

ES細胞基本特許をめぐる最近の動向

～再審査の経過と幹細胞クレームについての考察～

平成20年度バイオリフサイエンス委員会第4部会 梅田 慎介



iPS細胞は、ES細胞で課題となっている倫理的な問題や組織適合性の問題を解決して、幹細胞を用いた再生医療を早期に実現するための革新的技術として期待されている。

一方で、iPS細胞には、遺伝子導入に伴う癌化の懸念があり、安全面での課題が残されている。再生医療分野でのiPS細胞の実用化に向けては、イニシヤライズ（初期化）後の分化制御や生体内移植後の挙動などに関する知見を集積することが必要と思われる。これらのiPS細胞の安全性に関する知見については、先行するES細胞で得られた知見が参考となるであろう。今後のiPS細胞の研究は、ES細胞の研究との間で知見を共有しながら発展していくものと予想される。

このことは、特許的な観点からみれば、今後、ES細胞について既に成立した特許が、iPS細胞に関する特許出願に対して審査段階及び権利段階の様々な局面において影響をもたらす可能性を示唆している。そこで、今回、成立済みのES細胞基本特許の再審査過程で争点となった事項を整理し、今後のiPS細胞に関する特許戦略の一助とすべく検討を行ってみた。

注目したES細胞基本特許は、ウィスコンシン大学卒業生研究財団（The Wisconsin Alumni Research Foundation：WARF）の米国特許で、特許付与後に再審査請求がなされ、現在も一部で審理が続いているものである。

1. ES細胞基本特許と再審査請求

1-1 基本特許の概要

今回採り上げるES細胞基本特許は、1995年1月20日に、WARFによって、ウィスコンシン大学マディソン校のジェームズ・トムソン教授を発明者として、最初の出願（Application No.：08/376,327）がなされた。その後、分割・継続出願を経て、以下の(A)～(C)の3つの特許が成立している。これらの特許は、ヒトES細胞を、i) 由来、ii) 機能、iii) マーカー発現

プロフィールによって規定したものとなっている。

(A) US7,029,913 (913特許)

・発明の名称

「Primate embryonic stem cell」

・登録日

2001年4月18日

・発明の要旨

ヒトES細胞のin vitro培養複製物（Replicating in vitro culture of human embryonic stem cells）に関する。

・登録クレーム

1. A replicating in vitro cell culture of human embryonic stem cells comprising cells which (i) are capable of proliferation in in vitro culture for over one year without the application of exogenous leukemia inhibitory factor, (ii) maintain a karyotype in which the chromosomes are euploid through prolonged culture, (iii) maintain the potential to differentiate to derivatives of endoderm, mesoderm, and ectoderm tissues throughout the culture, and (iv) are inhibited from differentiation when cultured on a fibroblast feeder layer.

2. The preparation of claim 1, wherein the stem cells will spontaneously differentiate to trophoblast and produce chorionic gonadotropin when cultured to high density.

3. The preparation of claim 1 wherein the cells are negative for the SSEA-1 marker, positive for the SSEA-4 marker, and express alkaline phosphatase.

(B) US6,200,806 (806特許)

・発明の名称

「Primate embryonic stem cell」

・登録日

2001年3月13日

・発明の要旨

ヒト ES 細胞とその分離方法 (Human embryonic stem cells-cell culture and method) に関する。

・登録クレーム

1. A purified preparation of pluripotent human embryonic stem cells which (i) will proliferate in an in vitro culture for over one year, (ii) maintains a karyotype in which the chromosomes are euploid and not altered through prolonged culture, (iii) maintains the potential to differentiate to derivatives of endoderm, mesoderm, and ectoderm tissues throughout the culture, and (iv) is inhibited from differentiation when cultured on a fibroblast feeder layer.

(claim 2-8 省略)

9. A method of isolating a pluripotent human embryonic stem cell line, comprising the steps of :

- (a) isolating a human blastocyst ;
- (b) isolating cells from the inner cell mass of the blastocyte of (a) ;
- (c) plating the inner cell mass cells on embryonic fibroblasts, wherein inner cell mass-derived cell masses are formed ;
- (d) dissociating the mass into dissociated cells ;
- (e) replating the dissociated cells on embryonic feeder cells ;
- (f) selecting colonies with compact morphologies and cells with high nucleus to cytoplasm ratios and prominent nucleoli ; and
- (g) culturing the cells of the selected colonies to thereby obtain an isolated pluripotent human embryonic stem cell line.

