

## D. 考察

### 1) 達成度について

今年度 2005 年 4 月 1 日付けで当細胞バンクは東京から大阪に移転した。移転は 2004 年 12 月から作業を開始し、東京から大阪へ液体窒素容器に入れられた凍結細胞を移送した。移動は二日間に分けて行なったが、その前 2-3 ヶ月は移動の準備のための整理や容器の設置等を行った。移動後は、新規容器の動作確認から、内容である細胞の確認（一種の棚卸し）に 1 年かかった。しかし、大阪での新しい業務の開始に合わせて採用した職員は、バンク業務の重要性を良く理解し、早期にバンク業務を軌道に乗せてくれた。このことは感謝しなければならない。この努力のおかげで、新規寄託細胞についても年間 50 種という当初の目標を上回る数を達成して進行しているし、移転後の作業で忙しいため新規の寄託は待つて欲しいと表明していたにもかかわらず、通常の年よりはるかに多い 105 種もの寄託依頼があった。したがって、半数近くが正規登録できず来年度に繰越となってしまったことは残念であるが、この作業を急ぐとクロスコンタミのような事故の発生に繋がるので粛々と登録作業を行ってきた。

医薬基盤研究所という新研究所の設立とそこへの移転ということから、当細胞バンクが整備されたと理解してくださるのは当然のことにように感じるので、そのため寄託を受けられるであろうと多くの方が考えたとしても不思議ではないので、今後とも大いに努力して新規寄託依頼に応えるつもりである。

今年度正規に登録した 50 種の細胞は、当

細胞バンクの標準的な品質管理項目を実施して汚染やクロスコンタミネーションが無い細胞として登録した。マイコプラズマ汚染率は 17%程度であり、うち 5 株は除染に成功し、残りは除染処理によって性状に変化をきたす可能性を避けて寄託を取り下げる措置が寄託者から希望されたのでそのように扱った。細胞の培養作業は入手 1 株について平均 3.65 回実施し、この間に各種検査を繰り返し実施してデータを確認しつつ、長期保存用アンプルを作成した。また、培養に沿って注意深く観察し、寄託された全ての細胞について可能な限り正確なドキュメントをデータベース化し、細胞の公開準備が整ったところで、Web 上に情報を公開して利用者である研究者の閲覧に供した。また、1995 年ごろから開始した写真データ（デジタル化）の作成も進めて、同様にデジタル化されたグラフデータも多数添付して、利用者の利便性を高める努力を実施している。本年度でデジタル化した画像データは 1 万枚を突破した。作成した分譲用アンプルは HS 研究資源バンク（泉南）に送付し分譲体制を確立した。

### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

#### 研究資源バンクの意義と維持

研究資源バンクの意義については、改めて議論するまでも無く重要である。米国の生命科学研究が ATCC (American Type Culture Collection) によって支えられて発展した現実を多くの研究者は知っており、ATCC で保存している細胞が標準として通用する姿を見れば明らかにであろう。長ら

く、わが国には独自の研究資源保存の仕組みを持っていなかったことが、現在われわれが指摘しているような細胞汚染やクロスコンタミネーションを引起こしていることは明白で、これが研究社会における意義である。

我々は生命科学研究振興の基盤を構築する『培養細胞』の収集、維持管理、頒布に関する事業を実施している。これを細胞バンク業務と呼ぶが、基本的な業務は細胞の収集、長期安定的保存、迅速な分譲の3点である。我々が真に生命科学研究に貢献するためには、収集した細胞の正しさを精度高く評価できるデータを我々が自ら取得して広く公開するシステムを確立することと、研究者からの依頼に迅速に対応して可能な限り短時間で細胞を届けるシステムを確立することの2点である。研究者が必要を感じたときに間髪を入れずに提供できる資源バンクでなければならない。研究現場では常に新しい発見が進行しており、海外との熾烈な競争も進行している。それ故研究者は迅速に結果を出して世界に先駆けて論文にしたいという欲求が常に存在しているし、それが最終的にはわが国に利益をもたらす。この要求は当然のことであって、それに答えるのが研究資源バンクの大きな役割の一つであろう。研究材料を迅速に入手できれば迅速に研究・実験に入ることを可能にするので、個別研究者がそのようなシステムを国に要望するのは当然のことであって、米国においては極めて早い時期にこの細胞バンクシステムを設立して研究者の便宜を図ったのである。少なくとも、我々厚生労働省には「医薬基盤研の JCRB 細胞バンク」と「HS 研究資源バンク」の二つが設

置されているので、互いに協力して利用価値の高い体制を確立しなければならない。

現在、最も早い場合ではあるが1週間以内で細胞を届けることが出来るシステムを確立してきており、多くの研究者によって感謝されている点である。また、このようにして構築してきた細胞バンクシステムは厚生労働省の評価を高めることになることも留意していただくと有難い。

一方『細胞の正しさに関する精度の高い確認』という課題についても細胞バンク独特の課題として重視されるべきである。欧米ではこの重要性は当然のこととして理解されているが、我国ではこの点が十分に理解されていないと感じる事が多々ある。生命科学研究において、間違った研究材料を利用してしまふということは、『あつてはならない』こととするなら言い訳のしようは無いし、それを検証するシステムを構築することは研究予算の無駄使いとなるであろう。しかるに、細胞バンクの大半を占める、細胞の検査や評価を実施する機能は削除してしかるべきであろう。あつてはならないことに手間隙かけて調査するのは無駄だからである。

しかし、それで本当に良いのであろうか？というのが私達細胞バンクの運営に係わってきた研究者や職員の疑問である。分子や原子から始まって、蛋白質、核酸、脂質等の高分子物質から細胞という生命科学の研究対象は直接目で見えない。しかるに、それをどう正しく認識して研究対象とするかが研究の重要な課題である。細胞も100から200ミクロン程度の大きさであって顕微鏡下でようやく観察できる大きさであり、細胞の内部構造にまで立ち入るならそこは

分子の世界であり様々な人工的手段を利用しなければ観察できない。従って、そうした生命科学の研究対象には常に誤りが付きまとっているという前提で、正誤の検証をしながら研究を進めるのが正しい姿勢であると我々は考え、誤りは『あつてはならない』と考えるのではなく、誤りは『付き物』である故訂正システムが必要であると考えるのである。細胞内のDNAの複製でさえDNA複製の誤りを修正してがん化を抑制しているのと同様、研究システムの中にも誤りを防ぐシステムを持たなければならない。特に、国を単位とした研究システムという制度を考えた場合、多種類の細胞を集積する細胞バンクという組織が担当することが経費の効率化、研究の効率化という点できわめて妥当な姿であると考えられる。

細胞が正しいかどうか、汚染があるかどうかという課題は、あたかも低次元の議論と見える。しかし、研究が進行して佳境に入れば入るほど、本来のテーマ（高次元の研究課題）の面白さが先行して材料の正当性などに関する低次元の問題については忘れられてしまうことが多々起こるのである。従って、研究が一段落して研究全体を見渡して総括するような場合に、しかるべき第三者に委託して研究材料（培養細胞）の正当性等について検討してもらうのが良いことではないかと考えるのである。

