

この条件下の正確性等を以下に示す<図 13>。

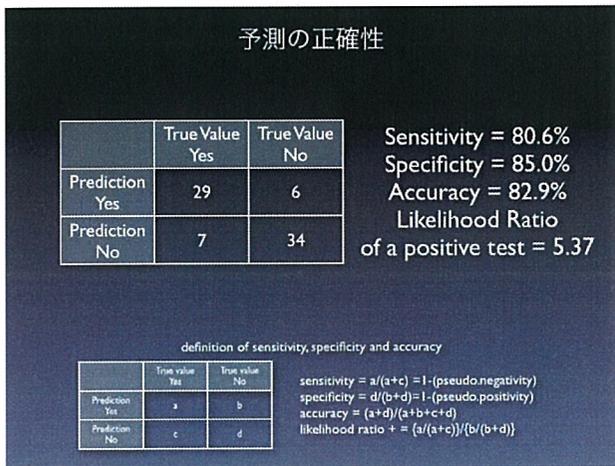


図 13 クラスプレディクションの結果

上記 32 遺伝子を用いて (2005 年度のサンプルでパラメータの微調整を行ない、2006 年度のサンプルの予測を行なった) によるクラスプレディクションの正確性・感度・特異度の評価を示す。この結果をもとに特許申請を行なっている。

4) 毒性メカニズムの解析

遺伝子発現情報を k-means クラスター法により分類したところ、図の通り、5つの遺伝子へ分類することができた<図 14>。

三酸化ヒ素曝露試験遺伝子発現解析

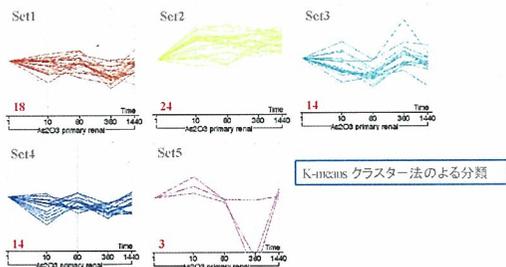


図 14 K-means 法による分類

今回遺伝子発現が経時的に上昇するため着目した、クラスターの set2 へ分類された遺伝子は以下の通りである<表 28, 次頁>。

これらについて定量 PCR により、その発現を比較した。set2 に含まれる HMOX1 は定量 PCR により発現変化が確認された<図 14>。

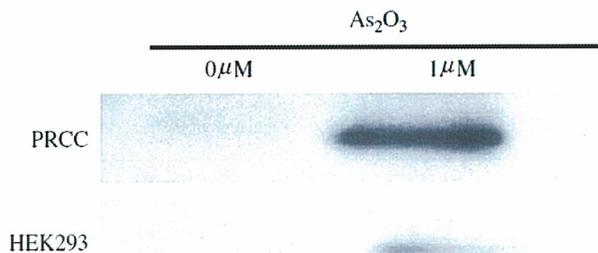


図 15 HMOX-1 蛋白質発現

As2O3 曝露により、遺伝子のみならず、蛋白質の発現も誘導される事が Western Blot により示された<図 15>。

Figure 1

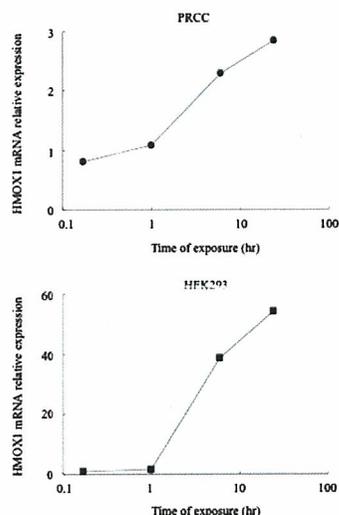


図 16 時間経過と HMOX-1 遺伝子発現

表 28 クラスタ set2 に含まれる遺伝子

Set2に含まれる遺伝子

Gene symbol	GO Biological Process Description	GO Molecular Function Description
FLJ10849 (SEPT11)	cytokinesis, cell cycle	GTP binding
HMOX1	heme oxidation positive regulation of I-kappaB kinase/NF-kappaB cascade stress response	heme oxygenase (decyclizing) activity signal transducer activity, oxidoreductase activity
CLTB	intracellular protein transport	calcium ion binding
AP1S1	intracellular protein transport, receptor mediated endocytosis	protein binding, protein transporter activity
GSR	electron transport, glutathione metabolism response to pest, pathogen or parasite	glutathione-disulfide reductase activity disulfide oxidoreductase activity, FAD binding
MAPK1	protein amino acid phosphorylation, induction of apoptosis chemotaxis, response to stress, cell cycle signal transduction, synaptic transmission	protein serine/threonine kinase activity, MAP kinase activity protein-tyrosine kinase activity, ATP binding, transferase activity

Gene symbol	GO Biological Process Description	GO Molecular Function Description
BAX	apoptosis, induction of apoptosis, germ cell development induction of apoptosis by extracellular signals, negative regulation of survival gene product activityapoptotic mitochondrial changes, regulation of apoptosis, negative regulation of cell cycle	
FHL1	muscle development, cell growth, cell differentiation	zinc ion binding
MYO6	striated muscle contraction perception of sound	motor activity, actin binding, calmodulin binding ATP binding, structural constituent of muscle
FGFR1	MAPKKK cascade, skeletal development, protein amino acid phosphorylation fibroblast growth factor receptor signaling pathway	protein serine/threonine kinase activity, protein-tyrosine kinase activity, receptor activity, fibroblast growth factor receptor activity ATP binding, heparin binding, transferase activity
H4I	cell proliferation	
FHL1	muscle development, cell growth, cell differentiation	zinc ion binding