10. A method as claimed in claim 9, further comprising maintaining the isolated cells on a fibroblast feeder layer to prevent differentiation.

11. A cell line developed by the method of claim 9.

(C) US5,843,780 (780 特許)

・発明の名称

「Primate embryonic stem cell」

・登録日

1998 年 12 月 1 日

・発明の要旨

霊長類 ES 細胞とその分離方法 (Primate embryonic

stem cells-cell culture and method) に関する。

・登録クレーム

1. A purified preparation of primate embryonic stem cells which (i) is capable of proliferation in an in vitro culture for over one year, (ii) maintains a karyotype in which all the chromosomes characteristic of the primate species are present and not noticeably altered through prolonged culture, (iii) maintains the potential to differentiate into derivatives of endoderm, mesoderm, and ectoderm tissues throughout the culture, and (iv) will not differentiate when cultured on a fibroblast feeder layer.

(claim 2-11 省略)

1-2 各特許の発明特定事項

(A) US7,029,913 (913 特許)

913 特許は、ヒト ES 細胞を、ii) 機能、iii) マーカー発現プロファイルによって規定したものであり、各クレームの発明特定事項は次の通りとなっている (表 1 参照)。このうち、特に①「無限増殖能」の規定が「LIF (leukaemia inhibitory factor) 無添加条件」であることが再審査過程において重要な争点となる。

なお、再審査過程における後の補正では、さらに i) 由来を規定する発明特定事項 (⑦着床前胚由来) が追加されることになる。

クレーム 1

ii) 機能

- ①無限増殖能 (immortality) : LIF 無添加条件において 1 年以上増殖が可能。
- ②正倍数性核型 (euploid karyotype) : 正倍数性核型を維持する。
- ③全分化能 (pluripotency) : 内胚葉・中胚葉・外胚葉組織への分化能を維持する。
- ④未分化維持 (undifferentiated) : フィーダー細胞上で未分化状態を維持する。

クレーム 2

ii) 機能

- ⑤栄養膜分化能 : 高密度培養により、栄養膜に分化し、絨毛性ゴナドトロピンを産生する。

クレーム 3

iii) マーカー発現プロファイル

- ⑥ SSEA (-), SSEA (+), AP (+)

(B) US6,200,806 (806 特許)

表 1 「913 特許」(クレーム数 3) の発明特定事項

| 請求項 | 登録クレーム | 発明特定事項 |
|-----|---|--|
| 1 | A replicating in vitro cell culture of human embryonic stem cells comprising cells which (i) are capable of proliferation in in vitro culture for over one year without the application of exogenous leukemia inhibitory factor, (ii) maintain a karyotype in which the chromosomes are euploid through prolonged culture, (iii) maintain the potential to differentiate to derivatives of endoderm, mesoderm, and ectoderm tissues throughout the culture, and (iv) are inhibited from differentiation when cultured on a fibroblast feeder layer. | ii) 機能 ①無限増殖能 (immortality) ②正倍数性核型 (euploid karyotype) ③全分化能 (pluripotency) ④未分化維持 (undifferentiated) |
| 2 | The preparation of claim 1, wherein the stem cells will spontaneously differentiate to trophoblast and produce chorionic gonadotropin when cultured to high density. | ⑤栄養膜分化能 |
| 3 | The preparation of claim 1 wherein the cells are negative for the SSEA-1 marker, positive for the SSEA-4 marker, and express alkaline phosphatase. | iii) マーカー発現プロファイル ⑥ SSEA (-), SSEA (+), AP (+) |

表 2 「806 特許」(クレーム数 11) の発明特定事項

| 請求項 | 登録クレーム | 発明特定事項 |
|-----|--|--|
| 9 | A method of isolating a pluripotent human embryonic stem cell line, comprising the steps of: (a) isolating a human blastocyst; (b) isolating cells from the inner cell mass of the blastocyte of (a) ; (c) plating the inner cell mass cells on embryonic fibroblasts, wherein inner cell mass-derived cell masses are formed; (d) dissociating the mass into dissociated cells; (e) replating the dissociated cells on embryonic feeder cells; (f) selecting colonies with compact morphologies and cells with high nucleus to cytoplasm ratios and prominent nucleoli; and (g) culturing the cells of the selected colonies to thereby obtain an isolated pluripotent human embryonic stem cell line. | i) 由来 (a) 胚盤胞の分離 (b) ICM 細胞の分離 (c) 胎仔線維芽細胞上での ICM 細胞塊の形成 (d) ICM 細胞塊の分散 (e) 胎仔由来フィーダー細胞上でのコロニー形成 (f) 細胞形態と核/細胞質比によるコロニーの選別 (g) 選別されたコロニーの細胞を培養して ES 細胞を得る |
| 10 | A method as claimed in claim 9, further comprising maintaining the isolated cells on a fibroblast feeder layer to prevent differentiation. | (h) 分離された ES 細胞を線維芽細胞由来フィーダー細胞上で未分化状態を維持して培養する |