科学研究は、それ自身の構造の中に客観性が求められている。この事実は、研究の結果だけでなく、研究に使用した材料についても第三者の評価を得て実験系の妥当性について評価を得ておくことは重要なことである。

細胞バンクには多種類の実験材料（培養

細胞）が集積する。そのため普通では行うことができない相互比較を容易に実施することが出来る。その良い先例は1970年代にアメリカで発覚したHeLa細胞混入疑惑の問題であった。1950年代初頭、GeyによってHeLa細胞が初めて樹立されたのを見てヒト培養細胞を樹立する研究が米国で大いに流行した。そのさなか、米国のGartlers, S. M. は、新規に樹立したという培養細胞の多くは実はHeLa細胞ではないかという疑問を呈したことから問題は始まった。指摘された当初こそ樹立にかかわった多くの研究者はGartlersを笑いものにし村八分としたが、徐々にその指摘の妥当性が理解されるようになり、問題は想像以上に深刻であると理解されるようになった。そこで、米国の細胞培養学会では議論を重ね最終的にATCCが中心になって収集したヒト培養細胞に関して徹底した染色体分析を実施してアイソザイム分析の結果と合わせて、新規に樹立したヒト培養細胞の多くが確かにHeLa細胞であるという結論に達して培養学会誌に報告した。この結果は米国の多くの研究者に受け入れられ、それ以後細胞を扱う場合にはクロスコンタミネーションを防止して扱うことが常識となった。この問題はさらに、マイコプラズマによる汚染の問題にも波及してクロスコンタミネーションを防止することとマイコプラズマの汚染を防止することは同じことであることと理解され、それらを防止するための厳密な培養システムを確立することが理解されるようになった。現在使われている細胞培養用のクリーンベンチもそうした注意を実現する装置として開発されてきているのである。こうした経過を経てATCCのような

研究資源バンクをきちんと維持することの重要性が米国では十分に理解されるようになって現在に至っている。こうした事例に学んで、ドイツや英国も1980年代後半から積極的に細胞バンクを設立し、その中で細胞の誤謬や汚染の問題について真摯に検討しながら研究資源の配布事業を実施しているのである。我国も、1985年以降当厚生労働省は他省庁に先駆けて細胞バンクを設立して、細胞の汚染や誤謬を正すシステムの構築に取り込み始めた。いくつかの事例として、海外の研究機関と共同研究を実施しようとしても日本から持ち込まれる細胞には汚染が多いという理由で共同研究を断られるケースも少なくないと聞く。そうしたことを公に指摘して問題の解決を図る支援をするのが細胞バンクのもう一つの役割である。

我々はSTR分析法を1999年から取り入れて、寄託された全てのヒト細胞についてSTRで分析した結果を集積してデータベース化してきた。このデータベースを利用して細胞の個別識別を実施したところ、約8%弱の細胞にクロスコンタミが発生していることを確認した。特に日本における特徴的な問題は、HeLa細胞が混入していたというケースより、日本で樹立されたとされる細胞どうしのクロスコンタミネーションが多数観察されたことであった。我国は細胞の樹立研究が比較的多い国の一つであり、日本で樹立された多数の培養細胞が海外でも利用されている。そのことを考えると、クロスコンタミネーションを早期に発見して注意を喚起していくことは極めて重要なことである。

培養細胞は適切な培養環境を提供すれば

自立的に増殖して生命の姿を見せてくれる研究材料であり、生命の本質を理解しようという研究には不可欠な研究材料である。特に倫理的な問題から直接実験できないヒトを対象にした実験も培養細胞ならできるのである。さらに、1980年代までの分子生物学の研究成果を利用して培養細胞を治療などに応用しようという機運が高まっている。現在の当バンクの細胞をそうした目的に直ちに利用することはできないが、将来時代が進めばそういう問題にも応えるよう要請があるとも考えられる。現在からそうした問題についても研究しておく必要があるだろう。

誤りを正すということは大きな課題であるが、私どものやり方は誤っているものを摘発して罰を与えるという方法を取るものではない。誤りは誤りとして率直に認めたほうが研究の質が高まるということを理解してもらうことが重要であると考えている。したがって、WEBを利用して細胞誤謬の問題やマイコプラズマ汚染の問題を公開して情報提供することによって研究者の自発的な自助努力を引き出そうというものである。好んでデータの改竄をする研究者はあくまでも少数であり、ほとんどの研究者は真摯に真実を求めているという性善説を取るものである。

我々は、本研究を通じて多くの研究者によって樹立された培養細胞の品質を高度化し、誤った細胞や汚染された細胞を排除するシステムを確立し、運用しながら適正な価格で研究者に細胞を提供するシステムを構築している。さらに、誤謬や汚染を含む細胞を研究に利用することの問題点をホームページに掲載し、正しい細胞を利用する

よう積極的な啓蒙活動も行っている。これにより多くの研究者が誤謬や汚染を避ける必要性を強く認識するようになってきている。誤謬や汚染を含む研究材料を使った研究がどれほど研究費を浪費するかを考えれば、こうした細胞バンクの活動やそれを整備するための研究には極めて大きな社会的、また学術的意味が強くあることが理解されるであろう。こうした細胞バンクの意義は1950年代より米国では常識として理解されており研究基盤として整備されていた(ATCC)。そのため、汚染がひどい我国の細胞に対する学術的な信頼度が大変低いものであったが、当バンクが事業を開始して以後そうした問題は払拭されつつある。

### 3) 今後の展望について

1985年に対ガン10ヵ年総合戦略の支援を目的に設立された細胞バンクは多くの研究者に活用されてきた。支持された大きな理由は愚直なまでに研究資源バンクの原則に沿った運営に徹してきたためだと考えている。我々が事業を開始した1985年には、細胞バンク事業を実施する民間企業が3社あったが、その後バブル経済の崩壊を経て、企業が細胞バンクを維持することは不可能と結論されて2社が撤退し、残る1社も撤退を考慮中とのことである。研究に利用する培養細胞には高度な品質管理が必須であるが、コスト的に企業経営には向かないというのが第一の理由であり、ヒトに由来する試料は倫理的な見地からも企業的経営には馴染まない。そこで、我々は、倫理問題も研究課題として真摯に対応することを含めて、総合的な『ヒト由来培養細胞資源バンク』を構築して維持することを目的に今後の研究を展開するものである。また、生命科学研究が応用研究にシ

