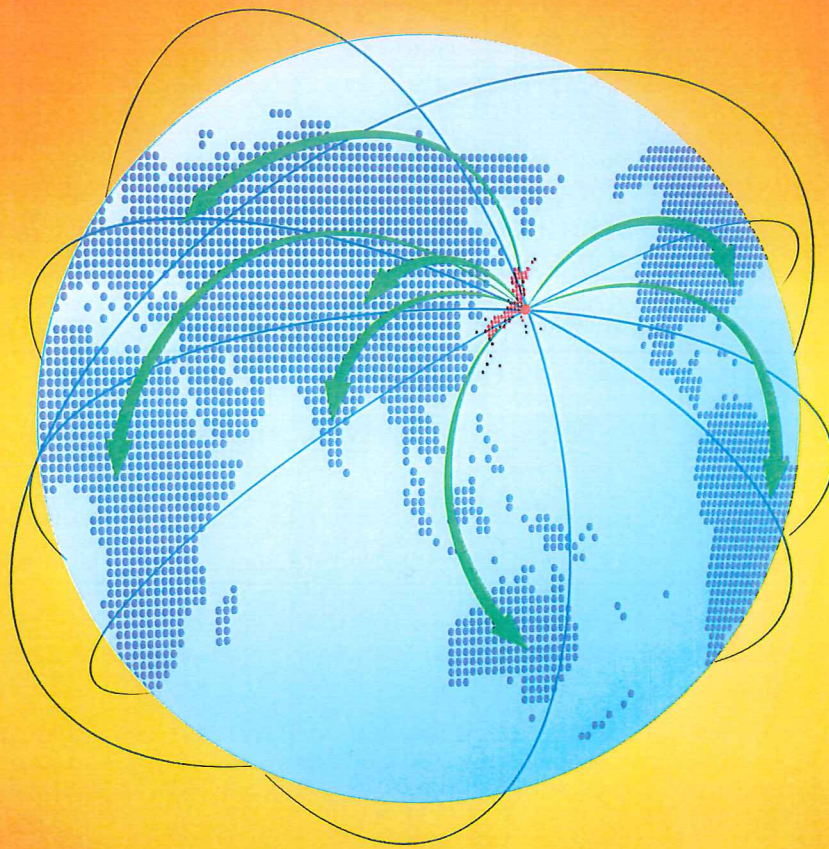


Patent

Vol.73

パテント 2020.1



特集 再生医療と知財



<https://www.jpaa.or.jp>

令和2年1月5日 印刷 第73巻第1号(通巻856号) 日本弁理士会発行
令和2年1月10日 発行 昭和27年11月18日第三種郵便物認可 毎月1回10日発行

初期化途上の体細胞をクレームすることの一考察

—その特許可能性と権利範囲—



会員 鎌田 光宜

要 約

人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 技術に係る特許争奪競争に関する議論が盛んに行われていた頃、米国の Whitehead 研究所が保有する米国出願 (発明者はマサチューセッツ工科大学の Jaenisch 博士とハーバード大学の Hochedlinger 博士) が相次いで公開され、ほどなく特許された。これらの特許は「外因性 Oct4 遺伝子を導入したより未分化な状態にリプログラミングされやすい初代体細胞」やその製法に係るもので、iPS 細胞の製造技術を広くカバーするかもしれないとして、一時その動向が注目されたが、現在のところ、これらの特許に関わる特許紛争が生じているという話は聞かない。しかし、これら一連の特許は、たった 1 つの実施例をもとに、ユニークなクレームドラフティングにより、ある意味では極めて広く解釈できる権利を取得している点で、今なお興味深い。本稿では、Whitehead の特許について、相前後して出願された山中伸弥教授らによる類似の特許と比較検討し、さらに、Whitehead 特許のクレーム表現を踏襲しているともいえる STAP 特許の現状についても紹介する。

目次

1. はじめに
2. 山中教授の先行特許
3. US2008/0280362 を原出願とする一連の米国特許
4. STAP 特許出願の審査過程でなされた補正
5. まとめ

1. はじめに

人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 技術に係る特許争奪競争やその知財戦略に関する論説は数多く存在するが、京都大学山中伸弥教授の基本特許出願 (WO2007/069666) 以前の、iPS 細胞樹立までの背景となる研究と、それらに係る特許に言及したものは少ない⁽¹⁾。本稿では、①いわゆる「山中 4 因子」と呼ばれる核初期化因子 (Oct3/4 (「Oct4」とも呼ばれる。以下、出典中の表記に従って記載することとする。), Sox2, Klf4, c-Myc) の同定のもととなった 24 の候補因子の約半数を占める ES 細胞特異的発現遺伝子 (ECAT 遺伝子) 群の発明に係る特許 (WO2002/097090)、② ECAT4 (Nanog) 遺伝子の詳細な解析の成果に基づく特許 (WO2004/067744)、並びに③ iPS 細胞の選択に用いられた実験系に係るスク

リーニング特許 (WO2005/080598) を取り上げるとともに、③のスクリーニング特許と共通の技術思想に基づく Jaenisch, Hochedlinger 両博士を発明者とする米国特許 (US7,682,828, US8,071,369 等) について、その審査経過と成立クレームの実効性を考察する。さらに、当該米国特許と類似した審査対応をとっている STAP 特許 (WO2013/163296) についても論述する。なお、これらの特許の中には筆者が代理する案件も含まれるが、客観的な論評を行うよう試みた。

2. 山中教授の先行特許

(1) ES 細胞特異的発現 (ES cell-associated transcript; ECAT) 遺伝子特許 (WO2002/097090)

