

199900744A

厚生科学研究

医薬安全総合研究事業

—医薬品等の安全性確保の基礎となる研究—

平成 11 年度研究業績報告書

総合研究報告書

平成 10 年度～平成 11 年度

平成 12 年 3 月

班長 安原 一

目 次

I 総括研究報告書

医薬安全総合研究事業 平成 11 年度研究事業年次総括報告書 1-20

II 分担研究報告書

手術臓器の研究利用に関するインフォームド・コンセントの
取得に関する検討 21-23

分担研究者：草野 満夫 昭和大学医学部第二外科学教室
協力研究者：伊藤 洋二 昭和大学医学部第二外科学教室

手術材料の研究利用に対する信頼性・有用性に関する検討
(ミクロソーム画分を用いての検討) 24-36

分担研究者：安原 一 昭和大学医学部第二薬理学教室
協力研究者：倉田知光、西村有希、岩瀬万里子、李 華
昭和大学医学部第二薬理学教室

手術材料の研究利用に対する信頼性・有用性に関する検討
(培養細胞系での検討) 37-40

分担研究者：佐藤 哲男 HAB 協議会霊長類機能研究所
協力研究者：鈴木 聡、 HAB 協議会霊長類機能研究所

新薬の有効性・安全性評価のためのヒト肝組織・細胞の利用法に
関わる研究 41-43

協力研究者：大野泰雄 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター、薬理部長

ヒト臓器・組織の利用についてのアンケート調査 44-68

分担研究者：草野 満夫 昭和大学医学部第二外科学教室
安原 一 昭和大学医学部第二薬理学教室
佐藤 哲男 HAB 協議会霊長類機能研究所
協力研究者：倉田 知光 昭和大学医学部第二薬理学教室

ヒト臓器・組織の利用についての倫理規定(案)の作成

69-78

分担研究者：安原 一 昭和大学医学部第二薬理学教室
草野 満夫 昭和大学医学部第二外科学教室
佐藤 哲男 HAB 協議会霊長類機能研究所
協力研究者：内田 英二 昭和大学医学部第二薬理学教室
倉田 知光 昭和大学医学部第二薬理学教室

III 総合研究報告書

79-91

平成 10 年度～平成 11 年度

総括研究報告書

総括研究報告書

医薬品等の安全性確保の基礎となる研究

主任研究者：安原 一 昭和大学医学部第二薬理学教室、主任教授

研究の要旨

本研究は、現在確立に至っていない医薬品の安全性・毒性評価へのヒト臓器・組織使用に関する全般的な標準的操作方法の提示および、ヒト肝臓を始めとする薬物代謝に関与する臓器組織での検討の必要性、有用性並びに必然性に関して、肝臓癌切除術を受けた患者より提供された肝臓を対象に検討した。ヒト臓器・組織の研究目的での使用に関しては、脳死患者からの提供臓器で、移植不適合のものの使用が欧米では既に確立しているが本邦では現段階では法的に認められていない。そのため、我が国においては、唯一可能な手段である手術による病巣摘出時の、摘出臓器の一部の使用を行う事以外に方法はない。しかし、その使用の際の倫理性および科学性を熟慮した研究遂行方法に関しては、同意取得および得られた情報の治療への還元方法等を含め何ら規定は無く、各研究者の独自の考えに基づいて行われているのが現状であり、それらの使用に対する一般人からの不信感や疑念をもたれかねない状況にある。また、手術による摘出臓器の薬効、医薬品の安全性・毒性評価への利用に関して、それぞれの臓器の信頼性及び有用性については、十分な比較検討がなされておらず、得られる結果の質に普遍的な信頼性がもてるか否かについては不明である。

上述のような理由から、本研究では、医薬品の安全性、有効性評価に対するヒト臓器・組織の使用に関する科学性と倫理性について、治療を目的とした手術により摘出された臓器・組織を研究用試料として用いるにあたり、いかなる倫理的規定を定めるか、また、臓器・組織の提供者である患者に対してどのようなインフォームド・コンセントが必要であるかに関して討議を重ね、平成 10 年度本研究事業においてインフォームド・コンセントを得るための説明文書等の作成を行った。また、作成した説明文書、同意書および本研究事業に関する研究計画書を昭和大学医の倫理委員会に提出し、その審査および承認を得た。

承認が得られた後、本研究事業として、昨年度の本研究事業において得られた 2 例に加え、本年度、9 例の受術患者に対して、担当医師より、説明文書および同意書を用いてインフォームド・コンセントの取得を行なった。手術に関する同意を得た後に、本研究に関して文書および口頭での説明を行った後、自由意思で手術材料の提供に同意した 9 例の患者に対し肝切除術を施行し、切除された肝臓の一部を本研究事業の試料とした。本年度、提供された臓器・組織（転移性肝癌 3 例、肝細胞癌 6 例）および昨年度本研究事業において得られた 2 例を加え合計 11 例の手術材料を試料として、その摘出に要した時間、虚血状態、疾病・病巣の状況、使用薬物およびその使用期間等を総合的に加味して、手術材料が医薬品の安全性評価の検討に対応しうるのか否かに関して代表的な CYP 分子種の基質 8 種を用いて検討した。手術材料は、癌病巣、その周囲（病巣より 1 cm）および見掛け上正常と判断される部位（癌病巣より 1 cm 以遠）に分割し、それぞれの部位での各 CYP 分子種活性に関する検討を行った。比較の対象として、米国 NDRI より HAB 協議会に供給されている米国内脳死患者より移植目的で提供され、適合者が見出せず研究目的の利用に供された肝臓より調製されたプールドマイクロソームを用いて同様に検討した。その結果、転移性肝癌の見掛け上正常と思われる部位の各種 CYP 分子種活性は各分子種間で若干の差はあるものの、総じてその活性はプールドマイクロソームと比較して約 2 割から 5 割の低値が示された。しかし、CYP2C19 においてはその活性は著明に低く、1 例のみプールドマイクロソームの約 50%の活性を示したが、他の 3 例に関しては極めて低値を示した。一方 CYP2D6 活性におい

ては、逆に 2~8 倍の高値が、CYP2C9 においては約 2 倍の高値が示された。

肝細胞癌患者より提供された肝臓では、見掛け上正常と考えられる部位での活性、含量は転移性肝臓の例と比較してほぼ同様の傾向が示されたが、平均的活性値は、転移性肝臓の例と比較して若干低値を示す傾向にあった。しかし、CYP2C19 活性は転移性肝臓と比較して更に低値を示す傾向にあり、約半数の試料において活性のほぼ完全な消失が認められ、平均値で比較するとその活性はプールドミクロソームの約 5%程度であった。さらに、手術切除肝からヘパトサイトを単離し、そのバイアビリティー、培養時の接着性、薬物代謝能に関して検討を行った結果、手術切除肝でも良好な接着性と高い薬物代謝能を示した。この事実から、手術切除組織も十分に医薬品の開発研究に用い得ることが示唆された。また、ヒト臓器・組織を用いた研究に関して日本全国の主たる国公立大学外科学教室に対してアンケート調査を平成 10 年度に行ない、その結果に関して検討した結果、殆どの施設において既にヒト臓器・組織を用いた研究が行なわれている現状が明らかとなった。また、研究を行なうための試料採取においては約 20%の医師においては、その研究目的での利用に関してインフォームド・コンセントの取得が行なわれている事が明らかとなったが、他の約 8 割の医師においては、文書による同意取得がなされていない現状が明らかとなった。これらの現状を踏まえ、早急の対応の必要性が示されたため、本研究事業において、ヒト臓器・組織の研究目的での使用に関する倫理規定（案）の作成を試みた。

