

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（Ⅱ）

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成18年度

政策創薬総合研究
重点研究報告書（Ⅱ）

目 次

KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦	589
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字	636
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子	656
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネジメントへの応用	山本茂貴	671
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄	680
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行	691
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治	707
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹	720
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治	728
KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広	740
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人	761
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子	772
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和	783
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂	795
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾	814
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔	826
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二	836
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江	839
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫	919
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明	939
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一	951
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘	966

KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸	……	979
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間 正充	……	1000
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森 静志	……	1021
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾 和人	……	1042
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野 泰雄	……	1054
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田 康文	……	1070
KHB1201	タンパクリン酸化酵素SIKの糖・脂質代謝における役割と創薬標的評価系の開発	竹森 洋	……	1080
KHB1202	家族性黄斑変性カニクイザルを用いた加齢黄斑変性の新規治療及び予防薬の開発	寺尾 恵治	……	1086
KHC1203	弱毒性ウイルスワクチンの品質向上、生産性向上に関する研究	大隈 邦夫	……	1090
KHC1204	チオレドキシンなど抗酸化反応性活性酸素種処理分子の高発現を促す新しい健康増進医薬の開発	井上 達	……	1096
KHC2206	腹膜癒着予防剤の開発と応用	土肥多恵子	……	1106
KHD1205	ヒト乾燥羊膜の機能再生医療材料への実用化に関する研究	阿久津英憲	……	1111
KHD2207	ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究	後藤 雄一	……	1115

ヒト由来細胞・組織バンクの活用拡大のためのシステム構築と研究資源の高度化に関する研究

所 属 国立精神・神経センター神経研究所
研究者 後藤 雄一

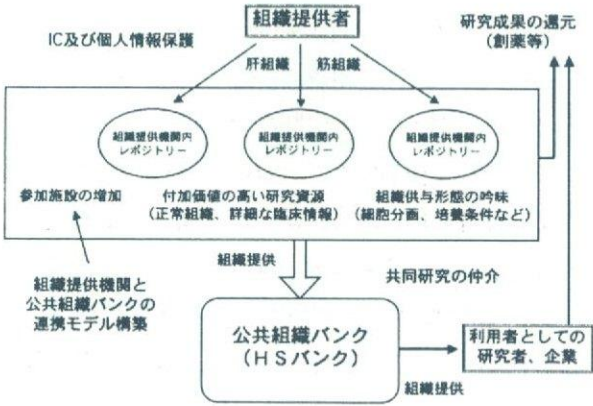
研究要旨 生検骨格筋及びそこから樹立した筋芽細胞と、手術により摘出されたヒト組織（主に肝）を、質の高い研究材料として公共バンクに提供し活用するためのシステム構築について検討する。特に骨格筋については、そのプロトタイプとして、研究者が必要とする形態での高品質な凍結骨格筋、筋芽細胞を提供できるように量・質ともに世界的に優れたリサーチ・リソースを確保している。しかし、このシステムを維持するためには、さらなる人的、経済的な支援が必須である。また、研究資源の高度化をはかり、より有効な研究資源とするために、筋芽細胞の高品質化、ヒト肝組織の遺伝子型タイピング等を行うとともに、学内及びヒューマンサイエンスヒト組織公共バンクへの組織提供のシステムを検討した。またヒト組織バンクシステムの意義について1施設でのアンケート調査を行い、組織バンクの必要性の理解は比較的得られていることが判明した。さらにヒト組織バンク化を推進させる上で、また倫理的問題を考える上で、心停止ドナーからの組織摘出バンク化の現状と可能性を検討した。

分担研究者

- (1) 西野一三 国立精神・神経センター神経研究所
- (2) 小林英司 自治医科大学分子病態治療研究センター
- (3) 小林真一 聖マリアンナ医科大学薬理学
- (4) 熊井俊夫 聖マリアンナ医科大学薬理学
- (5) 浅原利正 広島大学大学院先進医療開発科学講座座外科学

A. 研究目的

本研究では、ヒト組織を外科的に採取し、適切にかつ十分量多くの研究者に研究用ヒト試料として提供できるよう公共バンクと連携した保存・管理するためのシステム構築の検討を行う。特に我が国で遅れている各科を横断的にまたがるシステムを検討し、将来わが国の各医療機関でも構築が可能なヒト組織提供機関としてのモデルシステムについて検討する。そのため、生検骨格筋及び摘出肝組織をモデルとしてシステム構築を行うことを目的としている。



B. 研究方法 及び C. 研究結果

- 1. 骨格筋及び筋芽細胞提供医療施設内（国立精神・神経センター）の試料と情報の管理システム整備

国立精神・神経センター神経研究所及び武蔵病院では、共同で神経筋疾患の診断システムと研究資料保存システムを構築し活動している。す

でに1万件近く(9700検体)の患者登録と凍結筋保存がある。このシステムを基盤にして、患者骨格筋から筋芽細胞を樹立し、また共同研究として研究者に供与した。来年度は、ヒューマンサイエンスヒト組織公共バンクへの提供を行い研究者への配布を広く行う。

