

図4 各種CYP分子種活性に及ぼす阻血-再灌流の影響

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

医薬品等の安全性確保の基礎となる研究

—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）

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

研究の要旨

欧米では、1980年代から臓器移植の目的で脳死患者から摘出された臓器の中で、種々の理由で移植に不適合の場合医薬品の開発研究に利用されている。我が国においては、このような臓器は法的に研究目的には使えないため、医薬品の開発研究には手術切除材料に頼らざるを得ない。本協力研究では、長時間温阻血状態におかれた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。本協力研究には、昭和大学外科学教室から11例手術切除肝臓が供与された非癌部位を用いた結果、手術中温阻血状態にあった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。また、従来使用に不適とされていた原発性肝癌切除片非腫瘍部位からもバイアビリティーの高いヘパトサイトが単離され、手術切除組織で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。

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

A. 研究目的

欧米では、臓器移植のために脳死患者から摘出された臓器が、種々の理由で移植に使われない場合、開発研究に利用される。欧米の場合脳死臓器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ている。本協力研究では、長時間温阻血状態におかれる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、培養後の接着性、薬物代謝能に関して検討を行い、手術切除肝の有用性と問題点について評価を行った。

B. 研究方法

昭和大学外科学教室から供与された手術切除肝臓の非癌部位を用い、常法にしたが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、コラゲンコート培養プレートの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時間後にチトクローム P450 (以下 P450 と略) 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。

C. 研究結果

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(図1)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(図2)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。

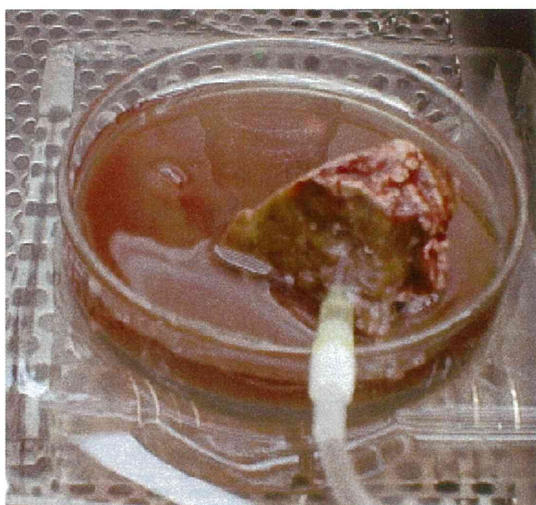


図1. 手術切除肝の灌流(試料番号10)
手術切除組織から滞留した血液が除去されている。

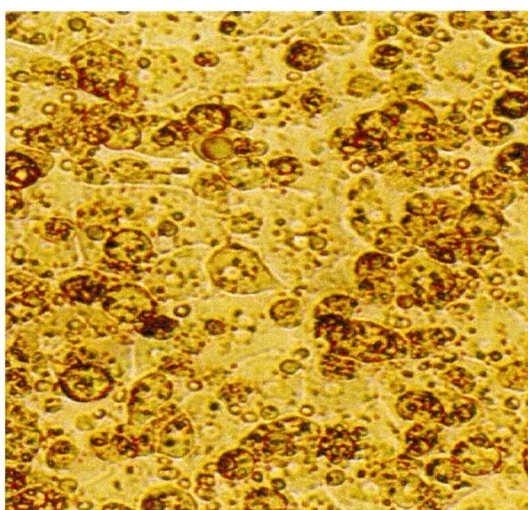


図2. 単離後12時間のヒト肝ヘパトサイト(試料番号2)

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 6 β -hydroxylation (pmol/min/dish)

5): Lauric acid 12-hydroxylation (pmol/min/dish)

6): N.T.: not tested

D. 考察

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ー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が、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え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、急速にバイアビ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 に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。

E. 結論

本協力研究では、長時間温阻血の状態におかれた手術切除肝からヘパトサイトを単離し、そのバイアピリティー、培養時の接着性、薬物代謝能に関して検討したところ、かなり重症の障害肝であっても良好な接着性、高い薬物代謝能を示し使用に耐えるものと判断した。

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13回日本動物実験代替法学会年会

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)