Set2に含まれる遺伝子

Gene symbol	GO Biological Process Description	GO Molecular Function Description
ROD1	nuclear mRNA splicing, via spliceosome, mRNA processing, morphogenesis	nucleic acid binding, RNA binding
FN1	acute-phase response, cell adhesion, metabolism response to wounding, cell migration	extracellular matrix structural constituent, collagen binding heparin binding, oxidoreductase activity
Sep6	protein complex assembly receptor mediated endocytosis	phospholipid binding, phosphatidylinositol binding clathrin binding
FLJ20986	cation transport metabolism	magnesium ion binding, ATP binding ATPase activity, coupled to transmembrane movement of ions, phosphorylative mechanism, hydrolase activity, acting on acid anhydrides, catalyzing transmembrane movement of substances ATPase activity
CLIC4	ion transport, chloride transport, apoptosis	voltage-gated chloride channel activity
LOC51762	small GTPase mediated signal transduction, protein transport	GTPase activity, GTP binding

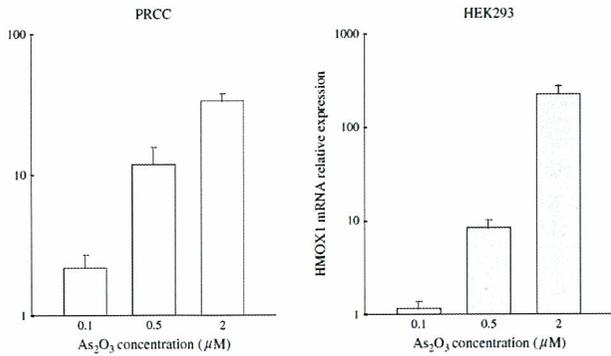


図 17 濃度依存性と HMOX-1 遺伝子発現

経時的に上昇傾向がある点・曝露濃度依存性に発現量が上昇する点なども確認できた<図 16-17>。

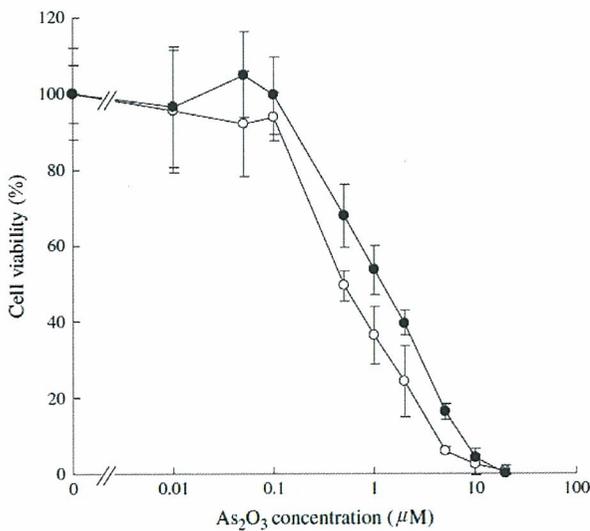


図 18 HMOX-1 遺伝子を強制発現させる事により As₂O₃ に対し有意に耐性となった遺伝子発現を誘導した (黒丸) 細胞は、遺伝子発現を誘導しなかった細胞 (白丸) より As₂O₃ に対する耐性を示した。

また、HMOX1 遺伝子を強制発現することにより arsenic trioxid の細胞障害性を抑制できることが明らかとなった<図 18>。

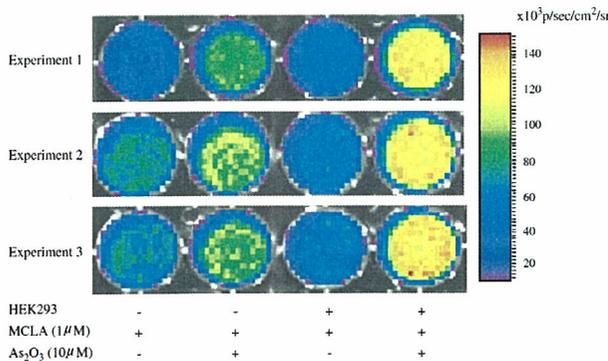


図 19 As₂O₃ による活性酸素の生成

HMOX1 が酸化ストレス時に発現誘導されると言う報告が散見されたため、酸化ストレスの一つとして活性酸素の産生を確認した。3段あるパネルは、同じ実験を3回繰り返した結果を示している。MCLA は活性酸素特異的な指示薬。向かって右2列細胞存在下で比較してみると、As₂O₃ 添加により活性酸素の産生の著明な誘導が示された<図 19>。

ヒ素化合物を培養メディアムへ加えることによりスーパーオキシドアニオンに代表される活性酸素種が発生することを確認した。また活性酸素種が細胞障害性を示した。細胞障害性が活性酸素種の抑制剤 (抗酸化剤) により抑制された点より、ヒ素化合物の毒性の少なくとも一部は活性酸素種の発生による物と考えられた。治療的な応用の可能性も検討している。この結果は特許申請中であり、また、**Experimental Hematology** 誌より出版された。