山中らは、胚性幹細胞 (ES 細胞) の特性、即ち、自己再生能と分化多能性の維持に重要な役割を果たす因子は、体細胞に多能性を誘導するのにも決定的な役割を果たすだろうと考え⁽²⁾、ES 細胞で特異的に発現する遺伝子 (ECAT 遺伝子) 群の探索を行った。当時、ECAT 遺伝子として報告されていたものに Oct3/4 と呼ばれる転写因子があるが、Oct3/4 のみでは体細胞を ES 様細胞に変換することはできず、ES 細胞で Oct3/4 を恒常的に発現させてもその分化を抑

制できないことが知られており、新たな ECAT 遺伝子を同定する必要があった。山中らは、EST (Expressed Sequence Tags) データベースを利用したコンピュータ解析により ECAT 遺伝子の候補を同定し、それらの ES 細胞及び他の臓器における発現を実験的に解析して、最終的に 9 つの遺伝子が ES 細胞で特異的に発現していることを見出し、ECAT1~ECAT9 遺伝子と命名した。このうち、ECAT4 遺伝子が Nanog に相当する⁽³⁾。

WO2002/097090 (優先日: 2001 年 5 月 31 日, 国際出願日: 2002 年 5 月 31 日, 国際公開日: 2002 年 12 月 5 日) は、これら ECAT1~ECAT9 遺伝子に係る特許出願であるが、ECAT5 (ERas) 遺伝子以外は配列既知であったため、ES 細胞選択用プローブや ES 細胞のスクリーニング法としてクレームされている。最終的に、ECAT4 (Nanog) と ECAT5 (ERas) について日米欧及びオーストラリアで特許された⁽⁴⁾ (尚、欧州では、ヒト胚の使用が不特許事由に該当するため、明細書中の一行記載を根拠に、「ヒト胚由来でない細胞が ES 細胞であるかを判定するための ECAT 遺伝子の使用」という表現で成立している)。

WO2002/097090 には、ECAT3 (Fbx15) 遺伝子、Nanog 遺伝子または ERas 遺伝子の蛋白質翻訳領域にネオマイシン耐性遺伝子をノックインした ES 細胞を G418 存在下に培養すると、選択された細胞に分化細胞は全く認められなかったこと、より確実に ES 細胞のみを選択するためには、異なる ECAT 遺伝子を組み込んだ複数種のベクターを用いて相同組換えを行うことが好ましいことが記載されている (第 17 頁, 第 1-12 行)。また、倫理的問題点を解決するために、分化全能性を持った ES 様細胞を体細胞から胚を経ずに直接作り出す技術が望まれていることが記載され (第 1 頁, 第 25-26 行)、その技術開発において重要な役割を果たすのが ES 細胞等分化全能性細胞で特異的に発現する ECAT 遺伝子であり、ECAT 遺伝子の調節領域と薬剤耐性遺伝子を組み合わせることにより ES 細胞を効率よく選択できること⁽⁵⁾、さらに体細胞において ECAT 遺伝子を発現誘導することにより、ES 様細胞への変換を促進させることが記載されている (第 2 頁, 第 1-8 行)。

その後、山中らは、同様の手法により、ECAT15-1, ECAT15-2 等の ECAT 遺伝子を新たに同定し、それらについても特許出願したが (WO2006/035741),

その詳細については割愛する。

(2) ECAT4 (Nanog) 遺伝子の詳細な研究成果に基づく特許 (WO2004/067744)

山中らは、同定した ECAT 遺伝子のうち、ECAT4 (Nanog) 遺伝子についてさらに研究を進め、マウス ES 細胞の Nanog 遺伝子を標的破壊すると、自然な分化を起こして胚体外内胚葉系列に分化することを見出した。Nanog ホモ欠損マウスは胚性致死であった。一方、Nanog 遺伝子を強制発現させた ES 細胞は、LIF 非存在下で培養を行っても未分化状態が維持されたため、Nanog が ES 細胞にとって主要な自己複製決定因子であることを見出した。さらに、山中らは、SELEX 法を用いて Nanog が結合するコンセンサス配列を同定し、当該配列がマウス及びヒトの GATA6 遺伝子の転写調節領域に存在することを見出した。山中らは、これらの研究成果を Cell 誌に発表するとともに⁽³⁾、特許出願を行った (WO2004/067744)。

WO2004/067744 (優先日: 2003 年 1 月 31 日, 国際出願日: 2004 年 1 月 28 日, 国際公開日: 2004 年 8 月 12 日) は、日本のみに移行され、最終的に Nanog が結合するエンハンサーと、該エンハンサーの活性を制御する物質のレポーターアッセイ系について特許されている (特許第 4268269 号)。

WO2004/067744 には、Nanog 遺伝子のエクソン 2 を、IRES (内部リボソーム結合部位) - β geo 遺伝子 (β -ガラクトシダーゼとネオマイシン抵抗性遺伝子の融合体) 又は IRES-ハイグロマイシン抵抗性遺伝子で置換するためのターゲティングベクターをマウス ES 細胞に導入し、相同組換えにより Nanog ヘテロ欠損 ES 細胞を得たこと (第 36 頁, 第 1-15 行) が記載されている。IRES を用いていることから、挿入された選択マーカー遺伝子は内在の Nanog 遺伝子プロモーターにより転写が調節されていることになる。これらのヘテロ欠損 ES 細胞に他方のターゲティングベクターをさらに導入して Nanog ホモ欠損細胞を得たところ (第 36 頁, 第 16 行~第 37 頁, 第 2 行)、形態学的観察、マーカー遺伝子の発現解析の結果から、得られた Nanog ホモ欠損細胞は分化しており、また、キメラマウス形成能がなく分化多能性も消失していた (第 38 頁, 実施例 4)。Nanog ヘテロ欠損 ES 細胞を胚盤胞に注入してヘテロ欠損マウスを作製し、それらを交雑しても Nanog ホモ欠損の子孫は全く産生せず、