分担研究者氏名

佐藤哲男 HAB 協議会霊長類機能研究所

草野満夫 昭和大学医学部第二外科学

協力研究者

大野泰雄 国立医薬品食品衛生研究所

鈴木 聡 HAB 協議会霊長類機能研究所

伊藤洋二 昭和大学医学部第二外科学

内田英二 昭和大学医学部第二薬理学

倉田知光 昭和大学医学部第二薬理学

A. 研究目的

薬物のヒトでの有効性及び安全性を評価する上で動物実験は欠かせない。しかし、ヒトと動物との間には大きな種差が存在し、ヒトへの外挿を行う上での障害となっている。動物で十分検討したはずの医薬品の開発がヒトの試験で思わぬ結果をもたらし、中断してしまう事が多くある。一方、最近の研究によれば、この差の多くは薬物の生体内動態、特に肝臓での薬物代謝活性の相違に起因する事が明らかにされている。従って、ヒト肝臓あるいはそれに由来する試料を利用した試験を行うことが可能であれば、動物実験や *in vitro* 試験の結果をヒトに結び付けることに威力を発揮し、医薬品

の開発やその適切な評価が促進される。また、第 1 相臨床試験で初めにヒトに薬物を投与する際に志願者の安全性を確保する上で、予めヒト由来肝組織で試験し、動物と比較しておくことが重要である。しかし、欧米諸国においては、ヒト組織の利用に関しては、移植目的で提供され、適合者が見いだせなかった場合の臓器は研究目的で使用することが可能であるが、我が国ではその使用は法的に認められていない。そのため、ヒト臓器・組織を用いた研究は、手術材料に頼るほか方法はない。しかし、手術材料より得られる試料は、治療目的で行われる手術に付随して得られるものであり、本来の治療目的を達成した後に二次的に得られる。脳死臓器の場合には、脳死後数分で冷却された灌流液で灌流され、冷蔵保存される。これに対して、手術切除組織は手術中、長時間温阻血状態におかれる。そのため、脳死者から得られる臓器・組織とは異なり、その状態は施行される手術の方法、摘出に要する時間、麻酔薬の種類、手術に伴う阻血状態の時間、摘出後の時間経過および癌、肝硬変などの病態の影響が大きい。これらの要因は提供者個々で異なっており、

実際に研究への使用に十分な信頼性を保証するものであるのかに関しては不明な点が多く残されている。このような状況を勘案し、本研究は、ヒト手術材料、特に肝癌患者より得られた試料の信頼性と有用性を明らかにする事を目的として実験的に検討した。また、我が国におけるヒト臓器・組織を用いた研究を行うに当たっての基本的な問題、即ちヒト臓器・組織の供給方法、保存、利用および倫理性の問題等に関して討議を重ね、文献的に検討し、整理する事により広く社会的に認容されうるヒト臓器・組織を用いた研究の推進方法の提示も目的として行なった。

本年度は、平成 10 年度本研究事業の成果を基に、昨年度作成した説明文書を用い、臓器提供および研究に対する利用に関するインフォームド・コンセントの取得を行ない、得られた組織を使用してサブセルラーフラクションおよび単離細胞での薬物代謝活性を各種 cytochrome P450 (CYP) 分子種に対する代表的基質を用いて評価し、手術材料の有用性、信頼性について更に例数を増やして検討した。また、ヒト手術材料の信頼性・有用性の比較の対照として、現段階で入手可能な米国脳死患者から提供された肝試料より調製されたミクロソーム画分酵素源並びに凍結保存肝細胞を用いて検討した。さらに、昨年度、日本全国の主たる医学部および医療機関の外科医に実施したアンケート調査「ヒト臓器・組織の利用に関する現状調査」について結果の解析を行なった。また、アンケートの調査結果および社会的現況を踏まえ、手術材料等を対象としたヒト臓器・組織の研究利用に関する倫理規定案の作成も同時に試みた。

B. 研究方法

3名の分担研究者および5名の協力研究者に依頼して以下の項目について検討した。

B-1 手術臓器の研究利用に関するインフォームド・コンセントの取得に関する検討

治療を目的とした手術による臓器の部分切除を受ける患者からの臓器・組織の一部を研究目的で提供を受ける場合の同意取得

にかかる説明文書を用いた説明および文書による同意取得について、9例の患者を対象に実施した。昨年度本研究事業において作成した説明文書および同意書を使用し、研究の趣旨、内容、方法並びにプライバシーの保護および自由意思による協力である事を文書並びに口頭で説明し、提供患者の協力度、理解度等を現場の医師として患者の反応、対応態度等を指標に評価した。(草野満夫、伊藤 洋二)

B-2 サブセルラーフラクションでの薬物代謝酵素活性評価

手術材料の病巣部、病巣辺縁および末梢側での各種 CYP 分子種活性についてミクロソーム画分を用いて検討した。また、手術に伴う虚血-再灌流、切除後の温阻血状態と酵素活性との関連性等に関しても検討した。

CYP 各分子種の活性測定は、CYP1A2, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1 および 3A4 についてカフェイン、エトキシレゾルフィン、ワルファリン、メフェニトイン、デブリスロキン、クロルゾキサゾン、ミダゾラムおよびテストステロンを基質として使用し評価した。(安原 一、倉田知光)

B-3 単離ヘパトサイトを用いての薬物代謝酵素活性評価

手術切除肝臓の非癌部位 9 例を用い、常法に従ってコラゲナーゼ灌流法によりヘパトサイトを単離した。単離ヘパトサイトは、トリパンブルー染色で、生細胞数を計測し、10% FBS 含有培養液中で、コラーゲンコート培養プレートに播種し、オーバーナイトで培養した。その後、培地を無血清培地に換え、検鏡し接着率を観察した。この単離ヘパトサイトを用い、播種 40 時間後に P450 の標識特異基質を添加し、P450 アイソザイムの活性を測定した。(佐藤哲男、鈴木聡)

B-4 凍結ヒト単離肝細胞の培養皿への接着性、薬物代謝活性に関する検討

ヒト単離肝細胞サスペンションは株式会社ケーエーシを通じて、凍結標本の二つのロット (HH-018, HH-022) を得た。この肝

細胞は International Institute for the Advancement of Medicine (IIAM) がヒト肝をコラゲナーゼ処理することにより単離したもので、液体窒素の気相中に凍結保存されたものである。使用にあたっては凍結細胞の入ったチューブを室温の水の中につけ、凍結を解いた。次に Poly-L-Lysine (MW: 75,000~150,000) を塗布した直径 25 mm のカバーガラス上に約 10^6 cells/ml 細胞液 100 μ l を滴下し、約 20 分間静置し、細胞をカバーガラス面に接着させた。その後溶液をパスツールピペットで吸引し、5% ウシ胎児血清を含む Williams' E 培地 1.0 ml を加え、実験に使用するまで、37 $^{\circ}$ C の炭酸ガスインキュベータ中に置いた。肝細胞の viability はトリパンブルー染色法で測定した。接着率は浮遊している細胞数を顕微鏡下で数え、播いた細胞数を元に計算した。代謝活性は培養液にエトキシマリンを 70 μ M の濃度になるように添加し、37 $^{\circ}$ C で一定時間培養後培養液をサンプリングし、その内に含まれる母化合物および代謝物を HPLC で分析した。ジフェニールの代謝活性は凍結融解し、クレブス緩衝液に懸濁したヒト肝細胞およびコラゲナーゼ還流法で調製し、同液に懸濁したマウス肝細胞液 (10^6 cells/ml) を用いて測定した。(大野泰雄)

