

2005 00 228 A

厚生労働科学研究研究費補助金

萌芽的先端医療技術推進研究事業

ヒト末梢血中リンパ球を用いたトキシコゲノミクス基盤研究(H17-トキシコ-006)

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 藤村 昭夫

平成 18(2006)年 4 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

ヒト末梢血中リンパ球を用いたトキシコゲノミクス基盤研究	1
藤村昭夫	
別紙1 遺伝子解析研究倫理審査委員会設置規程	5
別紙2 遺伝子解析研究倫理審査提出研究計画書・患者説明文書・同意書	8
別紙3 遺伝子解析研究倫理審査提出研究計画書・患者説明文書・同意書	23
別紙4 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する取扱規程	37

### II. 分担研究報告

1. “マイクロアレー実施・データ解析・精度管理”に関する研究	54
大島 康雄	
別紙1 遺伝子解析研究倫理審査委員会設置規程	67
別紙2 遺伝子解析研究倫理審査提出研究計画書・患者説明文書・同意書	70
別紙3 遺伝子解析研究倫理審査提出研究計画書・患者説明文書・同意書	85
別紙4 ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する取扱規程	99
2. バイオインフォマティクス	116
篠原 歩	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	118
---------------------	-----

V. 研究成果の刊行物・別刷	添付
----------------	----

## 研究要旨

我々は萌芽的先端医療技術推進研究事業「トキシコゲノミクス」（平成 14—16 年度）において患者の手術検体から腎細胞を培養し、これをトキシコゲノミクス研究に用いる手法を確立した。新薬の臨床開発時に患者から検体を採取する場合、できる限り負担の少ない方法で臨床検体を採取する必要がある。そのような検体として、ヒト末梢血中有核細胞がまず考えられる。そこで本研究ではこれまでの研究成果を生かして、以下の項目を検討した。1) リンパ球を用いたトキシコゲノミクス研究の基盤整備—リンパ球の遺伝子発現に最も影響の少ない採血法および RNA 抽出方法を検討。2) 腎障害性薬物評価をリンパ球によって行う際に用いる新しい DNA チップの作成—リンパ球に腎障害性薬物を曝露させ、有意に変化する遺伝子を探索。3) 薬物性腎障害予測にリンパ球を用いることの妥当性の検討—ヒト腎細胞およびリンパ球における遺伝子発現変化の類似性を検討。結果として、1) 細胞処理の方法が異なると遺伝子発現に対して異なる影響が見られた。これらの所見を基に純化の方法を、研究上必要な感度・各テクニックのばらつき・処理時間など現実的に利用可能か否かを考慮して選択するべきと考えられた。2) 多数の薬物を均一な指標により曝露した上で、遺伝子発現研究を行うことが好ましいが、薬理作用や実際の臨床の場で利用される方法が異なる薬物をどのような側面から均一として、曝露するかについて検討した。臨床用量を基に曝露濃度を決定した。決定した曝露濃度に従い本年度は、添付文書上副作用として急性腎不全などの腎障害が記載されている薬物とそのような記載のない薬物を 80 種類ずつ選び出し、各 40 種類ずつ曝露・遺伝子発現実験を行った。残りの 40 種類ずつの薬物曝露・遺伝子発現研究を 2 年目に行ったのちに、データの評価を行う予定である。3) 日本人プライマリーヒト腎細胞と日本人 EBV 不死化リンパ球を用い、様々な薬物曝露後に遺伝子発現の変動を比較したところ、両組織における共通性はあってもごくわずかであった。両組織は基礎となる薬物曝露前の遺伝子発現も異なるため、発現変化の類似性も高くなかった。しかし、リンパ球への薬物曝露・遺伝子発現研究によって腎組織における薬物による臓器障害を予測できる可能性が否定されたわけではなく、今後さらに検討する必要がある。

### A. 研究目的

我々はマイクロアレーテクノロジーを毒性予測に応用する「トキシコゲノミクス」研究事業により、プライマリーヒト組織を用いた薬物による腎障害について研究を行ってきた。このトキシコゲノミクス研究は、将来、臨床開発時に、ヒトに薬物が投与された際に末梢血液中の有核細胞を用いて行うことになる。本研究ではその前提として必要と思われる基礎検討を行う。平成 17 年度は 1) 検体処理方法に関する基礎調査、2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究、3) 薬物による腎障害の発現を、リンパ球という毒性発現とは異なる組織で予測することの科学的根拠の考察、を行

