されていない。中期・後期成長期にはupper outer root sheathに発現すると記載されている。また、catagen（退行期）については言及されていない。

方法については、新規性はあると思われるが、ネスチン発現細胞の選択をどう行うかについて、より明確にせよ（現在のクレームでは、ネスチンをマーカーとしない方法まで含まれる）と指摘。

細胞については、ネスチンを発現し、神経に分化するという特徴は、公知のネスチン発現幹細胞と同じであって、起源の違い（毛包幹細胞）は問題ではないと指摘。

出願人の応答

毛包幹細胞の特異的な発現部位と発現時期を、明細書の記載にしたがって修正した。

1. A method to isolate hair follicle stem cells, which method comprises : isolating nestin-expressing cells from the bulge area of the hair follicle right below the sebaceous gland during the telogen or early anagen phase, wherein the isolation is based on the expression of the marker nestin.

細胞については、特定時期の特定部位から取得されること（調製方法）、ネスチンを発現していること（マーカー）、特定の培養方法により神経、星状細胞、平滑筋細胞、脂肪細胞に分化すること（分化能）を特定した。

6. Isolated hair follicle stem cells obtainable from

the bulge area of the hair follicle right below the sebaceous gland during the telogen phase, which cells express nestin and which cells, when cultured in a medium comprising FBS, BDNF, PDGF or CNTF, differentiate into neurons, astrocytes, smooth muscle cells or adipocytes.

本件はまだ審査に係属中である。

③ US Appl. No.10/251657 (Pending)

(i) 審査当初クレーム

1. Isolated hair follicle stem cells.

10. A method of treating a disorder comprising implanting the stem cells of claim 1 or cells differentiated therefrom into a mammal exhibiting the disorder.

18. Differentiated cells from the isolated hair follicle stem cells of claim 1.

(ii) 審査の内容

限定要求で、I (毛包幹細胞の分離方法と分離された毛包幹細胞)、II (毛包幹細胞を用いた治療法)に分けられ、Iを選択。

拒絶理由通知

102条 (b) (新規性)：当初クレームは単に「単離された毛包幹細胞」となっており、何らの特性も特定していなかったため、ヒト皮膚標本から単離された細胞が多分化能を有することを示唆した文献に基づき、新規性なしとの拒絶を受けた。

112条第1パラグラフ (記載要件、実施可能要件)：複数の論文を引用し、「本願出願時、毛包幹細胞の存在は確認されていたが、単離はされておらず、特にヒトの毛包幹細胞の存在は議論があった」と認定。その上で、本願明細書は特定のトランスジェニックマウスから毛包幹細胞を単離したことしか開示しておらず、出願時の技術常識に基づけば、他の多くの動物から同様の方法で毛包幹細胞が取得可能とはいえず、本願発明は実施可能要件、記載要件を満たさないと指摘。

112条第2パラグラフ (明確性)：「ネスチンがGFPに連結されている」という表現について、連結にはさまざまな態様があり、どのように連結したか不明確と指摘。

出願人の応答

102条 (b)：ネスチンを発現している毛包幹細胞 (Isolated hair follicle stem cells, wherein the cells express nestin) に限定

112条第1パラグラフ：さまざまな論文が幹細胞の局在を議論しているが、どの先行技術もネスチン発現幹細胞は開示しておらず、発明者らによって初めて単離され、特性・分化が確認された。他の動物には毛包幹細胞は存在しないという証拠もないのであるから、出願人は毛包幹細胞を possess していたと言えるとの反論。

また、明細書は毛包幹細胞の局在について十分に開示しており、また毛包幹細胞はネスチン以外のマーカーも発現しているから、毛包幹細胞を他の動物から取得することは実施不可能ではないとの反論。

112条第2パラグラフ：論文を示して、ネスチンをどのようにGFPに連結するかは、当業者には自明であったとの反論。

拒絶理由通知 (Final)

“ネスチンを発現している”との限定により、新規性の拒絶は解消。

112条：出願人の反論は納得できるものでないと、Final OAが通知された。

審査官は、マウスに毛包幹細胞が存在するとしても、ラットやヒトは研究中で、誰も単離できたものはおらず、ヒトについては毛包幹細胞の存在も議論があったのだから、マウスの実施例だけで他の動物の毛包幹細胞について記載要件、実施可能要件を満たすとは言えないとの立場を維持。