B-5 「ヒト臓器・組織の利用に関する現状調査」アンケート調査

平成 10 年度本研究事業において、国内の主たる医学部外科学教室および公立病院外科 81 施設の教授あるいは診療科長に対して、アンケート調査を行った。アンケート調査の内容は、研究に使用する臓器・組織の対象を手術材料に限定した。また、質問内容は、手術により摘出された臓器・組織のうち病巣部を使用するのかあるいは、必然的に切除される見掛け上正常と思われる部分を使用するのかに分け、かつ、その使用目的が診療（治療）に直接反映されるような研究であるのか否か、臓器・組織の使用に関して患者に対してインフォームド・コンセントはどのようにして取得しているのかなどについて行った。また、切除され

た臓器・組織の使用が手術を行う外科学教室内部のみで行われているのか、あるいは施設内の他の研究室での使用が行われているのかさらに、外部の施設への分譲が行われているのかについても質問した。一方、研究目的で臓器・組織を使用する旨を患者に説明し、同意を得る場合、患者側からの不安要因の一つとして、研究のために必要以上の切除が行われるのではないかという不安を訴えられる場合がある。そのため、典型的な症例を提示し、執刀医により切除術式がどのように異なっているのかについても調査した。得られた回答を集計、解析した。(草野満夫、安原 一、佐藤哲男、倉田知光)

B-6 ヒト臓器・組織を用いた研究に係る倫理規定案の作成

本研究事業において行なわれたアンケート調査結果を踏まえ、早急の倫理規定整備の必要性が示されたため、ヘルシンキ宣言、新 GCP を念頭におき、試料提供者あるいは提供者の親族に対する人権保護、プライバシーの保護を大前提とした倫理規定案の作成を、現状で得られる資料を基に、討議し、作成した。(安原 一、草野満夫、佐藤哲男、内田英二、倉田知光)

C 結果、考察

C-1 手術臓器の研究利用に関するインフォームド・コンセントの取得に関する検討

本研究計画に基づきヒト臓器・組織の有効利用を図るため、平成 10 年度および 11 年度に行なった、当科における肝切除症例に対して、術前患者、家族に手術材料の提供を依頼し実際に、インフォームド・コンセントを行ない、承諾が得られ、肝組織が利用できた 11 例を表 1 に示す。

表1 肝組織提供症例

No.	年齢	性	診断	術式
1	75	F	乳癌術後、肝転移	肝後区域切除
2	52	M	肝細胞癌	肝右葉切除
3	69	M	肝細胞癌	中央2区域切除
4	64	M	肝細胞癌	亜区域切除
5	68	F	直腸癌術後、肝転移	亜区域切除
6	57	M	肝細胞癌再発	肝部分切除
7	64	M	肝細胞癌	肝部分切除
8	61	F	盲腸癌、肝転移	肝部分切除
9	72	M	肝細胞癌	肝部分切除
10	76	M	肝嚢胞腺癌	肝左葉切除
11	73	F	S状結腸癌術後、 肝転移	肝部分切除

当初予定していた症例数には達していないが、承諾を得るにあたり特記すべき大きな問題は生じなかった。術前、インフォームド・コンセントを行ない、承諾が得られなかった症例は1例のみで、術前に十分な説明を行なう事により、承諾は比較的容易に得られると思われる。しかし、患者の心理を熟慮すると、これから手術をしてもらう外科医に肝組織の提供を依頼された場合、自由意思に基づく提供と言う前提があったとしても、患者としては不本意であっても通常は断りにくいのではないだろうか。現場にいる医師の立場としては、出来る限り無言の威圧がかからぬよう細心の注意を払って接しているが、現実問題として患者に対する何らかの圧力が僅かたりともかかっている可能性を認識するべきであると考え。このような点を加味して、インフォームド・コンセントを取得する際にどのような立場の人間が説明、同意を得るかが今後の課題となるであろう。特に、このような試験研究用のヒト臓器・組織の提供に関しては、コーディネータのような中立の立場の者が行なう方法も今後検討する必要があると考える。また、このような背景を勘案すると、提供された組織を無駄なく、有効に利用することこそが、患者の誠意に答えることになるとと思われる。一方、患者、家族においては、このような臓器・組織の提供に関する依頼をすると、研究目的の為の組織の採取のために通常行なう手術よりも大きく切除されるのではないかという懸念が常にあり、この点に関して、術前説明に十分時間をかけて、病変部を切除するた

めの必要最小限の範囲の切除であることを患者が納得できるまで丁寧に説明する必要がある。また、同時に非病変部の切除量が術式の選択により当初予定していたものよりも少なければ、承諾を得ていても、肝組織が利用出来ない場合もあることを説明する必要性も考えられた。実際に、本研究においても、1例であるが非腫瘍部の組織量が少なく、対象から除外された症例があった。

最近の肝癌治療法においては、過去に通常行なわれていた切除のみの施行とは異なり、肝癌に対する集学的治療（エタノール注入療法やマイクロ波凝固療法等の併用）や手術操作（血行遮断）が行なわれ、肝組織が物理的、化学的変化を受けている場合があり、研究目的で使用する場合、提供材料として適さないことがある。当科においても臨床研究の一環として肝癌に対して、複数本の電極を同時に刺入後、マイクロ波凝固療法を施行した後に、肝切除を行った症例があり、また、肝切除後の残肝機能を高めるために、術前門脈右枝塞栓術を施行した症例があり、これら症例も著しい物理的変化を引き起こしている可能性が考えられたため、対象からは除外された。また、本検討では担当者が少なく、手術日と学会等が重なった場合などは手術材料が利用できないことがあったが、この点に関して、ヒト組織の供給体制が整えば、人的問題は解決されるものと思われる。

現在、肝癌に対する治療として肝切除の他に経皮的エタノール注入療法やマイクロ波凝固療法などの非侵襲的治療が行われているが、技術の向上により、これらの治療の増加が予想される。このような治療法の進歩に伴い、肝切除は減少することはあっても、決して増加する可能性は少ないであろう。このような今後の現場での展望を考えると、先述の如く、提供された組織を無駄なく、有効に利用することが肝要と思われる。この一つの解決策としては病理解剖時に、なるべく早く臓器を摘出し、これを利用することが考えられ、今後、検討すべき問題と思われる。最後に肝臓が切除された時点から試料を伝達するまでに要する時間に関する問題であるが、本検討の第一例目の

症例（平成10年度）は、初めてのこともあり、不手際があり現在と比較して若干余分に時間がかかってしまったが、二例目以降は、短時間で研究担当者への伝達が可能であった。また、切除直後に氷浴上に採取する事による温阻血時間の短縮の可能性も充分検討できた。