った。

#### 1) 検体処理方法

RNA 純化のために血液細胞を単離するテクニックについては現在複数の方法が応用可能である。しかし、これらの方法は遺伝子発現に異なった影響をおよぼす可能性がある。遺伝子発現プロファイルにどのような影響があるかを明らかにするために体系的に採血方法・RNA 純化方法・抗凝固剤の影響・陰圧による吸引の遺伝子発現へ及ぼす影響などについて検討した。

## 2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究

本年度は曝露条件の検討を行った。多数の薬物を均一な指標により曝露した上で、遺伝子発現研究を行うことが好ましいが、薬理作用や実際の臨床の場で利用される方法が異なる薬物をどのような側面から均一として、曝露するかについて検討した。臨床用量や得られた薬物動態情報を基に曝露濃度を決定した。

## 3) 異なる組織間での発現変化の比較

我々の以前の研究では腎障害を引き起こすことが知られている薬物を、腎臓由来の初代培養細胞に曝露し、遺伝子発現変化を調査した。一方本研究では、将来多くの臨床試験の際に検体を得ることを想定して、末梢血有核細胞（単核球、主にリンパ球）を利用した遺伝子発現研究の応用を目指した基礎検討を行った。過去のプライマリー腎細胞で得た遺伝子発現データやその解析結果がそのまま、異なる組織においてもあてはまるか否か、あるいは類似性があるとするどの程度かを明らかにすることは重要である。日本人プライマリーヒト腎細胞と日本人 EBV 不死化リンパ球に代表的な薬物 8 種類 (CisA, FK506, TOB, NKT01, DKB, GM, ISP, AMK) をそれぞれ同濃度・24 時間曝露した発現データを比較し、曝露前と比較して有意に発現が誘導された遺伝子を比較した。

## B. 方法

### 1) 検体処理方法

採血時に使用する抗凝固剤の遺伝子発現におよぼす影響は、日本人由来 EBV immortalized B-cell line, HEB0034 (RIKEN BIORESOURCE CENTER) への曝露実験で検討した。また、遺伝子発現研究を前提とした文献を調査し、採血・RNA の純化に関するテクニックを比較した。詳細な方法は分担研究者大島の報告書に記載した。

### 2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究

本研究では多種類・多様な薬物を曝露実験に使用した。曝露濃度は研究上大きな因子であり、なるべく均一な指標に基づくものが多いが、同じ濃度の曝露よりは臨床的に利用される時に細胞が曝露される濃度に近いものが

好ましいと考えた。生体内でヒトリンパ球が曝露される濃度として、薬物動態データ中の Cmax 値に注目した。詳細な方法は分担研究者大島の報告書に記載した。

### 3) 異なる組織間での発現変化の比較

まず、薬物未曝露の状態、2 種類の組織間での発現量の比較をする目的でプライマリーヒト腎細胞と HEB0034 細胞における遺伝子発現を比較した。詳細な方法は分担研究者大島の報告書に記載した。

## C. 研究結果

### 1) 検体処理方法

細胞処理の方法が異なると遺伝子発現に対して異なる影響を与えた。これらの所見を基に純化の方法を、研究上必要な感度・各テクニック間のばらつき・処理時間など現実的に利用可能か否かを考慮して選択するべきであると考えられた。

培養後特別な操作無く (NOP, no operation)、RNA の抽出を行った際の遺伝子発現と陰圧吸引及び Sodium citrate 曝露後の遺伝子発現を比較したところ、ヘパリンでは 4 のトランスクリプトが有意に発現誘導されたが、EDTA 2K, EDTA 2Na, クエン酸塩酸塩などでは有意に発現誘導されるトランスクリプトは見られなかった。

### 2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究

リンパ球を用いたトキシコゲノミクスプロジェクトでは、多種類の薬物の曝露実験に用いる濃度は研究結果に影響を及ぼしうる大きな因子であり、なるべく均一な指標に基づくことが求められる。生体内でヒトリンパ球が曝露される濃度と大きく異なることが望ましい。我々は PK データ中の Cmax 値に注目し、Cmax 値の記載のない薬物に関しても、一日投与量より推定した曝露濃度を算出する計算方法を開発した。