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

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

医薬品等の安全性確保の基礎となる研究

－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－

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

研究の要旨

凍結ヒト単離肝細胞の培養皿への接着性、薬物代謝活性を検討した。その結果、viability は約 85%、培養皿接着率は約 80 %と高かった。また、エトキシマリンの脱アルキル化活性、グルクロン酸および硫酸抱合活性を検出できた。一方、ビフェニールの代謝をマウスとヒトとで比較検討したところ、マイクロゾーム分画と同様にマウスの方が高かった。一方、マイクロゾーム分画においては 2-, 4-位の水酸化および二水酸化体の生成が認められたのに対し、肝細胞においては 4-hydroxydiphenyl のグルクロン酸抱合体のみ検出され、差が認められた。

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での試験で思わぬ結果をもたらし、中断してしまうことが多くある。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ことが明らかになっている。従って、ヒト肝臓あるいはそれに由来する標本を利用した試験を行うことが可能ならば、動物実験や *in vitro* 試験結果をヒトに結びつ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、第一相臨床試験で初めて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も、

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、新鮮なヒト肝組織を得ることは一般の研究機関では困難である。そこで、昨年度は凍結保存肝細胞の利用について検討し、凍結保存ヒト肝細胞を解凍し、培養皿に播き、その細胞内カルシウム濃度やホルモン応答などについて検討し、生理学的特性が維持されていることを示した。今年度はそれらの薬物代謝活性を測定した。また、ヒト凍結保存肝マイクロゾームを用いたビフェニールの代謝活性を測定した。

B. 研究方法

B-1 凍結ヒト肝細胞についての研究

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 25mm 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 1.0ml を加え、実験に使用するまで、37°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°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。

C. 研究結果

C-1 凍結ヒト肝細胞の viability および薬物代謝活性に関する研究

-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。

C-2 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-水酸化ジ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。

D. 考察

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 2 4 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。

E. 結論

凍結融解ヒト肝細胞の *viability* は高く、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。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）
分担研究報告書
医薬品等の安全性確保の基礎となる研究
ーヒト臓器・組織の利用についてのアンケート調査ー

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

研究の要旨

本研究では、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、その倫理性と科学性を考慮して、いかなる規定を定めるか、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調査を行う目的で、平成 10 年度厚生科学研究費補助金（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において、日本国内 81 施設の外科学教室を対象に手術材料の扱いに関するアンケートを実施した。また、患者からの手術材料の研究目的での使用に関して、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。

平成 11 年度本研究事業において、我々は、昨年度実施したアンケート調査の結果の集計、および解析を行った。

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

A. 研究目的

治療を目的とした手術により摘出された臓器・組織の研究目的での使用は古くから大学内において行われてきた。しかし、その使用に対しての患者への説明、使用に対する同意の取得等は近年までほとんど行われずになされてきている感がある。実際に、手術により摘出された臓器・組織の一部は、術後の確定診断のための病理検査に使用され、その残りの部分が研究に使用されている。治療目的で切除された臓器・組織は、以後、他の目的で使用されたとしても、直接患者の予後に影響することはない。そのため、これまでは、暗黙の了解のうちにそ

の使用が行われてきた。しかし、そこから得られる情報には測り知れないものがあり、遺伝子解析等を行うことにより、患者のプライバシーが著しく犯される場合もある。このような現状を勘案し、本研究では、現状を把握し、今後のヒト手術材料の使用に関する倫理的基準の作成を前提とした現状調査を、日本国内の主たる医療機関、特にその使用が頻繁に行われる可能性がある医学部外科学教室を対象に調査することを目的とした。

B. 研究方法

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。

アンケートの作成に際しては、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があるいは、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、典型的な症例を選択し、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。

C. 結果

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(別添資料1)。

アンケート調査結果の詳細に関しては別添する(別添資料2)。

D. 考察

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える。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事が明確となった。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。

E. 結論

手術材料の研究への使用に関する倫理的配慮は、現段階では明らかに不十分であり社会の生命科学研究に対する疑念を払拭するためには早急なガイドラインの作成、研究者に対する啓発が必要である事が本研究で明らかとなった。十分な倫理的配慮のもとにインフォームド・コンセントを実施し社会的な誤解を招かない試験研究の実施が今後の生命科学研究には不可欠であり、その為にも、医師、研究者の教育並びに研究者社会の適正なシステム作りの必要性が示唆された。

F. 研究発表

2. 論文発表

なし

2. 学会発表

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)