Allograft inflammatory factor-1(AIF-1)のクローニングと機能解析

293T/GFP 及び 293T/AIF1 をシャーレに継代後 24 時間の細胞数を 1 として、その後細胞数がどの様に変化していったのか 24 時間毎に細胞数の計測を行った。その結果、継代後 48 時間まではほぼ同じであったが、72 時間、96 時間では 293T/AIF1 の方が細胞数が多かった<図 20>。

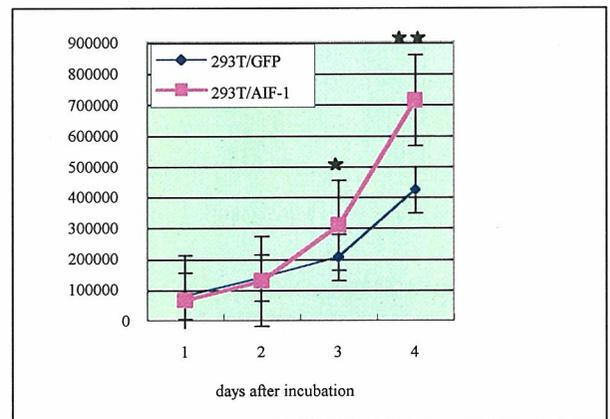


図 20 AIF-1 導入細胞株と GFP のみを導入した細胞株との細胞増殖数の比較(* P<0.01, ** P<0.005)

72 時間、96 時間ではそれぞれ p<0.01, p<0.005 でそれぞれ有意に AIF-1 を過剰発現している細胞株の細胞数が多かった。WST-1 活性の結果ではリポフェクチン試薬による細胞毒性により GFP のみを導入した細胞では活性が半分程度に落ちたが、AIF-1 が存在することにより有意に回復することが確認された (図 21, p < 0/001)。またこれはプラスミド量に依存しており、プラスミド量が倍になると、より回復度が高くなり未処理と同程度となった。

5) 発現データと外部データの比較

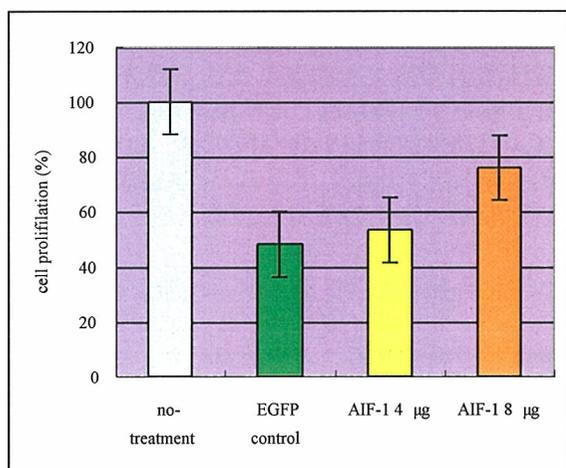


図 21 293T 細胞への GFP 及び AIF-1 遺伝子導入の影響

HEV0034 に対して同様に遺伝子導入を行った結果、遺伝子導入効率は 293 細胞と比較すると低かったため、有意に差は大きくは出なかった(図 22)。しかし 293T 細胞の時と同様、GFP のみでは活性が落ち、AIF-1 が存在することにより未処理の細胞とほぼ同じまで回復する事が見られた。

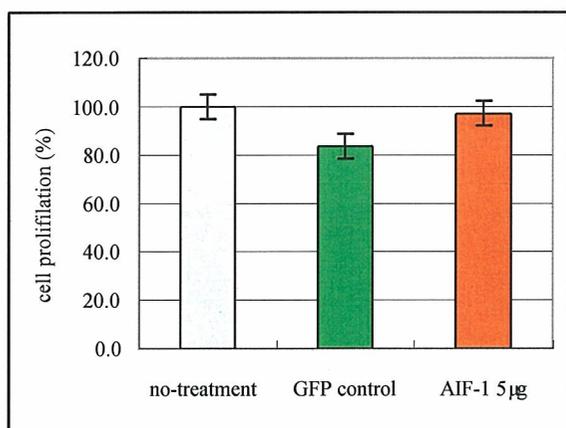


図 22 HEV0034 細胞への GFP 及び AIF-1 遺伝子導入の影響

表 29 検定結果の出力 (Fisher's Exact test; analysis with contingency 2X2 tables)

Table Analyzed		Data 1	
Chi-square			
Chi-square, df	47.32,	1	
P value	P<0.0001		
P value summary	***		
One- or two-sided	Two-sided		
Data analyzed Col A	Col B		
Total			
Row 1	3086	3279	6365
Row 2	1120	1636	2756
Total	4206	4915	9121

検定の結果外部のデータベースと我々の発現データは有意に相関があると考えられた(表 29)。用いたチップの仕様も、搭載されたプローブの設計もラベリングも異なり、また、サンプルも異なるなど様々な条件が一致せず、比較自体が困難であったが、2つのデータベース間で、同じ臓器由来の細胞の発現している遺伝子は無関係ではなかった。この結果は Bioinformatics 誌より出版された。

6) 臨床試験

試験は 2007 年 1 月より開始し、現在 13 名の被験者が同意の上エントリーしている。サンプルを蓄積している段階である。特に、結果として報告できる知識は得られていない。