フトしつつある現在、提供する細胞のウイルス否定試験を実施することが必須であるとの指摘が多く寄せられているので近い将来それを実現する。

細胞バンクを発展させるための研究課題には『培養細胞の高度化』が必須であるが厚生労働省研究事業の枠にはこれを申請できる事業枠は無く『ヒトゲノム研究』などの課題でしか研究費を申請することが出来ない。今後、我国の生命科学研究の推進に細胞バンクの発展維持が必要であると判断されるならば、研究資源研究が可能になる研究事業の枠組を確立することが必須である。国際的には資源ナショナリズムという事態が進行しつつあり、我国が先進国と自認するならそれにふさわしい生命科学研究資源の確保を目指した研究の枠組を確立しなければ国際的に立ち遅れると予想される。

### E. 結論

厚生労働省細胞バンクは、多くの研究者に感謝されながら発展してきた。ヒトを中心にした培養細胞の収集は順調に推移し分譲数も順調に増加してきた。分譲は1995年に有償化してすぐ、一時減少したが、その後2000年頃から再度増加に転じて年間3000アンプルが利用されるまでに回復して現在に至っている。

細胞治療の可能性が論じられるようになった時代を反映して間葉系幹細胞の寄託が増加しているが、現時点で分譲依頼が多い細胞は意外にも先端医学研究に直結するものより、従来の標準的細胞株であるという点は興味深い。今後細胞バンクの整備を進める際には、新規性の高い細胞の収集と同時に従来の標準的な細胞の収集も無視してはならない

ということが重要な視点となるであろう。さらに当バンクが支持を得ている重要な理由は細胞の品質についてしっかりした管理体制を確立して情報提供していることにある。今後も、このシステムを発展させる決意である。

一般に細胞バンクの維持管理は科学と無縁な実務的作業であると捉えられる場合が多く、バンクを担当する職員の頭痛の種である。しかし、何も問題が無いものと考えられていた培養細胞から新しい汚染物質が検出されるなど、新鮮な発見も多い。これは研究者による科学的な『眼』をもって取組めばどこにでも科学の種が転がっていることを示しており、多くの研究材料が集まるバンクは研究の種の宝庫であるとも言える。こうした積極的な側面を生かしつつ、国家の生命科学研究の推進に貢献する研究基盤の構築を目指すものである。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

細胞バンクに関連する主任者の研究は必ずしも論文を書くことではなくバンク事業を整備することである。結果として書けるものは論文とする努力はしているが、その多くは国内の研究者に情報提供をすることを目的とすることが多い。そのため、海外の雑誌より国内誌に日本語で発表することが多い点に留意されたい。

##### 1) 国内

口頭発表 2  
論文発表 5  
それ以外の発表 0

そのうち主なもの

論文発表

水澤 博、JCRB 細胞バンクと細胞バンク事業、バイオサイエンスとインダストリー (2005) 63:725-728.

水澤 博、厚生労働省研究資源バンクのなすべき事、BioResource now!(遺伝学研究所)、(2005)1:1-2.

竹内昌男、吉田東歩、澤田秀和、HSRRB のヒト組織由来研究資源、分子細胞治療 (2005), 4:511-515.

増井 徹、高田容子. 英国バイオバンクプロジェクト. 実験医学 (2005) 23(4): 522-529.

増井 徹. ゲノム情報を基礎とした人体理解と薬. 日薬理誌 (2005) 126:362-365.

##### 2) 海外

口頭発表 2

論文発表 2

そのうち主なもの

Yamada K, Suzuki T, Kohara A, Kato TA, Hayashi M, Mizutani T, Saeki K.

Nitrogen-substitution effect on in vivo mutagenicity of chrysene. • Mutat Res. 2005 586(1):1-17.

Harasawa, R., Tanabe, H., Kurematsu, M., Mizusawa, H. & Suzuki, Y.,

elf-Propagating calciferous particles detected in a human cell line Kasumi-6 (JCRB1024), In vitro.

H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

なし

## ヒト細胞の研究資源化と研究倫理に関する研究に関する研究

独立行政法人医薬基盤研究所 生物資源研究部 JCRB 細胞バンク

増井 徹

### 研究要旨

生物資源バンクの活動には包括同意が不可欠である。それは、都合のよさや、簡便さの問題ではなく、科学研究を支える生物資源バンクという性質から導きだされる。現在の日本の指針においては、承諾を得るか、連結不可能匿名化するという姿勢になっている。本年は、それでは成り立たない科学研究がある点について論考を加える。

#### A. 研究目的

人体に由来する組織・細胞などの試料と個人の健康情報など（人資料等）を研究に利用するためには、由来者の承諾が不可欠である。そして、日本のゲノム研究倫理指針は生物資源バンクの活動を連結不可能匿名化されたサンプルで支えることを前提としている。しかし、実際にその枠組みで支えることはできない。そこで、人資料等の研究利用と研究資源バンクが必要とする利用枠組みの問題の中で、包括同意の必要性について、検討を加える。

#### B. 研究方法

生物資源バンクでの活動、及び分担研究者（増井）が委員として活動する研究倫理審査委員会、及び他の研究班、検討委員会の活動から取材をする。具体的な事例を示すためには、関係者の承諾を得る必要があるので、一つ一つについては触れることができないが、大枠を示す。ことにより、問題のありかを明らかにする。また、この研究においては、厚生労働科学研究費補助金宇都木伸班での議論が重要な枠組みを与えてくれている。

#### C. 研究結果

##### 1. 理想的な研究対象であるヒトと最悪の研究対象である人

最適な生物研究資源の資格は以下の3点に集約される。1) 豊富にあること、2) 使い捨てできること、3) 生物学的現象に再現性があること。

最初の2つが意味するところはつまるところ、仮説を検証するためには、失敗のできる環境が必要であるということである。

シュライオクはその「近代医学の発達」(1947)の中で以下のように述べている。

「医学者は、ほかならぬ彼らが最も関心を寄せる材料について、実験を行い、試験をすることさえ、世論によって禁じられていた、という事実がある。人体を試験管や振子と同じ

取り扱いをすることは、ほとんど不可能である。ロージャー・ベーコンは早くも 13 世紀に、こう述べている。『知覚をそなえぬ物体を研究する技術的学問は、欠陥や誤りを取り除くまで実験を重ねることができるが、医師は、研究材料が高貴であるために、それができない。…それ故に、医師は欠陥について、他の学問の研究者よりも、大目に見られるべきである。』

2 世紀のガレノスは人体解剖ではなくブタ、サル等の解剖結果をヒトへ適応していた。16 世紀ベルサリウスは人体解剖による解剖書を作ることを目指したのだから、教皇が人体解剖を公認したのは、先立つ 15 世紀に入ってからであるという。