3. 知的所有権の取得状況

4. 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アンケート

このアンケートは、手術を行う外科の医師を対象に、診療のために切除された臓器・組織の利用についての現状を調査することを目的として行われます。

現在、手術により摘出された臓器・組織は、確定診断の目的以外に研究のために使用されることがあります。摘出された臓器・組織を診療を目的とした情報収集のために使用することは患者の利益に直接結び付くことから大きな問題を生じることはほとんどありません。しかし、診療を大きく離れて、純粋な研究を対象として使用する際には、そこから得られる情報が提供者のプライバシーの侵害に関わってくる場合もあり、種々の問題を生じる可能性があります。特に、診療以外の目的でヒト臓器・組織を使用する際の患者への説明、同意については社会的にも近年重要視されてきています。また、我が国では欧米諸国とは異なり、脳死患者から提供された臓器で、適合者が見いだせなかった場合、その臓器の研究目的での使用は法的に認められていません。このような理由から、日本でのヒト臓器を使用した研究は先進諸外国と比較して大きく立ち遅れた状況にあります。このような状況の中、平成9年12月12日に厚生大臣より厚生科学審議会に「手術等で摘出されたヒト組織を用いた研究開発の在り方について」が諮問され厚生科学審議会先端医療技術評価部会の下に「ヒト組織を用いた研究開発の在り方に関する専門委員会」が設置されました。専門委員会では約1年の間に5回の審議を行い、平成10年12月16日付けで厚生大臣に答申されました。このことにもとづき、厚生省が中心となり、ヒト臓器・組織を使った研究を国内で行うことを目的として、手術により得られる臓器・組織の有効利用を図るためのプロジェクトが動き始めました。その一環として、手術により得られた臓器・組織を一時特定の非営利機関に備蓄し、必要とする機関に供給するリサーチ・リソースバンク事業が現在推進されています。

このような現状において、手術により得られる臓器・組織の研究への利用状況が現在どのようになっているのか、また、使用についての提供者からの同意取得がどのようになっているのかなどについて、実際に手術を行っている先生方に、その状況をお伺いしたいと思います。アンケートは無記名で行います。このアンケート調査により発生する先生および関連施設のプライバシーは当方が責任をもってお守りいたします。また、このアンケート調査で得られた情報は、調査目的以外での使用は致しません。

なお、このアンケート調査は、厚生省厚生科学研究医薬安全総合研究事業の一環として行われます。お忙しいところ誠に申し訳ございませんが、ご協力のほどお願い申し上げます。

昭和大学医学部第二薬理学教室 主任教授
主任研究者 安原 一
昭和大学医学部第二外科学教室 主任教授
分担研究者 草野 満夫

以下の質問にお答え下さい。

1. 手術により得られた臓器・組織をどのような目的で使用していますか。
(術後病理検査以外)

1-(1)-① 病変部組織の使用についてお尋ね致します。

- (a) 使用しない。
- (b) 診療を目的とした研究のため。
- (c) 診療とは無関係の研究のため。
- (d) その他 ()

1-(1)-② 1-(1)-①で(b)の診療を目的とした研究のために使用していると
お答えになられた先生にお尋ねします。どのような研究に使用していますか。

- (a) 癌遺伝子の検索
- (b) 癌細胞の培養
- (c) 抗癌剤感受性テスト
- (d) その他 ()

1-(1)-③ 1-(1)-①で(c)の診療とは無関係の研究のために使用していると
お答えになられた先生にお尋ねします。どのような研究に使用していますか。
具体的にお答えください。

[]

1-(2)-① 非病変部正常臓器・組織の使用についてお尋ねします。

- (a) 使用しない。
- (b) 診療を目的とした研究のため。
- (c) 診療とは無関係の研究のため。
- (d) その他

1-(2)-② 1-(2)-①で(b)の診療を目的とした研究のために使用していると
お答えになられた先生にお尋ねします。どのような研究に使用していますか。

- (a) 遺伝子の検索
- (b) 細胞の培養
- (c) その他 ()

1-(2)-③ 1-(2)-①で(c)の診療とは無関係の研究のために使用している診療を
目的とした研究のために使用しているとお答えになられた先生にお尋ねします。
どのような研究に使用していますか。具体的にお答えください。

[]