913 特許が分離されたヒト ES 細胞の in vitro 培養複製物を想定しているのに対して、806 特許のクレーム 1～8 に規定されたヒト ES 細胞は、クレーム 9～10 に規定された分離方法により分離された直後の ES 細胞を想定したものと考えられる。ヒト ES 細胞に係るクレーム 1～8 の発明特定事項は、913 特許の発明特定事項①～⑥とほぼ同様である。

ヒト ES 細胞の分離方法に係るクレーム 9～10 の発明特定事項は次の通りである (表 2 参照)。これらの発明特定事項は、ヒト ES 細胞の分離手順を規定するものであり、ヒト ES 細胞の i) 由来を特定したものととなっている。

クレーム 9

- (a) 胚盤胞の分離。
- (b) ICM (inner cell mass) 細胞の分離。
- (c) 胎仔線維芽細胞上での ICM 細胞塊の形成。
- (d) ICM 細胞塊の分散。
- (e) 胎仔由来フィーダー細胞上でのコロニー形成。
- (f) 細胞形態と核/細胞質比によるコロニーの選別。
- (g) 選別されたコロニーの細胞を培養して ES 細胞を得る。

クレーム 10

- (h) 分離された ES 細胞を線維芽細胞由来フィーダー細胞上で未分化状態を維持して培養する。

(C) US5,843,780 (780 特許)

780 特許は、ヒトを除く霊長類 ES 細胞とその分離方法に関し、806 特許の霊長類版である。780 特許のクレームは、806 特許のクレーム中の「human」を「primate」に置き換えたものとなっている。780 特許は、3つの特許の中で最も早く登録されている。これは、本特許がヒトを対象としておらず、倫理的な問題が少なかったためと考えられる。

1-3 事件概要

これら3特許に対し、2006年7月17日、アメリカの非営利の特許監視団体である The Public Patent Foundation (PUBPAT) と消費者保護団体 Consumer Watchdog (旧 Foundation for Taxpayer and Consumer Rights : FTCT) が再審査を請求した。請求理由は、一口にまとめると「ヒト ES 細胞は、既に樹立されていたマウス ES 細胞に基づいて容易に得られたものである」というものである。

再審査は、780 特許及び 806 特許については査定系 (Control No. : 90/008,102, 90/008,139), 913 特許については当事者系 (Control No. : 95/000,154) で行われた。780 特許及び 806 特許は、分離直後の ES 細胞に係るのに対し、913 特許は、分離後のヒト ES 細胞を *in vitro* 培養した複製物であって、世界中の研究者に配布され、実際に利用される細胞に係るものとなっている。そのため、913 特許については、特に当事者系での再審査が選択されたのではないかとと思われる。

以下では、3特許のうち最も重要と考えられ、当事者系再審査において一旦は拒絶理由通知がなされたものの、結局は特許が維持され、不服申立てにより現在も審判部での審理が続いている 913 特許について事件経過の詳細を説明する (図 1 参照)。

| | | |
|--------|-----|-------------------------------------|
| 2006 年 | 7 月 | PUBPAT と FTCT が再審査を請求 |
| | 9 月 | USPTO が再審査指令 WARF がライセンス要件の緩和を発表 |
| 2007 年 | 3 月 | USPTO が全クレーム拒絶のオフィスアクションを通知 |
| | 5 月 | WARF が USPTO に意見書・補正書を提出 |
| 2008 年 | 2 月 | USPTO が全クレーム特許維持のオフィスアクションを通知 |
| | 7 月 | PUBPAT と FTCT が審判部に不服申し立て |

