

る。

1998年には、オーストラリア、クイーンズランド大学の Philippa J.R. Uwins 博士らが砂岩中にやはり大きさ 20~150 nm の自己増殖粒子を電顕により検出し、“nanobes”と名付けている。これも生物か無生物かで論争の的になっているが、21世紀を迎えた現在においてすら、その決着がついていない。

これこそ本当のナノサイズの細菌とされるのが、大きさ約 400 nm の古細菌 *Nanoarchaeum equitans* で、同じ古細菌の *Ignicoccus* sp. と共生関係にあるという。ドイツ、レーゲンスパーク大学の微生物学者 Karl O. Stetter 教授が温泉から発見し、2002年に発表した極限環境微生物 (extremophiles) で、マイコプラズマよりもさらに小さなゲノムサイズ (約 500 Mb) だという。古細菌というのは、病原微生物ばかり扱ってきた私には皆目見当もつかないものだが、地球の原始状態の環境で生育できるような性状を備えていて、中にはオートクレーブ処理でも死滅しないものがあるようなので、通常の細菌とは別の生き物と考えた方が良さそうである。そんな微生物が万一病原性を獲得したらと、ひそかに不安を禁じ得ない。そして、Kasumi-6 細胞系由来の微粒子も古細菌の仲間なのではないかという思いが脳裏をよぎった。

## E. 結論

ヒトの急性骨髄性白血病細胞由来の

Kasumi-6 細胞系にみられた自己増殖性微粒子は、① 厚い殻に覆われた球形もしくは卵形を呈する、② ヒドロキシアパタイトを成分とする、③ 培地成分である牛血清中のフェチュインを吸着する、ブラウン運動のような動きを示す、などの性質を備えていた。形態ならびに化学組成からは「ナノバクテリア」と呼ばれるものに類似していた。液体培地中での増殖の機序ならびに培養細胞に対する細胞毒性の有無については今後の研究課題として残された。

## F. 研究発表

### (1) 論文発表

① Harasawa, R., Mizusawa, H., Fujii, M., Yamamoto, J., Mukai, H., Uemori, T., Asada, K., and Kato, I. (2005) Rapid detection and differentiation of the major mycoplasma contaminants in cell cultures using real-time PCR with SYBR Green I and melting curve analysis. *Microbiol. Immunol.* 49: 859-863.

② 原澤 亮 (2005) 動物ウイルスの新しい分類 [2005]. *獣医畜産新報* 58: 921-931.

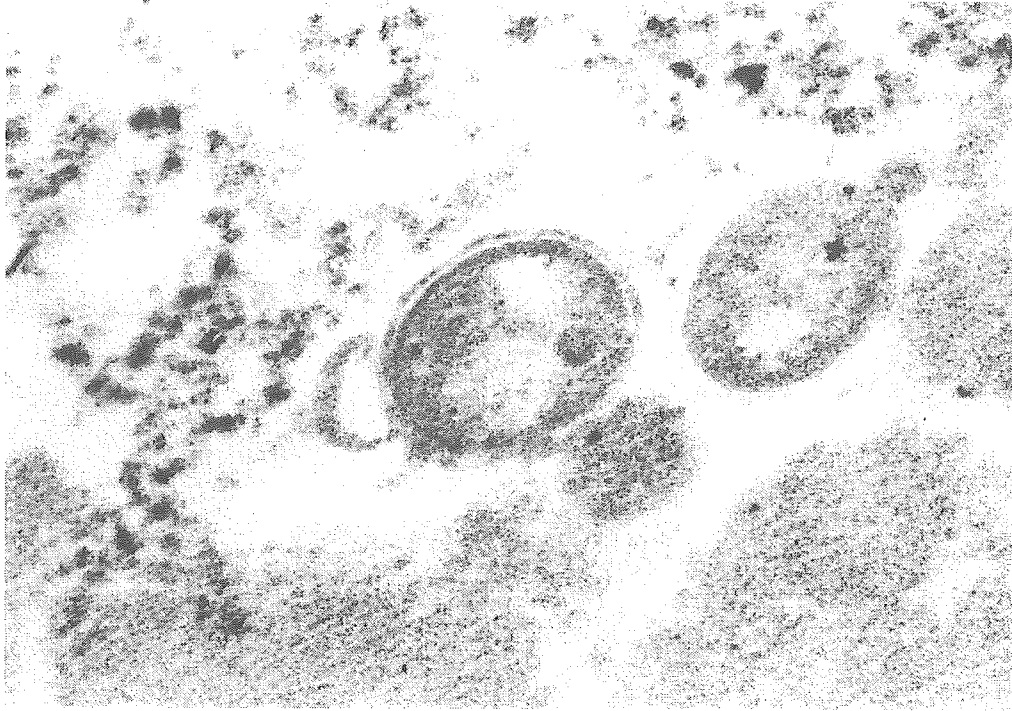
### (2) 学会発表

① Harasawa, R., and Giangaspero, M. (2005) Genotypic characteristics of Border disease virus strains based on palindromic nucleotide substitutions. 13<sup>th</sup> International Congress of Virology,