本年度は曝露を予定している 160 種類の薬物のうち 80 種類を用いて、遺伝子発現解析を行った。

### 3) 異なる組織間での発現変化の比較

両方の組織における薬物未曝露時の遺伝子発現を比較した。さらに、それぞれの組織における未曝露時の遺伝子発現と比較して、曝露後の遺伝子発現の変化率が2倍以上の遺伝子のリストを各組織・各薬剤について作成し、そのリスト中の遺伝子が共通であるか否かを検討した。その結果、調査した8種類の薬物では、共通して発現誘導が見られる遺伝子は0-2 トランスクリプト程度であった。したがって、これまで蓄積したプライマリー腎細胞を用いた発現データと今後得られるリンパ球を用いた薬物曝露遺伝子発現データを直接比較することは困難と思われた。

## D. 考案

### 1) 検体処理方法

今回調査した5つの採血方法のうちPAXgeneは、赤血球由来（網状赤血球由来）のglobin mRNAが抽出されてくる量が多く、これがglobin以外のRNAのラベリングを阻害するようであった。このため相対的に発現量の低いトランスクリプトの検出には向いていない可能性がある。その他の方法は、由来する細胞分画の差が多少反映されるものの、結果には大きな差がないようであった。使用する抗凝固剤については、今回我々が検討したHeparin, EDTA 2Na, EDTA 2K, Sodium citrateのいずれも、5分間程度の曝露では遺伝子発現への影響はほとんど無かった。いずれの抗凝固剤も遺伝子発現への影響を心配することなく使用することが可能である。

### 2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究

一日最大用量を基に曝露濃度を推定する表を作成した。この推定表を用いることにより、調査した80種類の薬物について93%の薬物の濃度がC<sub>max</sub>値と10倍以内の誤差範囲で曝露することが出来る。また、全ての薬物の曝露濃度がC<sub>max</sub>値と30倍以内の誤差範囲内で曝露することが出来る。今回のプロジェクトではこの方法で見いだした曝露濃度を使用した。本年度は目標160薬物のうち80薬物について曝露実験・遺伝子発現解析を行った。

### 3) 異なる組織間での発現変化の比較

様々な薬物曝露後の遺伝子発現の変動を指標にしたところ、両組織における共通性はあってもごくわずかであった。両組織間では基礎となる薬物曝露前の遺伝子発現も異なるため、発現変化の類似性も高くなかった。

## E. 結論

### 1) 検体処理方法

末梢血有核細胞からのRNA抽出にはQIAampが最も好ましいと考えられる。FicollとBD-CPTもPBMC由来のRNAを遺伝子発現研究に使用することに問題はない。採血時に使用する抗凝固剤は、短時間の曝露では有意な遺伝子発現変化をほとんど引き起こさない。採血後速やかに末梢血からRNAを抽出・純化することが望ましい。

### 2) リンパ球を用いた遺伝子発現解析研究

一日最大用量を基に曝露濃度を計算する方法とその根拠を示した。曝露実験は3年間で行う予定の160薬物のうち80薬物について終了した。

### 3) 異なる組織間での発現変化の比較

薬物による腎臓の障害をリンパ球の遺伝子発現変化により予測することができるか否かを明らかにするために、両組織間における遺伝子発現の類似性を検証したが、両組織間に類似性はないと判断された。しかし薬物による腎臓の障害をリンパ球の遺伝子発現変化により予測することができる可能性は未だ否定されず、今後の検討が待たれる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

1) Numata A, Shimoda K, Kamezaki K, Haro T, Kakumitsu H, Shide K, Kato K, Miyamoto T, Yamashita Y, Oshima Y, Nakajima H, Iwama A, Aoki K, Takase K, Gondo H, Mano H, Harada M.: Signal transducers and activators of

transcription 3 augments the transcriptional activity of CCAAT/enhancer-binding protein a in granulocyte colony-stimulationg factor signaling pathway. J Biol Chem 280: 12621-12629, 2005.

2) 大島康雄、藤村昭夫：日本人組織を用いたトキシコゲノミクス研究．臨床薬理 36: 11-12, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
なし

## 別紙1 遺伝子解析研究倫理審査委員会設置規程

### 遺伝子解析研究倫理審査委員会設置規程

#### (目的)

第1条 この規程は、自治医科大学及び自治医科大学看護短期大学（以下「大学」という。）

において行われるヒトゲノム・遺伝子解析研究（以下「遺伝子解析研究」という。）について、人間の尊厳を確保し、試料等提供者、その家族又は血縁者の人権を保障しながら適正に実施されるよう、倫理的、法的及び社会的観念を中心に、科学的観点を含めて審議及び審査することを目的とする。