以上、手術現場における問題点のいくつかについて述べたが、現在のところヒト肝組織利用に際し、我々の行なっている方法においては、特記すべき問題点あるいは、試料採取前後を通して、大きな支障は認められていない。しかし、今後、ヒト組織バンクが運営を開始し、営利的な面が表面化するような事が起きた場合、現在のように容易に患者、家族からヒト組織提供の承諾が得られるかどうかは疑問が残る。この点が正しく理解してもらえよう社会に対する啓発が充分に行なわれないと、ヒト組織バンクの運用は困難なものになる可能性が考えられる。

（草野満夫、伊藤洋二）

C-2 サブセルラーフラクションでの薬物代謝酵素活性評価

今回提供された肝臓は、転移性肝癌（3例）及び原発性肝癌（6例）の計9例であった。結果に関しては、平成10年度、11年度の2年分を合わせて示す。本研究において得られた11例の肝臓試料を基に、それぞれの肝臓に関して、切除に要した時間経過および切除後の試料の処理に要した時間経過と、残存酵素活性、含量との関連性について検討した。

1) 各肝臓試料の各種CYP分子種活性および酵素含量の腫瘍部位からの距離による差異に関する検討

各肝臓試料を、腫瘍部位、腫瘍部位から1cm以内（腫瘍辺縁部）および1cm以遠（正常部）の3部位に分割し、上述の8種基質に対する代謝活性を測定した。また、癌種による差が認められるか否かを検討するため、原発性肝癌と転移性肝癌に分別し検討した。

① 移性肝癌試料

転移性肝癌試料（HL1, HL5, HL8, HL11）では、正常部位におけるCYP各分子種の活性は、米国NDRIより供給されたヒト肝プールドミクロソームと比較して、CYP2C19で著明な低値を示し、一方、CYP2D6で約4倍、CYP2C9で約2倍の高値を示した以外は、平均20%から50%程度の低値を示した。また、各部位における活性は、CYP1A2は正常部位と腫瘍辺縁部でほぼ同等の活性を示したが、CYP2C9、CYP2C19で約15%の低下、CYP2D6、およびCYP3A4では約30%の活性低下が認められた。また、腫瘍部位における各分子種の酵素活性は、CYP1A2で正常部位の約20%、CYP2C9で正常部位の約30%の残存活性が認められたほかは、全て15%以下であった。特に、CYP2C19、CYP3A4ではほぼ完全な活性の消失が認められた。

② 原発性肝癌試料

原発性肝癌試料（HL2, HL3, HL4, HL6, HL7, HL9, HL10）では、正常部位におけるCYP各分子種の活性は、ヒト肝プールドミクロソームと比較して、CYP2C19で著明な低値を示し、約半数の例でほぼ完全な活性の消失が認められた。一方、CYP2C9で約2倍の高値を示した以外は、平均20%から50%程度の低値を示した。また、各部位における活性は、CYP1A2活性が辺縁部で正常部より約10%の低下を示し、腫瘍部位では、正常部位の約40%の活性を示した。また、CYP2C9、CYP2D6、CYP2E1およびCYP3A4においては、正常部位と比較して腫瘍辺縁部で、各分子種とも平均値で約10%の低下が示された。腫瘍部位における各種CYP分子種活性はCYP2C9で正常部位の約50%、CYP3A4で約40~50%の高値が示された。また、CYP2D6、CYP2E1においても約20%の残存活性が示され、転移性肝癌と比較して、一般的に高値が示される傾向にあった。

2) 肝臓試料摘出および摘出後の温阻血の影響に関する検討

切除された肝臓の切除後の試料処置に要した時間（温阻血時間）と各種CYP酵素活性に関する検討を行なった。各肝臓試料の切除から肝臓を氷冷するまでに要した時間

に関してその相関性について検討した結果、各 CYP 酵素共に一貫した相関性は認められず、本年度および前年度行なった 11 例に関しては少なくとも 40 分程度以内であれば、マイクロソーム画分での検討に使用するには大きな問題は無いと考えられた。

3) 切除に伴う肝臓虚血-再灌流の影響に関する検討。

本研究においては、一貫して肝臓切除に伴う出血防止の目的で、手術中 15 分の血流遮断とその後 5 分間の再灌流を行なう Pringle 法を施行した。本検討における Pringle 法施行回数は、0 回から 5 回であり、殆どの症例で 4 回の Pringle 法が施行された。Pringle 法施行回数と CYP 各酵素活性に関する相関性を検討したところ、Pringle 法施行回数が少ない場合でも残存活性が必ずしも高値を示す事は無く、また、5 回の施行においても比較的高活性が維持されている例もあり、5 回程度の Pringle 法の施行であれば、酵素活性に対する影響は比較的小さいものと考えられた。

4) 手術材料と脳死患者（米国 NDRI）より提供された肝臓試料間での各種 CYP 酵素活性の差異に関する検討。

手術材料は先述のとおり、切除術中の虚血-再灌流の影響や切除後の温阻血の影響さらには手術に伴う麻酔薬等の影響を多く受けている。このような手術材料のもつ背景を勘案し、このような影響が殆ど含まれない脳死患者（米国 NDRI）より提供された肝臓試料を HAB 協議会より供与を受け同様の検討を行ない比較検討した。その結果、殆どの CYP 酵素では脳死患者より提供された肝臓試料と比較して若干低値を示したものの、平均値で比較すると研究に使用するのに十分な残存活性が示された。しかし、CYP2C19 に関しては、肝臓患者より提供された試料では殆どのもので活性が著しく低下し、脳死患者の試料と比較してその活性は 5% 以下であった。

本研究に使用した肝臓患者より得られた肝臓試料 11 例（内 2 例は平成 10 年度研究分）は、転移性、原発性両肝臓病態を有し

た臓器ではあるが、今回の検討により比較的良好な状態を有しており研究目的の使用に関してはほぼ十分な質的要件を満たしているものと考えられた。今回の検討においては、肝臓試料の採取は、通常行なわれている治療の延長線上にある臓器の使用が可能であるか否かを評価する事を目的として行なった。そのため、試料採取の為の特別な配慮は全く行なっていない。すなわち、通常の手術で得られる試料の信頼性と有用性の評価を主たる目的として行なった。

今回得られた肝臓試料の各種 CYP 酵素活性をマイクロソーム画分酵素源の形で評価したところ、その活性の個体間での活性の分布は、極めて広範なものであった。この活性の分布の要因に関して、術中の虚血-再灌流および切除後の温阻血の影響等を考慮し検討したところ、直接これらの影響を示唆する結果は示されず、本来患者が有している酵素活性並びに病態に起因する要因による可能性が示された。今回の検討においては、Pringle 法の施行回数は 5 回以内、温阻血時間は最長で 40 分であり、今回行なった検討の範囲では虚血-再灌流および温阻血の影響は酵素に対しては比較的軽微なものである事が示された。一方、腫瘍部位、腫瘍辺縁部および見かけ上正常と考えられる腫瘍より 1cm 以遠の部位の 3 部位でその酵素活性を比較したところ、腫瘍辺縁部においては正常部位と比較して若干低値を示したが、その低下は軽微なものであった。また、癌種による腫瘍辺縁部位の活性低下の程度は、原発性癌でより軽度であった。今回使用した肝臓が比較的肝硬変等を有していないものを使用していた事も関連すると思われるが、極度の肝硬変患者のものを使用していたならば、転移性肝臓患者由来の試料と比較して低値を示した可能性も考えられる。患者間での活性分布の大きさと、患者 1 名当たりから採取できる肝臓の両を勘案すると、個々の肝臓を研究利用する方法も重要と考えるが、プールドマイクロソームのような形をとって使用する事により、より信頼性と有用性を向上しうるものとする。今回の検討結果においては原発性肝臓試料における有用性がより強調され