D. 考案

1) 多サンプルの状態の評価方法の開発

---rRNA[28S/18S]比, Percent Present, 3'/5'比---

多検体の実験の質を評価するための効率的な手順を開発する事で、これまで手作業で行なってきた質の評価を再度行なった。半自動的に処理を行なうため、大量の演算を行う手作業によっておこる間違いがおこりにくくなり、また、確認作業も容易となった。

2) 発現解析-クラスプレディクション

我々の限られたデータでの評価ではあるが、volcano plot により得た 32 遺伝子は効率良く様々な機序による腎障害性を予測する事が可能である事が明らかとなった。これらの遺伝子は新たな腎

障害性予測のための DNA チップを作成する上で有用な情報であると考えられる。

3) 毒性メカニズムの解析

As2O3 の腎毒性メカニズムにアプローチし、酸化ストレスが関連していることを明らかとした。抗酸化剤を用いて毒性を軽減しつつ、薬効は有意な影響がない事が明らかとなり、治療への応用が期待できる結果を得た。

4) 発現データと外部データの比較

我々の発現データと、外部のデータベースで類似の状態の細胞を解析した結果を比較して、有意な相関を得た。用いたチップの仕様も、搭載されたプローブの設計もラベリングも異なり、また、サンプルも異なるなど様々な条件が一致せず、比較自体が困難であったが、2つのデータベース間で、同じ臓器由来の細胞の発現している遺伝子は無関係ではなかった。我々のデータと公共データベース共に由来臓器の遺伝子発現状態をある程度の正確性を持っていると考えられた。

5) 臨床試験

臨床試験自体は開始したばかりのためデータは今後解析を行なってゆく。臨床側の問題として担当者の負担が大きく、より多くの症例を扱う場合にはインセンシブの設定・サポート体制整備などが考慮されるべきであろう。

E. 結論

リンパ球を用いてトキシコゲノミクス研究を行い、毒性予測に必要な様々な知識を蓄積した。蓄積したデータを基に、毒性メカニズムにアプローチし、一部治療的に有用性が示唆されるような応用モデルを見出した。また、将来的に臨床の場合でのトキシコゲノミクス研究を実施する場合の問題点を抽出するための基礎検討を開始した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

トキシコゲノミクス研究論文3報（下記）、学会発表1件（下記）、特許申請2件（1件申請済み（下記）、1件準備中）、臨床薬理研究振興財団研究奨励賞1件

〈論文〉

[1] H. Ando, Y. Oshima, H. Yanagihara, Y. Hayashi, T. Takamura, S. Kaneko, and A. Fujimura, Profile of rhythmic gene expression in the livers of obese diabetic KK-A(y) mice. *Biochem Biophys Res Commun* 346 (2006) 1297-302

[2] A. Sasaki, Y. Oshima, S. Kishimoto and A. Fujimura, Individual Differences in Gene Expression in Primary Cultured Renal Cortex Cells Derived from Japanese Subjects *IP SJ Transactions on Bioinformatics* 47 (2006) 67-72

[3] A. Sasaki, Y. Oshima, and A. Fujimura, An approach to elucidate potential mechanism of renal toxicity of arsenic trioxide *Experimental Hematology* 35 (2007) 252-262

〈学会〉

臨床薬理学会 2006 年度、年会 シンポジウム S11 「ゲノム解析による副作用の予測」（12月1日（金曜日）15:00-17:10 第1会場（本館5階コンコールドA+B））、座長：藤村 昭夫（自治医科大学 臨床薬理学部門）、長尾 拓（内閣府食品安全委員会）

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

[1] 出願番号：特願 2007-47053, 発明の名称：腫瘍治療における三酸化二ヒ素の副作用低減剤及び解毒剤

[2] 出願準備中：リンパ球を用いた腎毒性の予測

別紙1 遺伝子解析研究倫理審査委員会設置規定

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

別記様式第 1 号 (第 6 条関係)