出願人の応答 (RCE)

毛包幹細胞をヒトまたはゲッ歯動物に限定。「ネスチンがGFPに連結されている」を、「ネスチンがGFP制御配列下にある」と補正。

ヒトについて、毛包幹細胞の単離可能性、ヒト皮膚におけるネスチンの発現を示す論文を提出。毛包の機能と構造は哺乳動物でよく保存されており、マウスの実施例はゲッ歯動物のサポートに十分であると反論。

*以後、112条違反に対し、上記を含めて8回の拒絶理由通知が通知され、3回のRCEにより出願人の反論がなされたが、結局拒絶理由は解消せず、2009年5月に本件は放棄 (abandon) となった。審査官の主張は、本件出願時、毛包幹細胞の存在自体不明であったのだから、実施例に記載されたトランスジェニックマウスから単離する以外の方法で、ネスチン発現毛包幹細胞が得られるとの確証はないというものであった (実施可能要件・記載要件違反)。日欧で指摘された進歩性違反は指

摘されなかった。

(4) 考察

1) 発明の本質

本願のポイントは、ネスチンが毛包幹細胞の特異的マーカーであることを見出し、この知見に基づき（ネスチン発現細胞を可視化する手段により）毛包における幹細胞の局在や多分化能を実証するとともに、その特異的な発現部位や発現時期を特定したことにある。しかしながら、後述のとおり、発明の本旨に沿ったクレームが維持されているのは欧州のみである。

2) 3 極審査の特徴

(日本)

日本は、早期に登録は受けているが、ネスチンをエンハンサー制御下で緑色蛍光タンパク質を発現する非ヒトトランスジェニック動物を用いた細胞の分離方法しか権利化できていない（ヒトと細胞については分割出願が係属中）。

トランスジェニックマウスは、単にネスチン発現毛包幹細胞の存在と、その発現時期と発現部位を特定するために用いられたものであって、ここから細胞を単離するのが発明の本旨ではない。非ヒトトランスジェニック動物を用いた細胞の分離方法では、リサーチツールしかカバーしない。

(欧州)

欧州は、今回の知見で明らかになった発現部位と発現時期を特定することで、トランスジェニック動物を用いた方法に限定することなく応答している。審査官の指摘も妥当である。

先行技術を考慮すると、ネスチン発現のみで権利化することは困難と思われるが、米国の指摘を参考に、幹細胞の単離、特性決定の難しさ、毛包幹細胞の局在自体 controversial であったと反論できたかもしれない。

(米国)

米国では、出願時の技術常識の認定が日欧とまったく異なる。

日欧では、毛包幹細胞の存在やネスチン発現細胞の存在を示唆した文献に基づき新規性・進歩性違反を指摘された。これに対し、米国では、毛包幹細胞の存在について肯定否定双方の論文を引用し、本願出願時に毛包幹細胞の存在は未確立（特にヒトでは controversial）と認定したうえで、トランスジェニックマウスの実施例だけで他の多くの動物由来の毛包幹

細胞の存在はサポートされないとして、一貫して実施可能要件、記載要件で拒絶している。ちなみに、上記のように技術常識を認定しているため、進歩性の拒絶はない。

先行技術の認定に間違いはなく、指摘は納得できる。但し、ヒト毛包幹細胞の存在可能性は本願出願時に十分にあったと思われ、出願人の追加データ（論文）を受け入れてヒト毛包幹細胞を認める余地もあったのではないかと思われる。また、トランスジェニックマウスやラットからの分離方法に限定させたり、GFPの連結を具体的に限定させる必要があるだろうか？技術水準の認定は正しくても、技術水準に基づく112条の要件のあてはめに問題があるように思われる。

米国は、モノについては inherency という考えをとるため、細胞について権利をとるのは難しいと思われる。しかし、本願については、出願時に毛包幹細胞の存在は未確立（controversial）と認定したうえで、マウスの実施例で他の多くの動物由来の毛包幹細胞はサポートされないとして、実施可能要件・記載要件で一貫して拒絶している点で、興味深い。このアプローチが、この審査官独自のものか、当該分野の一般的な傾向かは、本事例だけではわからない。