胚性致死であった（第 39 頁，実施例 5）。他方，ES 細胞で Nanog 遺伝子を強制発現させた場合には，ES 細胞の未分化状態維持に必要な LIF を培地から除去しても，ES 細胞の形態的特徴を維持し，Oct3/4 の発現も持続したことが開示されており（第 40 頁，実施例 6 (2)），Nanog の恒常的発現により，LIF 非存在下でも ES 細胞の未分化状態が十分に維持されることが示されている。さらに，「ECAT4 が強制発現された哺乳動物幹細胞」とは，哺乳動物細胞に ECAT4 を強制発現させることによって得られる細胞のことであり，哺乳動物細胞とは，個体から取り出した初代細胞であっても，培養細胞であっても，哺乳動物由来の細胞であればよいと定義されていることから（第 11 頁，第 8-15 行），体細胞に Nanog を強制発現させることにより，より未分化な幹細胞の状態に巻き戻すことも射程に入れていることが読み取れる。但し，WO2004/067744 には，後述の WO2005/080598 に記載されるような，Nanog ホモ欠損細胞に Nanog 遺伝子を強制発現させてトランスに Nanog を供給した，ES 細胞に近い状態の分化細胞までは開示していない。

(3) iPS 細胞の選択に用いられた実験系に係るスクリーニング特許 (WO2005/080598)

山中らは，ECAT3 (Fbx15) 遺伝子のコーディング領域に β geo 遺伝子をノックインしたマウス ES 細胞をマウス胚盤胞に注入してキメラマウスを作製し，ヘテロ変異 (Fbx15 ^{β geo/+}) マウスを樹立し，さらに，それらを交配してホモ変異 (Fbx15 ^{β geo/ β geo}) マウスを樹立した。Fbx15 遺伝子は ES 細胞特異的に発現するので，Fbx15 ^{β geo/ β geo} マウスの体細胞が ES 細胞と同様の未分化状態に変化すると，内在の Fbx15 プロモーターが活性化され， β geo 遺伝子が発現し，ネオマイシン抵抗性を示す。従って，ネオマイシン抵抗性を指標として，核初期化因子をスクリーニングすることができる。また，Fbx15 は ES 細胞の維持・増殖に影響しないことから，ホモで欠損 (β geo をノックイン) させることができ，マーカーの発現レベルが増大するため，核初期化因子の選択が正確かつ容易になる（感度及び精度が向上する）という利点がある。そこで，山中らは，Fbx15 ^{β geo/ β geo} マウスの胎児線維芽細胞 (MEF) に，まず ES 細胞特異的発現遺伝子 (ECAT1-5, 7-9, 15-1 及び 15-2 を含む) 及び ES 細胞で高発現し，多能性維持に必須であるか，もしくは関与が報

告されている計 24 遺伝子を同時に導入することにより，iPS 細胞を樹立することに成功し，さらに工夫を凝らして，最終的に Oct3/4, Sox2, Klf4 及び c-Myc の 4 因子のみで iPS 細胞を樹立できることを見出し，2006 年 8 月 10 日 Cell 誌に発表した⁽⁶⁾。山中らは，それに先立ち，この iPS 細胞の樹立に用いたスクリーニング系に係る特許出願を行った (WO2005/080598)。

WO2005/080598 (最先優先日：2004 年 2 月 19 日，国際出願日：2005 年 2 月 16 日，国際公開日：2005 年 9 月 1 日) は，Fbx15 だけでなく，WO2002/097090 に開示されたすべての ECAT1~ECAT9 遺伝子及び Oct3/4 遺伝子を含む任意の ECAT 遺伝子の発現調節領域により発現調節を受ける位置にマーカー遺伝子を存在させた遺伝子を含有する体細胞と，被験物質とを接触させ，マーカー遺伝子の発現を指標として体細胞の核初期化物質をスクリーニングする方法に関する。日本及び米国に移行され，最終的に，日本は ECAT2 (Esg1) のホモノックイン細胞のみ，米国は ECAT2 及び ECAT3 (Fbx15) について特許付与された (特許第 4901471 号，US7,964,401)。

日本の審査では，Oct3/4 遺伝子の発現調節領域の制御下にある β -ガラクトシダーゼ遺伝子を MEF に導入したトランスジェニック細胞 (内在 Oct3/4 遺伝子座にノックインしているわけではない) と，被験物質とを接触させ， β -ガラクトシダーゼの発現による発色を指標にして，再プログラミングを媒介する因子 (即ち，核初期化因子) をアッセイする方法を記載した特表 2002-512787 により，ECAT 遺伝子として Oct3/4 を含むクレームの新規性が否定され，当該文献と，山中ら自身の先行特許である WO2002/097090 (ECAT1~ECAT9 遺伝子を記載するだけでなく，Fbx15 遺伝子，Nanog 遺伝子または ERas 遺伝子の蛋白質翻訳領域にネオマイシン耐性遺伝子をノックインした ES 細胞を G418 存在下に培養したことを記載) とを組み合わせて，ECAT3~ECAT5 (Fbx15, Nanog, ERas) 遺伝子座にマーカー遺伝子をノックインした細胞の使用は容易想到であると認定された。そこで，ECAT2 (Esg1) 遺伝子座へのホモノックインに限定し，ES 細胞の維持に必須の Oct3/4 や Nanog と，ES 細胞の増殖に影響する ERas とに対して，スクリーニングの感度及び精度に優れるホモ変異を利用できること，実際に，マウス iPS 細胞樹立に関する山中らの論文⁽⁶⁾によれば，Oct3/4 の発現はクロー

ンによって大きくばらつくのに対し、Esg1 の発現は成体マウス尾部線維芽細胞に 4 因子を導入して得られたすべての iPS クローンについて同等に高発現していることから (図 6 (B)), Esg1 遺伝子座にマーカー遺伝子をホモでノックインした場合でも、取りこぼしなく効率よく iPS 細胞を選択できたことと推測できること等の有利な効果を主張することにより⁽⁷⁾, 特許が認められた。