1-(2)-④ 1-(2)-①で(d)のその他とお答えになった先生にお尋ねいたします。
どのような研究に使用していますか。具体的にお答えください。



2. ヒト臓器・組織の利用に際してお尋ねいたします。

2-① 診療を目的とした研究のための臓器・組織の使用に患者および家族からの
インフォームド・コンセントが必要とご思いますか。

(a) はい (b) いいえ (c) どちらとも言えない

2-② 2-①で”はい”と答えられた先生にお尋ねいたします。

インフォームド・コンセントは(成人の場合)誰から得ますか。

(a) 患者のみ (b) 家族のみ (c) 患者および家族

2-③ 診療とは無関係の研究のための臓器・組織の使用に患者および家族からの
インフォームド・コンセントが必要とご思いますか。

(a) はい (b) いいえ (c) どちらとも言えない

2-④ 2-③で”はい”と答えられた先生にお尋ねいたします。

インフォームド・コンセントは(成人の場合)誰から得ますか。

(a) 患者のみ (b) 家族のみ (c) 患者および家族

2-⑤ 診療を目的とした研究を行うにあたって、学内(施設内)の倫理委員会の
承認が必要と思われませんか。

(a) 必要がある (b) 必要ない (c) どちらともいえない

2-⑥ 診療とは無関係の研究を行うにあたって、学内(施設内)の倫理委員会の
承認が必要と思われませんか。

(a) 必要がある (b) 必要ない (c) どちらともいえない

3. すでにヒト臓器・組織を用いた研究を行っている先生にお尋ねいたします。

3-① 診療を目的とした研究のために臓器・組織を利用する場合、学内(施設内)の倫理
委員会の審査、承認を得ていますか。

(a) 得ている (b) 得ていない

3-② 診療とは無関係の研究のために臓器・組織を利用する場合、学内(施設内)の倫理
委員会の審査、承認を得ていますか。

(a) 得ている (b) 得ていない

3-③ 診療を目的とした研究のために臓器・組織を利用する場合、インフォームド・コンセントを文書で得ていますか。

- (a) 得ている (a 患者のみ b 家族のみ c 患者および家族)
(b) 得ていない

3-④ 診療とは無関係の研究のために臓器・組織を利用する場合、インフォームド・コンセントを文書で得ていますか。

- (a) 得ている (a 患者のみ b 家族のみ c 患者および家族)
(b) 得ていない

3-⑤ 患者および家族の方の理解度についてお尋ねいたします。

- (a) よく理解してくれる
(b) あまり理解を示してくれない
(c) その他 ()

3-⑥ 同意を得るための説明をして、断られたことがありますか。

- (a) ある (b) ない

3-⑦ 3-⑥で”ある”と答えられた先生にお伺いいたします。

どのような使用目的の時断られましたか

- (a) 診療を目的とした研究の時
(b) 診療と無関係の研究の時
(c) その他 ()

4. ヒト臓器・組織使用の範囲についてお尋ね致します。

4-① これまでに、内科など他科、学内（施設内）の教室、学外の研究施設からのヒト臓器・組織の提供を求められたことがありますか。

- (a) ある (a 院内臨床科 b 学内基礎系研究室 c 学外)
(b) ない

4-② 提供を求められた臓器・組織は何ですか。

- (a) 肝臓
(b) 脾臓
(c) 消化管
(d) その他 (、 、)

4-③ 提供を求められたときどのように対応されましたか。

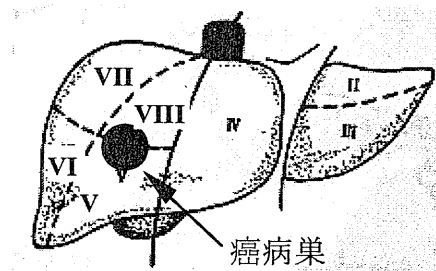
- (a) 支障がない場合は提供してきた。
(b) 断った。

5. 手術により摘出された臓器・組織を研究等に使用させて頂く旨を患者さんに依頼する際、一般の患者さんは、研究目的のために診療に必要な切除以上に臓器・組織の切除が行われるのではないかという不安を持つとされています。先生が病巣切除術を施行する際、以下のような状況の時にどのような切除を行いますか。