図 1 事件経過の概要

2. 事件経過

2-1 再審査請求

2006年7月17日、PUBPAT と FTCT は、「WARF の特許は、米国民が ES 細胞を用いた再生医療研究の成果に浴する日を遠ざけ、国民の税金を無駄にするものである」として特許取消を求めて再審査請求を行った⁽¹⁾。

PUBPAT 側は、「WARF の特許の成立によって、既に何十億ドルもの研究費が特許を回避するため海外へ流出しており、米国内の研究者が ES 細胞を用いた再生医療研究に参画できない状況が生じている」と警告し、「一機関が生命そのものに関する権利を独占することは許されない」と主張している。

これらの主張は、「公衆の利益」の側面からは少なからず的を射ているように思われるが、直接に再審査の無効理由となるものではない。再審査請求書記載の請求理由は、ヒト以外の種(マウス、ヒツジ、ブタ)の ES 細胞を開示した先行学術文献を新たに2つ挙げ^{(2), (3)}、専門家の証言を得た上で、「ヒト ES 細胞の分離は、20年近く前に発表されたこれら学術文献に基づいて容易になし得たものである」ことを趣旨としている。

2-2 再審査指令と WARF によるライセンス要件の緩和

再審査請求に対して、2006年9月29日、「WARF の特許には実質的で新たな特許性に関する問題 (Substantial new question of patentability) が提起されている」との決定がなされ、再審査指令が出された。

再審査開始の決定を受けて、WARF は、当初、全ての ES 細胞利用者に求めていたライセンス契約とロイヤリティーの支払いを、アカデミック又は非営利の研究機関の利用者に対しては不要とするライセンス要件の緩和策を発表した。

また、同時に、ロイヤリティーの管理を行う California's taxpayer-funded stem cell research program からの収益還元を放棄することを表明した。これは、「WARF は公衆の利益よりも自分達の利益を優先する金の亡者によって運営されている」(John M. Simpson, FTCT's Stem Cell Project Director) との批判を回避することを目的としたものであろう。

2-3 オフィスアクション (Non Final Office Action)

2007年3月30日、再審査の結果、全クレームを拒絶するオフィスアクションが発せられた。

このオフィスアクションでは、まず、PUBPAT側が主張した無効理由を、「ヒト以外の種のES細胞を開示した学術文献をもって、ヒトES細胞を分離するための動機付けとするためには、専門家による証言のみでは不十分であり、動機付けは先行文献中の記載によってなされなければならない」として退けている。

その上で、806特許の審査では引用されたものの、913特許の審査では引用されなかった引例（米国特許5,166,065号、以下「Williams」という）を新たに引用し、この引例に基づく新規性及び進歩性違反を指摘した。

2-3-1 Williamsの概要

Williamsは、in vitroにおけるマウスES細胞の培養方法に関する発明であり、LIF (leukaemia inhibitory factor) の添加によってフィーダー細胞を用いることなくES細胞を未分化状態に維持して培養する方法に係る特許である。

(D) US5,166,065 (Williams)

・発明の名称

「In vitro propagation of embryonic stem cells」

・登録日

1992年11月24日

・登録クレーム

1. A method for the isolation of embryonic stem (ES) cells from mammalian embryos in vitro which method comprises deriving and maintaining said embryos in culture medium containing an effective amount of recombinant leukaemia inhibitory factor (LIF) for a time and under conditions sufficient for the development of said ES cells.

2. The method according to claim 1 wherein the culture medium is free of feeder cells.

(claim 3-11 省略)

2-3-2 Williamsについての審査官の認定

審査官は、Williamsについてオフィスアクションで以下の認定イ～ハに基づいて、913特許に係るヒトES細胞は、Williams記載のES細胞と実質的に同一であるとして、新規性及び進歩性なしの判断を下している。

認定イ

Williamsの実施例には、913特許に記載された分離方法と同様の手順（上述の(a)～(h)の手順）によるマウスES細胞の分離方法が記載され、また発明の

詳細な説明には、この分離方法がヒトを含む他種ES細胞へ適用できることが記載されていると指摘している。

認定ロ

さらに、審査官は、この方法によって分離されるマウスES細胞が、913特許の請求項1～3に規定された①無限増殖能、②正倍数性核型、③全分化能、④未分化維持という発明特定事項を備えていると指摘した。

認定ハ

そして、審査官は、Williamsには⑤栄養膜分化、⑥SSEA(-)、SSEA(+)、AP(+)について記載されていないと認めた上で、これらはヒトES細胞が本質的に備える性質に過ぎないとした。