一方、米国の審査では、Jaenisch, Hochedlinger 両博士を発明者とする米国特許 (US7,682,828) の出願公開明細書 (US2008/0280362) が旧法 (pre-AIA) の 102 条 (e) 項の先願として引用され、新規性が否定された。US7,682,828 は、2 件の仮出願 (US60/525,612 及び US60/530,042) (最先優先日: 2003 年 11 月 26 日) を基礎としており、2004 年 2 月 19 日を最先の優先日とする WO2005/080598 よりも早い。優先日から 5 年近くも経った 2008 年 11 月 13 日になって漸く出願公開されたのは、米国のみに出願し、非公開請求の手续をしていたためである。本特許を親出願として数多くの継続出願や分割出願がなされており、これらの発明内容について、それぞれの視点から詳細な分析を行った論説は散見されるが⁽⁸⁾, この特許が米国のみにならぬ非公開請求で出願されたことに着目したものは少ない (この点については後述する)。

US2008/0280362 には、「発明の要約」(SUMMARY OF THE INVENTION) に記載されるとおり、(1) 選択マーカーの発現が内因性多能性遺伝子の発現と実質的に一致するように、選択マーカーをコードする DNA に機能的に連結された内因性多能性遺伝子を含む、操作された体細胞 ([0010]), (2) (1) の細胞を、クロマチン構造を変化させる物質に接触させるか、あるいは 1 以上の多能性遺伝子でトランスフェクトし、選択マーカーを発現する細胞を選択し、多能性を試験することによる、体細胞をより未分化な状態に戻す方法 ([0011]), (3) (2) において既知因子に代えて初期化因子の候補物質で (1) の細胞を処理し、多能性の指標の少なくとも一部を細胞に付与した物質を選択することによる、体細胞をより未分化な状態に戻す物質の同定方法 ([0012]), (4) (2) において多能性遺伝子に代えて候補遺伝子で (1) の細胞をトランスフェクトし、内因性多能性遺伝子の発現を誘導した遺伝子を選択することによる、体細胞において内因性多能性遺伝子の発現を誘導する遺伝子の同定方法

([0013]), (5) (2) で得られる細胞の自家細胞 (臓器) 移植療法への使用 ([0014]), (6) (2) で得られる初期化された多能性体細胞 (RPSC) 由来のクローン動物の作製 ([0015]) 等が開示されている。即ち、US2008/0280362 は、WO2005/080598 と極めて類似した技術思想に基づくものであるといえる。

また、US2008/0280362 には「多能性遺伝子」として Oct3/4, Nanog が具体的に記載されていた。そのため、ECAT 遺伝子としてそれらを含むクレームは新規性を否定されたが、ECAT2 (Esg1) や ECAT3 (Fbx15) に限定したクレームについては「先行技術がない」と認定された。そこで、ECAT 遺伝子を Esg1 と Fbx15 に限定することで特許付与された。

3. US2008/0280362 を原出願とする一連の米国特許

次に、山中らのスクリーニング特許の米国出願における審査で引用された US2008/0280362 を親出願とする一連の米国特許 (Whitehead 研究所を権利者とするため、以下、包括して「Whitehead 特許」ともいう。) に焦点を当てて、その審査経過と成立クレームの権利解釈について考察する。

(1) US7,682,828

親出願である US10/997,146 は、2004 年 11 月 24 日に非公開請求を伴って USPTO に出願されたが、審査中にその請求が取り下げられ、2008 年 11 月 13 日に出願公開された (US 2008/0280362 A)。

限定要求指令を受けて、出願人は、出願当初の請求項 17-19 を審査対象として選択した。請求項 17 は以下のとおりである。

「第一の選択マーカーの発現が第一の内因性多能性遺伝子の発現と実質的に一致するように、第一の選択マーカーをコードする DNA に連結された第一の内因性多能性遺伝子を含む、体細胞。」

審査官は、内因性 Oct4 遺伝子と、 β geo 遺伝子の発現を機能的にカプリングさせたトランスジェニックマウスから回収した卵丘細胞を開示する文献 (Cloning Stem Cells 4 (2) : 121-130, 2002), Oct4-GFP トランスジーンを含むマウス胸腺細胞と ES 細胞とを融合して、胸腺細胞の核初期化を誘導したことを開示する文献 (Current Biology 11: 1553-1558, 2001) 等を引用して新規性又は非自明性を再三にわたって否定した

が、最終的にクレームを、「(A) 第一の選択マーカーの発現が第一の内因性多能性遺伝子の発現と実質的に一致するように、(B) 第一の選択マーカーをコードする DNA に機能的に連結された第一の内因性多能性遺伝子を、ゲノム中に含む、(C) 初代体細胞であって、(D) 外部から導入され、少なくとも一つの調節配列に機能的に連結された、多能性タンパク質をコードする核酸をさらに含み、(E) 該内因性多能性遺伝子は多能性胚性幹細胞で発現し、胚性幹細胞の多能性に必要であり、かつ胚性幹細胞が分化するとダウンレギュレートされる遺伝子であり、(F) 該多能性タンパク質は多能性胚性幹細胞で発現し、胚性幹細胞の多能性に必要であり、かつ胚性幹細胞が分化するとダウンレギュレートされるタンパク質である、細胞。」(符号は筆者が加入)と補正することにより、引例と差別化することに成功し、特許を取得するに至った。