このようにヒト・人を研究対象とすることは、困難なことであり、科学自体のもつ原理から逸脱して「人を護る」ことが求められるのである。

ヘルシンキ宣言はこれまで 3 回の大きな改訂があるのだが、それらはヒト・人を対象とした医学研究の変化を反映している。

**1964: “Clinical research on a human being”**

**1975: “Biomedical research involving human subjects”**

**2000: “Medical research involving human subjects.”**

1964 年版で一人の人を対象とする臨床研究について述べていたものが、1975 年版では複数の被験者を対象とする医学・生物学研究となり、2000 年版では今や医学研究は生物学的要素を常に持つということで、“Bio” がなくなった。さらに、2000 年版は「世界医師会は、ヒトを対象とする医学研究に関わる医師、その他の関係者に対する指針を示す倫理的原則として、ヘルシンキ宣言を発展させてきた。ヒトを対象とする医学研究には、個人を特定できるヒト由来の材料及び個人を特定できるデータに関する研究を含む」と宣言する。

このように、まるのままの人間を対象とした医学研究は、人体に由来するものと情報（人資料）を研究対象とする領域へと拡大している。しかし、ヘルシンキ宣言の 2000 年版は、人資料を利用する研究を支える問題について答えを与えない。また、その問題について議論はされていないように思われるのである。というのは、例えば「個人を特定できる」とは何であるのかということが大きな課題であるのだが、この言葉は個人情報保護とのアナロジーで不用意に使われているようにも思われるからである。匿名化で護られる人の尊厳や基本的人権とは何なのかという問題まで含む議論があって、はじめてこのヘルシンキ宣言一条の文言の意味が明らかになると考える。それは、医学研究の定義の問題ではなく、ヒト・人とは何かという問題なのではないだろうか。

先のヘルシンキ宣言の条文は、先に述べたシュライオクの言葉によれば、まるのままの人を対象とする研究と対比されていた「知覚をそなえぬ物体」である人資料を用いた研究領域が確立されたことを示す。まさに生きている人間を研究対象とするのと同じように、ある場合にはそれ以上の研究における価値を、「知覚をそなえぬ物体」から生み出すことのできる技術を手にしたことは、人資料における包括同意を支えるために何が必要であり、何ができるかを、私たちにとって一層深刻な問題としている。



## 2. 再現性の問題

ヒトゲノムプロジェクトや HapMap の完成がもたらしたのは、人間の集団をゲノム情報によって階層化（グループ化）して、研究に利用する基礎を築いたことである。

動物を、実験動物として遺伝的に均一にし、人工的にコントロールされた環境で飼育することによって、動物実験は科学になった。そのようなことをヒト・人で行うことは難しいので、後付でゲノム情報を集めて階層化し、生活環境・生活習慣等の環境情報を収集してこれも階層化して、グループごとに比較研究を行う。

ヒト・人のゲノム情報が利用できるようになることで、ヒト・人ではもっとも問題であった個体差や再現性の障壁をかなり緩和できるだけでなく、ヒト・人の多様性を生かす道を開いたのである。

## 3. 人体を解析するためのツール作り

このように、ヒト・人を科学研究の対象とする素地がそろい、且つヒトを研究するためのツールは、医療という市場を意識して積極的に開発されている。先に述べたヒトゲノム解読や HapMap の整備もその一端である。さらに、社会に役立つ研究という掛け声の中で、人資料を対象とした解析ツールの開発はすすんでいる。

## 4. 現状の諸問題

これらの問題を要約するとヒト・人が科学研究の対象として成熟してしまった。それも、我々の準備ができてないうちに。というのは、ヒト・人は尊厳を持ち、基本的な人権をもつ。この科学研究対象であるヒトと、尊厳と人権を有する人が共存しうる空間を我々が創造しうるために、今何が求められているのかについては、日本だけでなく国際的にも欧米においても、コストを伴う試みが続けられている。

これらの問題は以下のようにも表現できるだろう。「科学・技術」という疾走する車を追いかける「法と規制」という 2 台目の車、という構図である。政府はこの状況の問題性を緩和するために、研究倫理指針を策定し、研究者・医療関係者に基本的考え方を用意した。多くの問題を含みつつもこの方向性は重要なステップであった。しかし、このような動きが生きるためには、患者を含む市民と社会がこの動きを理解して参画することが必要である。そのために、「研究者のアウトリーチ活動」や「パブリックアク・セプタンスの醸成」等の充実が言われているのである。後で簡単に述べるように、医師・研究者集団の自律の問題がそれらの前提になっていることを忘れてはならない。

しかし、ここには重要な第 3 の車が、前を走る 2 台の車を追いかけていることを忘れてはならない。それは英語では“Policy and Ethics”と呼ばれる。日本語で「政策と倫理」という水と油のようである。しかし、ここで Policy を「私たちはどんな世界に住みたいのか」、Ethics は「私たちがどんな世界を作りたいのか」、「私たちがどんな世界を次の世代に残したいのか」とすると、Ethics は「そのために、今の私に何が求められていて、何ができるのか」と表

現できると考える。この場合に、Policy と Ethics のあらかずものは、時制と人称が異なる点に注意が必要である。将来の我々の問題を今の私の問題として捉えることが重要だからである。

## 5. インフォームド・コンセント

これまで述べてきたような医学・生物学研究を支えるために策定された、日本の研究倫理指針の基礎は以下の3点に集約できるだろう。インフォームド・コンセント、倫理委員会による事前審査、個人情報保護である。これらの中で、インフォームド・コンセントによって支えられる領域は大きい。しかし、包括同意の問題はそれとは異なった原理に依存する。「動機をもっていることと承知納得していること、そしてそのうえで外的な圧力がないこと」(ハンス・ヨナス)というインフォームド・コンセントの趣旨は、これまで思ってもいなかったことを「受け入れる」という包括同意の趣旨とは異なる。しかし、今まで思ってもいなかったことが分かることは、科学にとってはまさに進歩であるのだ。「承知納得」する範囲に、「将来のいかような場合でも」を加えることによって、包括同意をインフォームド・コンセントに加えるのか。或いは一種の愚行権として包括同意を考えるとどうなるのか。理論的な研究が必要である。

さらに、ゲノム研究をインフォームド・コンセントで支えることにも無理があるのではないだろうか。インフォームド・コンセントによるゲノム研究への承諾は、現実の便宜上の手続き程度の意味しか持たないといえるかもしれない。というのは、ゲノム情報はヒトという種で共有されており、さらに深く血縁関係の中で共有されている。配偶子生成の際の組み替えと減数分裂とそれに続く受精によって個人のゲノム情報の組み合わせは、その個人特有である。しかし、その情報の断片は先の世代や自分に続く世代の中で正確に共有されている。となると、そもそもゲノム情報が「私のものだ」といえるのだろうか。私だけのものでないものを私の「自己決定」で引き渡す行為は、何に当たるのだろうか。

ゲノムに関する共同研究をしようとした研究者から、米国の共同研究先からファミリー・コンセントは得られているかという照会が来たという。また、NIHGRのコンセント・テンプレートでは、血縁者の情報を自分がコンセントにおいて引き渡すことになることを被験者に説明するようにとの勧告が盛られている。