また、このオフィスアクションでは、胎児精巣由来の万能細胞（いわゆる「EG細胞」）に係る米国特許5,690,926号（以下「Hogan」という）を新たに引用して、分離方法は異なるものの、結果として得られる万能細胞は、913特許に係るヒトES細胞と一見して（prima facie）区別できないとして、新規性及び進歩性を否定している。

このEG細胞は、後のWARF側の反駁においても指摘されるように、精巣由来であって、この精巣も胎齢10.5週の胎児又は出生後の胎仔から得られたものである。従って、胚盤胞ICM由来のWARFのヒトES細胞（後に、⑦着床前胚由来であることを明確化）とは、i)由来において大きく異なるものである。

2-4 WARFによる補正書・意見書の提出

2007年5月30日、WARFは、オフィスアクションに対して意見書及び補正書を提出して反駁を行った。

WARFは、「マウスES細胞は確かに20年近く前に確立されているが、同時に、これと同様の方法によってヒトES細胞を分離しようとする試みは20年近くにわたって失敗を続けている」として、ヒトES細胞を樹立したトムソン教授の功績を改めて強調した上で、ヒトES細胞は、ii)機能、iii)マーカー発現プロファイルにおいてマウスES細胞やEG細胞とは異なるとして、審査官の認定イ～ハに対して次の通り反論した。

認定ロ・ハに対して

まず、ヒトES細胞のii)機能について、「④未分

化維持」に関連し、マウス ES 細胞はフィーダー細胞がなくても LIF を添加すれば未分化状態を維持できるが、ヒト ES 細胞の未分化維持にはフィーダー細胞が必須であり、LIF 添加のみでは分化してしまうこと、そして、「⑤栄養膜分化」に関連し、マウス ES 細胞は栄養膜への分化が起こらないが、ヒト ES 細胞は栄養膜に分化し、絨毛性ゴナドトロピンを産生することを主張した。

また、iii) マーカー発現プロファイルについては、「⑥ SSEA (-), SSEA (+), AP (+)」に関連し、マウス ES 細胞は SSEA (+) であることを主張した。

認定イに対して

次に、「Williams には、913 特許に記載された手順 (a) ~ (h) によるマウス ES 細胞の分離方法が記載され、この分離方法がヒトに適用できることが記載されている」という認定イに対しては、まず、Williams には手順 (a) ~ (h) の開示はないとして真っ向から反論している。確かに、同特許明細書には、実施例 1 の工程 2 (col.6 line 52 ~ col. 7 line 4) において簡単に ES 細胞の分離方法⁽⁴⁾が触れられているのみであるため、審査官の認定は不適切と思われる。

そして、Williams は、ヒトへの適用可能性を述べているに過ぎず、実際にヒト ES 細胞を開示するものではないこと、加えて、その審査過程においてマウス以外の種に関する実施可能要件違反をクリアできなかった経緯があることを指摘した。

以上のことから、WARF は、Williams はあくまでフィーダー細胞を用いることなくマウス ES 細胞を未分化状態に維持して培養することを発明の趣旨とするものであり、ヒト ES 細胞及びその分離方法についてなんら具体的な開示も教唆もなく、これをもってヒト ES 細胞を得るための動機付けとすることはできないとして、新規性・進歩性違反の拒絶理由通知が不当である旨を主張した。

なお、補正書では、Hogan に開示される精巣由来の EG 細胞に対する i) 由来の違いを明確にすることを目的として、ヒト ES 細胞の由来を「⑦着床前胚由来 (derived from pre-implantation embryo)」と明確化する補正を行っている。

補正クレーム 1

1. A replicating in vitro cell culture of human embryonic stem cells derived from a pre-implantation

embryo, the culture comprising cells which (i) are capable of proliferation in in vitro culture for over one year without the application of exogenous leukemia inhibitory factor, (ii) maintain a karyotype in which the chromosomes are euploid through prolonged culture, (iii) maintain the potential to differentiate to derivatives of endoderm, mesoderm, and ectoderm tissues throughout the culture, and (iv) are inhibited from differentiation when cultured on a fibroblast feeder layer.