お答え頂ける範囲内で結構です。お答え頂けない場合は6の設問にお進み下さい。

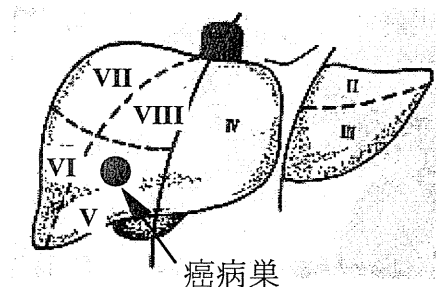
5-① 転移性肝癌の病巣切除において、下図のような状況の場合どのような術式を選択されますか。

- (a) 核出術 (部分切除術) (b) 区域切除術 (c) 葉切除術
(d) その他 ()



5-② 原発性肝癌の病巣切除において、その患者の ICG が 20 分前後、肝臓機能 70% 以上、病巣の直径が約 3 cm の下図のような状況の場合どのような術式を選択されますか。

- (a) 核出術 (部分切除術) (b) 区域切除術
(c) その他 ()



6. 切除肝組織を用いる場合、術中操作、特に血行遮断による阻血が問題となります。先生の施設では、亜区域切除の際、通常どのような血行遮断法を用いていますか。(肝予備能が比較的良好な場合)

- (a) 区域支配肝動脈、門脈枝を遮断する。
(b) 片葉の肝動脈、門脈枝を遮断する。
(c) Pringle 法
(d) 支配グリソン鞘の一括処理。
(e) その他 ()

7. 現在の状況についてお尋ねします。
手術による摘出臓器・組織（一部を含む）の保存はどのようにされていますか。
- (a) ほぼ、全例保存している。
(b) 教室の臨床研究テーマの臓器・組織については将来の使用を考慮して凍結保存している。
(c. 非病変部のみ)
(c) 病理検査以外に特に保存していない。
8. 先生の施設での年間の手術症例の概数はどのくらいですか。
- 8-① 昨年度の肝切除（原発性肝癌）の術式、症例数の概数はどのくらいでしたか。
- (a) 核出術（部分切除） (例)
(b) 区域切除術 (例)
(c) 葉切除術 (例)
- 8-② 昨年度の肝切除（転移性肝癌）の術式、症例数の概数はどのくらいでしたか。
- (a) 核出術（部分切除） (例)
(b) 区域切除術 (例)
(c) 葉切除術 (例)
- 8-③ 正常のヒト膵組織は、膵切除、進行胃癌の膵脾合併切除の組織から得る事が出来ます。
先生の施設での膵切除の症例は年間どのくらいですか。
(良性、悪性、外傷等全てを含めて)
- (a) 0～5 例
(b) 6～10 例
(c) 11～20 例
(d) 21～30 例
(e) 31 例以上
- 8-④ 進行胃癌で膵脾合併切除を行う症例数はどのくらいですか。
年間の概数を行え下さい。
- (a) 0～5 例
(b) 6～10 例
(c) 11～20 例
(d) 21 例以上
- 8-⑤ 膵脾合併切除の際の膵臓の切除部位はどのようにされていますか。
- (a) 膵体尾部
(b) 膵体の一部と尾部
(c) 尾部のみ
(d) その他
- 8-⑥ 胃癌症例での胃切除術は年間何例施行されていますか。
- (a) 20 例以下
(b) 21～40 例
(c) 41～60 例
(d) 61 例以上

8-⑦ 大腸癌症例での大腸切除術は年間何例施行されていますか。

- (a) 20 例以下
- (b) 21～40 例
- (c) 41～60 例
- (d) 61 例以上

9. 切除後、研究に使用した残りの臓器・組織の有効利用を目的とした

非営利機関によるリサーチ・リソースバンク設置の動きがありますが、先生が採取した臓器・組織が残った場合、リサーチ・リソースバンクの存在を踏まえてどのようにされますか。

- (a) リサーチ・リソースバンクに提供する
- (b) 将来の使用を想定して自らのために保存しておく
- (c) 本来の目的に反するので廃棄処分する
- (d) その他 ()

10. ヒト臓器・組織の利用に関するご意見等ございましたら、ご自由にお書き下さい。

ご協力有難うございました。

(別添資料 2)