この成立クレームを見ると、山中の iPS 細胞基本特許の明細書 (WO2007/069666) において、Fbx15^{βgeo/βgeo} マウスの MEF に、24 の候補遺伝子 (Oct3/4, Sox2, Nanog を含む) を 1 つずつ導入する実施例 (結果的に G418 耐性コロニーは得られなかったが) は、上記の構成要件 (A) ~ (F) をすべて充足していると読める。一方で、山中 4 因子を導入してマウス iPS 細胞を樹立する実施態様については、得られた iPS 細胞はもはや「体細胞」とは言えないので、最終産物としての iPS 細胞をカバーしていないと解される。問題は、iPS 細胞樹立過程における初期化中の (部分的に初期化された) 細胞は、この特許クレームでカバーされているか否かである。もしカバーされているとすれば、体細胞から iPS 細胞を新たに樹立する際には、必然的に本特許を一回侵害すると解される。

確かに文理解釈上はそのような結論となるかもしれないが、iPS 細胞の樹立 (即ち、完全な核初期化) のためには、複数の初期化因子の協奏的な作用に基づく極めて複雑な遺伝子発現制御が必要になるので、これらの初期化因子のセット (例えば、山中 4 因子) は、全体として一体不可分のものとして捉えるのが妥当であると思料する。してみれば、具体的組み合わせとして、せいぜい Oct3/4 と Nanog、あるいは Oct3/4 と Sox2 の組み合わせを教示するにとどまる本特許発明の権利範囲は、それら不完全な組み合わせのみによって部分的に初期化された体細胞にまでしか及ばない、即ち、本特許明細書に何ら教示されていない完全な初期

化因子の組み合わせにより最終的に iPS 細胞の樹立に至る中間産物としての、初期化中の体細胞には権利は及ばないと限定的に解釈するのが妥当ではないかと考える。いずれにせよ、US7,682,828 では、選択マーカーがゲノム中の内因性多能性遺伝子に挿入された体細胞に限定されているので、ヒトの再生医療に用いるための安全なヒト iPS 細胞の樹立という観点で見ると、問題にはならないと思われる。

(2) US8,071,369

US10/997,146 からの継続出願に基づく特許であり、その請求項 1 は「外部から導入された、少なくとも 1 つの調節配列に機能的に連結した Oct4 タンパク質をコードする核酸を含む初代体細胞を含む組成物」である。親出願との大きな相違点は、選択マーカーが構成要件から除かれていることである。このことは、ヒトの再生医療に用いるためのヒト iPS 細胞の製法として現実的な実施態様をも包含し得る可能性があることを示している。しかしながら、「完全な核初期化のためには、複数の初期化因子の協奏的な作用に基づく極めて複雑な遺伝子発現制御が必要になるので、これらの初期化因子のセットは、全体として一体不可分である」という上記の考えに立てば、やはり、本特許明細書に何ら教示されていない完全な初期化因子の組み合わせにより最終的に iPS 細胞の樹立に至る中間産物としての、初期化中の体細胞には権利は及ばないと解すべきではないだろうか。Oct4 に加えて、さらに Sox2 又は Nanog 遺伝子を外部から導入した初代体細胞を含む組成物をクレームする US8,927,279 に関しても同様である。

もちろん、いったん Oct4、あるいはさらに Sox2 又は Nanog を導入して部分的に初期化した体細胞を出発材料又は中間体として、別の初期化因子をさらに導入して完全に初期化するといった実施態様の場合は、本特許を侵害することとなる。しかしながら、初期化遺伝子を 2 段階に分けて導入するよりも、一度にまとめて導入する方が簡便かつ低コストと考えられるので、敢えてそのような実施態様を採用することは稀であると解される。

(3) US8,940,536

US10/997,146 からの分割出願に基づく特許であり、その請求項 1 は「より未分化な状態へリプログラミング

グされやすい初代体細胞の製造方法であって、外因性の、少なくとも1つの調節配列に機能的に連結した Oct4 タンパク質をコードする核酸を体細胞に導入し、該外因性核酸の発現の結果、より未分化な状態へリプログラミングされやすい体細胞が得られる、方法」である。上記(2)の組成物特許を製法に置き換えたものであり、より2段階の核初期化という態様に適合するクレーム表現である。逆に、完全な初期化を実現する因子の組み合わせによる iPS 細胞樹立という一体不可分の現象から、Oct4 のみの効果を切り取って本特許発明でカバーされていると解釈するには無理があると云わざるを得ない。

Whitehead 特許は、その後も継続もしくは分割出願を繰り返し、現在までに計9件の特許が成立しているが、上記(1)～(3)の特許クレームを少しずつ変更したものであるため、権利解釈としては、上記と同様である。もちろん、上記のようにクレームを限定的に解釈するのは、あくまで筆者の私見である。しかしながら、これほど多くの特許を取得しながら、Whitehead 研究所やその独占的ライセンスである Fate Therapeutics 社が、現在までのところ、他者に対して、クロスライセンスを含めて権利行使の動きを見せているといった情報は聞かない。ある意味、権利者自身が本特許ポートフォリオの活用には慎重を期す必要があると感じているのかもしれない。

(4) Whitehead の権利化戦略

上述のとおり、Whitehead 特許は、その権利の実効性について疑問はあるものの、不完全な知見をもとにして、初期化途上にある(部分的に初期化した)体細胞をクレームすることで、iPS 細胞に係る技術全般に権利を及ぼしかねない特許を成立させたことは、大いに参考にすべきであると考えられる。そもそも、親出願に記載されている唯一の実施例は、発現の ON/OFF が可能な Oct4 遺伝子を導入したトランスジェニックマウスの線維芽細胞の細胞核を卵細胞に核移植すると、Oct4 の発現を誘導した細胞核を移植した方が、胚盤胞の形成や ES 細胞の樹立の効率がよかったというものである。この結果から、WO2005/080598 の開示内容をほぼ網羅するとともに、さらに Oct4, Nanog, Sox2 といった初期化因子を導入して初期化しやすくすることまで盛り込んでいるのだから、たい