これらの動きを考えると、2で述べたようにヒト・人を研究するための大きな物指となるゲノム情報の利用は、これまでとは異なった情報共有のための考えかたを要請しているのではないだろうか。現在我々は、便宜的にインフォームド・コンセントに依存して支えているものが、果たして、別の形で支えるかはあまりにも大きな問題である。しかし、この問題は包括同意が抱える問題と同じく、研究者・研究者集団の自律へと連ならざるを得ない問題であると私は考えている。これらの問題については、場を改めて論じることが必要である。それほど、ゲノム研究の時代において、インフォームド・コンセントや包括同意の持つ問題は大きいのである。

## 6. 欧米との違いーリスクと科学

欧米では包括同意の受け入れられる素地があるように思われる。それらは、重要な問題について、日本の事情とはかなり異なる認識が存在すると思われるからである。2点だけ挙げておきたい。

1つはリスクに関する認識の問題である。これは、いろいろな場で、何度も言われていることである。日本の研究倫理指針を読んでいると、研究が「正しく」行われれば、負のリスクをなくすことができるという意識が強い。しかし、1つの事象はいつも正と負のリスクを持ち、面倒なことに、リスクの正の側面（リスクとベネフィットという言葉を使うことで、それらが別物であって、分けることが可能であるという考え方を助長すると考える。私自身はその考え方に反対である。そこで、リスクを正の側面と負の側面を持つものと考える考え方があるので、ここではその考え方を採用する）を増そうとすると負の側面も見えないところで増大しているのである。包括同意の導入は、それが既存資料のものであれ、これから収集する資料に関するものであれ、リスクの正の側面を増大させると同時に、負の側面も見えないところで増大させると考える必要がある。その点では、日本での研究倫理指針が「倫理的に正しく」行われれば科学研究から正の側面だけを得ることができるといふ「いいとこ取り」の思想を内包していることは危ういのである。

日本の臨床研究指針にはヘルシンキ宣言の基本姿勢をしめす「7条. 現在行われている医療や医学研究においては、ほとんどの予防、診断及び治療方法に危険及び負担が伴う」という条文が採用されていない。日本の臨床研究指針はヘルシンキ宣言と比較して必要な条項を取り入れた経緯があるだけに、この条文の削除は、先に述べた日本におけるリスクへの考え方を医学研究全体において示していると考えられる。

もう1つは科学という活動自体への考え方である。日本においては科学と技術をくっつけて科学技術と表現されたあたりから、科学の持つ凶暴性への意識が低くなってきたように思われる。その一方で科学は人の役にたつ飼いならされた知識であるという考え方が蔓延している。日本の研究倫理指針では、前者をなくし、後者のみを得ることが可能なように、計画的に、正しく科学が執り行われることが目指されている。もちろん、まるのままの人を対象とする研究ではその姿勢が重要であろう。しかし、「知覚をそなえぬ物体」を利用した研究においては、その姿勢だけでよいのであろうか。欧米の科学研究に関する政策文書を読んでいると、科学の凶暴性を許す領域を確保することを考えながら全体の規制が考えられているように思える。

1つの例を挙げる。ヒトES細胞研究において、米国は政府資金について規制をし、それ以外を自律的な動きに任せることにより、科学の凶暴性の領域を限定して、米国政府としてリスクヘッジを試みた。これは、規制されていない部分は自由であるという米国の気質において有効である。英国はHFEAの厳しい規制の下に治療用クローン胚の作出まで許す。これら2つの国は、ヒトES細胞研究という機微に触れる研究領域に関して、異なった施策

により、「科学の凶暴性」を生かしつつ封じこめることを目指している。

これらの違いは、日本で包括同意が持つ意味と、欧米で包括同意が持つ意味を異なったものとする。科学の凶暴性の存在を前提とし、リスクの常在を意識できる社会と、その両方を前提としない社会では、包括同意の前提となるヒト・人観が異なるのではないかと思われる。それが何であるかについては、慎重な研究が必要であろう。欧米でのシステムをそのまま導入することでは問題が解決しないということだろう。

先端の医学・生物学研究は、不確実な評価の定まっていない、凶暴性を持つ、正も負のリスクも大きな科学研究領域である。包括同意はそのような領域における人資料の利用環境を用意できる。しかし、日本の現在の状態で、ある種の無謀を許す領域を確保することはどんな意味があるのだろうか。包括同意の導入によって、評価できるという「強固な地盤」に脆弱な一部が生じることになる。このことで、現在の人資料利用を支えるシステム全体の信頼が崩れるなら、果たして包括同意の確立はどのような意味があるのだろうか。そこを見据えて、根本からの建て直しが必要となると、私は考えている。

#### 7. 医療と医学研究がもつ背景からの問題

医療の現場における医師という職業は、日々決断の中で仕事を続けている。「医師は生命にかかわる技術にたずさわる職業人でもあるために、絶えずあわただしく、慎重を欠く結論を下すように迫られる、唯一の科学者であった。他の研究者たちは、新しい問題を前にして、自信がもてなければ、判断を差し控えて、必要な慎重さですすむことができた。死に瀕する患者を前にした開業医は、手をこまねいて待つわけにはいかなかった。彼らは迅速に行動し、必要とあらば、『僥倖を頼まなければ』ならなかった」とシュライオクは記述する。

この原風景は、医学研究の時に慎重を欠く性急さに引き継がれているように思われる。他の研究領域が持つ、いつまでも議論を続け、実験を重ねる「慎重」な姿勢を許さない雰囲気や医学・生物学研究は持つように思われる。バイオサイエンスが医学・生物学研究の領域で予算的にも人材的にも研究成果としても成長したことは否めない。しかし、ここで犠牲にしたものもあるように思われる。

「明確な結論」を性急に求め、それを早く現実に生かしたいという現在の医学・生物学研究の風景は、医療の場で医師が持つ原風景の投影のように思われるのである。そして、この性急な要請を満たす一つの方策として、「あまり大きな問題とならない」と予想される人資料の利用に関する包括同意の導入があるように思われるのである。「知覚をそなえぬ物体」の研究が今生きて苦しんでいる患者を救うヒントを与えるかもしれないという「思い」は、医療の領域が持つ「明確な『不明瞭さ』」を医学・生物学研究の領域に持ち込むことになるかもしれない。そして、そのような一種の混濁すら生かす形で、医学が成長しなければいけないのかもしれない。しかし、研究者や医師が「苦しんでいる患者がいるからこの研究は進めなければいけない」というときに、医学・生物学研究が元来は持つべき矜持の

一部を犠牲にしていると思うのである。研究をしたいのは、研究者であり、そのために患者の協力が必要なのである。また、医師にしてみても、「実質的な治療」が何を意味するかを考えると、この正統と響くべき「苦しんでいる患者がいるからこの研究は進めなければいけない」という言葉が空ろに聞こえるのである。このあたりの問題は、研究者・医師の自律の問題として、これまで論じたすべての問題に係る。