筋芽細胞は当初 70-80%の比率でデスミン陽性細胞が認められるものの、凍結保存するまでに多くは 10-20%の比率で安定した。デスミン陽性細胞の減少のメカニズムは筋疾患固有の現象の可能性はある。

2. 肝組織提供医療施設の試料と情報の管理システムの整備 (聖マリアンナ大学病院)

1) 組織摘出から保存までのシステム構築

聖マリアンナ大学でのヒト肝細胞のバンク化のシステムとして、本年度はデーターの電子ファイル化の手始めとして手術室で採取された組織の写真の電子ファイル化を試みた。今まで、PC 管理していた画像データーを CD にファイル化し、鍵のかかる保管庫に保管することで、データー整理の効率化を行った。

また、従来患者向けの同意説明文書に外科医に毎回手術部位と摘出範囲の概略図を図示してもらってきたが、組織のスタンプを作成することにより、外科医の手間の効率化を図った。

CRC より外科医のチームリーダーに集中的に HSRRB や学内のヒト組織バンク構築の説明と理解を得るための情報普及活動を行うことにより、各チーム内医師への理解が深められた。

2) 利用目的に応じた処理方法の検討 (膜蛋白、核蛋白、薬物代謝酵素等の調整)

肝組織 (33 例) より genomic DNA を抽出して、CYP1A2、2C19、2D6、3A4、MDR1、dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) について RT-PCR を行った後 RFLP およびダイレクトシーケンスにて CYP1A2*1F、CYP2C19*1、*2、*3、CYP2D6*1、*4、*5、*6、*8、*10、*12、*14、*18、CYP3A4*1、*4、*5、*6、*16、*17、*18、MDR-1 T-129C、A41G、C1236T、G2677T/A、C3435T、A4036G、DPD*1、*5、*6 につい

てハプロタイプ解析も含めて遺伝子多型解析を行った。

CYP1A2*1F のアリル頻度は従来日本人で報告されていた約 62.8% に比べると 73.5% と高値を示した。CYP2C19、CYP2D6 の遺伝子多型のアリル頻度は従来日本人で報告されているものと大きな差は見られなかった。CYP3A4*4 は中国人に特有の遺伝子多型であるとの報告が多く見られるが、今回初めて日本人にも発見された。また、CYP3A4*16 の日本人におけるアリル頻度は従来 0.014% であったのに対し、N が少なかったせいもあるが 1.5% の頻度で検出された。MDR-1 のハプロタイプでは (-129)T、(1236)C、(2677)A、(3435)C 型のハプロタイプは日本人の大腸癌の患者のグループでは減少しているとの報告があるが、肝疾患の患者におけるアリル頻度は健常人での報告と大きな差は見られなかった。

さらに、これらのデーターをもとに保存されている肝組織の遺伝子多型情報のパネル化を行った。本パネル化により保存されている肝組織の遺伝子情報が明らかになったことから、特に日本人で多い遺伝子多型、あるいは頻度の少ない遺伝子多型に関する薬物代謝研究を行うにあたって、本パネルは研究者にとって効率的で有効なシステムになると考えられる。

3) 臨床試験コーディネーターによる同意説明のためのシステム整備

広島大学病院でのヒト肝細胞バンクのシステム化については、これまでヒト専用細胞分離室の設置、匿名ソフト (SCTS21) の導入といったハード面での準備を整える一方、CRC を実際に配置し、医師ではない中立的な立場から適正な IC を取得し、臨床主治医、組織採取担当者、病理医、CRC 間での連携をはかり、ヒト肝組織 (肝細胞) の研究利用のためのシステム構築を行った。今年度は、公的組織細胞バンク (HSRRB) への組織提供のための説明文書・同意書の作成と HSRBB との連携体制を整え、本邦初となる日本人由来のヒト肝細胞の提供を開始するに至った。

3. 利用者側からみた希望するヒト組織に関するアンケート調査

一般市民 1500 人を対象として、学内ヒト組織バンクについてアンケート調査を実施した。本調査の回答は 570 名から得られ、回答率は 38.0%であった。調査の結果、一般生活者の認知度は低いものの、説明することでヒト組織を用いた研究やヒト組織バンクの必要性は理解されていることが分かり、その認識は患者やその家族と大きな差異は見られなかった。