したものである。

それでは、なぜこの特許を米国のみで非公開請求して出願したのかという疑問が生じる。正解は出願人に聞かないと分からないが、出願当時、外部から初期化因子を導入して体細胞を ES 細胞様の細胞にリプログラミングするという発想自体は、多くの研究者が持っていて、それをどのようなアプローチで達成するかで熾烈な競争が繰り広げられており、Jaenisch らは、自分たちがその先陣を切ることを想定して、敢えて競合相手にヒントを与えるような出願は開示せず、iPS 細胞ができれば直ちに公開しようと考えていたのではないかと推測される。しかし、もし iPS 細胞樹立の競争に敗れた場合には、この出願を公開することで、アイデアとしてはパイオニアであることを示すと同時に、特許面で iPS 細胞を樹立した者を出し抜こうと考えていたのかもしれない。

しかし、よくよく考えれば、Jaenisch らのアイデアは、山中らの最初の ECAT 遺伝子特許において、既に示唆されていたのではないかと推測される。上述のように、WO2002/097090 には、倫理的問題点を解決するために、分化全能性を持った ES 様細胞を体細胞から胚を経ずに直接作り出す技術が望まれていること、その技術開発において重要な役割を果たすのが ECAT 遺伝子であり、ECAT 遺伝子の調節領域と薬剤耐性遺伝子を組み合わせることにより ES 細胞を効率よく選択できること、さらに体細胞において ECAT 遺伝子を発現誘導することにより、ES 様細胞への変換を促進させることが記載されている。また、WO2004/067744 には、実際に、Nanog 遺伝子の調節領域の下流に薬剤耐性遺伝子をノックインしたホモ変異細胞を作製し、一方で Nanog 遺伝子を外部から導入して Nanog を強制発現させた哺乳動物幹細胞も開示されている。これらの開示を組み合わせれば、Whitehead 特許発明の多くは容易想到であったのではないかと推測される。しかし、これら2件の特許は優先日こそ US10/997,146 よりも早いですが、国際公開日は US10/997,146 の優先日より1年前以内であるから、102条(b)項の適用はない。先発明主義の時代においては、102条(a)項の拒絶は、出願人が発明完成日は引例の公開日より前であることを宣誓すれば解消する。102条(e)項に関しては、基礎出願が日本出願であり、国際出願も日本語で公開されているので、有効出願日は遡及しない。もし、WO2002/097090

について第一国出願を米国仮出願で行い、PCT出願を英語で出願していれば、仮出願日が102条(e)項の有効出願日として認定され、先願の地位を得ていたはずであるから、US10/997,146の審査はより厳しいものになったかもしれない。

Whitehead特許では、限られた実施例に基づいて、初期化途上の(部分的に初期化した)体細胞をクレームするという手法が用いられたわけだが、この手法を応用した事例を紹介しておく。1つは、iPS細胞の樹立効率改善方法に係る米国特許に関するものである。iPS細胞が最初に樹立されてからしばらくは、得られたES様コロニーがiPS細胞であることを確認するために、コロニーの形態写真、アルカリホスファターゼ染色、in vitroでの三胚葉系列への分化、マウスへの移植によるテラトーマ形成等、自己複製能・分化多能性を実証する種々の実験結果を明細書に記載していたが、技術の進歩に伴い、コロニーの形態でiPS細胞か否かを判別できるようになり、確認試験が省略されるようになった。日欧で同じような拒絶を受けた経験はないが、米国では、複数の審査官が、コロニー数の比較だけでは、それらがすべてiPS細胞かどうか不明であるので、コントロールに対して樹立効率が改善されているとは言えないとして、実施可能要件違反の拒絶を受けたことがある。コロニーの形態で判別が可能であると論文を提出したり、コントロールとの差が何十倍もあるような場合には、すべてがiPS細胞でないにしても、一定以上の割合でiPS細胞はできていると考えるのが妥当であるから、効率が改善していることは明らかである等と反論したりするのだが、それでも審査官が納得しなかった際に、iPS細胞ではなく、「ES様コロニーを形成するのに十分な程度に未分化な状態までプログラムされた細胞の作製方法」に補正して、特許された場合がある。この場合は、構成としては完成しているわけであるから、Whitehead特許のように権利範囲が限定解釈される懸念は少ないものと思料する。

もう1つの例として、例のSTAP特許出願を挙げる。

4. STAP特許出願の審査過程でなされた補正

ご存知のように、小保方らは、体細胞に酸処理などの外的刺激を加えるだけで、初期化因子を導入することなく、体細胞を初期化し多能性幹細胞を誘導することができたとして、2014年1月にその内容をNature

誌に発表した。著者らは、この現象をSTAP(Stimulus-Triggered Acquisition of Pluripotency; 刺激惹起性多能性獲得)現象、得られた多能性細胞をSTAP細胞と命名した。STAPに係る特許出願は、2012年4月に責任著者の一人であるチャールズ・バカンティ教授を筆頭発明者として米国に第一国出願された後、国際出願され、論文発表より前に出願公開された(WO2013/163296)。しかし、その後、Nature論文に改ざん・捏造等の数々の不正が発覚し、論文は取り下げられ、小保方らの所属した理化学研究所を含む複数のグループによる検証実験の結果、2014年末には、STAP現象は確認できなかったと結論された。にもかかわらず、STAP出願は日本を含む各国に移行され、現在も係属中であり、一部の国では特許が成立している。

STAPの日本出願(特願2015-509109)⁽⁹⁾は、その発明内容を記載したNature論文が著者ら全員により、STAP幹細胞の現象が真実であるか否かについて、疑いなく述べるできないとして取下げられたことを理由に、実施可能要件及びサポート要件を満たさないとして拒絶査定を受けた。