少し道をそれるが、それでは、研究者がすべて周りを理解して、社会・個人へ配慮して物分りのよい人物であればよいかという、そうではないと思う。日本の研究倫理指針の描き出すような研究者ばかりになったら、日本の科学はだめになると、私は思うのである。研究者とは、次の世代のために飼われている、周りを見捨てられる才能に恵まれた人たちということもできるのではないだろうか。

#### D. 考察

##### 虚構と虚偽

これまで述べてきたことを総括すると、「虚構と虚偽を見誤ってはならない」（須賀敦子）という言葉に収斂するように思われる。現在の人資料の研究利用に関する研究倫理指針の提示するものは、どこか虚ろなのである。包括同意に関する議論は、その最たるもののように思われる。しかし、私たちはその虚構の世界の中で次の世代につながる、できれば「実」へつながるものを紡いでいきたいのである。虚構は Fiction を Fiction と意識することで、何が本当であるかを見極めようとする熱意を冷ますことがない。そして、それは科学が持つ根本の性質の一つである。しかし、虚偽は虚ろを信じ、その中に安住し、その中では次の世代への危機感を持ち続けることは難しい。

人資料の研究利用の問題は、長い間一種の虚偽の空間で行われていた。そして、今それは虚構の空間への解き放たれたと私は感じている。虚構と虚偽を見誤ってはならない。

#### E. 結論

生物資源バンク、特に人を対照とした研究資源の利用において、未来への投資であるバンク活動を支えるためには、それにふさわしい枠組みが必要である。この問題は現在の研究倫理指針群に存在しない、包括同意を支えるシステムを構築することになる。今回の報告書では、その根拠を明らかにしようとした。単純な割りきりによる、短期間利用可能ならよいという姿勢だけでなく、長期的視点に立った論理的に支援することが、本研究の目的である。今後も活動を続ける。

F. 健康危険情報(もしも、ある場合には総括報告書に掲載されます)

G. 研究発表(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

## 1. 論文発表

増井徹, 高田容子. 英国バイオバンクプロジェクト. 実験医学 2005; 23(4): 522-529.

増井徹. Pharmacogenomic test の利用を支えるコアコンピタンス. 臨床薬理 2005; 36:57s-58s.

増井徹. 私たちはどのような世界に住みたいのか? 国際 BIOETHICSNETWORK2005; 39: 55-5

増井徹. 個人と集団. 社会薬学 2005; 24: 11-13.

増井徹. Pharmacogenomic test の利用を支えるコアコンピタンス. 臨床医薬 2005; 21:694-700.

増井徹. ゲノム情報を基礎とした人体理解と薬. 日薬理誌 2005. 126: 362-365.

増井徹. 人の「からだ」の研究を可能とする社会基盤. 平成 17 年度厚生労働科学研究補助金「先端医療の普及・発展を目指して—市民とともに倫理を語る」pp. 21-56. 2005.

増井徹. (4) ヒト由来細胞の管理運営—ヒト研究資源の問題. 「ヒト組織・細胞の社会還元」ワークショップ, 独立行政法人科学技術振興機構, pp. 46-57. 2005.

増井徹. くすりと医療を支える社会基盤. 平成 17 年度大阪大学大学院薬学研究科公開講座「くすりと医療」. Pp. 59-71. 2005.

## 著書

増井徹. 第 2 章第 1 節 ヒト組織・細胞, 遺伝子試料利用における倫理的問題. In 抽出組織ヒト組織・細胞を用いた非臨床研究. 佐藤哲夫編. エル・アイ・シー2005; pp51-63. .

増井徹. 第 9 章倫理的課題. ファイマコジエネティックス. 監訳津谷喜一郎. CIOMS 2005. テクノミクス, 東京. 2005 年 PP 119-138.

## 2. 学会発表

### 学会等招待講演

増井徹, 2005 年 4 月 8 日 International Symposium of Bioethics: Shinshu University International Round Table Discussion Policy around Life Science Technology and Making Social Consensus-Lessons from Cases in the United Kingdom

“The Essential Question in Policy and Ethics in Supporting Biomedical Science.”

増井徹, 2005 年 6 月 6 日 Society for In Vitro Biology Annual Meeting

“Stem Cell: Regulatory and Ethical Aspects.” Chairperson and Speaker(座長と口演者)

増井徹, 2005 年 11 月 12 日 上智大学生命科学研究所, シンポジウム「ゲノムサイエンスは我々に何をもたらすか」「わたくしのものであって、わたくしだけのものではない。」

増井徹, 2005 年 11 月 18 日 第 70 回日本民族衛生学会総会、特別講演 「遺伝情報の研究と倫理—欧米と日本を比較して」

増井徹, 2005 年 12 月 10 日 医系大学倫理委員会連絡会議, シンポジウム「既存試料・診療情報の研究利用をめぐる倫理：包括的同意を考える」「包括的同意、何が問題か：医学・生物学研究をめぐる国内外の状況から」

増井徹, 2006年1月13日産業総合研究所 CBRC (臨海) 特別セミナー「ゲノム情報を基礎とした間接的人体実験の時代」

増井徹, 2006年3月9日 日本再生医療学会総会, シンポジウム「究極の医療資源ヒト組織・細胞の利用に関わる倫理・社会問題」「再生医療を支える社会基盤としての科学と企業」

#### 学会発表

増井徹 2005年4月20日 Human Genome Meeting 2005 in Kyoto 18-21 April, “Nature has Established Patterns, but only for the Most Part.”

増井徹、高田容子、小原有弘、小沢裕、塩田節子、水沢博, 2005年5月26日日本組織培養学会第78回大会, 「ゲノム塩基配列決定後のゲノム研究を支える」—

増井徹, 2005年6月6日 Society for In Vitro Biology Annual Meeting, “Training procedure for cell culture”

増井徹, 2005年7月29日 神戸先端医療財団 BTC セミナー  
「生命倫理の社会的リスクマネジメント研究—何が問題なのか？」

以上

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

分担研究課題：培養細胞における遺伝子発現データベースの作成に関する研究

分担研究者：小原 有弘  
(独) 医薬基盤研究所 細胞資源研究室研究員

### 研究要旨

研究に用いる培養細胞の品質管理は非常に重要であり、研究によって得られた成果に非常に大きく寄与するが、研究者が研究に用いる培養細胞の品質に無関心であるのが現状である。これまでに我々は細胞のマイコプラズマ汚染ならびにクロスコンタミネーションに関して国内培養細胞資源の調査解析を実施してきた。その中でマイコプラズマ汚染は全体の18%程度、クロスコンタミネーションは全体の6%程度であることがわかっている。これら培養細胞を用いた研究は、生命科学研究に必要不可欠な手段となっているが、非常に本質的な部分での細胞管理技術が発展していないのが現状である。本年度はマイコプラズマ汚染が9細胞(52細胞中)、クロスコンタミネーションが4細胞(28細胞中)に認められた。