3) 明細書の開示

本願出願前、毛包幹細胞の単離は成功しておらず、ヒト毛包幹細胞の存在は controversial だった。マウスとヒトでは、類似する幹細胞でもマーカー発現や局在に違いがある場合も多い。マウスやヒトについて、標本等から、毛包付近に幹細胞が存在することを示すデータを示して、出願すべきだったといえる。

また、トランスジェニック動物だけでなく、ネスチンをマーカーとして幹細胞を分離する他の可能な方法をより具体的に記載しておくべきだった。ネスチンは中間径フィラメントであり、市販の抗体を利用した免疫染色等も可能と思われる。これらを利用した、ヒトに応用可能な分離方法についても、明細書にきちんと記載しておくことが必要だった。そうでないと、ヒトを含む権利が取得できず、再生医療への応用が図れない。

幹細胞については、どのような先行技術が見つかるかわからない。該細胞を既知の細胞と区別するための要件として、後に補正で追加可能なように、1つのマーカーだけでなく、あらゆる点（複数のマーカー、分化能（機能）、由来、調製方法）から、当該細胞の特性

を記載しておくことが望ましいと思われる。

(担当：松任谷優子)

5. 全体のまとめ

上記5つの事例を参考に、幹細胞の審査実務における日米欧の判断の相違、出願に際しての留意点等について、以下にまとめる。

5.1 審査実務における日米欧の判断の相違

新規性・進歩性

(引用文献)

日本と欧州は、引用文献が共通していることが多かったが、米国では日欧とは異なる学術論文を数多く引用されるケースが目立った。とくに、〈事例5〉では、米国において、当該幹細胞の存在を肯定あるいは否定する数多くの論文を引用し、当該幹細胞の存在は controversial と認定したうえで、マウスの実施例で他の動物の幹細胞はサポートされないとして、一貫して記載要件・実施可能要件で拒絶されたが、進歩性の拒絶は出されなかった。

公知の細胞とは区別しうる技術的特徴

新規性・進歩性では、先行技術に開示された（公知の）細胞とは区別しうる技術的特徴を有するか否かが、判断のポイントとなる。そのような技術的特徴としては、①由来 ②マーカー ③形態、形状、大きさ ④機能（分化能） ⑤調製（単離）方法 等を挙げることができる。

今回、いかなる技術的特徴をもって、公知の細胞と「区別しうる」とみなすかは、審査官庁というより、事例ごとにさまざまであった。

たとえば、〈事例1〉では、日本では、由来+機能（分化能）に加えて、マーカーによる特定を「区別しうる」ために求められたが、欧米では、由来+機能（分化能）による特定のみで、マーカーによる特定は求められなかった。一方、〈事例4〉は、日本では由来+マーカー+機能に加えて、取得方法による特定を「区別しうる」ために求められたが、欧米では由来+マーカー+機能のみで特許されている。

記載要件・実施可能要件

幹細胞は未確立の技術であり、その単離、特性決定、分化制御は極めて難しい。またマウスとヒトでは、マーカーや発現部位・発現時期に違いがあることも多い。そのため、マウスの実施例ではヒトはサポートされな

いとして（記載要件違反・実施可能要件違反）、ヒトについて権利を取得できない可能性がある（〈事例5〉参照）。

明確性

マーカーは、細胞を特定するため、また公知の細胞と区別するために、もっとも有効な技術的特徴である。

マーカーの発現は、本来的には「あるかないか」の二者択一ではない。陽性/陰性とは、ある細胞集団に対し、免疫染色等を行ったとき検出できるか否かであって、陽性のなかには、低発現～高発現までさまざまな状態がある。公知の細胞と比較したときのマーカー発現の特徴は、陽性/陰性よりも、高発現か低発現かという表現のほうが正確である場合もあると思われる。

日本では、高/低という表現は、一般に不明確として認められないことが多いが、欧米では、高/低という表現は一般に許容される。この点、〈事例2〉の当初クレームには「CD106の発現が検出不可能なレベルかまたは低レベル」という記載があり、米国ではこの記載のまま登録された。日本では、最初の拒絶理由通知では、この記載について何ら指摘はなされなかったが、他の理由で出願人により削除された。