これに対し、出願人は、拒絶査定不服審判を請求するとともに、分割出願(特願2018-117481)を行ったが、その後審判請求を取り下げ、現在は分割出願のみが係属中である。出願人は、分割出願の審査請求時に、請求項1を

「細胞を、低pHストレスに供する工程を含む、Oct4を発現する細胞を含有する細胞塊を生成する方法であって、該低pHが、5.4~5.8のpHであり、且つ、pHの調整がATPを用いて行われることを特徴とする、方法。」

と補正し、審査官が、STAP現象やSTAP幹細胞の誤りを示す参考文献の1つとして引用したNiwa et al., Scientific Report, 2016年6月, 6:28003, p.1-9, doi: 10.1038/srep28003には、細胞を上記の低pHストレスで処理すると、Oct4を発現する細胞塊が認められることが、検証実験にて実証されていることを根拠として、補正後の請求項1に係る発明は実施可能要件及びサポート要件を充足すると主張した。

しかしながら、審査官は、従前と同様の理由を繰り返すとともに、上記の補正に対しては、「細胞の分化・脱分化誘導においては、Oct4遺伝子は多能性マーカーの1つではあるものの、当該遺伝子の発現のみをもつ

て多能性細胞が生成したということができないことが本願出願時の技術常識である。さらに、その発現レベルについても、例えば、ES細胞等と比較して生物学的に意義のあるレベルで発現することが請求項に規定されているわけでもなく、その発現レベルにかかわらず単にOct4を発現するという性質を有する細胞を含有する細胞塊を生成したというだけでは、細胞を脱分化させたといえないことは明らかである。そして、Oct4を発現する細胞を含有する細胞塊の一部に多能性を有するものが存在した場合であっても、低い発現レベルでOct4を発現する細胞を含有する細胞塊の大部分のものの機能は不明である。」との見解を示し、拒絶理由を通知した。

上述のNiwa et al.では、ATPを用いて調整された低pHストレスに体細胞を曝露することで、ES細胞におけるOct4発現レベルと同程度にOct4を発現する細胞を含む細胞塊の発生を再現できたことが記載されている（例えば、第5頁、下から8-5行目、Figure 3c, Figure 4b等）⁽¹⁰⁾。してみれば、体細胞の種類を実施例の「肝細胞」に限定し、不正が認定された実験データに基づく従属クレームを削除するなど、さらなる補正が必要であると思われるが、Oct4遺伝子の発現については、「ES細胞における発現レベルと同程度」という限定を付せば、生物学的に意義のあるレベルであると判断され得ると解される。実際、対応外国においても、日本の補正に倣った補正がなされ、オーストラリア(AU2013251649)とロシア(RU2696071)では特許が成立している。成立クレーム(請求項1)の試訳を以下に示す。

AU2013251649

1. 単離した非胚性体細胞をATP処理に付し、Oct4を発現する細胞を選択することを含む、Oct4を発現する細胞を含む細胞塊を生成する方法であって、該細胞塊は、外因性の遺伝子、転写産物、タンパク質、核成分もしくは細胞質を導入することなく、また、細胞融合を行うことなく生成するものである、方法。

RU2696071

1. 体細胞又は前駆細胞を、剪断ストレス、高圧又はそれらの組み合わせに付すことを含む機械的刺激と組み合わせ、

該細胞を5.4~5.8の低pHストレス処理に付すことを含む、Oct3/4を発現する細胞の製造方法であって、該pHはATPによって調整され、該体細胞及び前駆細胞がいずれもヒト胚性細胞ではない、方法。

これらのクレームの実効性を考察すると、製法クレームであり侵害立証が容易ではないという一般的な問題を別にすれば、それなりの効力はあるのではないかと考えられる。初期化途上の(部分的に初期化した)細胞(の製法)をクレームしている点では、Whitehead特許と同様であるが、後者が、中間体細胞の作製のために初期化遺伝子を外部から導入するのに対し、STAP特許の場合、低pHストレス処理を行うだけであるから、初期化因子導入前の前処理として、細胞を初期化しやすい状態に誘導する工程として実施する可能性は十分にあるように思われるからである。

5. まとめ

本稿では、かなり古い特許ではあるが、これまであまり取り上げられてこなかったiPS細胞の基本特許以前の山中らの特許を詳細に分析するとともに、山中らのスクリーニング特許と酷似した技術思想に基づく発明であるが、ユニークなクレームドラフティングにより、場合によっては、iPS細胞関連技術を広くカバーすると解釈されるかもしれない特許ポートフォリオを構築したWhitehead特許について考察した。Whitehead特許のクレーム表現は確かに興味深く、場合によっては、不当に厳しい実施可能要件違反の拒絶を受けた際の回避手段ともなり得、パイオニア発明の保護に資する可能性がある反面、実施例が乏しく未完成な発明に対し、言葉のテクニックで不当に広い権利範囲が付与されないように、発明の貢献度とクレームの広狭とを正しく比較衡量して権利解釈が行われるべきであろう。

(注)

(1) 森康晃「iPS細胞の特許と日本のバイオ・イノベーションの方向性について」(<http://www.waseda.jp/sem-morizemi/file/kiyo09.pdf>)に、WO2007/06966の国際調査機関の見解書において、iPS細胞の製造方法がWO2005/080598に対して進歩性がないと判断されたことに関連して、WO2002/097090とWO2005/080598について、書誌的事項と代表クレームが紹介されている。