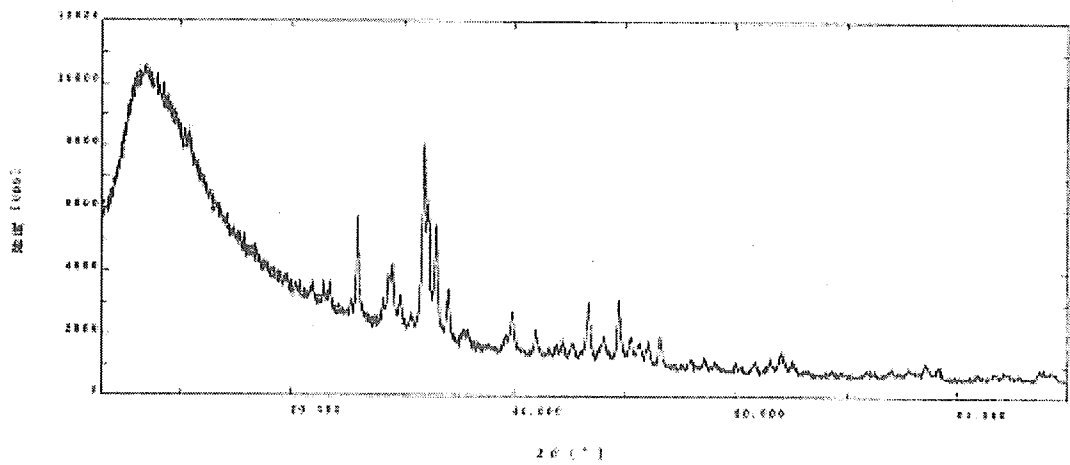
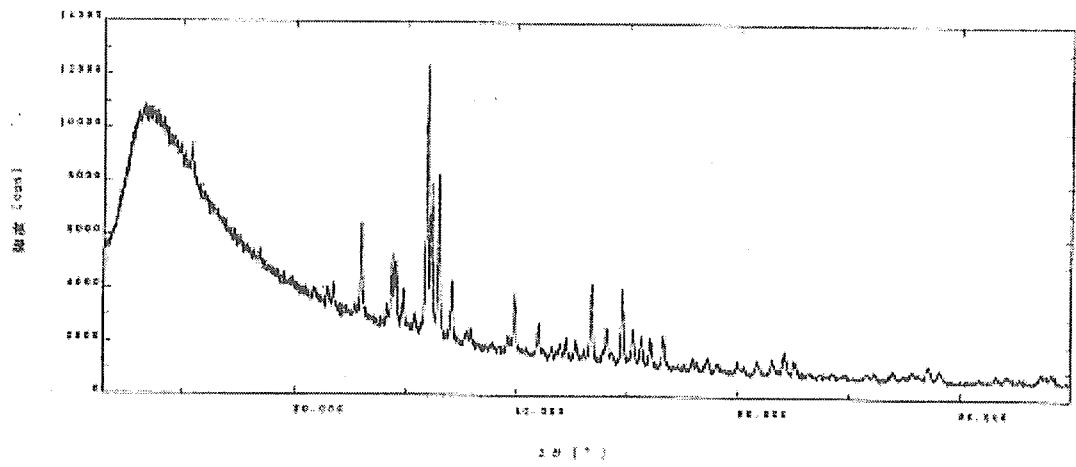
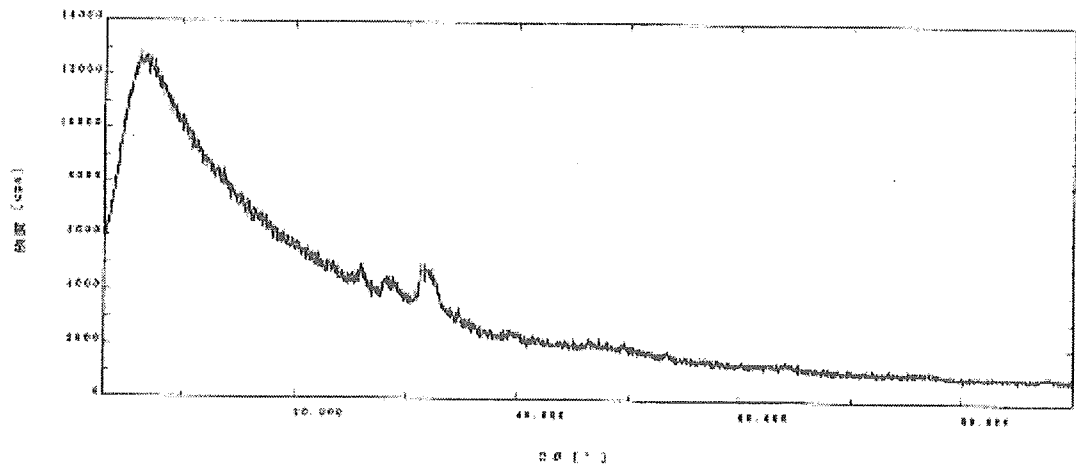
San Francisco.