遺伝子解析研究許可申請書

平成 18 年 8 月 20 日

自治医科大学
学長 高久 史麿 殿

申請者 (研究責任者)
所 属 薬理学講座臨床薬理学部門
職 名 助手
氏 名 大島康雄 印

所属長
職 名 教授
氏 名 藤村昭夫 印

※受付番号：第 _____ 号

1 課題名：発現解析による薬物副作用の予測									
2 研究目的及び研究の概要 (詳細は研究計画書に記載すること) 本学附属病院の口腔外科外来患者のうち小手術 (埋伏第三大臼歯の抜歯) 予定の患者において、塩酸セフカペンピボキシル投与前後の末梢血単核球の網羅的遺伝子発現を解析する									
3 研究の種類： <input checked="" type="radio"/> 遺伝子発現 <input type="radio"/> 体細胞 <input type="radio"/> 生殖細胞系列 <input type="radio"/> その他									
4 研究期間：許可を得てから平成 20 年 12 月 31 日まで									
5 研究実施担当者 (主な者：研究計画書に全員記載すること) <table border="0"> <tr> <td>所属</td> <td>職名</td> <td>氏名</td> </tr> <tr> <td>臨床薬理学部門</td> <td>特別研究員</td> <td>津田英利</td> </tr> <tr> <td>口腔外科</td> <td>非常勤医員</td> <td>小尾友梨</td> </tr> </table>	所属	職名	氏名	臨床薬理学部門	特別研究員	津田英利	口腔外科	非常勤医員	小尾友梨
所属	職名	氏名							
臨床薬理学部門	特別研究員	津田英利							
口腔外科	非常勤医員	小尾友梨							
6 試料等の提供を依頼する対象者 本学附属病院の口腔外科外来患者のうち小手術 (埋伏第三大臼歯の抜歯) 予定の成人患者									
7 試料等の種類：末梢血 量：2ml を 2 回採血、合計 4ml 予定人数：20 名									
8 試料等の匿名化の有無： <input checked="" type="radio"/> 有 [<input type="radio"/> 連結可能 <input checked="" type="radio"/> 連結不可能] <input type="radio"/> 無									
9 研究実施前提提供試料等の使用の有無： <input type="radio"/> 有 [種類： A 群 B 群 C 群] <input checked="" type="radio"/> 無									
10 代諾者等の必要性の有無：有 [理由： _____] <input checked="" type="radio"/> 無									
11 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情報の保護の方法 薬剤の使用に関連した危険性 ：日常診療で汎用される薬物を承認された用法用量で使用するため、 薬剤使用と関連した危険性は研究と関連して増加しない。 手技に関連した危険性 ：手技に関連した危険性は研究と関連して増加しない。 個人情報の流出の危険性 ：研究者らは個人情報を保管しないため個人情報の流出の危険性はない。									
12 遺伝カウンセリングの必要性： <input type="radio"/> 有 <input checked="" type="radio"/> 無									

注意事項 1 規程第 6 条第 2 項に定める事項を記載した研究計画書を添付すること。
 2 ※印は記入しないこと。

研究計画書

課題名	発現解析による薬物副作用の予測			
研究責任者 (申請者)	所属	薬理学講座臨床薬理学部門	職名	助手
	氏名	大島 康雄		

(1) 被験者の選定方針

本学附属病院の口腔外科外来患者のうち小手術（抜歯）予定患者のうち以下の選定基準をすべて満たし、かつ、除外基準のいずれにも該当しない患者

1. 選択基準

埋伏第三大臼歯[dens molaris, 通称”親不知（おやしらず）”]を抜歯予定
年齢20歳以上、60歳以下
性別は問わない

2. 除外基準

腎機能障害（血清クレアチニン0.2 mg/dl以上）
肝機能異常（ALT, AST, T-bil, LDH, ALPのいずれか正常範囲を超える）
临床上、心筋梗塞・心不全を有するまたは疑われる所見を有する
糖尿病・高血圧に対する薬物療法中
塩酸セフカペンピボキシルおよびフロモックス（塩野義）の成分への過敏症の既往
セフェム系抗生物質への過敏症の既往

(2) 研究の意義、目的、方法

(1) 目的

薬物有害事象と関連した遺伝子発現を確認する事により、遺伝子発現情報に基づいた薬物の副作用予測システムを構築するとともに、毒性メカニズムへアプローチを行う。毒性予測およびメカニズム解明を通して、より効率的で安全性の高い創薬の推進および、薬物の適正使用を通しての治療法の改善・健康の増進を目的とする

(2) 研究の意義

申請者らは現在*in vitro*リンパ球の網羅的遺伝子発現解析を通して、薬物の有害反応と関連した遺伝子を見いだす基礎研究を実施している。本研究ではこれらの基礎的研究を通して得られた遺伝子発現情報が患者さんの中で、再現されるか否かについて研究を行う。

3) 方法

臨床試料等の採取の手順

通常の診療では、特別な合併症等の問題のない症例では第三大臼歯の抜去は3回（以上）の受診が行われ、2回目の受診の午後が手術日に予定される。

1回目受診：

術前検査（採血）：手術数日前、日常診療と同様に行う、同意の得られた患者については術前検査の採血に加え、研究用の2ml（1回目）の末梢血の採血を行う。

2回目受診：手術当日

手術手技は日常診療と同様に行う。被験者は昼食後（術前）に1回塩酸セフカペンピボキシル100mg(1回目)を服用する。被験者は手術終了後の夕食後に塩酸セフカペンピボキシル100mg (2回目) を服用する。

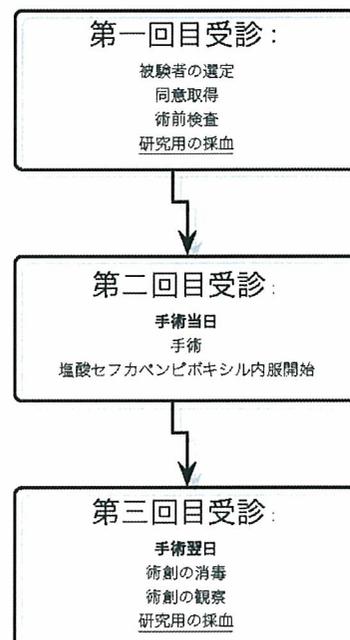
3回目受診：手術翌日

術後の消毒・術創の確認を日常診療と同様に行う。被験者は手術翌日の朝食後に、塩酸セフカペンピボキシル100mg (3回目)を服用する。研究用の2ml (2回目) の末梢血の採血を行う。

発現解析

得られた末梢血サンプルよりRNAが抽出する。Affymetrix GeneChip システムを用いて網羅的解析を行うとともに、定量PCR法を利用して発現解析を行う。