る形になるが、原発性肝癌患者の試料に関しては、その多くがウイルス性肝炎等を有しており取り扱いに十分な注意と熟練が必要となる。また、二次感染等の危険性も含んでおり、研究者に対するバイオハザードに関する教育と設備の完備が今後の課題となるであろう。(安原 一、倉田知光)

C-3 単離ヘパトサイトを用いた肝薬物代謝酵素活性評価

今回提供された肝臓は、転移性肝癌（3例）及び原発性肝癌（6例）の計9例であった。結果に関しては、平成10年度、11年度の2ヵ年分を合わせて示す。本研究事業において11例の手術切除肝の非癌部位が、本試験に供され、肝小片の平均重量は9.2gであった。(表1)

試験に供与された切除肝臓小片をコラゲナーゼ灌流法によりヘパトサイトを単離した。組織小片の灌流は良好に行われ、トリパンブルー染色で、生細胞数を計測した。オーバーナイトで培養した後、培地を無血清培地に換え培養を続け、検鏡し求めた接着率を表2に示す。試料2～6、8～9、11に関しては、さらにP450 RI 標識特異基質を添加し、P450 アイソザイムの活性を測定した。

表1. 本試験に供された切除肝

試料番号	試験日	肝重量
1	1998.10.07	4.0 g
2	1998.12.09	10.1 g
3	1999.3.15	9.4 g
4	1999.6.28	36.5 g
5	1999.7.07	7.8 g
6	1999.7.26	2.4 g
7	1999.7.28	2.4 g
8	1999.8.04	4.1 g
9	1999.11.10	6.2g
10	1999.12.6	13.3 g
11	1999.12.13	5.2 g
平均		9.2 g

表2. 単離ヘパトサイトの回収率

試料番号	回収率	接着率
1	2.0×10^6 cells/g	80 %
2	1.5×10^6 cells/g	100 %
3	4.5×10^6 cells/g	80 %
4	8.8×10^5 cells/g	50 %
5	6.7×10^5 cells/g	30 %
6	1.3×10^6 cells/g	85 %
7	0 cells	0 %
8	6.3×10^4 cells	100 %
9	6.8×10^6 cells	50 %
10	2.4×10^6 cells	0 %
11	5.4×10^6 cells	50 %
平均	2.2×10^6 cells	56.8 %

表3. 単離ヘパトサイトのP450分子種活性

	1A ¹⁾	2C8/9 ²⁾	2D6 ³⁾	3A4 ⁴⁾	4A1 ⁵⁾
1	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
2	3020	487	216	1720	6270
3	1480	103	96	1080	4776
4	1380	256	169	1740	23
5	N.T.	126	N.T.	1540	N.T.
6	N.T.	61	N.T.	1160	N.T.
7	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
8	2860	150	208	1820	1788
9	780	46	3	2588	471
10	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
11	2740	91	67	780	1220

- 1): 7-ethoxycoumarin o-deethylation activity (pmol/min/dish)
- 2): tolbutamide methylhydroxylation (pmol/min/dish)
- 3): debrisoquine 4-hydroxylation (pmol/min/dish)
- 4): testosterone 6β-hydroxylation (pmol/min/dish)
- 5): Lauric acid 12-hydroxylation (pmol/min/dish)
- 6): N.T.: not tested

手術切除組織は、摘出時に長時間温阻血状態におかれる。本試験に供された試料も試料番号7を除きPringle法で2～5回阻血され、その後も20～40分それぞれ温阻血状態にあったため、単離ヘパトサイトのバイアビリティの低下が予想された。脳死肝を用いた試験報告では約 1×10^7 cells/gの回収率であった。本試験の回収率はそれより

も低い、手術切除組織は切断面が電気メスで焼かれているため、肝重量当たりの回収率は単純には比較できない。それにもかかわらず、本試験で単離されたヘパトサイトは高い接着性を示した。また、今回の11例中1例(試料番号10)は培養を開始後、雑菌の繁殖ため実験を中止したが、播種40時間後にP450アイソザイムの活性を測定した結果、高い薬物代謝能を示した。したがって、手術切除組織でも十分に医薬品の開発研究に使い得ることが示唆された。

本研究に供された肝試料の11例中10例は、切除後約2時間の冷保存時間の後にヘパトサイトとして単離され 3×10^6 cells/gのヘパトサイトが回収されたのに対し、約12時間冷保存された肝試料1例からはヘパトサイトは単離されなかった。

米国NDRIから霊長類機能研究所へ送付されている肝臓は、脳死直後にUniversity of Wisconsin(UW)液で灌流され、約60時間の冷保存状態におかれているにもかかわらず約 3×10^6 cells/gの回収率である。今回の試験から、1例ではあるが、手術切除肝は切除後速やかに血液が除去されないかぎり、急速にバイアピリティーが低下することが示唆された。

また、本研究に供された手術切除肝のうち7例が原発性肝癌(HCC)であった。従来HCCの切除組織の非腫瘍部位もウイルス性肝炎、肝硬変を持っているために研究用試料としては適さないとされている。本協力研究では、6例のHCC切除非腫瘍部位が試験に供され、病理検査の結果、試料番号4、5に肝硬変、6、7ではそれぞれ繊維化が観察されたが、平均で 2.9×10^6 cells/gのヘパトサイトが単離された。これは、転移性肝癌の4例のうちの3例の回収率 2.4×10^6 cells/gと比較してむしろ高い回収率であった。また、ウイルス性肝炎に関しても、国立感染症研究所の病原体等安全管理規定のBiosafety Levelの分類によればレベル2に分類されている。ヒト組織の取り扱いに関しても、レベル2の安全設備、および運営基準が推奨されていること、また、ヒト組織が数少なく貴重なものであることも合わせて、HCC切除非腫瘍部位に関しても十

分に医薬品の開発研究に使い得ることが示唆された。(佐藤哲男、鈴木 聡)

C-4 新薬の有効性・安全性評価のためのヒト肝組織・細胞の利用法に関する研究

-140°Cで凍結保存したヒト肝細胞の解凍後のviabilityは86%、培養皿に播種1時間後では84%であった。また、細胞接着率は播種後4時間後で80-82%で、24時間後で76%であった。細胞の形態は培養4時間後では球状の細胞も認められたが、多くは培養皿に敷石状に接着していた。24時間後では球状の細胞は少なくなり、殆どが敷石状に接着していた。これらの肝細胞(HH-018)の培養開始4時間後から8時間後までのエトキシマリン代謝活性は実験1では3.2 nmol/4時間/ml、実験2では2.6 nmol/4時間/ml、培養24時間後から4時間の代謝活性は0.31 nmol/4時間/mlであり、1日培養する間に代謝活性は約1/10に低下した。播種4時間後からのインキュベーションで現れた代謝物としては実験1では7-hydroxycoumarineとそのグルクロン酸抱合体が多く約4割を占め、残りは硫酸抱合体であった。一方、実験2ではグルクロン酸抱合体が最も多く、約5割を占め、7-hydroxycoumarineは約4割、残りは硫酸抱合体であった。