2-5 オフィスアクション (Right of Appeal Notice)

2008 年 2 月 29 日、USPTO は、Williams にはヒト ES 細胞を分離するための「合理的な成功の見込み」がなく、Williams は引例としての適格を欠くとして、新規性・進歩性違反の拒絶理由を撤回し、特許の有効性を是認した。

この拒絶理由の撤回は、WARF の主張を全面的に受け入れたものとなっている。すなわち、Williams にはヒト ES 細胞を分離した実施例はなく、ヒト ES 細胞の分離方法に関する具体的な教唆は一切ないこと、また、Williams 自身が後に発表された学術論文⁽⁵⁾で、同様の手法ではヒト ES 細胞を分離できないと述べていること、さらに、これまでヒト ES 細胞を分離しようとする試みが多くなされては失敗し続けてきたことなどを挙げ、Williams はヒト ES 細胞の分離のために過度の実験を強いるものであって、これを読んだ当業者がヒト ES 細胞を分離することは不可能であるとの WARF の主張を認めている。

WARF の主張のうち、特に決め手となったものは、やはり、Williams 自身が米国特許 5,166,065 号に記載された方法ではマウス以外の種で ES 細胞を分離できないと認めている事実であったと思われる。

2-6 不服申立て (Appeal)

2008 年 7 月 18 日、PUBPAT 側は、特許維持の判断を不服として、審判部への不服申し立てを行った。2009 年 5 月の時点で審判部による判断は示されておらず、審理は係属中となっている。

9 月 18 日付けの理由補充において、PUBPAT 側は、審査官は「合理的な成功の見込み」及び「自明性」の判断において重大なミスを犯したと主張している。このうち、「合理的な成功の見込み」については、審査

官がその判断基準を過度に高く設定していると主張している。すなわち、PUBPAT側は、当業者であれば当然にWilliamsの方法をヒトES細胞の分離に適用することを試みるであろうし、適用してみた場合に検討すべき条件はLIFの添加の有無やフィーダー細胞の有無などの限られたものに過ぎない、従って、当業者であればWilliamsの教唆によって十分な合理的な成功の見込みをもってヒトES細胞を分離することができると主張している。

3. 考察

3-1 再審査過程での争点を考慮した幹細胞クレームのあり方

再審査及び不服申し立てでは、Williams以外にも上述のHoganを含め複数の引例及び参考文献が引かれているが、主な争点は「Williamsに開示されるマウスES細胞の分離方法をヒトに適用することが容易であったか否か、そして適用することによって実際にヒトES細胞を分離することが容易であったか否か」に尽きるように思われる。

Williamsに開示される分離方法（実施例1の工程2：col.6 line 52～col.7 line 4）を、806特許クレーム9の分離方法と対比させて簡単にまとめてみると以下の通りである。

表4 Williamsと806特許のES細胞分離方法の対比

| Williams (Example 1 Step 2) | 806特許 (クレーム9) |
|--|------------------------------|
| (1) 胚盤胞の分離 | (a) 胚盤胞の分離 |
| (2) ICM細胞の分離 | (b) ICM細胞の分離 |
| (3) ICM細胞塊の形成 | (c) 胎仔線維芽細胞上でのICM細胞塊の形成 |
| (4) ICM細胞塊から出現したES細胞コロニーを分離培養してES細胞を得る | (d) ICM細胞塊の分散 |
| | (e) 胎仔由来フィーダー細胞上でのコロニー形成 |
| | (f) 細胞形態と核/細胞質比によるコロニーの選別 |
| | (g) 選別されたコロニーの細胞を培養してES細胞を得る |

Williamsの実施例1では、培養液として1,000 units/ml LIFを添加した15% FCS DMEMを用いている。しかしながら、Williamsは、その明細書の記載ぶりにおいて、LIFをフィーダー細胞の代替として用い

る場合のみならず、フィーダー細胞とともに用いる場合をも包含するかたちで記載しているため、上記(1)～(4)のプロトコールにおいてフィーダー細胞も用いてES細胞の分離を行う場合を排除していない。

そうすると、806特許の手順(a)～(h)は、PUBPAT側が不服申し立てにおいて主張するように、フィーダー細胞とともにLIFを用いたWilliamsの(1)～(4)のプロトコールをヒトES細胞に適用した場合に、LIFを用いなかっただけであるようにも思われる。