G. 知的所有権の取得状況

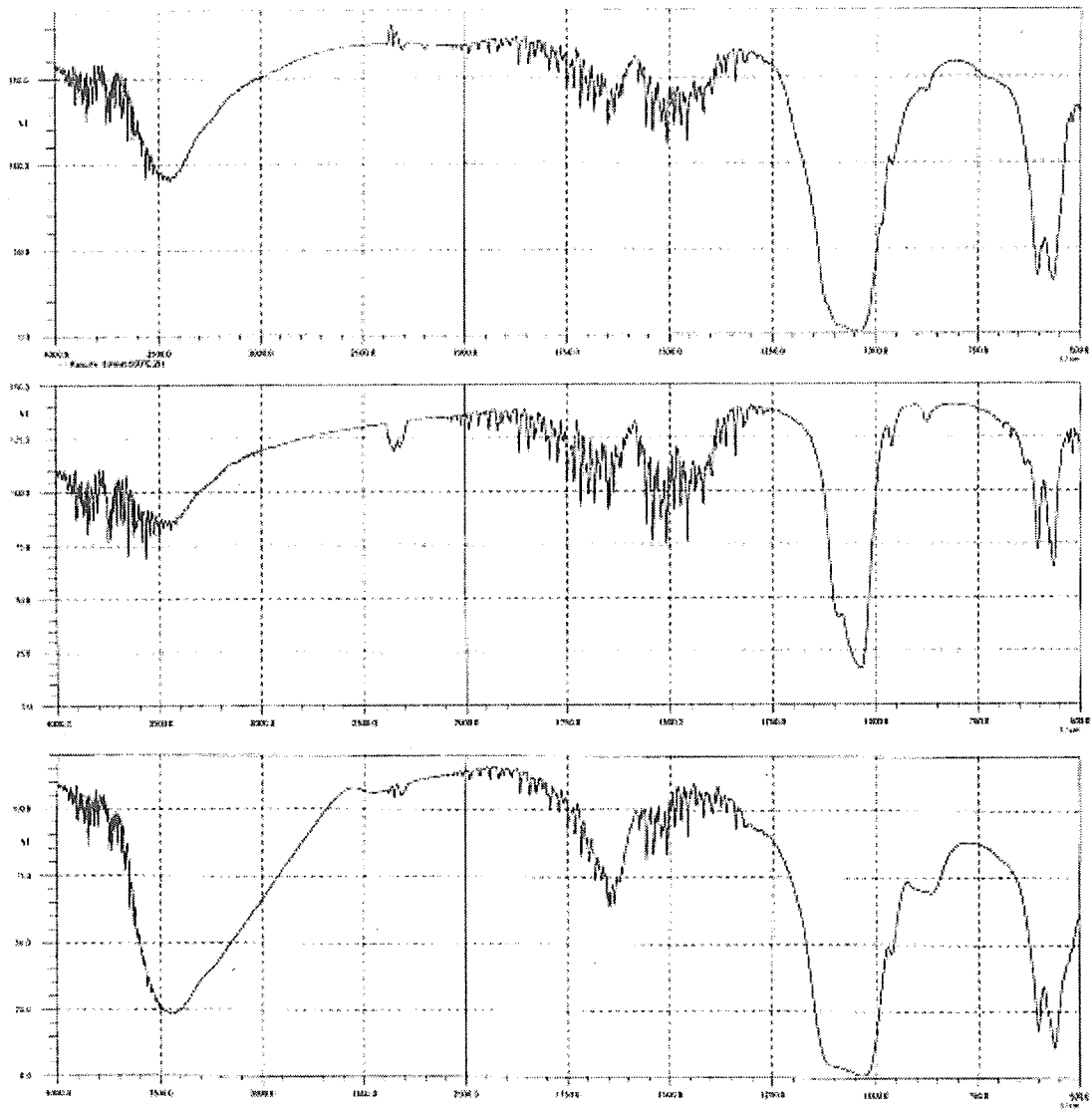
該当なし。



(図 1) Kasumi-6 由来の微粒子の超薄切片電子顕微鏡写真。(5万倍)



(図2) X線回折パターン。上から Kasumi-6 由来微粒子, ヒドロキシアパタイト, リン酸カルシウムの順。



(図3) フーリエ変換赤外分光分析パターン。上から Kasumi-6 由来微粒子, ヒドロキシアパタイト, リン酸カルシウムの順。

遺伝性疾患日本人患者細胞の研究資源化と分譲に関する研究

分担研究者 立花 章 京都大学放射線生物研究センター 助教授

研究要旨

hTERT 遺伝子導入により、ヒト遺伝病患者由来初代培養線維芽細胞から不死化細胞株を樹立し、その細胞特性の検討を行った。常染色体劣性の遺伝様式を示す高発癌性遺伝病であるファンconi貧血症 (FA) 患者由来細胞 FA9JT0 (JCRB0314) に hTERT 遺伝子を導入し、不死化細胞を得た。この細胞では、染色体不安定性や DNA 架橋剤に対する感受性などの細胞特性が完全に保持されていた。hTERT 導入は、細胞特性を殆ど保持したまま細胞を不死化させるので、研究資源として極めて利用価値が高く、細胞供給の面からも非常に有用である。また、日本人 FA 患者細胞の遺伝子解析を行ない、日本人に特徴的な遺伝的特性を見出した。日本人患者細胞の収集は、我が国における各種疾患の特性解析に必須であり、細胞バンクの意義の重要性を示している。

平成15年度の概要

常染色体劣性高発癌性遺伝病である毛細血管拡張性運動失調症 (アタキシア・テランジェクタシア) 患者由来細胞に hTERT 遺伝子を導入し、培養を続けて population doubling level (PDL) が 50 を過ぎても増殖し続ける不死化細胞 AT1KY/TERT、AT2KY/TERT、AT4KY/TERT、AT5KY/TERT、AT6KY/TERT、AT10S/TERT を得ることに成功した。これら hTERT 遺伝子導入による不死化細胞は元の初代線維芽細胞株と同様の高い電離放射線感受性を示し、しかも染色体数の変動が非常に少なく、極めて正常に近い性質をもつと考えられた。

平成16年度の概要

常染色体劣性高発癌性遺伝病である色素性乾皮症及びコケイン症候群患者由来細胞に hTERT 遺伝子を導入し、それぞれ XP350S TERT、CS20S TERT という不死化細胞を得た。これらの細胞株では、紫外線感受性や染色体数などの細胞特性は、初代培養細胞と同様の性質を示した。さらに、常染色体優性高発癌性遺伝病である網膜芽細胞腫患者由来細胞にも hTERT を導入し、RB24KY TERT 細胞を得た。