- (2) Takahashi and Yamanaka, Cell, 126: 6630676 (2006) の第 663 頁参照。
- (3) Mitsui et al, Cell, 113: 631-642 (2003) 参照。
- (4) 特許第 4183614号, US7,250,255, EP1403366 及び AU200206374 (以上, ECAT4 (Nanog) 関連), 特許第 4829272号, US8,158,766, US8,597,895, EP2354227 及び AU2008201280 (以上, ECAT5 (ERas) 関連)
- (5) ECAT 遺伝子の調節領域と薬剤耐性遺伝子を組み合わせることにより ES 細胞を効率よく選択できることを記載する先行技術文献として, 特表平 9-500004 号公報と対応米国特許第 6,146,888 号明細書が引用されている。
- (6) Takahashi and Yamanaka, Cell, 126: 6630676 (2006)
- (7) 2011 年 3 月 22 日付意見書
- (8) 例えば, 石埜ら, パテント 63 (14) : 59-71 (2010), 森田, パテント 72 (1) : 17-25 (2019) を参照。
- (9) STAP 出願を代理することについて, 良識の問題として受けるべきでないという批判的な意見がある。しかし, 筆者は, 「発明 (考案)」とは, 自然法則を利用した技術的思想の創作であるとの定義に基づけば, 明細書の記載の中に, 実験的に裏付けられた再現性のある事実に基づいた (従って, 自然法則を利用した) アイデアが含まれる限り, 明細書に対応する学術論文に改ざんや捏造があったことは独立して, そのアイデアを尊重し, 権利化の手助けをすることは, 必ずしも良識に反する行為であるとは考えない。
- また, ネット検索すると, 良識以前の問題として, STAP 出願が特許を受けた場合, 特許法第 197 条の規定により刑事罰の対象となる虞があるとの指摘も少なからず見受けられる。もしそうなら, 代理人弁理士もそれに加担したとして詐欺罪の共犯となる虞があることになる。しかし, STAP に係る日本特許出願 (特願 2015-509109) について審査請求がされた時点 (2016 年 4 月 22 日) では, 既に STAP 現象及び STAP 幹細胞に関する 2014 年 1 月の 2 件の Nature 論文は取り下げられ, 海外の複数グループによる追試失敗の報告や, 理化学研究所 (理研) による検証実験の中間及び最終報告も出揃っていたわけであるから, この出願の審査は, ガラス張りの条件下で公正かつきわめて慎重に進められていると考えてほぼ間違いない。確かに, 論文中の改ざん・捏造が認められたデータと同一のものが明細書中にも記載されているが, 審査経過を見る限り, 不正のあったデータは実施可能要件・サポート要件充足性の判断において考慮されておらず, 出願人に欺罔行為があったか否かに拘わらず, 審査官に錯誤が生じているとは認められない。従って, 詐欺罪の成立要件を満たしていない。代理人サイドからすれば, この出願は PCT からの国内移行であるので, 方式的要件を満たすためには, 国際出願明細書の真正な翻訳文を提出せざるを得ないので, 審査過程で, 不正なデータや再現性の乏しいデータに頼らず, 信憑性の高いデータのみを依拠して特許要件の充足性を主張することで, 欺罔行為を認定される虞を回避できる

と料する。そもそも, 出願当初に不正なデータを含ませたことを理由に, いかなる特許の成立も認めないのであれば, 特許庁は, 特許要件の審査など行わず, 例えば, 特許法第 197 条の詐欺罪が成立することを理由に, 公の秩序を害するおそれのある発明であるとして, 同法第 32 条違反で拒絶してしまえばよいのではないかと。

対応の米国出願では, 2017 年 1 月に筆頭発明者であるチャールズ・バカンティ教授が宣誓供述書を提出して, STAP 現象は彼の独自の実験により再現できていると供述しているが, 日本では, この宣誓供述書を援用することなく, 理研の追試結果に基づき, 「多能性を獲得する前段階のより未分化な状態を獲得した (即ち, Oct4 を発現する) 細胞塊を生成する方法」にクレームを補正した。その後, 米国や他の外国においても同様の補正がなされており, 再現性のある実験的事実に基づいた日本での審査対応がモデルケースとなり, 出願人の権利化戦略を軌道修正させたとも捉えることができるかもしれない。

以上のように, 現在までの日本での審査対応を鑑みれば, STAP 出願を代理することについて法令違反や重大な倫理上の問題があるとは思わない。しかし, 依頼者が科学的事実と反する (不正なデータによりサポートされる) 部分までも含めて権利を取得しようとする場合には, もはや受任すべきではないことは言うまでもない。米国では, その後さらに補正がなされ, 「Oct4 を発現する細胞塊の生成方法」から「体細胞集団内の多能性細胞の数を増加させる方法」に変更されるとともに, それを達成するための細胞の処理手段として, ATP 処理以外の低 pH 処理や低酸素処理, 細胞膜の孔の物理的破壊が追加された。これらの処理で得られた細胞が「多能性」であることはいずれの検証実験でも否定されているので, 同様の補正を日本で行えば, 欺罔行為が認定されてもおかしくはないであろう。

- (10) 詫摩雅子, 「もはや STAP ではなくなった国内「STAP 特許出願」」 (<https://news.yahoo.co.jp/byline/takum-amasako/20170917-00075756/>) では, Niwa et al. の Figure 3b を見ると, ATP 処理してない肝細胞でも ES 細胞の 1/1000~1/100 程度の Oct4 発現があるのに対し, ATP 処理したものの半分以上は無処理の肝細胞の発現レベルにすら達していないことを理由に, 生物学的に意義のあるレベルで Oct4 を発現していることが証明できているか甚だ疑問であると指摘されている。しかし, Figure 3b を見る限り, 14 個中 4 個の細胞塊で ES 細胞の 1/10 (したがって, もとの肝細胞の 10~100 倍) を超える Oct4 発現が認められており, 1 細胞塊は約 10 個の細胞からなることから, 細胞塊中の 1 個以上の細胞は ES 細胞に匹敵する Oct4 発現を示すことが推測され, そのことは免疫染色による桑実胚との染色強度の比較 (Figure 4a) によっても支持されている。

(原稿受領 2019.11.15)