#### (設置)

第2条 前条の目的を達成するため、自治医科大学生命倫理委員会設置規程（平成7年5月1日制定）第9条第1項の規定に基づき、大学に遺伝子解析研究倫理審査委員会（以下「委員会」という。）を置く。

#### (審議及び審査事項)

第3条 委員会は、次の事項について審議及び審査する。

- (1) 大学で行われる遺伝子解析研究計画の実施の可否
- (2) 自治医科大学生命倫理委員会（以下「生命倫理委員会」という。）委員長から遺伝子解析研究に関して付託された事項

#### (構成)

第4条 委員会は、次に掲げる委員をもって構成する。

- (1) 大学の教員 4名
  - (2) 学外の人文・社会科学面（倫理・法律を含む。以下同じ。）の有識者、自然科学面の有識者又は市民の立場の者 4名
- 2 前項第2号の委員のうち半数以上は、人文・社会科学面の有識者又は市民の立場の者でなければならない。
- 3 第1項に規定する委員は、生命倫理委員会の議を経て、自治医科大学学長（以下「学長」という。）が委嘱する。

#### (任期)

第5条 委員の任期は、2年とし、再任を妨げない。ただし、補欠により委嘱された委員の任期は、前任者の残任期間とする。

(委員長等)

第6条 委員会に、委員長及び副委員長を置く。

2 委員長及び副委員長は、第4条第1項第1号の委員の中から、生命倫理委員会の議を経て、学長が委嘱する。

3 委員長に事故があるとき、又は欠けたときは、副委員長がその職務を代理し、又は職務を行う。

(会議)

第7条 委員長は、委員会を招集し、その議長となる。

2 委員会は、委員の3分の2以上の出席がなければ会議を開くことができない。この場合において、第4条第2項に規定する委員が1名以上出席しなければならない。

3 委員会の議事は、出席委員の3分の2以上の合意をもって決する。

4 委員会は、原則として、非公開とする。

5 委員会は、必要があると認めるときは、当該研究責任者、その所属長又は学内外の学識経験者の出席を求め、研究計画の内容等について説明を受け、又は意見を聴くことができる。

6 委員が当該研究に直接関わりがある場合は、当該委員は、当該研究に係る審議及び審査に加わることはできない。

(報告)

第8条 委員長は、委員会の審議及び審査の結果を遺伝子解析研究審査結果報告書(別記様式)により生命倫理委員会委員長に報告するものとする。

(議事録の作成)

第9条 委員長は、委員会の議事について、次に掲げる事項を記載した議事録を作成しなければならない。

- (1) 開催日時及び場所
- (2) 委員の現在数
- (3) 会議に出席した委員の氏名
- (4) 議決事項
- (5) 議事の経過及び発言の要旨
- (6) その他必要な事項



2 議事録には、委員長及び委員長の指名する委員1名が署名押印するものとする。

(議事録の公開)

第10条 委員会の議事録は、公開するものとする。ただし、公開することによって、試料等提供者、その家族若しくは血縁者の人権、研究の独創性又は知的所有権の保護に支障が生じるおそれがある部分は、非公開とすることができる。

2 委員会は、議事録の全部又は一部を非公開とする場合は、その理由を公開しなければならない。

(議事録の保存)

第11条 委員会の議事録(委員会提出資料を含む。)は、委員会開催日の属する年度の翌年度の初日を起算日として5年間保存しなければならない。

(守秘義務)

第12条 委員会の委員は、審議及び審査を行う上で知り得た情報を法令又は裁判所の命令に基づく場合等、正当な理由なしに漏らしてはならない。

(庶務)

第13条 委員会の庶務は、大学事務部学事課が行う。

(規程の改正)

第14条 この規程の改正は、生命倫理委員会の議を経て、自治医科大学教授会の承認を得るものとする。

(その他)

第15条 この規程に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は、生命倫理委員会の議を経て、学長が別に定める。

附 則

この規程は、平成13年4月1日から施行する。

## 別紙 2 遺伝子解析研究倫理審査提出研究計画書・患者説明文書・同意書

<平成 14 年 3 月 11 日 申請, 平成 14 年 5 月 16 日 再提出, 平成 14 年 6 月 10 日 再々提出>

<平成 14 年 6 月 21 日 研究許可決定通知, 平成 14 年 8 月 26 日 変更申請>

<平成 14 年 9 月 27 日 変更許可決定通知, 平成 14 年 11 月 12 日 変更申請>

<平成 15 年 1 月 15 日 変更再申請, 平成 15 年 2 月 3 日 変更許可決定通知>

<平成 15 年 8 月 31 日 変更申請>

### 研究計画書

課題名:薬物による腎障害の予防に関する研究

研究責任者の所属・職・氏名:自治医科大学臨床薬理学講座 助手 大島康雄

- (1) 試料等提供者の選定方針(合理的に選択していることがわかる具体的な方法。試料等提供者が疾病や薬剤反応性異常を有する場合等にあつては、病名又はそれに相当する状態像の告知方法等。)