A. 研究目的

ヒトゲノムの全塩基配列が決定され、21世紀における重要課題はヒト遺伝子の多様性とその機能の解明であると言われている。ヒト遺

伝病の細胞はポスト・ゲノム研究戦略の重要な研究資源となる。ヒトの遺伝子の構造と機能は長い進化の上に成り立っているものであり、その遺伝的多様性と機能のダイナミズムは生物

種固有であるのみならず、人種固有のものがある。従って、我が国におけるポスト・ゲノム研究戦略には日本人に基づく研究資源が要求される。本研究の目的は、日本人遺伝病患者細胞の遺伝的特性を明らかにし、新しいゲノム科学のニーズに応える研究資源として保存し、研究支援を行うことにある。特に、今後ヒト遺伝病細胞に対する研究者の要望はなお一層増加することが想定されるため、取扱が容易な不死化細胞株を樹立することにより、ゲノム研究の推進を支援することは極めて重要である。従来登録していた初代線維芽細胞株は増殖速度が遅いため培養が難しく、しかも継代数を重ねると細胞が増殖を停止する等、供給と利用の両面で困難があった。これらの点を克服するため、hTERT 遺伝子を導入することにより不死化した細胞株を樹立することを試み、さらにその細胞特性の解析を行っている。これまでの研究結果によれば、hTERT 遺伝子導入による不死化では、染色体が安定に保たれ、しかも元の細胞の性質が非常に良く保持されていた。今年度はファンコニ貧血症患者由来細胞に hTERT 遺伝子を導入して得られた不死化細胞について、染色体異常を指標として細胞特性の詳細な解析を行なうとともに、ファンコニ原因遺伝子での突然変異を調べて、日本人集団における本疾患の遺伝的特徴の検討を行なった。

## B. 研究方法

hTERT 遺伝子を持つレトロウイルスベクターを、各種疾患患者由来初代培養線維芽細胞に導入することにより、細胞の不死化を行った。これは、広島大学の井出利憲教授、田原栄俊助教授との共同研究である。hTERT 導入後培養を続け、population doubling level (PDL) が 50 を過ぎても増殖しつづける細胞を得た。これをもって不死化したものと判断した。初代培養細胞では PDL が 30-40 になると成長が著しく遅くなり、増殖が停止する。

増殖期の細胞に種々の濃度のマイトマイシン C を加えて培養後、G-バンド法により、核型分析を行った。

ファンコニ原因遺伝子群の解析は、RT-PCR 法により各遺伝子の cDNA を増幅し、直接塩基配列を決定して、突然変異を検索した。

### (倫理面への配慮)

最近の患者については、診断とは別に細胞培養による疾患の解明と治療法の開発という合意事項で、細胞をヒトゲノム研究に使用することと細胞バンクへの提供についての同意を得ている。三省共同の告示「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を受けて、京都大学においても「京都大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究管理規定」を策定した。本研究は、これら倫理指針および管理規定に従い行っている。

## C. 研究結果

(1) hTERT 導入ファンコニ細胞での染色体異常  
ファンコニ貧血症 (FA) は常染色体劣性様式の高発癌性遺伝病で、マイトマイシン C (MMC) 等の DNA 架橋剤に対して高感受性を示す疾患である。現在少なくとも 12 の遺伝的相補性群 (A, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, M) が知られており、I 群を除く 11 の相補性群の原因遺伝子がクローニングされている。既に JCRB バンクに登録している初代線維芽細胞 FA9JTO (JCRB0314) 細胞に hTERT 遺伝子を導入して、不死化したと考えられる細胞株 FA9JTO TERT を得た。

FA9JTO TERT は、MMC による細胞致死について、親株の FA9JTO と同程度に感受性であった。そこで、さらに染色体異常についても検討した。FA9JTO TERT 細胞を MMC (20 ng/ml) 処理した場合、細胞当たりの染色体異常の数は 2.71 であり、未処理の時の染色体異常頻度 0.67 よりも有意に高かった。不死化していない初代培養細胞である FA9JTO では、未処理時の染色体異常頻度が 0.99、MMC 処理時には 3.35 であった。一方、正常細胞では hTERT 導入の有無に関係なく、MMC 未処理では約 0.10、MMC 処理時には約 0.20 の染色体異常頻度であった。このことから、hTERT を導入して不死化した細胞であっても、MMC による染色体異常頻度の上昇という FA の

特徴は保持されていることが明らかになった。

(2) 日本人集団における FA 遺伝子の突然変異  
上述のように FA には 11 個の遺伝子がこれまでに知られている。日本人患者での遺伝的な特性を知るために、当センターで保存しており、寄託準備中の日本人 FA 患者 40 名由来の細胞を用いて、変異を生じている遺伝子の解析を行なった。その結果、A 群遺伝子に変異があった患者は 20 名 (50%)、G 群遺伝子に変異があったのは 12 名 (30%)、D1 群遺伝子に変異があったものが 1 名であった。特に G 群遺伝子では IVS3+1G>C が高頻度に見られ、いわゆる「創始者効果」によるものと考えられた。前項で述べた FA9JT0 も、この変異をホモに持つ G 群患者であった。この変異は日本人と韓国人以外には見つかっておらず、極めて特異な変異である。

これまでに 8 個の FA 遺伝子について解析を行ない、33 名 (82.5%) の患者に変異を見出した。しかし、7 名では変異が未だ見つかっておらず、現在残りの 3 個の遺伝子について検討中である。