仮に、フィーダー細胞に替えてLIFを添加することでES細胞を未分化状態に維持するというWilliamsの新しい分離方法において、もう一度フィーダー細胞を用いた古い方法に立ち戻ってみることににより、ヒトES細胞の分離が上手くいったというのであれば、果たしてこれを「過度の実験」といえるか、また、WilliamsにヒトES細胞を分離するための合理的な成功の見込みがあるとするのがWARFのいう「後知恵(hindsight)」であるといえるか、という点については疑問を感じる。この辺りの感覚については、ES細胞研究の萌芽期をリアルタイムで経験した研究者であれば正しく判断できるのではないかと想像される。

一方で、マウスES細胞の分離方法の確立後、多数の研究者が同様の方法でヒトES細胞の分離を試みて失敗しているという事実は、トムソン教授がWilliamsにも開示される従来のマウスES細胞の分離方法を転用した上で、単にあえてフィーダー細胞を用いたという以外にも何かしらの改良を加えることでヒトES細胞の分離に成功した可能性を示唆している。仮に、この改良が現実に存在するのであれば、ヒトES細胞を規定するクレームは、この改良（例えば、ICM分離時の胚盤胞の発生ステージや、分離したICMの分散具合、培養液に添加する因子等に関する工夫）が発明特定事項として含まれるか、少なくとも何らかの形で反映された規定ぶりとされるべきではなかろうか。

現在、幹細胞(iPS細胞・ES細胞)のクレームは、細胞を、i)由来、ii)機能、iii)マーカー発現プロファイルによって規定する形式が受け入れられつつある。913特許のヒトES細胞クレームも、細胞を、i)由来(⑦着床前胚由来)、ii)機能(①無限増殖能、②正倍数性核型、③全分化能、④未分化維持、⑤栄養膜分化能)、iii)マーカー発現プロファイル(⑥SSEA(-), SSEA(+), AP(+))によって規定している(「表1」参照)。

しかしながら、このうち①無限増殖能、②正倍数性核型、③全分化能、④未分化維持の規定は、幹細胞が当然に備えているべき機能を特定したものに過ぎないというべきであろう。そして、筆者の私見によれば、たとえ①「無限増殖能」の規定が「LIF 無添加条件」であるとしても、この事実はマウス ES 細胞との性質の違いを明らかにするという意味においてヒト ES 細胞の新規性を担保するものとはなるかもしれないが、Williams 記載のマウス ES 細胞の分離方法をヒトに適用することの困難性を主張するための根拠とはなり得ないと考える。これは、⑤栄養膜分化能及び⑥マーカー発現プロファイルについても同様であり、これらは得られたヒト ES 細胞が結果的に備えていた性質を規定したものに過ぎず（審査官「認定ハ」参照）、マウス ES 細胞に対する新規性の根拠とはなっても、進歩性の根拠とならないのでないだろうか。特に、遺伝子発現については、mRNA が 1 コピーも存在していないことをもってネガティブとするのか、そうでないならばどのメソッドによってどの検出感度レベルで存在していなければネガティブとするのかについては大いに疑義の存するところであり、また細胞培養過程において遺伝子発現は常に変化していることも考えれば、⑥マーカー発現プロファイルの特定は、細胞の新規性のみを考慮するための参考的な規定に留められるべきと言えよう。さらに、⑦着床前胚由来については、胎齢 10.5 週の胎児又は出生後の胎仔の精巣由来の EG 細胞に対しては発明特定事項となり得るものの、同じく胚盤胞 ICM から分離されるマウス ES 細胞に対しては発明特定事項とさえなり得ない。

結論として、筆者は、WARF のヒト ES 細胞クレームには、Williams 記載のマウス ES 細胞の分離方法をヒトに適用することの困難性を主張するための根拠となる発明特定事項が存在していないと考えており、仮の話にはなるが、上述のようなマウス ES 細胞の分離方法をヒトに適用するに際しての何かしらの改良があるのであれば、これを発明特定事項として含むような形でヒト ES 細胞がクレームされていることが望ましいと考えている。しかし、この場合には、例えば ICM 分離時の胚盤胞の発生ステージを規定するようなプロダクトバイプロセス的なクレームとなり、発明の範囲は相当程度狭く解釈されることになりかねないという別の問題も生じてくる。

先発者が可能な限り発明特定事項を少なくして広

い権利範囲を取得したいと望むことは当然であるが、ES 細胞は現在でも複数の細胞株が存在しており、今後 iPS 細胞についても多数の異なる手法によって誘導された細胞株が登場してくることが予想されるなか、幹細胞が当然に備えているべき機能や得られた幹細胞が結果的に備えていた性質のみを規定した基本特許の存在は、後発出願にとって審査段階及び権利段階の双方において脅威となろう。細胞を、i) 由来、ii) 機能、iii) マーカー発現プロファイルのみによって規定した幹細胞クレームの形式については、今後、その是非を再考される必要があるのではないかと考える。