目標解析数は 120 で、研究参加に同意された順に研究に参加していただくことを基本方針とする。対象は腎臓の腫瘍性疾患など(腎臓原発の腫瘍・他臓器原発の腫瘍性疾患で腎臓への転移などが考えられるがこれらに限定はしない)のために、医学的に治療上腎臓の切除の適応があると判断された 18 才以上の患者で、書面で確認されたインフォームドコンセント((7)インフォームドコンセント説明文書および同意文書)を得ることができた患者でかつ以下の除外項目を有しない患者。

除外項目は、薬物性の腎障害を起こしている疑いが強い場合、遺伝性の疾患またはその疑いが濃厚である場合、またはその他担当者が不適切と認める場合。

- (2) 研究の目的、意義、方法(対象とする疾患、分析方法等。将来の追加、変更が予想される場合はその旨。第一群試料等提供者の場合には研究の必要性、不利益を防止するための措置等。)、期間、予測される結果、予測される試料等提供者に対する危険及び不利益並びに個人に関する情報の保護の方法(匿名化しない場合の取扱いを含む。)

① 目的

薬物のヒト腎細胞障害時の遺伝子発現を明らかにすることにある。従来の前臨床試験としての毒性試験において、齧歯類などの小動物や細胞株を用いた検討では腎障害(細胞障害)を引き起こさないが、個体としてのヒトでは腎障害を引き起こす薬物がある。このような現在の前臨床研究では見過ごされるような場合でも、遺伝子レベルでは何らかの変化が生じている可能性は高いと考えられる。そこで、本研究ではこの遺伝子レベルでの変化を検出することを目的とする。

② 意義

遺伝子発現情報を基に腎障害を来しうる薬物を、開発段階で検出するための基礎データの構築

③ 方法

様々な化学物質(医薬品を含む)を *in vitro* で腎臓の細胞に作用させた場合の遺伝子発現の変化を GeneChip®を用いて検討する

④ 期間

研究許可を得てから平成 19 年 6 月 30 日まで

⑤ 予測される結果

当研究班でのデータとしては、非腫瘍性(または非罹患部)の腎臓組織を用いて、様々な化学物質を作用させた場合の遺伝子発現プロファイルが得られる。腎障害が懸念される化学物質とそうでない化学物質の遺伝子発現プロファイルを比較することにより腎障害を来たす可能性の高い化学物質に特異的な遺伝子発現プロファイルデータベースを構築することが予定されている。中期的には、これらの情報と齧歯類や細胞株での遺伝子プロファイリングの相関を検討し、ヒトにおける腎障害の発現を齧歯類などの小動物での研究や細胞株を利用した *in vitro* 実験で予測する方法を探る

⑥ 予測される試料等提供者に対する危険及び不利益

手術は全て臨床上適応がある場合のみであり、切除範囲も臨床上必要な範囲のみに限定する。手術の臨床上適応・切除範囲および術式は、泌尿器科の治療方針に則り、最終的には術前カンファランスの出席者の合意をもとに選択される。本研究では予定切除範囲内の非腫瘍部分（または非罹患部）を分離して使用する。術者や助手など手術に直接関わるスタッフは検体を切除し、これを控えている検体処理要員へ渡すのみであるので、手術時間が著しく延長する可能性は低いと考えられる。これまでも病理検査目的での試料の処理は当院で安全に行われてきており、本研究のための試料提供により手術上の危険性および不利益はないと考える

⑦ 個人に関する情報の保護の方法

本学の個人識別情報管理者により連結不可能匿名化が行われる

(3) 試料等の種類及び量

試料等の種類： 腎臓切除領域のうち非罹患部分の組織 量：1-10 g 程度. 予定人数：120 人

(4) 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将来参加が予測される共同機関の類型）、共同研究者の職・氏名