### (3) 細胞のデータベース化

バンクへの細胞の寄託には、保存細胞の確認が必要であるが、当センターでは非常に長期にわたって保存しているため、細胞保存ノートと実際との間に大きな乖離が見られる。この問題の解決のため、数年前から細胞保存ノートを元に細胞と保存場所のデータベース化に取り組んできた。今年度、ようやく一通りの入力を終えた。現在保存場所の実態とデータベースとの間の照合作業に取り掛かっているところである。

## D. 考察

hTERT 導入によって不死化した JCRB0314 細胞 (FA9JT0) を用いて、MMC 処理による染色体異常誘発への hTERT 導入の影響を検討したが、hTERT 導入細胞は初代培養細胞と同じ程度の染色体異常を生じ、hTERT による不死化は FA 細胞の持つ MMC 感受性に影響を及ぼさないことを明確にした。細胞の基本的な性質を変更すること

なく不死化できることは研究上非常に有用であり、しかも初代培養細胞のように細胞寿命にさほど神経質になる必要がないことは、細胞の供給にとっても非常に意義は大きい。

当センターにおいて保存している細胞のうち、比較的多数の細胞があるが遺伝的特性が余り明らかでなかった FA 患者について、遺伝子解析を行なった結果、日本人患者に幾つかの特徴が見られることが明らかになった。日本での疾患特性を明らかにするためには、やはり日本人集団を用いた解析が必要であることを示している。今回の結果は、これらの細胞を供給する際には、非常に重要な付随情報であると考えられる。特に FA 遺伝子産物は、その機能が殆ど分かっていないため、そのような研究の進展にも重要な寄与をするものである。さらに、原因遺伝子が不明の患者細胞もあることから、それらには新しい遺伝子が含まれる可能性も考えられる。バンクとして、これらの細胞を広く研究者に供給すれば、新たな研究の展開に大きく貢献することが期待される。

## E. 結論

ヒト高発癌性遺伝病であるファンconi貧血症患者由来初代線維芽細胞に hTERT 遺伝子を導入して、不死化細胞株を樹立し、その細胞特性を明らかにした。染色体不安定性や DNA 架橋剤に対する感受性などは初代培養細胞と何ら変わりがなく、hTERT による不死化の有用性が確認された。今回樹立された不死化細胞株は、ヒトゲノム研究に貴重な材料であり、その進展に大きく寄与するものと考えられる。さらに、DNA の複製や修復の研究及び細胞周期研究、ひいては癌研究にも大きな貢献をすることが期待される。

ヒトの遺伝病細胞は研究資源として極めて重要な位置を占める。わが国におけるポストゲノム研究を推進する上で、多くの研究者にとって利用しやすい形の細胞を樹立し、供給することは極めて重要な意義がある。今回、当センターの細胞のデータベース化をひとまず完了したことにより、バンクへの寄託がスムーズに進



むことが期待される。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Tachibana, A. (2005) Mutation Analyses of the Genes Responsible for Fanconi Anemia in Japanese Patients. *in* "Molecular Mechanisms of Fanconi Anemia" (eds. S. I. Ahmad & S. H. Kirk) (Landes Bioscience, 2005), 103-114.
2. Nakamura, H., Fukami, H., Hayashi, Y., Tachibana, A., Nakatsugawa, S., Hamaguchi, M., Ishizaki, K. (2005) Cytotoxic and mutagenic effects of chronic low-dose-rate irradiation on TERT-immortalized human cells. *Radiat. Res.*, 163 (3), 283-288
3. Chang, P.-W., Zhang, Q.-M., Takatori, K., Tachibana, A., Yonei, S. (2005) Increased sensitivity to sparsely ionizing radiation due to excessive base excision in clustered DNA damage sites in *Escherichia coli*. *Int. J. Radiat. Biol.*, 81 (2), 115-123.

### 2. 学会発表

1. 立花 章、谷崎美智、中村久美、佐々木正夫：マウス放射線誘発6チオグアニン抵抗性突然変異体でのHprt遺伝子の遺伝子発現。第48回日本放射線影響学会大会、2005年11月、広島市。
2. 米井脩治、高取和弘、金 貴花、立花 章、高尾雅、安井 明、張 秋梅：DNAグリコシラーゼの高発現に伴うHeLa細胞のガンマ線感受性の増大。第48回日本放射線影響学会大会、2005年11月、広島市。
3. 石崎寛治、安井善宏、中村英亮、立花 章、平野牧人、上野 聡：EAOH細胞におけるDNA単鎖切断の修復と低線量率放射線感受性。第48回日本放射線影響学会大会、2005年11月、広島市。
4. 内海博司、高橋昭久、立花 章：線量率効果とNHEJ経路との関係。第48回日本放射線影響学会大会、2005年11月、広島市。
5. 立花 章、佐々木正夫：日本人ファンconi貧血症患者に見られるファンconi原因遺伝子の突然変異。第64回日本癌学会学術総会、2005年9月、

札幌市。

6. 石崎寛治、中村英亮、斎藤典子、安井善宏、立花章、小松賢志：AT細胞のDNA修復欠損と低線量率放射線感受性。第64回日本癌学会学術総会、2005年9月、札幌市。
7. 安井善宏、中村英亮、斎藤典子、立花 章、石崎寛治：低線量率放射線によるDNA損傷とその修復。第64回日本癌学会学術総会、2005年9月、札幌市。
8. 立花 章、中村久美、佐々木正夫：マウスHprt遺伝子座での放射線誘発突然変異体に見られる遺伝子発現抑制の例。ワークショップ「DNA Repair, Recombination and Mutagenesis 2005」、2005年1月、京都市。