また、更なる品質管理法の開発として染色体解析ならびにCGHアレイに着手し、細胞の継代培養によって染色体の数的な変化ならびに染色体プロファイルの変化が起こることを明らかにした。今後新たな細胞品質管理法として非常に有力な手法開発への発展が期待される。さらに、細胞のプロファイル解析は研究者が細胞を選択する際の重要な情報となるため、リアルタイムRT-PCR法による遺伝子発現プロファイル解析を導入したデータベース作成に着手した。

### 研究目的

近年、培養細胞は研究に必須のツールとして広く利用されており、研究に用いる培養細胞の品質管理は非常に重要であり、研究によって得られた成果に非常に大きく寄与する。しかし研究者が研究に用いる培養細胞の品質に無関心であるのが現状であり、マイコプラズマ汚染ならびにクロスコンタミネーションなどが起こった細胞を用いて研究成果を論文発表している。この非常に

深刻な問題を克服するべく、医薬基盤研究所・細胞資源研究室では高品質な細胞細胞資源を長期安定保存することを目的としている。また、染色体解析、CGHアレイによる染色体プロファイルならびに遺伝子発現解析による遺伝子発現プロファイルのデータベース化により、研究者が培養細胞を用いた研究を行う際の補助情報の拡充を目的とする。



## 研究方法

### <マイコプラズマ検査>

#### 指標細胞を用いた蛍光染色法

指標細胞として Vero 細胞を用い、検査する細胞の培養上清を指標細胞培養液に添加し、一定期間後 Hoechst33258 により核酸蛍光染色を行い、マイコプラズマ由来の核酸成分の染色像を検出する。

#### 指標細胞を用いた Nested-PCR 法

指標細胞として Vero 細胞を用い、検査する細胞の培養上清を指標細胞培養液に添加し、一定期間後 Nested-PCR により、マイコプラズマ特有の DNA 断片の増幅を行い、電気泳動によりマイコプラズマ特有 DNA 断片を検出する。

#### マイコアラート

検査する細胞の培養上清を用いて、マイコプラズマに特徴的な酵素活性を化学発光試薬により、高感度・簡便に検出する。

### <STR-PCRによる細胞個別識別検査>

Short Tandem Repeat (STR) の多型に注目したヒトの個別識別技術であり、多型が顕著に見られる 9 ローカスを選びその領域を増幅する PCR プライマを利用して該当する領域を増幅する。プライマーセットが 2 つに分類されており、各セットは分子長が重ならないようにデザインされているが、さらに各セットを異なる蛍光色によってラベルしているため混合してシーケンサーにかけることが出来ます。その結果、9 種のプライマーによって増幅したサンプルを 2 回の実験で分析することが可能。実際にはプロメガ社が販売する PowerPlex 1.2 System を使用した。

### <染色体解析>

新規に寄託された細胞を対象として細胞の染色体解析を実施した。染色体標本作製には HANABI (染色体標本作成機) を用いて行い、作製した染色体標本を蛍光染色して解析を行った。

### <CGH アレイ>

培養した細胞よりアマシャム社製 DNA 抽出キットを用いて DNA 抽出し、抽出した DNA の濃度ならびに断片化の有無を確認した。濃度ならびに断片化が無い DNA サンプルを用いて、Macrogen 社製の BAC Clone CGH アレイ (4000 スポット) により染色体プロファイルの解析を行った。

### <遺伝子発現解析>

#### 細胞

HepG2 は American Type Culture Collection (ATCC) (Catalog No. HB-8065) より購入し、購入直後に細胞を増殖させ、5% (v/v) DMSO 添加培地を用いてストックを調製し、試験に用いた。通常の継代培養は 2 週間に 1 度行い、週に 2 度培地交換を行った。継代には 0.25% (w/v) Trypsin-0.03% (w/v) EDTA を用いて行った。試験に用いる細胞はストックより調製し、2~4 継代目の細胞を用い、継代後 2 日目の接着した細胞を研究に用いた。被験物質処理は、6 well plate (IWAKI コラーゲンタイプ I コート Cat. No. 4810-010、1 well 当り約 9.4 cm<sup>2</sup>) を用いて行った。

使用培地 : Dulbecco's Modified Eagle Medium (基本培地) に、以下の濃度となるように Co-factor を添加して調製し、

使用に際しては0.22  $\mu\text{m}$ のフィルターを用い、滅菌ろ過を行った。

培養液は調製後1ヶ月以内に使用した。LI90(資源番号 JCRB0160)は(財)ヒューマンサイエンス振興財団研究資源バンクより分譲を受け、分譲直後に細胞を増殖させ、5%(v/v)DMSO 添加培地を用いてストックを調製し、試験に用いた。継代培養は2週間に1度行い、週に2度培地交換を行った。継代には0.25%(w/v)Trypsin-0.03%(w/v)EDTAを用いて行った。試験に用いる細胞はストックより調製し、2~4

継代目の細胞を用い、継代後2日目の接着した細胞を研究に用いた。被験物質処理は、6 well plate (IWAKI コラーゲンタイプIコート Cat. No. 4810-010、1 well 当り約9.4  $\text{cm}^2$ )を用いて行った。

使用培地 : Dulbecco's Modified Eagle Medium (基本培地)に、以下の濃度となるように Co-factor を添加して調製し、使用に際しては0.22  $\mu\text{m}$ のフィルターを用い、滅菌ろ過を行った。

培養液は調製後1ヶ月以内に使用した。

#### RNA 抽出

細胞を一度 PBS(-)にて洗浄した後、6 well plate の3 well (細胞数  $1.5 \times 10^6 \sim 6.0 \times 10^6$  cells) に対して1 mL の TRIzol 試薬 (Invitrogen Cat. No. 15596-026) を添加し、セルスクレーパーを用いて細胞をプレートより完全に剥離し、ピペッティングを行って均一な溶液とした。得られた細胞溶解液を液体窒素を用いて急速に冷凍し、RNA 抽出作業に入るまで $-80^\circ\text{C}$ で保存した。RNA 抽出は保存しておいたサンプルを解凍し、クロロホルムを200  $\mu\text{L}$  添加して15秒

間激しく攪拌後、室温にて3分間静置した。静置後12000 x g, 15 min,  $4^\circ\text{C}$ にて遠心を行い、上層(水層)を別の容器に移した。分取した上層に2-propanol を500  $\mu\text{L}$  添加し、均一な溶液になるまでゆっくりと転倒混和し、室温で10分間静置した。12000 x g, 10 min,  $4^\circ\text{C}$ にて遠心を行い、上清をすべて除いた。沈殿物を1 mL の75% EtOH で洗浄し、最終的に20  $\mu\text{L}$  の RNase-free  $\text{H}_2\text{O}$  に溶解した。

#### GeneChip による遺伝子発現解析

GeneChip による遺伝子発現解析には、各被験物質処理を行った細胞より調製した totalRNA 5  $\mu\text{g}$  を使用した。

使用した RNA の濃度測定には NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies 社製)を用いてサンプル1  $\mu\text{L}$  を用いて測定した。