-ジフェニールの代謝-

ジフェニールを凍結解凍ヒト肝細胞懸濁液で代謝させた時には4-水酸化ビフェニールのグルクロニドが検出された(6.6 pmol/min/ 10^6 cells)。一方、播種後24時間での代謝活性は約1/3に低下した(2.3 pmol/min/ 10^6 cells)。一方、マウス遊離肝細胞懸濁液での活性は60.5 pmol/min/ 10^6 cellsであった。いずれの場合もグルクロン酸抱合体以外は検出できなかった。

凍結保存ヒト肝細胞のカルシウム動態が正常に近い状態で維持されることおよびそれがホルモン応答能を有することを前年度示した。今年度はその標本を薬物代謝実験に使用することの可否について検討するために薬物代謝研究に多様されているエトキシマリンの代謝活性について検討した。その結果、解凍ヒト肝細胞はエトキシマ

リンの脱アルキル化およびグルクロン酸抱合、硫酸抱合する能力を持っていることを示した。また、培養の経過とともに代謝活性は低下し、播種24時間後の活性は4時間後のその約1/10に低下した。これはラットの場合と同様であった。一方、解凍ヒト肝細胞はジフェニールの代謝活性を示し、その活性は非凍結マウス肝細胞の約1/10であった。これはマイクロゾーム分画における代謝活性においてはヒト肝細胞はマウスの約1/3-1/4程度である（未発表データ）のに比べると、差が大きい。この原因としては培養により肝細胞は急速に活性が低下することから、ヒト肝細胞を凍結融解する過程において活性が低下した可能性、およびマイクロゾーム分画では補酵素が十分量添加されていることによる影響が考えられるが、例数が少ないことから更に検討する必要がある。一方、マイクロゾーム分画においては4位の水酸化だけでなく、2位の水酸化、および二水酸化体の生成も認められたが、細胞懸濁液では4位の水酸化体とそのグルクロン酸抱合体のみ検出された。これは細胞系においては抱合活性が高く、生成した水酸化体が直ちにグルクロン酸抱合されることにより、さらなる酸化が起こりにくいかもしれない。細胞標本はマイクロゾーム分画より *in vivo* に近い標本であり、マイクロゾーム分画においては検討できない抱合活性を含めた代謝活性を総合的に検討することができること、また、酵素誘導についても検討できる可能性があることから、薬物代謝試験系としての特性を更に検討しておく必要がある。

以上の検討の結果、凍結融解ヒト肝細胞の *viability* は比較的高く、培養皿への接着能も高い。また、その薬物代謝活性は非凍結の場合と同様に脱アルキル化活性とグルクロン酸抱合および硫酸抱合活性を有していた。また、ジフェニールの代謝活性はマイクロゾーム分画の場合と同様にヒトよりマウスの方が高かった。また、代謝物のパターンに両者で大きな差が認められた。

(大野泰雄)

C-5「ヒト臓器・組織の利用に関する現状調査」アンケート調査

ヒト臓器・組織の利用についてのアンケート調査

今回我々が行なったアンケート調査は、手術材料を使用する際には決して切り離す事が出来ない患者との直接の接点である外科医を中心に行なった。調査項目は①ヒト臓器・組織の使用状況、使用目的②使用に際してのインフォームド・コンセントの必要性に関する意識と現状③倫理委員会の審査・承認の必要性の意識と現状④術式、施行手術例数⑤他施設等への採取試料の供与、提供⑥リサーチリソースバンク事業に対する認識・理解度の概略6領域に関して回答を得た。

今回のアンケート調査により約75%の回収率で回答が得られた。手術材料の研究に対する利用に関しては、病変部、非病変部共に8割以上の研究者が何らかの目的で使用している事が明らかとなった。この事は、手術によって切除された臓器・組織は高い頻度ですでに研究に利用されている事を示している。一方、その使用に対する患者(試料提供者)に対するインフォームド・コンセントの有無に関しては、その使用目的を問わず必要ないと考えている医師は20%以下であり、殆どの医師は同意取得の必要性を認識している。しかし、実際にインフォームド・コンセントを取得して研究に使用している医師は、診療を目的とした研究に対しては15%、診療とは直接関連しない研究の場合で23%程度と、意識と現状が大きくかけ離れている実態が明らかとなった。

ヒト臓器・組織の使用に際しての倫理委員会による研究計画の審査・承認に関しては、診療を目的とした研究に関しては必要と考えている医師は、約16%、診療と無関係の研究への使用に対しては約半数の医師が審査が必要と考えていた。しかし、診療と無関係の研究への試料の使用に際して実際に倫理委員会の審査・承認を得ていると回答した医師は約20%であり、ここにおいても倫理的意識と実際の状況には大きな隔壁が存在している事が明らかとなった。

これらの実態は、これまで長年にわたり

広く認識され伝承されてきた医師の裁量権の拡大解釈が根深く生き続けている事を示しており、近年の行政の動きと、社会一般の意識の変化を勘案すると、研究者に対する早急な倫理的意識に関する啓発活動の必要性和研究機関全体の意識の改革の必要性を示しているものと考えられる。また、同時に標準的な倫理的解釈に関するガイドラインの必要性も示唆された。

一方、試料採取に関わる患者側の不安要因の一つである治療に必要な過剰な試料採取の可能性を調査する目的で、一定条件を設定した上での執刀医による術式の差異に関する設問を行ない、回答を求めたところ、術式の選択は執刀医によりほぼ同様であり、一定の症例においても均一の術式が選択されることはなく、試料の過剰採取が行われるか否かについては、執刀医の術式の選択によることが明確となった。さらに、採取された試料の利用者の範囲に関する設問においては、機関内の他の研究室での使用がその殆どであったが、約15%の医師から機関外への試料提供が行なわれている実態も明らかとなった。この事は、現段階においてすでに研究者間での医療機関の壁を越えた範囲で既にヒト臓器の授受が行なわれている。これら臓器が提供者の同意の基に行なわれているのかについては明確ではなく、また、患者のプライバシーの保護が十分に配慮されているのかなど多くの懸念が残る。

最後に、善意で提供された貴重な臓器・組織を広く生命科学の進歩の為に有益に活用するための一手段として現在推進されつつあるリサーチリソースバンク事業に関する協力の意思についての設問を行なったところ、約半数の医師は協力的である事が明らかとなった。しかし、残りの半数のうち8割の医師は、現在のように施設内あるいは研究室内のみの使用を考えており、残りの2割の医師は目的に反するとして廃棄を念頭において対処するとしている。

このような現状は、今後の手術材料の研究利用並びに試料の我が国における共有等を考慮すると、非常に微妙な状況であり、研究者、医師に対する今後の教育、啓発活

動がこれらのシステム構築に重要である事が示唆された。(草野満夫、安原 一、佐藤哲男、倉田知光)

C-6 ヒト臓器・組織の利用についての倫理規定(案)の作成

本研究では、平成10年度本研究事業で実施したアンケート調査の結果を基に、研究現場が先行し、倫理規定が立ち遅れた状態にある現況を危惧し、早急の対応が求められている手術材料の使用に関する倫理規定の作成を試みた。