## H. 知的所有権の取得状況

なし

研究課題名：生命科学研究資源基盤としての培養細胞株の収集・保存・供給システムの整備に関する研究（H17-ゲノム-002）

分担研究項目：正常2倍体ヒト線維芽細胞の研究資源化と分譲に関する研究

分担研究者：木村成道（財）東京都高齢者研究・福祉振興財団 東京都老人総合研究所 名誉所員

平成15-16年度研究の概要：ヒト正常二倍体細胞の新規樹立・維持・供給を主な目的として活動した。2年間に、胎児、幼児、青年由来皮膚線維芽細胞株5種と胎児肺線維芽細胞の1種を樹立・登録した。供給用正常細胞株6種190アンプル、がん細胞株1種3アンプルをHS財団細胞バンクへ送付した。バックアップ用正常細胞株4種およびがん細胞株1種合計15アンプルをマスターバンクへ送付した。細胞バンクの要請により、登録済細胞の7凍結アンプルを利用者に直接送付した。

研究要旨：今年度は、これまで東京都老人総合研究所で行ってきたヒト正常2倍体細胞の樹立、保存、供給活動の継続が人的要因などにより困難になったため、当機関が維持してきた総ての細胞株の独立行政法人 医薬基盤研究所生物資源研究部門細胞資源研究室（細胞バンク）への移管作業を行った。これにより、老人総合研究所開設以来30余年行ってきた細胞バンク関連の活動に終止符をうつこととなった。移管した細胞は、当機関における樹立細胞24細胞株、460アンプルならびに収集細胞6株、160アンプルであった。

#### A. 研究目的

老化研究および癌研究に資するため、供与者年齢の異なるヒト正常二倍体細胞の新規樹立・保存・供給を主な目的として活動する。今年度をもって当機関（東京都老人総合研究所）では研究資源関連の活動を完全に停止するので、保存してきた総ての細胞株の細胞バンクへの移管作業を行う。

#### B. 細胞の移管

東京都老人総合研究所でこれまでに樹立した24細胞株460アンプルと、収集した6細胞株、160アンプル、合計30細胞株、620アンプルを独立行政法人 医

薬基盤研究所 生物資源研究部門 細胞資源研究室（細胞バンク）に移管した。その内訳は以下の通りである。なお、各細胞種のPD、アンプル数等を別添リストに詳述した。

##### 1) 東京都老人総合研究所樹立細胞

- ・ヒト胎児肺線維芽細胞：4細胞株、172アンプル
- ・ヒト胎児皮膚線維芽細胞：1細胞株、10アンプル
- ・ヒト胎児筋肉由来線維芽細胞：1細胞株、9アンプル
- ・ヒト老人由来皮膚線維芽細胞：7細胞株、80アンプル

・ヒト成人由来皮膚線維芽細胞： 7  
細胞株、 86 アンプル

・ヒト幼児・学童由来皮膚線維芽細胞：  
4 細胞株、103 アンプル

## 2) 収集細胞

・ヒト胎児肺線維芽細胞： 3 細胞株、  
126 アンプル

・ヒト胎児肺線維芽細胞の不死化細胞：  
1 細胞株、7 アンプル

・ヒト骨芽細胞： 2 細胞株、27 ア  
ンプル

## C. 新規収集細胞

移管細胞中の収集細胞に含まれる新規  
収集細胞株（ヒト骨芽細胞）の性状を以  
下に記述する。

### 1) SaM-1（ヒト骨芽細胞）

由来動物、組織： ヒト、大腿骨骨膜

性： M

年齢： 20 歳

性状： 骨芽細胞様

分裂寿命： PD34

染色体： 2n=46、XY

マイコプラズマ： 未検査

細菌： 未検査

増殖培地：  $\alpha$ -MEM + 10% FBS

凍結保存培地：  $\alpha$ -MEM + 10% FBS  
+ 10% DMSO

参考文献： Koshihara, Y. et al. *In Vitro*  
*Cell. Develop. Biol.* 25, 37-43, 1989;  
Koshihara, Y. et al. *J. Gerontol.* 46,  
B201-206,1991; Koshihara, Y. et al. *J.*  
*Bone Miner. Res.* 12, 431-438, 1997

### 2) InM 1.2（ヒト骨芽細胞）

由来動物、組織： ヒト、大腿骨骨膜

性： M

年齢： 30 歳

性状： 骨芽細胞様

分裂寿命： 未確認 (>PD28)

染色体： 2n=46、XY

マイコプラズマ： 未検査

細菌： 未検査

増殖培地：  $\alpha$ -MEM + 10% FBS

凍結保存培地：  $\alpha$ -MEM + 10% FBS  
+ 10% DMSO

参考文献： Koshihara, Y. et al. *In Vitro*  
*Cell. Develop. Biol.* 25, 37-43, 1989;  
Koshihara, Y. et al. *J. Gerontol.* 46,  
B201-206,1991

## D. 考察と結論

老化と寿命の研究にヒト正常細胞が使用されるようになってから久しい。ヒト2倍体正常細胞は分裂寿命を持ち、かつ分裂寿命がつきる間に性格が変化する。このような性質に着目した研究の中から、CDK インヒビター（p21/Waf1/Cip1/Sdi1）やテロメア短縮と分裂寿命との関係が発見された。がん研究でも、正常細胞を用いてテロメラーゼを強制発現させ、さらに、がん抑制遺伝子抑制とがん遺伝子発現操作によってがん化を誘導する試験管内実験に成功している。これら最近の研究成果はヒト2倍体正常細胞の生物材料としての重要性を如実に示しており、その重要性は今後更に増加することが予想される。東京都老人総合研究所では30余年前の開設時からヒト正常2倍体細胞の樹立とその研究者への提供を重要課題の一つに位置づけ、これまでに線維芽細胞を中心に24株を樹立し、細胞バンクを通じて研究者への提供を行ってきた。これらの事業は、極めて先見性のある取り組みであったといえるだろう。