厚生労働省（国立医薬品衛生研究所）、毒性部室長 菅野純 ら との共同研究となる予定である

(5) 研究責任者、インフォームド・コンセントのための説明者その他研究実施担当者の所属・職名及び氏名

研究責任者

自治医科大学臨床薬理学講座                      助手    大島康雄

インフォームド・コンセントのための説明者その他研究実施担当者

自治医科大学泌尿器科学講座	教授	徳江章彦
自治医科大学泌尿器科学講座	病院助手	黒川真輔
自治医科大学臨床薬理学講座	教授	藤村昭夫
自治医科大学臨床薬理学講座	助手	大島康雄

(6) インフォームド・コンセントのための手続及び方法

別紙説明書により研究責任者または説明者が説明する。同意が得られた場合には書面として記録に残す

(7) インフォームド・コンセントを受けるための説明文書及び同意文書

別紙のとおり

(8) 代諾者等を必要とする試料等提供者が予定されている場合には、その試料等が研究のために必須である理由及び代諾者等の選定に関する基本的な考え方

試料等提供者が未成年である場合は本研究においては本人の同意および代諾者の同意を必要とする。痴呆などのため代諾が必要となる場合は代諾者の同意を必要とする。代諾者の選定は、試料提供者の意志を尊重することができ、試料提供者について十分理解をしている成人であって、任意後見人・親権者・後見人もしくは保証人が定まっているときはその人または本人の配偶者・成人の子・父母・成人の兄弟姉妹・孫・祖父母・同居の親族またはそれらに準ずると考えられるひとを優先的に代諾者として考慮する。

(9) 遺伝情報の開示に関する考え方

連結不可能匿名化のため開示しない

(10) 研究実施前提供試料等を使用する場合には、その試料等の提供の時期、提供を受けたときの同意の有無、同意を得ている場合にはその内容、同意がない又は不十分な場合には研究対象として使用する必要性

本研究において研究実施前提供試料等を使用する予定はない

- (11) 他の研究実施機関から試料等又は遺伝情報の提供を受ける場合には、他の研究実施機関が受けるインフォームド・コンセントの内容

本研究において国立衛生研究所を含む基礎研究を行っている他の研究機関から動物実験などの基礎的遺伝情報の提供を受ける可能性がある。本研究では発現解析が目的であり、ヒトゲノム遺伝子情報の提供を受ける可能性はない。

- (12) 試料等又は遺伝情報を国内外の公的研究機関、営利を目的としない団体の研究機関又は他の大学に対して提供する場合には、次の事項

- ア 提供の必要性
- イ 提供先の機関名
- ウ 大学において行われる匿名化の方法
- エ 匿名化しない場合には、その理由及び個人識別情報を含む情報の保護の方法
- オ 試料等を提供する機関において、提供する試料等の遺伝子解析研究を行うか否か
- カ 反復、継続して提供するか否か

本研究において収集された試料を国内外の公的研究機関／営利を目的としない団体の研究機関または他の大学に対して提供する予定はない

- (13) 試料等若しくは遺伝情報を国内外の営利を目的とする団体の研究実施機関に提供する場合又は国内外の民間の機関に遺伝子解析の一部の作業若しくは研究用資材の作成を委託する場合には、次の事項

- ア 提供の必要性
- イ 提供先の機関名
- ウ 大学において行われる匿名化の方法
- エ 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

本研究において試料等若しくは遺伝情報を国内外の営利を目的とする団体の研究実施機関に提供する場合又は国内外の民間の機関に遺伝子解析の一部の作業若しくは研究用資材の作成を委託する予定はない

- (14) 研究期間の終了後に研究遂行者が試料等を大学で保存する場合には、保存の方法及び必要性(他の研究への利用の可能性及び予測される研究内容を含む。)

試料は研究期間終了後まではフリーザーに凍結保存される。基本的には研究期間終了後は廃棄処分される。しかし、他の研究への利用について同意が得られた検体については、研究期間終了後に保存されている検体を使用して追加解析を行うことがある。これは学会で発表した時または論文を投稿した時に他の科学者から、研究の学術的価値をより高める目的で追加実験をすすめられることが希でないし、また、より学術的価値の高い研究へと発展させることは全ての研究について求められていることである。一方、本研究と明らかに趣旨の異なる研究への利用に関しては再度遺伝子解析研究の許可を申請してから行う。