3-2 対応外国出願の状況

審理は現在も審判部に係属中であり、不服申し立てがなされた再審査は結審までに平均 5～8 年を要しているようであるので、本稿においてこれ以上の検討を行うことはできない。最後に、US 特許に対応する他国特許の状況について簡単に触れておきたい。

WARF の ES 細胞基本特許は、US 以外にヨーロッパ、オーストリア、カナダにも出願されている。このうち、EP 出願（Application No. : 96903521）については、2008 年 11 月 27 日に、欧州特許庁の拡大審判部（Enlarged Board of Appeal）が特許性を否定する判断を示している。

EP 出願は、「ヒトを含む霊長類 ES 細胞培養物」と「ES 細胞培養物をフィーダー細胞上で未分化状態に維持して培養する方法」に関するものであり、クレームの構成要件そのものにはヒト胚の使用・破壊を伴うプロセスは含まれていない。しかしながら、EBA は、たとえクレームの構成要件となっていないとしても、発明を実施するためにはヒト胚の使用・破壊のプロセスが必ず伴うのであるから、WARF の発明は、「公序良俗」（EPC Article 53 (a)）及び「ヒト胚の工業的又は商業的目的のための使用」（Rule 28 (c) EPC）に違反すると判断した。

EBA は、「この決定は一般的なヒト ES 細胞の特許性をめぐる問題とは関係しない」とのコメントを出している。このコメントは、例えば「セルバンクから得たヒト ES 細胞株に関する発明であれば特許する」という意図であるようにも思われるし、一方で「たとえセルバンクから得たヒト ES 細胞株であってもやはり当初はヒト胚を破壊して得られたものであるからヒト ES 細胞株に関する発明は全て特許しない」という

ようにも理解される。どちらの解釈が正しいのかは現時点では判然としないが、仮に後者によって解釈される場合、ヨーロッパにおけるES細胞研究は飛躍的に自由度を増し、PUBPAT側の心配に従えば、研究費の米国外流出を一層加速し、米国内におけるES細胞研究が停滞することになりかねないのではないだろうか。また、この場合には、米国研究者はiPS細胞への傾斜を一層強めて行かざるを得ないのではないかと考えられ、iPS細胞をめぐる特許戦争が一層過熱する事態が想定される。

謝辞

本稿を寄稿するにあたり、2008年度バイオライフサイエンス委員会第4部会部会長の石埜正穂先生から多大な助言を頂きました。ここに、心より感謝の意を表します。

注

- (1) 本件に関するPUBPATからの一連のニューズリリースは、<http://www.pubpat.org/warfstemcell.htm> から参照できる。
- (2) "Isolation, Properties and Karyotype Analysis of Pluripotential Cell Lines from Normal and Parthenogenetic Embryos." *Teratocarcinoma Stem Cells*, 10:647-663, 1983
- (3) "Embryo-Derived Stem Cell Lines" *Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach*,

4:71-112, 1987

(4) "Step 2: Isolation of ES cell lines"

Murine blastocysts were isolated from 129 Sv He mice at day 4 of development (day 1 = day of plug) into either Dulbecco's or Glasgows modified Eagle's medium with 15% (v/v) foetal calf serum, 0.1 mM. beta-mercaptoethanol and 1,000 units/ml of purified rE-HLIF. ES cell lines were then isolated by two different methodologies.

In the first method the blastocysts were allowed to attach to the culture dish and approximately 7 days later the outgrowing inner cell mass picked, trypsinised and transferred to another culture dish in the same culture media. ES cell colonies appeared 2-3 weeks later with between 5-7 individual colonies arising from each explanted inner cell mass. The ES cell lines were then expanded for further analysis.

The second method for isolation of ES cell lines used the immunosurgery technique (described in Martin, G. R. (1981) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:7634-7638) where the trophectoderm cells are destroyed using anti-mouse antibodies prior to explanting the inner cell mass.

- (5) "Strategies for the isolation and characterization of bovine embryonic stem cells." *Reprod Fertil Dev.* 1994 ; 6 (5) : 569-75

(原稿受領 2009. 5. 21)