高発現・低発現という表現が、この分野での実情に則して、日本においても認められるかどうかは今回の事例からは断定できない。

倫理面（公序良俗）

ヒト胚性幹細胞に係る発明や、ヒト胚を壊すプロセスが含まれる発明（あるいは当然の前提として含まれると理解される発明）は、日本では32条（公序良俗）、欧州では Art. 53 (a), Rule 23d (c) EPC（非特許事由）に基づき、拒絶理由が通知される。

今回の事例では、〈事例3〉のみ、拒絶理由通知書において32条違反の可能性を示唆された。しかしながら、既に取得された結果物である霊長類始原細胞からスタートし、これを取り扱うことがポイントであるということで、最終的に32条違反は指摘されなかったようである。

しかし、WARFの胚性幹細胞に関する基本特許が、胚を壊す過程が不可避免的に含まれるからとして、32条違反で特許されないにもかかわらず、その結果物を利用する発明が32条違反に該当しないというのは妥当だろうか？人体から単離された試料（結果物）を診断のために処理する発明が29条1項柱書に該当しな

いのは、それが医師でなく企業等によって行われるからである。これと同じ考え方が、公序良俗（32条）に当てはまるとは思えない。いずれにしても、胚性幹細胞に関して、日本における32条違反の適用基準は明確ではなく、今後審査の積み上げによって、明確化されることが望まれる。

この点、欧州では、拡大審判部の審決（G2/06）により、ヒト胚の破壊が不可避である方法によって調製されたヒトES細胞組織のクレームは、たとえその方法がクレームの一部を構成していない場合でも、厳格にArt. 53 (a), Rule 23d (c) EPC（非特許事由）が適用されることが明確にされたといえる。

一方、米国では、胚を壊すか否かという倫理的な問題は、特許性判断に影響を与えない。

5.2 出願に際しての留意点

細胞の技術的特徴を多面的に捉える

今回の<事例2>からわかるよう、マーカーの発現が多少異なっている、挙動や分化能、形態等が類似していると「区別しえない」として、新規性違反の拒絶を受けることが多い。また、予想していなかった先行文献が引用される可能性も高い。

それゆえ、拒絶理由に対する将来的な補正と反論のために、「公知の細胞とは区別しうる技術的特徴」= ①由来 ②マーカー ③形態、形状、大きさ ④機能（分化能） ⑤調製（単離）方法等をできるだけ多く記載しておく必要がある。そのためには、細胞の技術的特徴を多面的に捉える必要がある。

また、後述するように、幹細胞のみならず、細胞製剤（組成物）として利用する場合も考慮し、特定の因子や薬剤との併用、特定医療用途などについても、必要であれば、記載しておくことよい。

なお、拒絶理由や引用文献は三極で異なるため、クレームする細胞は必要最小限の特徴で特定し、(i)に記載した特徴は明細書に記載しておけばよい。

ヒト細胞をサポートしうる開示

前述したように、幹細胞の単離や特性決定、分化制御は、まだ十分確立された技術とはいえない。特許では、マウスやラットをモデルとして実施例が記載されることが多いが、対応する細胞であっても、マウスとヒトではマーカーの発現（種類、発現時期、発現部位）に違いがみられることが多い。したがって、簡単でも良いので、対応するヒトの細胞を単離し、共通する特

性を有することを実証してから出願することが好ましい。

たとえば<事例5>では、GFPによりマーカーの発現が可視化されるようなトランスジェニックマウスを用いて細胞が単離され、それ以外の方法について詳細な記載はなかった。そのため、日米では、単離方法がトランスジェニック動物を用いる方法に限定されてしまい、ヒトを含まない権利となってしまった。

幹細胞の究極的な目的は再生医療である。したがって、ヒトを含む権利が取得できるように、十分なサポートを記載して出願することが望ましい。

マーカーによる細胞特定の問題

上述したとおり、マーカーは、公知の細胞と区別するために、もっとも有効な技術的特徴である。しかしながら、<事例1>や<事例5>からわかるように、マーカーの発現は発現部位や発現時期、微小環境によって容易に変化し、一過性であることも多い。