- (15) ヒト細胞・遺伝子・組織バンクに試料等を提供する場合には、当該バンクを運営する機関の名称、当該バンクの名称及び責任者の氏名並びに試料等の匿名化の方法

本研究においてヒト細胞・遺伝子・組織バンクに試料等を提供する予定はない

- (16) 試料等を廃棄する場合には、廃棄の方法及びその際の匿名化の方法

試料を廃棄する時はオートクレーブした後に廃棄される。この時点では試料には、個人情報とは連結不可能な ID コードが付されているのみであるため、またオートクレーブ後は試料から遺伝情報を抽出するのが困難となるため通常の廃棄物として処分される

- (17) 第二群、第三群又は第四群試料等提供者から試料等の提供を受ける場合には、遺伝カウンセリングの必要性の有無(第一群試料等提供者から試料等の提供を受ける場合には、試料等提供者等からの求めに応じ、遺伝カウンセリングを実施するものとする。)

本研究は第三群試料等提供者\*からの試料提供となる。連結不可能匿名化を実施しての解析なので遺伝カウンセリングは必要ない

(18) 研究資金の調達方法

厚生労働省・文部科学省・経済産業省などの公的グラント(研究資金)及び民間の研究助成金などをもって研究を実施する



## 遺伝子解析研究(研究題目薬物による腎障害の予防に関する研究)への協力のお願いと説明文書

これから、あなたにこの遺伝子解析研究への協力をお願いするため、研究の内容や研究協力を同意していただくための手続などについて説明します。

この説明を十分に理解し、研究に協力しても良いと考えられた場合には、「遺伝子解析研究への協力についての同意書」に署名又は記名・押印し、同意したということをはっきり示してくださるようお願いいたします。

### 1 遺伝子と病気

「遺伝」とは、「親の体質が子に伝わること」です。「体質」には、顔かたち、体つきのほか、病気にかかりやすいことなどが含まれます。人の体の状態は、遺伝とともに、生まれ育った環境によって決まりますが、遺伝は基本的な部分で人の体や性格の形成に重要な役割を果たしています。「遺伝」に「子」という字が付き「遺伝子」となると、「遺伝を決定する小単位」という科学的な言葉になります。遺伝子の本体は「DNA」という物質です。「DNA」はA、T、G、Cという四つの塩基の連続した鎖です。塩基がいくつもつながって遺伝子になります。

1つの細胞の中には数万種類の遺伝子が散らばって存在しています。全ての遺伝情報を総称して「ゲノム」といいます。人体は約60兆個の細胞から成り立っていて、細胞の一つ一つに全ての遺伝子が含まれています。

遺伝子には二つの重要な働きがあります。一つは、精密な「体の設計図」です。受精した一つの細胞は分裂を繰り返して増え、一個一個の細胞が「これは目の細胞」、「これは腸の細胞」と決まりながら、最終的には約60兆個まで増えて人体を形作ります。二つ目は、「種の保存」です。先祖から現在まで「人間」という種が保存されてきたのも、遺伝子の働きによります。

ほとんど全ての病気は、その人の生れながらの体質(遺伝素因)と病原体、生活習慣などの影響(環境因子)の両者が合わさって起こります。遺伝素因と環境因子のいずれか一方が病気の発症に強く影響しているものもあれば、がんや動脈硬化などのように両者が複雑に絡み合っているものもあります。遺伝素因は遺伝子の違いに基づくものですが、遺伝子の違いがあればいつも病気になるわけではなく、環境因子との組合せも重要です。

### 2 研究に協力するかどうかを考えるために

この研究は、現在解析可能な全ての遺伝子発現について、その発現を解析し、薬物の有害反応を予測することが可能かどうかを調べることを目的としています。

あなたは、何らかの病気のために腎臓の摘出術が必要です。あなたの摘出腎臓組織を診療記録とともに、この研究に使用させていただきたいのです。

次に、あなたが、この研究に協力するかどうかを決めるために理解していただきたい事項について、順次説明します。

#### (1) 研究協力の任意性と撤回の自由

研究協力に同意するかどうかは任意です。あなたの自由意志で決めてください。協力に同意されてもされなくても、当院では同じように最善の医療を提供いたします。

いったん同意された場合でも、不利益を受けることなく、いつでも一方的に文書により同意を撤回することができます。その場合は提供いただいた腎臓組織や遺伝子解析の結果は破棄され、診療記録もそれ以降は本研究のために用いられることはありません。ただし、同意を撤回したとき既に研究結果が論文などで公表されていた場合や試料等が誰のものか完全に分からないようにする連結不可能匿名化されていた場合など、腎臓組織や遺伝子解析の結果を破棄できないことがあります。