臨床試料採取スケジュール



(4) 期間

許可されてから平成20年12月31日まで

(5) 予測される結果

申請者らが*in vitro*で行ってきた基礎研究における網羅的遺伝子発現解析と本研究における結果の類似性・相違が明らかとなる。安全で効率的な創薬及び薬物による毒性メカニズムの解明の推進が期待される

(6) 予測される試料等提供者に対する危険及び不利益

薬剤の使用に関連した危険性：

使用する薬物は同様の抜歯時に日常診療で汎用されている薬物であり、用法用量は日常的に使用する範囲内であり、かつ、添付文書上の用法用量内であり、適正使用の範囲内であるため、薬剤使用と関連した危険性は研究と関連して増加しない。

手技に関連した危険性：

手技に関しては、日常診療と同様に行う。手技に関連した危険性は研究と関連して増加しない。

個人情報の流出の危険性：

研究者らは個人情報は保管しないため個人情報の流出の危険性はない。

不利益：

通常は手術翌日には消毒・術創の確認のみであるが、本研究に参加する事により採血が必要となる。手術前検査時の採血量が2ml程度増加する。採血に伴う疼痛はあるが、深刻な不利益とは認識していない。

(7) 個人情報保護の方法

連結不可能匿名化を行う

3 試料等の種類及び量

末梢血 量： 2ml を2回採血、合計4ml 予定人数：20名

4 共同研究機関

なし

5 研究責任者等の所属、職名、氏名

1. 研究責任者

臨床薬理学部門 助手 大島康雄

2. インフォームドコンセントのための説明者

口腔外科 非常勤医員 小尾友梨, 口腔外科 助手 野口忠秀, 口腔外科 助教授 神部芳則, 口腔外科 教授 草間幹夫

3. 研究実施者, その他

臨床薬理学部門 特別研究員 津田英利 遺伝子発現解析, 臨床薬理学部門 教授 藤村昭夫

6 インフォームド・コンセントのための手続き

臨床研究計画の概要について、説明文書により患者に説明する。試験参加に同意を得た場合には、説明を行った医師名、同意した被験者の氏名、住所、同意年月日を記載し被験者及び医師の両名が署名する。得たインフォームドコンセント書類は自治医科大学臨床薬理学部門にて保管する。

7 インフォームド・コンセントを受けるための説明事項及び同意文書

別添同意説明文書の通り

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

代諾者を必要とする資料提供者は予定しない

9. 遺伝情報の開示に関する考え方

連結不可能匿名化を行うため、個人を特定することができない
したがって、試料提供者へ遺伝子発現情報を開示しない

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

研究実施前提供試料等は使用しない

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

試料等又は遺伝情報の提供は受けない

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...

試料等又は遺伝情報を提供しない

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...

試料等又は遺伝情報を提供しない

14 研究遂行中の試料等の保管場所及び管理者。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

保管場所：臨床薬理学部門
管理者：研究責任者
研究機関終了後：試料を保管しない

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

試料等を提供しない

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

試料等は焼却またはオートクレーブにより廃棄する
試料採取時に個人情報を除き、固有IDを発生させて連結不可能匿名化する
IDと個人を結びつける対照表は作成しない
廃棄時には新たに匿名化を行わない。

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

もっぱら遺伝子発現のみを解析するため、該当しない
カウンセリングの必要性は無い

18 資金源

厚生労働省科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進事業）

同意説明文書

遺伝子解析研究（研究題目 遺伝子発現解析による薬物有害反応の予測）への協力の
お願いとご説明

これからあなたに、この臨床研究への協力をお願いするため、研究の内容や研究協力に同意していただくための手続きなどについて説明します。この説明を十分理解し、研究に協力しても良いと考えられた場合には、「研究同意書」に署名又は記名・押印して、同意したことをはっきり示してくださるようお願いいたします。



はじめに

この文書は当院で実施しています”遺伝子発現解析による薬物有害反応の予測”という臨床研究について説明したものです。担当医師からこの臨床研究の説明をお聞きになり、内容を充分理解していただいた上で、この臨床研究に参加されるかどうかを患者様自身で決めてください。この臨床研究に参加しても良いと考えられた場合には「同意書」にご署名いただきますようお願いいたします。また、わからない事があればご遠慮せずなんでもおたずねください。

1 臨床研究への参加は任意であること

この臨床研究に参加するかどうかは患者様の自由意思で決めてください

2 臨床研究への参加に同意しないことをもって不利益な対応を受けないこと

この臨床研究に参加されなくても今後の治療において不利益となる事はありません

3 被験者又は代諾者等は、自らが与えたインフォームド・コンセントについて、いつでも不利益を受けることなく撤回することができること

この臨床研究への参加に同意した後も、臨床研究が開始されてからでも、患者様が参加の中止を希望されればいつでも同意を撤回し、参加を辞退する事ができます。ただし、匿名化後のサンプルはどのサンプルがどの患者様のサンプルであるのかわからないため、あなたのサンプルのみを解析から除くことはできません。同意を撤回された後も本研究以外の最善の治療が行われますので治療上の不利益をおおむることはありません