規定(案)の作成に関しては、ヘルシンキ宣言を遵守し、提供者および提供者の家族、親族のプライバシーの保護、精神的、肉体的被害の予防等を念頭おき、研究推進に係る責任の所在を明確にした倫理規定案の作成を行なった。詳細に関しては、規定案を別添する(別添資料1)。

(安原 一、草野満夫、佐藤哲男、内田英二、倉田知光)

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第6回 HAB 協議会学術年会

ヒト肝薬物代謝酵素活性評価 I

手術材料の有用性と信頼性に関する検討 I

倉田知光、西村有希、岩瀬万里子、李華、鈴木 聡、伊藤洋二、草野満夫、佐藤哲男、大野泰雄、内田英二、安原 一

(1999年5月、東京)

第6回 HAB 協議会学術年会

ヒト肝薬物代謝酵素活性評価 II

手術材料の有用性と信頼性に関する検討 II

鈴木 聡、倉田知光、西村有希、岩瀬万里子、李華、伊藤洋二、草野満夫、佐藤哲男、大野泰雄、内田英二、安原 一

(1999年5月、東京)

第6回 HAB 協議会学術年会

医療現場でのヒト組織の利用とインフォームド・コンセント - 消化器外科医のアンケート調査を中心に -

草野満夫、安原 一

(1999年5月、東京)

第20回日本薬物動態学会年会

ヒト肝手術材料の薬物代謝研究への利用に関する検討

倉田知光、西村有希、岩瀬万里子 李 華、

内田英二、安原 一

(1999年10月、浜松)

第13回日本動物実験代替法学会年会

演題：公的資源：ヒト肝臓－わが国の現状と将来（シンポジウム）

佐藤哲男、鈴木 聡、倉田知光、西村有希、

岩瀬万里子、李 華、伊藤洋二、草野満夫、

佐藤哲男、大野泰雄、内田英二、安原 一

(1999年11月、東京)

第2回 HAB 協議会霊長類機能研セミナー

手術現場からの意見 - 問題点の明確化 -

伊藤洋二 (1999年11月、東京)

第12回日本臨床薬理学会

薬物代謝研究におけるヒト肝手術材料の

有用性に関する検討

倉田知光、西村有希、岩瀬万里子 李 華、

植田孝子、内田英二、安原 一

(1999年12月、横浜)

第73回日本薬理学会年会

ヒト肝手術材料の薬物代謝研究への利用に関する検討

倉田知光、西村有希、岩瀬万里子 李 華、

安原 一

(2000年3月、横浜)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

なし

(別添資料1)

ヒト臓器・組織の利用についての
倫理規定(案)

1. 基本的理念

ヒト臓器・組織を用いた研究における生命倫理に関する本規定(案)においては、ヒト臓器・組織等の提供を通じて研究への協力を要望された者およびその家族の視点に立ち以下の5項目の基本理念が研究現場で充分理解され、遵守されるよう規定した。

- 1-1 手術材料等のヒト由来臓器・組織等を用いた研究への協力を要望された者は、研究実施者により十分な情報の提供を受けた上で自由意思に基づき協力するか否かを決定する事とする。研究に協力する者は研究に不可欠な協力者として尊重される。研究に非協力的であったとしても今後の診療に影響が及ぼされてはならない。
- 1-2 研究責任者は責任体制および実施体制を明確にした研究計画を作成し、事前に倫理委員会の審査および承認を受けなければならない。また、臓器・組織提供者又はその家族等の人権保護の徹底を図るための最大限の配慮と努力を図らなければならない。
- 1-3 研究責任者、実施者は法令、学内規定細則、および研究計画を遵守する。研究の遂行に当たっては、適切なインフォームド・コンセント、身体的安全性、プライバシーの保護の確保など試料提供者及びその家族等の人権擁護に最大限の配慮を行わねばならない。
- 1-4 既に採取された試料の使用に関しては、研究利用の可否を提供者の同意内容を踏まえ倫理委員会の審査に基づき研究実施機関の長(医学部長)が決定する。

1-5 研究責任者、研究実施者は研究実施状況、研究結果等に関して提供者から要請があった場合には速やかに説明を実施し、かつ提供者およびその家族等の人権保護に支障が生じない範囲で広く社会に公開しなければならない。

2. 研究実施機関の長(医学部長)の責務

- 2-1 研究実施機関の長(医学部長)は、当該研究機関の研究責任者、研究実施者に対し、ヒト臓器・組織研究が、倫理的・法的・社会的問題を引き起こし得る事を周知徹底しなければならない。
- 2-2 研究実施機関の長(医学部長)は、当該機関の研究責任者、研究実施者が法令、倫理規定、研究計画に反してヒト臓器・組織を用いた研究を行なった場合には、職務上の処分を受ける可能性があることを周知徹底しなければならない。また、ヒト臓器・組織提供者に身体的、精神的または財産的損害を与えた場合には、民事上又は刑事上の責任を負う可能性があることを周知徹底しなければならない。
- 2-3 研究実施機関の長(医学部長)は、当該機関におけるヒト臓器・組織を用いた研究の実施の適否その他の事項に関する調査審議を行わせるため、倫理審査委員会を設置しなければならない。
- 2-4 研究実施機関の長(医学部長)は、当該機関の研究責任者からヒト臓器・組織を用いた研究の実施又は研究計画の変更について許可を求められた場合には、倫理審査委員会の意見を聴かなければならない。研究実施機関の長(医学部長)は、その意見を尊重して許可又は不許可の決定をしなければならない。特に、倫理審査委員会の意

見に反し、ヒト由来試料等提供者又はその家族等の不利益になるような決定をしてはならない。

2-5 研究実施機関の長（医学部長）は、ヒト由来試料等又はそれから得られた情報を国内外の民間の研究実施機関に提供する場合には、提供元において行われる匿名化の方法、提供先における利用目的、責任体制等について、書面で契約を結ばなければならない。

2-6 研究実施機関の長（医学部長）は、ヒト由来試料等又はそれから得られた情報を国内外の民間機関に提供して業務の一部を委託する場合には、委託する業務の内容、提供元において行われる匿名化の方法、提供先における責任体制等について、書面で契約を結ばなければならない。

2-7 研究実施機関の長（医学部長）は、ヒト由来試料等提供者又はその家族等から、提供したヒト由来試料等の取扱い、個人識別情報を含む情報の取扱い、研究遂行者又はカウンセリング部門の対応等についての苦情の適切な処理に努めなければならない。

2-8 ヒト由来試料等採取機関の長（医学部長又は病院長）は、ヒト臓器・組織を用いた研究に係る個人識別情報を含む情報の保護を図るため、個人識別情報管理者を置かなければならない。

3. 研究責任者の責務

3-1 研究責任者は、法令、この指針及び研究計画に従って研究を進めなければならない。このため、所属する研究施設において、研究実施担当者を指導し、ヒト臓器・組織を用いた研究に係る業務を統括しなければならない。

3-2 研究責任者は、法令、この指針又は研究計画に反してヒト臓器・組織を用い

た研究を実施した場合には、職務上の処分を受ける可能性がある。さらに、ヒト由来試料等提供者に身体的、精神的又は財産的損害を与えた場合には、民事上又は刑事上の責任を負う可能性がある。