#### (2) あなたが選ばれた理由

この研究では、腎臓組織について調べますので、腎臓の摘出術が必要と診断された方全てに研究への協力をお願いしています。あなたは、腎臓の摘出術が必要と診断されましたので、研究への協力をお願いすることにしました。

#### (3) 研究の目的、意義、方法、期間、試料等の種類及び量

##### ① 目的

化学物質(医薬品を含みます)のヒト腎細胞障害時の遺伝子発現を明らかにすることにあります。

##### ② 意義

遺伝子発現情報を基に腎障害を来しうる化学物質を、開発段階で検出するための基礎データの構築

##### ③ 方法

取り出した腎臓組織に対して様々な化学物質を作用させ、遺伝子発現の変化を解析します

④ 期間

研究許可を得てから平成 19 年 6 月 30 日まで

⑤ 試料等の種類量

試料等の種類: 腎臓切除領域のうち非罹患部分<sup>1</sup>の組織 量:10 g 程度

(4) 研究責任者の氏名、職名及び所属名

大島康雄, 助手, 自治医科大学臨床薬理学講座

(5) 予想される研究結果

非腫瘍性(または非罹患部)の腎臓組織を用いて、様々な化学物質を作用させた場合の遺伝子発現情報が得られます。腎障害が懸念される化学物質とそうでない化学物質の遺伝子発現情報を比較すると腎障害を来しやすい化学物質に特異的な遺伝子発現情報を得られることが予想されます。中期的には、これらの情報と齧歯類での遺伝子発現情報の相関を検討し、ヒトにおける腎障害の発現を齧歯類などの小動物での研究や動物を使用しない試験管内での実験などで予測する方法を探ります

(6) 試料等を提供した人にとって予想される危険、利益及び不利益

---

<sup>1</sup> 正常組織が切除されてしまう理由は:

自治医科大学附属病院での腎臓腫瘍の手術は、多くの場合腫瘍のサイズにかかわらず、右と左にそれぞれ一つずつあります腎臓のうち、どちらか一方を丸々一つ摘出することになります。過去の経験より、画像上腫瘍が小さくても、病理検査・臨床経験により術前の画像診断などでは検出困難な病変が周囲に存在していると考えられるためです。通常、腎臓の重量は1個約 130g ですが、腫瘍重量は多くともその半分以下です。このため、私どもの研究へのご協力の有無にかかわらず現状でも 50-100g またはそれ以上の正常腎組織が摘出されています。われわれの研究はこの摘出される正常組織を用いた研究を計画しています。

提供いただく試料腎組織の採取は、手術で切除された腎臓を処理して使用します。手術そのものは試料の提供の有無にかかわらず最善と判断される方法で常に行いますので、試料提供により加わる危険性は全くありません。試料をいただきましたら個人情報と完全に切り離して解析されますので、解析結果がいかなるものであれ個人情報とリンクしてご提供いただいた方にとって不利益となる可能性はありませんが、解析結果を今後の患者さんご本人の治療へ直接結びつけて役に立てることもできません。研究データが蓄積し、腎臓に障害を引き起こしうる化学物質を早期に発見することができるようになれば、これらのデータが社会に還元され、多くの方の役に立つという意味では間接的には患者さんへの利益になると言えます。

#### (7) 研究計画などを見たいとき

希望があれば、個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障を来さない範囲内で、この研究計画の内容を見ることができます。また、遺伝子を調べる方法等に関する資料が必要な場合も用意いたします。

#### (8) 個人情報の保護

遺伝子解析の結果は、いろいろな問題を引き起こす可能性があるために、他人に漏れないように取扱いを慎重にしています。解析を開始する前に、あなたの腎組織や診療情報からは住所、名前等が削られ、代わりに新しい符号がつけられます。これを匿名化といいます。

あなたとこの符号とを結びつける対応表は、本研究では作成されません。これを連結不可能匿名化といいます。

#### (9) 試料等又はそれから得られた遺伝情報を他の機関へ提供する可能性

厚生労働省(国立医薬品衛生研究所)、毒性部室長 菅野純 ら との共同研究となる可能性があります。本研究と並行して行われる、動物や細胞株などを使用した基礎研究は厚生労働省の研究所などで行われ、我々の研究と照らし合わせて、それらは完成した研究成果となります。この場合も、遺伝子発現の情報は、どの患者さん由来の細胞における遺伝子発現であるかは完全に判らない形で情報が提供されます。