4 被験者として選定された理由

本研究が許可されてから、親知らずを抜歯される患者様の中で合併症のないかたすべてに研究への参加をお願いしております。具体的な基準は以下のように定めております。

本学附属病院の口腔外科外来患者様のうち小手術（抜歯）予定で以下の選定基準をすべて満たし、かつ、除外基準のいずれにも該当しない患者様

1. 選択基準

埋伏（まいふく）親不知（おやしらず）を抜歯予定
年齢20歳以上、60歳以下
性別は問わない

2. 除外基準

腎機能障害
肝機能異常
心筋梗塞・心不全を有する
糖尿病・高血圧に対する薬物療法中
フロモックス（塩野義）に含まれる成分に対する過敏症の既往を有する
セフェム系抗生物質に対する過敏症の既往を有する

あなたは、この基準に適合していると考えられましたので、参加をお願い申し上げます。

5 臨床研究の意義、目的、方法及び期間

臨床研究の意義

薬物が国内で販売される際には、動物実験を含む様々な研究により安全であると判断されたものがヒトに使用されます。そうした安全性試験にもかかわらず国内で使用が許可されて後に、副作用のために販売が中止される薬物もあります。本研究の研究者们（以下我々と称します）は、現行の安全性試験結果と臨床上の副作用発症との乖離（かいり）をうめるために、科学的な方法を模索しているところです。我々は、この問題解決のために薬物曝露後の遺伝子発現に注目し、フラスコ内で薬物と細胞の反応を引き起こした後に、同時に約45,000の遺伝子を網羅的に解析できるマイクロアレーと言う装置を用いて遺伝子発現を解析してきました。この基礎研究の中でさまざまな遺伝子発現が観察され、それぞれ副作用と関連している可能性が考えられました。しかし、あくまでも実験室のフラスコの中で起きている疑似的な反応を見ているにすぎません。本研究ではフラスコ内で得られた様々なデータがどこまでヒトの生体内で起きている現象なのかを明らかにするために、抗生物質を服用される患者様をお願いして、抗生物質服用前後の血液中の細胞の遺伝子発現を解析させていただきたいと思います。これにより得られたデータをもとに、遺伝子発現情報を基にした薬物有害反応を予測するシステムを将来構築する上で重要な情報が得られると考えています。また、有害反応と関連した遺伝子発現情報より、薬物有害反応メカニズムを解析するきっかけが得られると考えております。



臨床研究の目的

本研究では薬物有害反応と関連した遺伝子発現を解析して、遺伝子発現情報に基づいた薬物の有害反応予測システムを構築するとともに、有害反応の発現メカニズムの解明を試みます。有害反応予測およびメカニズム解明を通して、より安全性の高い創薬を推進するとともに、薬物の適正使用を通して治療法の改善・健康の増進を行う事を目的とします

臨床研究の方法・期間

通常、特別な合併症等の問題のない限り、埋伏親不知の抜去の際は4回（以上）の受診が行われ、2回目の受診の午後が手術日に予定されます。そのときの状況で多少の手順の変更はありますが、通常以下のようなスケジュールになります。以下のスケジュールの中で下線部分の採血以外は通常診療で行われているものと同様ですので、本臨床研究へのご参加いただかなくても行われるものです。

スケジュール

1回目受診：

術前検査（採血）：手術数日前に、通常診療と同様に行います。同意の得られた患者様については術前検査および研究用[2ml(1回目)]の採血をさせていただきます。

2回目受診：手術当日

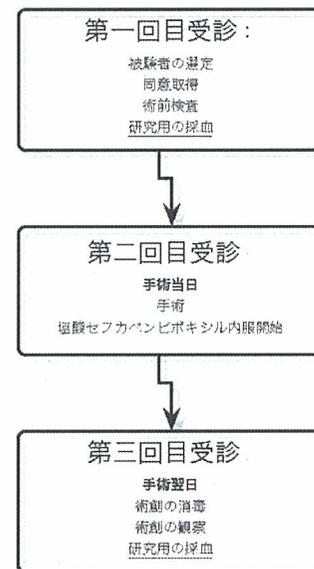
手術手技は通常診療と同様に行います。患者様には昼食後（術前）に1回塩酸セフカペンピボキシル100mg(1回目)を服用していただきます。さらに手術終了後、塩酸セフカペンピボキシル100mg (2回目) を夕食後に服用していただきます。

3回目受診：手術翌日

術後の消毒・術創の確認を通常診療と同様に行います。患者様には手術翌日の朝食後に、塩酸セフカペンピボキシル100mg (3回目)を服用していただきます。この日の受診時に研究用の[2ml (2回目)] の採血をさせていただきます。

臨床研究は3回目の受診時の採血で終了ですが、塩酸セフカペンピボキシル(100mg)は1日3回手術当日の術前から合計して3日間（合計9回）服用していただきます。さらに、手術1週間後に抜糸と術創確認のため受診していただきます。この点も通常診療で行われています通りです。手技として通常診療と異なる部分は、下線の採血のみです。

臨床試料採取スケジュール



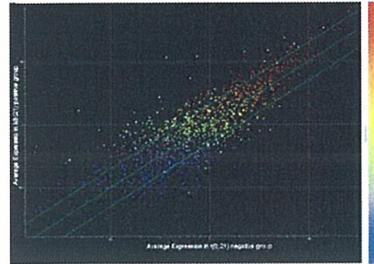
発現解析

採血させていただきました血液よりRNAを抽出します。Affymetrix GeneChip

システムを用いて網羅的解析を行うとともに、定量PCR法を利用して発現解析を行います。



GeneChipシステム (装置)