3-3 研究責任者は、ヒト臓器・組織を用いた研究の実施に当たって、あらかじめ、次の事項を記載した研究計画書を作成し、所属する機関の長（医学部長）に許可を求めなければならない。変更する場合も同様とする。ただし、研究実施担当者の異動、ヒト由来試料等又はそれから得られた情報を提供する共同研究機関（民間の研究実施機関を除く。）の追加等軽微な変更である場合には、事後の報告に代えることができる。

3-3-1 研究の目的、方法、期間、予測される成果、予測されるヒト由来試料等提供者に対する危険・不利益及び個人識別情報を含む情報の保護の方法

3-3-2 共同研究機関の名称（あらかじめ共同研究機関を特定できない場合にはその理由及び想定される共同研究機関）

3-3-3 採取しようとするヒト由来試料等の種類とそれぞれの量

3-3-4 インフォームド・コンセントに係る一連の手続きにおける説明者の氏名及びその者に対する説明項目、その他の研究遂行者の氏名及び役割。

3-3-5 インフォームド・コンセントに係る一連の手続きにおいて用いる説明文書及び同意文書。

3-3-6 痴呆等により有効なインフォームド・コンセントを与えることができない者又は未成年者から提供を受けたヒト由来試料等を主な研究対

- 象とする場合には、そのヒト由来試料等が研究のために必要である理由及び代諾者の選定に関する原則的な考え方。
- 3-3-7 既採取ヒト由来試料等を研究に用いる場合にはそのヒト由来試料等を採取した時の同意の有無、同意を得ている場合にはその内容、同意がないか若しくは不十分な場合には研究対象として用いる必要性。
- 3-3-8 ヒト由来試料等又はそれから得られた個人情報を国内外の公的研究機関又は大学に対して提供する場合（同一の機関において、ヒト由来試料等の採取等を行う場合には、採取を行う部門から研究を行う部門への提供を含む。また継続的に提供する場合を含む。）には、提供する理由、提供元において行われる匿名化の方法、提供先の機関名、匿名化しない場合はその理由及び個人識別情報を含む情報の保護の方法。
- 3-3-9 ヒト由来試料等又はそれから得られた個人情報を国内外の民間の研究実施機関に提供する場合には、提供する理由、提供先の機関名、提供元において行われる匿名化の方法、提供先における責任者の氏名、責任体制及び予定する契約の内容。
- 3-3-10 ヒト由来試料等又はそれから得られた個人情報を国内外の民間機関に提供して業務の一部を委託する場合には、提供する理由、提供元において行われる匿名化の方法、提供先の機関名、提供先における責任者の氏名、責任体制及び予定する契約の内容。
- 3-3-11 研究期間内又は研究期間終了後のそれぞれにおいて、研究遂行者が、ヒト由来試料等を研究実施機関内で保存する場合、保存の方法及び保存の必要性
- 3-3-12 研究遂行者が、ヒト由来試料等を細胞・組織バンク等に寄託することを予定している場合には、当該バンクが設置されている機関の名称及び責任者の氏名。
- 3-3-13 研究遂行者が、ヒト由来試料等を廃棄する場合、廃棄の方法及び匿名化の方法
- 3-4 研究責任者は、提供されたヒト由来試料等の数、匿名化を行った試料の数、所属外の機関への提供数、研究が行われた試料の数、それらの実施に伴う問題の発生の有無等を、定期的に所属する機関の長（医学部長）に報告しなければならない。
- 3-5 研究責任者は、インフォームド・コンセントに係る一連の手続きにおける説明者に対し、インフォームド・コンセントの手続きの際に説明項目を作成の上周知しなければならない。
4. 研究遂行者等の責務
- 4-1 研究遂行者は、ヒト由来試料等提供者及びその家族等の人権保護の観点から重大な懸念が発生した場合等には、速やかに所属機関の長（医学部長）及び研究責任者に報告し、その対処方法について判断を仰がなければならない。
- 4-2 ヒト由来試料等採取部門の研究遂行者は、所属部門外の研究部門にヒト由来試料等を提供する場合は、所属する機関の個人識別情報管理者により匿名化されたヒト由来試料等を提供しなければならない。ただし、倫理審査委員会が認めた研究計画書において匿名化をしないことが認められており、かつ、ヒト由来試料等提供者又は

その代諾者が、匿名化しないヒト由来試料等の提供を認めている場合は、この限りではない。

4-3 研究遂行者は、所属する機関の長（医学部長）が指名した外部の調査担当者が行う実地調査に協力しなければならない。

4-4 研究実施担当者は、法令、倫理規定、研究計画及び研究責任者の指示・委託に従って研究を行わなければならない。法令、倫理規定又は研究計画に反して研究を実施した場合には、職務上の処分を受ける可能性がある。さらに、ヒト由来試料等提供者に身体的、精神的又は財産的損害を与えた場合には、民事上又は刑事上の責任を負う可能性がある。

5. 個人識別情報管理者の責務

5-1 個人識別情報管理者は、ヒト由来試料等採取機関に置かれ、刑法により業務上知り得た秘密の漏示を禁じられている医師、薬剤師等であって、研究遂行者以外の者でなければならない。

5-2 個人識別情報管理者は、所属外の研究機関にヒト由来試料等が提供される場合には、そのヒト由来試料等の匿名化を行わなければならない。ただし、倫理審査委員会が認めた研究計画書において匿名化をしないことが認められており、かつ、ヒト由来試料等提供者又はその代諾者が、匿名化しないヒト由来試料等の提供を認めている場合は、この限りではない。

5-3 個人識別情報管理者は、匿名化により取り除かれた個人識別情報を所属する機関の外部に提供する場合は、所属する機関の長（医学部長）に、提供先の機関名、提供の目的及び必要性を説明して、その許可を得なければならない。

5-4 個人識別情報管理者は、所属する機関の長（医学部長）が指名した外部の調査担当者が行う実地調査に協力する場合には、その者に個人識別情報を含む情報を開示できる。

5-5 個人識別情報管理者は、所属する機関の長（医学部長）の指示を受け、ヒト由来試料等提供者の個人識別情報を厳重に管理しなければならない。個人識別情報管理者が、法令、倫理規定又は研究計画に反して個人識別情報を含む情報を漏洩した場合には、職務上の処分を受ける可能性がある。さらに、その個人識別情報管理者は、ヒト由来試料等提供者に身体的、精神的又は財産的損害を与えた場合には、民事上又は刑事上の責任を負う可能性がある。

6. 倫理審査委員会の責務及び構成

6-1 倫理審査委員会の責務

6-1-1 倫理審査委員会は、研究実施機関の長（医学部長）から研究計画の実施の適否その他の事項について意見を求められた場合は、ヒト由来試料等提供者又はその家族等の人権保護等の倫理的観点を中心に、科学的観点を含めて、厳格に審査し、文書により意見を述べなければならない。

6-1-2 倫理審査委員会は、運営方法等（委員長の選任方法、会議の成立要件、議決方法、審査に係る記録の保存期間等）に関する規則を定め、それを公開しなければならない。

6-1-3 倫理審査委員会は、研究実施機関の長（医学部長）から、ヒト由来試料を用いた研究を遂行する上で生じた倫理上の疑問等につき意見を求められた場合には、意見を述べなければならない。