また、<事例2>に示されるように、その発現は、本来的には「あるかないか」の二者択一ではない。

さらに、マーカーの発現は、マウスとヒトなど、種間の違いが大きいこともある（<事例5>のUS OA参照）。

したがって、細胞をマーカーで特定する場合は、その細胞に特徴的なマーカーのみによって特定し、特定の時期や特定の部位でのみ発現するマーカーや、発現量の高低は明細書に記載しておくだけに留めることが望ましいかもしれない。

用途発明（細胞製剤、組成物）等の検討

最近、細胞製剤という言葉をよく聞く。「細胞製剤」とは、細胞・組織を含む調製物で、医薬品または医療用具としての利用可能性を有するものであって、いわゆる「細胞」の医療用途発明である。

細胞そのものに新規性がない、あるいは新規性を十分に実証できない場合でも、その細胞に新規な機能（たとえば、優れた分化効率）や、当該細胞と特定の因子や薬剤等との組み合わせで顕著な効果（たとえば、分化制御）が得られるのであれば、その機能を特定した細胞製剤（用途発明）として記載することが可能である。

<事例3>は、基本的には幹細胞自体に特許性はなく、培養方法に特徴がある発明だが、組成物としてクレームされていることに注目したい。もし、この細胞が、培地とともに「組成物」として使用されたり、取

引されたりするのであれば、このクレームは非常に有用である。

上記のとおり、幹細胞のみならず、その用途についても検討し、細胞製剤=組成物としてのクレームも検討することが望ましい。

6. おわりに

幹細胞については、未審査の出願が多く、今回事例として5例しか示すことができなかった。実際、結果は個別的で、これらの事例から、幹細胞の審査について、三極の傾向を把握することはできない。しかしながら、5つの事例は、少なくともどのような点に留意して明細書を作成し、拒絶理由に回答していけばよいかについては、ある程度の指針を与えてくれたものと思う。

今後、さらに事例を積み上げ、より完成した報告書が提供されることを希望する。

以上

注

- (1) Scott F. Gilbert, *Developmental Biology*, pp68 (7th ed. Sinauer Associates Inc. 2003)
- (2) 山中伸弥教授監修の「幹細胞ハンドブック からだの再生を担う細胞たち」(京都大学物質-細胞統合システム拠点 iPS 細胞研究センター, 2009年3月31日発行) が <http://www.icems.kyoto-u.ac.jp/cira/doc/stemcellh>

andbook_revised1_090527.pdf から入手できる。

- (3) 幹細胞および再生医療については、米国国立衛生研究所 NIH による詳しい解説書等が <http://stemcells.nih.gov/info> から入手できる。
- (4) Takahasi, K. and Yamanaka, S. *Cell*, 126:663-676 (2006)
- (5) Zhou, H. ら, *Cell Stem Cell*, 4: 381-384 (2009)
- (6) Kim, D. ら, *Cell Stem Cell*, 4: 472-476 (2009)
- (7) なお, 2.3. (2) に記載の他, 分化能の分類としては全能性 (totipotent) が知られている。細胞を初期胚に移植してキメラ動物を作製した場合に, 生殖細胞を含む全ての成体細胞と, 胎盤等の胚外組織の細胞との両方に分化するかどうかにより全能性の有無を検証することができる。この検証方法によって, マウスでは, 受精卵以外にも, 2-4 細胞期の全ての細胞と, 8 細胞期の一部の細胞とに全能性があり, 胚性幹細胞には全能性はないとの結果が得られている。ヒトについては倫理的にこのような実験は許されないのでマウスと同様の検証を行うことはできない。なお, 培養下で分化誘導を行うと, マウスでもヒトでも, 胚性幹細胞は胚外組織の細胞にも分化することが確認されている (Niwa, H. ら, *Nature Genetics* 24: 372-376 (2000), Gerami-Naini, B. ら, *Endocrinology* 145: 1517-1524 (2004))。このような技術状況下, 全能性を指標として幹細胞の分類することに実益が認められないことから, 本文中では全能性について記載しなかった。

(原稿受領 2009. 6. 1)