発現解析イメージ

6 研究者等の氏名及び職名

臨床薬理学部門	助手	大島康雄
臨床薬理学部門	教授	藤村昭夫
臨床薬理学部門	特別研究員	津田英利
口腔外科	非常勤医員	小尾友梨
口腔外科	助教授	神部芳則
口腔外科	教授	草間幹夫

7 予想される臨床研究の結果、臨床研究に参加することにより期待される利益及び起こりうる危険並びに必然的に伴う不快な状態、臨床研究終了後の対応

本研究により、安全な創薬及び薬物による有害反応の発現メカニズムの解明の推進が期待されますが、ご参加いただきます患者様個人には直接の利益はありません。試料提供に関わる料金は発生しませんので、研究に参加いただく事により、よけいにお支払いいただくことはありません。診療に関わる費用は通常通りお支払いいただきます。また、試料の提供に関しての報酬はありません。

薬剤の使用に関連した危険性：

使用する薬物は同様の抜歯時に通常診療で汎用されているものであり、用法用量は日常的に使用する範囲内、かつ、添付文書上の用法用量内であります。したがって、研究へ参加する事により、薬物使用と関連した危険性は増加しません。

手技に関連した危険性：

手技に関しては、通常診療と同様に行います。したがって、研究に参加する事により、手技に関連した危険性は増加しません。

個人情報の流出の危険性：

個人情報は研究者らは保管しません。したがって、個人情報の流出の危険性はありません。

臨床研究終了後に特別な対応はありません。通常の診療を受けていただく事となります。

- 8 被験者及の希望により、他の被験者の個人情報の保護や臨床研究の独創性の確保に支障がない範囲内で、臨床研究計画及び臨床研究の方法について資料を入手又は閲覧することができること

研究計画書を入手又は閲覧できます。採血させていただきましたサンプルは、どの患者様のものかわからない形で保管いたしますので、患者様自身のデータのみを特定してお知らせする事はできません。

- 9 個人情報の取り扱い

医師・看護師・薬剤師を含むすべての病院スタッフには、通常の診療業務上知り得た事に関して秘密を守る義務があります。病院スタッフにはこの臨床研究上知った情報について守秘義務が課せられます。

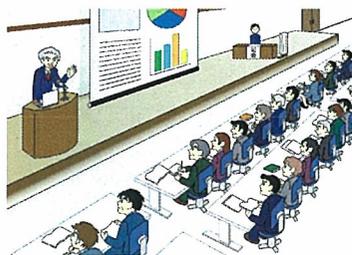
血液サンプルは採血後すぐに個人を特定することのできる情報を取り除く、匿名化と言う作業がなされ、どの患者様のサンプルかわからない状態で保管されます。どの患者様のサンプルかわからないまま解析されます。このように個人情報は研究目的では保管されませんので、個人情報が第三者へ漏れる心配はありません。

- 10 臨床研究の成果により特許権等が生み出される可能性があること及び特許権等が生み出された場合の帰属先

この臨床研究の結果により新たな知見が得られる事があります。本研究を行った結果得られた知的財産に関連する権利は試料提供者（患者様）にはありません。本研究を行った結果得られた知的財産に関連する権利は研究者及び研究施設に帰属します。

- 11 被験者を特定できないようにした上で、研究成果が公表される可能性があること

本研究結果は学術論文・学会発表などの形で公開される可能性があります。この場合も、被験者（参加された患者様）がどなたかわからない形で公表されます。



- 12 臨床研究に係る資金源、起りうる利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり

本研究は厚生労働省科学研究費補助金を使用して行われます。利害の衝突はありません。

単独施設での研究であり関連組織はありません。

13 臨床研究に伴う補償の有無

補償はありません

14 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先等に関する情報

研究に関するお問い合わせは、下記の研究責任者までご連絡ください。苦情がある場合は、自治医科大学学事課（電話0285-58-7550）で受け付けます。



記

研究責任者：大島康雄

自治医科大学薬理学講座臨床薬理学部門

栃木県下野市薬師寺3311-1 （電話 0285-58-7388）

2 同意書

研究同意書

自治医科大学附属病院長 殿

「遺伝子発現解析による薬物有害反応の予測」研究について、研究者 _____
から、説明文書を用いて次の事項について説明を受けました。(説明者氏名)

☛ 理解した項目の□の中にご自身でチェックの印をつけてください。

- 例 理解できた項目にはチェックをつけてください
 理解できなかった項目にはチェックをしないでください

- 研究への参加は任意であること
- 研究への参加に同意しなくても不利益を受けないこと
- 研究への参加に同意した後でも、いつでもこれを撤回できること
- 研究協力を依頼された理由
- 研究の意義・目的・方法及び期間
- 研究者等の氏名・職名
- 予想される不快な点・期待される利益
- 臨床研究に関する資料の閲覧
- 患者様の個人情報の保護に関すること
- 臨床研究結果について学術論文等で公開する可能性がある事
- 知的財産権の帰属が患者様でないこと
- 研究は自治医大臨床薬理学および口腔外科学により行われる事
- 臨床研究費は厚生労働省科学研究費補助金により行われる事
- お問い合わせ・苦情等の連絡先に関する情報

以上の説明を理解したので、被験者として研究に参加することに同意致します。

_____年 _____月 _____日

住所 _____

氏名 _____

(氏名は自署、または記名・押印)