ヒト臓器・組織の利用についてのアンケート調査結果

対象：国公立大学病院消化器外科 76施設
がんセンター 5施設

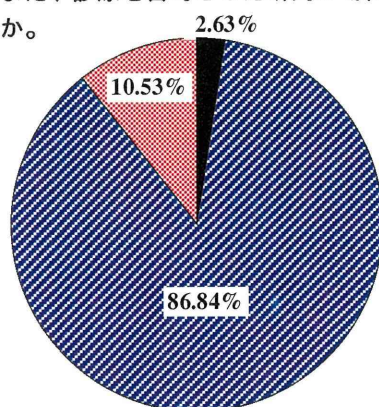
アンケート実施数：89件

回収数：67件

回収率：75.3%

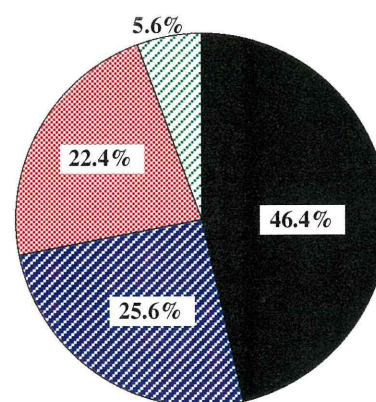
病変部組織の使用についてお尋ね致します。

手術により得られた臓器・組織をどのような目的で使用していますか。
また、診療を目的とした研究の場合、どのような研究に使用していますか。



■ 使用しない
■ 診療を目的とした研究のため
■ 診療とは無関係の研究のため

有効回答数：67



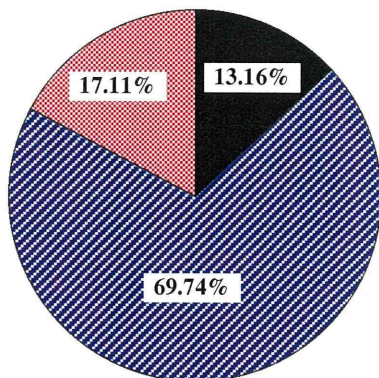
■ 癌遺伝子の検索
■ 癌細胞の培養
■ 抗癌剤感受性テスト
■ その他

有効回答数：65

非病変部正常臓器・組織の使用 についてお尋ね致します。

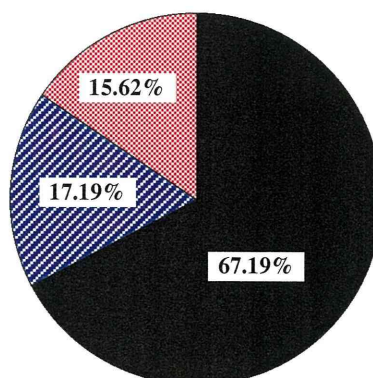
手術により得られた臓器・組織をどのような 目的で 使用していますか。

また、診療を目的とした研究の場合、どのような研究に使用していますか。



■ 使用しない
 ■ 診療を目的とした研究のため
 ■ 診療とは無関係の研究のため

有効回答数：67



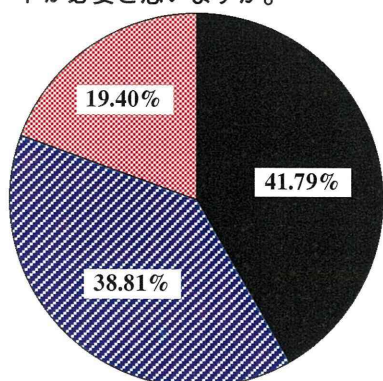
■ 遺伝子の検索
 ■ 細胞の培養
 ■ その他

有効回答数：52

ヒト臓器・組織の利用に際してお尋ねいたします。

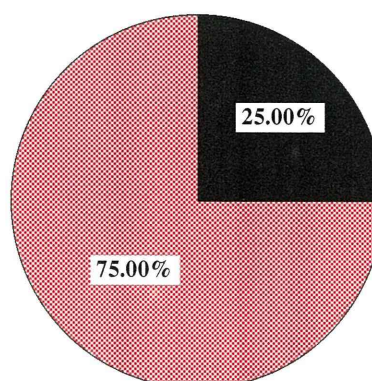
診療を目的とした研究のための臓器・組織の使用に患者および家族からのインフォームド・コンセントが必要と思いますか。

インフォームド・コンセントは（成人の場合）誰から得ますか。



■ はい
 ■ いいえ
 ■ どちらとも言えない

有効回答数：67



■ 患者のみ
 ■ 家族のみ
 ■ 患者および家族

有効回答数：28