正常細胞の樹立、維持を行う作業には通常とは異なる使用上の注意が必要で、特に継続的なPDモニタリングと凍結細胞の取扱に気をつけることが大切である。細胞バンクの重要な役割の一つは、こう

した不便を解消し研究者が気軽に扱える正常細胞を提供することにある。当研究機関は細胞バンクに供給するにあたり、細胞の核型分析は勿論、供与者年齢を広くカバーするとともに夫々について分裂寿命と分裂回数を測定・明示する等、研究者の研究目的に応じた細胞の提供を心掛けてきたと自負している。

しかしながら、東京都老人総合研究所が行ってきたこれらの活動は今年度で終了することになった。その理由としては、研究者の高齢化に伴う人的要因等が挙げられる。その背景として、当研究機関の政策的シフト、すなわち、臨床医学的、社会科学的研究への更なる傾斜による基礎医学研究の軽視が底流にあったといえるだろう。

今回当研究機関における活動を終了するに当り、活動成果としての細胞ストックを独立行政法人 医薬基盤研究所生物資源研究部門細胞資源研究室（細胞バンク）に総て移管出来ることは、我々ばかりか、関連研究領域の研究者にとり幸いというべきであろう。当機関の活動が過去数年間にわたり厚生労働省科学研究費を通して細胞バンクの支援を受けてきた事実を考えれば、ヒト正常細胞の樹立、供給の事業は実質的に国の責任の下に実施されていたといえる。今回の細胞移管は、その意味からすると、自然の成り行きに従ったといえるだろう。今後、線維芽細胞以外の細胞種を増やすなど細胞バンクに期待されることは多々あると思うが、地道に研究者の要望に応える活動を継続・発展させることを期待したい。

#### E. 健康危険情報

なし。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 木村成道、島田信子：NDP キナーゼ、GTP/GDP、AlF<sub>4</sub><sup>-</sup> 生物薬科学実験講座、「情報伝達物質：[II]シグナル伝達系と細胞機能」(石橋、市川、堅田編)、pp308-322、廣川書店、2005

2) 秋山翹一、島田信子、木村成道、戸田年総：プロテオーム解析におけるリン酸化タンパク質の高感度分析法に関する基礎的検討とミエリン塩基性タンパク質への応用 生物物理化学 49 (3), 73-81, 2005

3) Kimura, N.: Introduction, MINIREVIEW SERIES ON NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE KINASE (NDPK/Nm23): GENES AND PROTEIN FUNCTIONS UNDER PHYSIOLOGICAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS, J. Bioenerg. Biomemb. 38 (2) 2006, in press

##### 2. 学会発表

1) Kimura, N., Ishijima, Y., Shimada, N., Ishikawa, N., Fukuda, F., Kimura, N., Ohsawa, T. and Akiyama, K.:

Involvement of NDPK/nm23 in Signal Transduction Systems and Its Possible Target Site. In the 6th International Congress on Genetics, Biochemistry and Physiology of NDP Kinase/NM23/AWD, October 17-19, 2005, Naples, Italy

2) Kimura, N.: Closing Remark. In the 6th International Congress on Genetics, Biochemistry and Physiology of NDP Kinase/NM23/AWD, October 17-19, 2005, Naples, Italy

(以下、近藤 昊分)

3) 岩下淑子、嶋田有紀子、林 昌美、近藤 昊、猪俣光司：老化ヒト繊維芽細胞の基質からの脱接着に伴う脂質ラフトの変動、日本基礎老化学会第28回大会、東京、2005.6.15-17

4) 仲村賢一、下村七生貴、石井章雄、

近藤 昊、神森 眞、田久保海誉：FISH  
法による TIG-1 細胞各染色体短腕、長腕  
のテロミア長短縮、日本基礎老化学会第  
28 回大会、東京、2005.6.15-17

5) 神森眞、仲村賢一、下村七生貴、石  
井章雄、倉林理恵、河原正樹、上西紀夫、

近藤昊、田久保海誉、細胞老化と  
Genomic Instability、第64回日本癌学会  
学術総会、札幌、2005.9.15

H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

移管全細胞株一覧 (1/6)

2005/11/28.29

細胞名	PD	アンプル数	備考(凍結法)	保管箱番号
TIG-1	5	16	D	1-1
	6	4	G	1-1
	9	7	G, D	1-1
	18	3	D	1-1
	20	4	G	1-1
	23	6	G	1-1
	24	2	G	1-1
	30	8	G	1-1
	35	5	G	1-2
	40	7	G	1-2
	合 計	62		
TIG-3	3	2	G	2
	5	12	G	2
	9	4	G	2
	21	7	G	2
	60	5	G	2
	29	34	D, TIG-3-30	3
	55	7	G	3
	合 計	71		
TIG-5	3	5	G	4
	5	7	G	4
	合 計	12		

G: glycerol, D: DMSO

移管全細胞株一覧 (2/6)

2005/11/28,29

細胞名	PD	アンプル数	備考(凍結法)	保管箱番号
TIG-7	3	1	G	4
	9	20	G, PD9.3	4
	19	4	G	4
	20	2	G	4
	合 計	27		
WI-38	30	15	G	5
	35	31	G	5
	44	15	G	6
	合 計	61		
IMR-90	30	5	D, IMR-90-30	6
	34	7	D	6
	合 計	12		
TIG-3 svts-8	- 177	7	G	6
	合 計	7		
MRC-5	25	15	D	7
	30	12	D	7
	42	15	G	7
	50	11	G	7
	合 計	53		
TIG-3S	19	8	D	8
	23	2	D	8
	合 計	10		