純度・品質の検定には Agilent 2100 バイオアナライザシステム (Agilent 社製)を用い RNA の断片化が起こっていないことを確認した上で研究に使用した。

GeneChip 測定に用いるサンプルの調製は Affymetrix 社のマニュアルに基づいて行い、作成したサンプルを用いて GeneChip HG-U133A Array を用いてハイブリ、ウォッシュ、測定を行った。

## 結果および考察

### マイコプラズマ汚染検査

国内培養細胞資源のマイコプラズマ汚染現状は深刻であり、これまでに20%程度がマイコプラズマ汚染していることを突き止めている。細胞樹立にかかわる細胞培養の専門家においてもこのようなマイコプラズマ汚染の現状から推察するに、大学等その他の研究機関で保存維持している細胞に

関してはもっと高い汚染率ではないかと容易に推察できる。マイコプラズマは DNA をゲノムとして持っており、今日の生命科学においてこれらの微生物の影響が研究の信頼性に深刻な問題の影を落としているのは事実である。この問題においては当細胞バンクも長年にわたって注意喚起しているが、その点に関心を抱いている研究者が残念ながら少ないのが現状である。学会ならびに雑誌等にその重要性を普及してきたが、汚染の現状に変化が見られないのが現状である。本年度のマイコプラズマ汚染検査数は 190 検体を実施し、52 細胞株を調べたところ、そのうち 9 細胞株にマイコプラズマを検出した。この数値は 17.3%であり、依然として非常に高い数値となっている。また、よりマイコプラズマ汚染の簡便検出を可能とするため、Cambrex 社が開発したマイコアラートというキットを用いた検出方法を施行したところ解析に 20 分程度（現状 2 週間程度かかる試験に対して）かつ非常に高感度に検出できることがわかり、来年度本格的にバリデーションスタディを実施する予定である。本方法を用いることにより、細胞バンクに寄託された細胞の培養初期に汚染の有無を判定でき、他の細胞への感染の拡大を防ぎ、その後の培養計画変更をスムーズにする非常に有用な方法であると考えられる。マイコアラートはマイコプラズマ特有の酵素の活性を利用して、培養中の培地中にある酵素活性を化学発光の技術を応用した方法で高感度に検出する。検出できるマイコプラズマの種類は非常に多く、現状の方法よりも多くの種類のマイコプラズマ汚染を検出できる。今後本検出法の有用性が評価され、研究者に

広く普及することによって汚染の無い培養資源を使用した信頼性のある研究が行われることに期待するものである。

#### クロスコンタミネーションの有無に関する継続的調査

これまでに実施してきた細胞バンク事業の結果、細胞の品質管理における重要な課題は『微生物による培養細胞の汚染』と『培養細胞相互のクロスコンタミネーション』の 2 点に絞られてきた。『動物種間の間違え』に関しては染色体の形状比較やアイソザイム分析などによって比較的容易に確認でき、今までに動物種が異なるような誤謬が起こることは非常にまれであった。本年度の実績ではアイソザイム解析件数（52 中 1 細胞において動物種の違いが認められた）この結果に関しては、該当動物種が推定できておらず、詳細な解析が必要である。今後ミトコンドリア DNA の配列解析によって動物種の同定を行う予定である。

一方、クロスコンタミネーション（同種細胞間で発生する誤謬）、特にヒト由来細胞についての誤謬に関する確認は、犯罪捜査に用いられる DNA 鑑定と同じ方法を用いて注意深く確認を行っている。これまでの当バンクでの解析結果より 6%程度の細胞にクロスコンタミネーションが見つかるということが明らかになっており、大学その他の研究機関で実際に研究に用いている細胞に関してはそれ以上のクロスコンタミネーションが起こっているであろうと示唆された。現在の解析手法は STR-PCR 法でありヒトの染色体の微小特定領域に見られる 2-4 塩基対の繰返し配列の繰返し回数を解析することにより、一人一人の個人を

特定する手法である。さらに、このような遺伝子座は多数あり、それぞれの繰返し回数を総合して記録すれば、地球上のすべての人を区別することも可能となるであろうことが示されて現在に至っている。

我々は、1999年からこの方法を採用して細胞バンクに寄託された細胞のクロスコンタミネーションに関する検討を開始した。年間およそ100種類程度を目処に解析を進め、昨年度にほぼ全てのヒト細胞の解析を完了するとともに、新規に寄託された細胞の解析を行い、データベースを更新してきた。

分析をするにあたって我々は次のような点に留意した。STR分析の方法は確立された実験系であり、現在では安定した結果が得られるが、それが確かであることも確認の対象である。また、クロスコンタミネーションが発生する可能性は色々な場所にあるため、一つの細胞を1回培養した際にクロスコンタミネーションが発生していないという結果が得られたとしても、それは全ての培養についての保障にはならない。結果として、培養ごとに確認しない限り、クロスコンタミネーションが発生していないという保障を得ることは出来ない。こうした考えに基づき、我々は同じ細胞であっても培養のたびにSRT分析を実施し、その結果をデータベースに記録した。これにより、細胞のクロスコンタミネーションの有無に関する確実なデータを蓄積できるようになったことに加えて、STR分析法は極めて安定な結果を得ることが可能で、クロスコンタミネーションの識別には極めて有効であることも明らかになった。

本年度の実績ではヒト由来新規登録細胞

28種に関しては3種の細胞にクロスコンタミネーションを検出した。検出した細胞名はHSG（日本人由来ヒト口腔がん由来細胞）、HSY（日本人由来ヒト口腔がん由来細胞）ならびにHEp-2C（喉頭扁平上皮癌由来細胞）である。HSG、HSYを使用した研究の2005年度発表論文数は10以上にものぼり、この細胞が広く研究者に普及されていることがわかる。我々は樹立当時の関係者から入手した、樹立時に非常に近い細胞の解析を行っており、その細胞がHeLa細胞に置き換わっているという事実から考えると、これまでに報告された論文の是非にもかかわる重要な問題となる。今後HeLa細胞を用いた研究の再現性試験に興味をもたれるところである。また、医薬品の添付文書中にも本細胞を用いた薬理効果に関する情報が記載されており、日本人由来ヒト口腔がん細胞を用いた薬理効果という記載に関して厚生労働省に注意喚起を促した。HEp-2C細胞は国立感染症研究所が保存する細胞であり、米国FDAよりワクチン検定用に頒布された細胞であるが、これに関してもHeLa細胞であるという解析結果が得られている。すでに米国でも同様の報告があるが、継続してワクチン検定に用いている。これに関しては表記をただし、HeLa細胞を用いた再現性試験等が行われ、細胞の機能・性質・性状に関する興味深い知見が得られることを期待するものである。

#### 染色体解析

新たな品質管理法の開発として、培養細胞の染色体解析に着手した。近年再生医療に向けた細胞治療の研究は非常に多い。細胞治療の方法としては、自分の細胞を生体