G: glycerol, D: DMSO

移管全細胞株一覧 (3/6)

2005/11/28,29

細胞名	PD	アンプル数	備考(凍結法)	保管箱番号
TIG-2M	31	1	G	8
	37	8	D, TIG-2M-30	8
	合 計	9		
TIG-101	20	2	D	9-1
	合 計	2		
TIG-102	15	4	D	9-1
	16	2	D	9-1
	21	1	D	9-1
	合 計	7		
TIG-103	7	2	D	9-1
	12	7	D	9-1
	18	2	D	9-1
	合 計	11		
TIG-104	9	6	D, HSF-4	9-1
	合 計	6		
TIG-105	7	5	D, HSF-5	9-2
	18	15	D	9-2
	合 計	20		
TIG-106	7	12	D	10
	13	1	D, PD13.3	10
	合 計	13		

G: glycerol, D: DMSO



移管全細胞株一覧 (4/6)

2005/11/28,29

細胞名	PD	アンプル数	備考(凍結法)	保管箱番号
TIG-107	7	8	D	10
	13.	13	D, PD13.3	10
	合 計	21		
TIG-108	9	2	D, PD9.3	10
	15	1	D	10
	19	2	D, PD19.4	10
	合 計	5		
TIG-109	9	2	D, PD9.3	11-1
	15	7	D	11-1
	17	1	D	11-1
	合 計	10		
TIG-110	7	2	D, PD7.3	11-1
	15	4	D	11-1
	合 計	6		
TIG-111	12	2	D	11-1
	14	3	D	11-1
	20	2	D	11-1
	30	1	D	11-1
	合 計	8		
TIG-112	9	2	D, PD9.3	11-2
	15	6	D	11-2
	16	35	G	11-2
	21	2	D	11-2
	32	1	D	11-2
	合 計	46		

G: glycerol, D: DMSO

移管全細胞株一覧 (5/6)

2005/11/28,29

細胞名	PD	アンプル数	備考(凍結法)	保管箱番号
TIG-113	13	2	D	11-3
	17	1	D	11-3
	27	2	D	11-3
	合 計	5		
TIG-114	17	6	D	11-3
	合 計	6		
TIG-118	9	1	D	12
	10	28	D	12
	16	9	D	12
	合 計	38		
TIG-119	13	12	D	13
	22	29	D	13
	合 計	41		
TIG-120	12	4	D	14
	16	5	D	14
	合 計	9		
TIG-121	8	3	D	14
	12	5	D	14
	18	7	D	14
	合 計	15		

G: glycerol, D: DMSO



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

組織臓器再生機能を保有する幹細胞の研究資源化に関する研究

分担研究者 安本 茂

神奈川県立がんセンター臨床研究所

研究要旨

本年度においては、主として昨年度までに樹立済みの細胞及び細胞株が再生医療、がん研究、創薬、薬効試験、毒性検査などの諸目的に有用な研究資源になるために必要となる基本的な細胞特性に関する知見を更に充実させるための研究を進めた。特に、昨年度にファイibroプラストの混入が疑われたすでに寄託済みの上皮系細胞株の基本特性は利用者にとってその細胞株の利用価値を推し量る最低限必要な情報となるため、寄託済みのもの及び近々寄託予定の内、比較的解析が進んでいる三種類の組織（ヒト子宮頸部、牛卵管上皮、ヒト羊膜）から樹立した不死化上皮細胞系の特性を理解する助けになると考えられる樹立者の使用例を示した。

過去の概要

過去数年にわたる本研究課題の目標であった正常又は正常に近いヒト上皮組織から細胞を分離し細胞株を作成する技術的側面はほぼ達成された。H15年度では、皮膚、食道、膵臓、肺、胎児性附属器（臍帯、羊膜）などのヒト上皮組織由来の幹細胞特性を示す複数の上皮細胞系を確立するなどの成果があった。H16年度においては、分離済の各種ヒト正常組織由来の不死化細胞系の内すでに登録済みの細胞株（NCE）の品質管理の過程でファイibroプラストの混入が指摘されたが寄託した子宮頸部由来の不死化細胞株は実際は混入ではなく上皮細胞の固有の細胞特性であることが明らかになってきた。

A. 研究目的

新たに樹立された細胞株は単に増殖維持できる細胞の提供に終わるだけでなく有効な研究資源として利用されてこそ意味を持つ。昨年度までに寄託済みのヒトケラチノサイト細胞株細胞株の品質管理上の問題として昨年細胞バンク側からファイibroプラストのコンタミネーションの指摘を受けた4系列

JCRB1093 PSVK1

JCRB1090 NCE16IIA

JCRB1091 NCE SVIIIA3

JCRB1092 NCESVIA6

と、

現在寄託を予定している牛卵管上皮細胞

株、羊膜上皮細胞株、の基本細胞特性を例示し、寄託細胞の研究資源としての可能性の一端について報告する。

材料と方法

1. 不死化細胞系は各々初代培養細胞にSV40-large T、HPV16及びこれらの腫瘍ウイルスとhTERTの組み合わせでトランスフェクションし安定な増殖期に入った細胞株として樹立されたものである。
2. 和牛(Bos Taurus)の卵管からDispaseによって内皮細胞(BOEC)を選択的に回収しMCDB153基本培地に上皮細胞用サプリメントを加え長期継代できる細胞系(約50pd1)を作製した。