4. 心停止ドナーからの組織摘出バンク化の現状と可能性

心停止下での組織採取にあたっては、日本組織移植学会の規定する「組織バンクの認定」の条件で行われている。現在のところ、我が国では 13 箇所の施設で運営されているが、自らの施設での臨床応用が中心である。今後、ヒト組織を研究試料として社会に広め、より高い次元でのライフサイエンスへの活用のためには、これらの学会と協力し、体制作りをする必要がある

D. 考察、結論

1. 骨格筋及び筋芽細胞提供医療施設内（国立精神・神経センター）の試料と情報の管理システムの整備

骨格筋バンクの登録数は順調に伸びており、さらに充実したリサーチ・リソースとなりうる。既に保存されている筋芽細胞を、利用希望の研究者に供与することを推進させる必要があり、ヒューマンサイエンス研究資源バンクへの分譲を積極的に進める。来年度には具体的に主要な筋疾患の筋芽細胞を分譲する。

一方、筋芽細胞の割合が 10%程度のものであることが判明した。デスミン陽性細胞の減少は、線維芽細胞の混入によるのか、筋芽細胞の増殖に伴う変性が不明である。眼咽頭型筋ジストロフィー患者筋の培養では、正常者からの筋芽細胞と異なり、継代をすることで著しくデスミン陽性細胞の比率が低下するという報告がある。

研究目的により純度の高い筋芽細胞を必要とする場合に対応できるように、シリンドラーを用いた単一細胞のサブクローニング、N-CAM (CD56)

の抗体を用いた細胞選別を試みる。

2. 肝組織提供医療施設の試料と情報の管理システムの整備

聖マリアンナ大学病院、広島大学病院におけるシステムの具体的な改善例が、今後の組織バンク化の参考になる。

3. 利用者側からみた希望するヒト組織に関するアンケート調査

ヒト組織バンクについては、一般生活者の認知度は低いものの、その意識はヒト組織を提供した患者やその家族と大きな差異は見られなかった。ヒト組織提供の同意については、自分自身が対象の場合に比べ家族の場合には「同意しない」「わからない」との割合が増加していた。このことから分かるように、わが国の現状では自分で同意しても家族が反対することもあり得るということを示している。

4. 心停止ドナーからの組織摘出バンク化の現状と可能性

心臓が停止してしまった後でも、多くの組織等が臨床移植可能である。血管や弁、または骨など凍結保存が可能であり、その汎用性も高い。

一方、保存が可能であることにより、これらを利用してその組織自体に改良を加える、いわゆる研究資源化が世界的に活発化している。

本研究班のまとめが、その現状を知る資料として活用されることを望む。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 櫻井史穂子, 中谷祥子, 熊井俊夫, 田中政巳, 松本直樹, 大坪毅人, 小林真一. ヒト組織の研究利用に関する患者、医師等の意識調査 — 聖マリアンナ医科大学におけるヒト組織バンク事業に対するアンケート調査 — 臨床薬理 ;37(5):305-311. 2006.
- 2) 浅原利正 他: 再生医療「消化器外科学レビュー 2006」(監修: 門田守人, 跡見 裕, 炭山嘉伸). 235-240, 総合医学社, 東京. 2006
- 3) T. Itamoto et al: Safety of donor right

hepatectomy for adult-to-adult living donor liver transplantation. Transpl Int 19(3):177-183, 2006

- 4) S. Fukuda et al: Radiofrequency-assisted Partial splenectomy with a new and simple device. The American Journal of Surgery 192:252-254, 2006
- 5) K. Oishi et al: G-CSF-induced evacuation of sinusoidal NK cells and the facilitation of liver regeneration in a partial hepatectomy. Cytokine 34(1-2):66-75, 2006
- 6) K. Oishi et al: Clinicopathologic features of poorly differentiated hepatocellular carcinoma. J Surg Oncol. 95(4):311-316, 2007
- 7) S. Fukuda et al: Clinicopathologic features of hepatocellular carcinoma patients with compensated cirrhosis surviving more than 10 years after curative hepatectomy. World J Surg. 31(2):345-352, 2007

2. 学会発表

- 1) Ken Inoue, Kyoko Takano, Yu-ichi Goto. Nonsense-mediated mRNA decay is not a major contributor to downregulate the Alu-containing splicing variants. The 56th Annual meeting of American Society of Human Genetics, New Orleans, LA, Oct 9-13, 2006
- 2) Yu-ichi Goto, Mayuko Kato, Keiko Oguchi, Yayoi Ikegami, Ichizo Nishino, Ikuya Nonaka. Clinical diagnosis and genetic counseling for mitochondrial disorders in Japan. The 4th Annual Meeting of Asian Society for Mitochondrial Research and Medicine, 2.2, 2007, Seoul, Korea
- 3) Nishino I: Congenital Muscular Dystrophies. 7th Biennial Convention of the ASEAN Neurological Association. Phetchburi, Thailand. 3.8, 2007.
- 4) Nishino I: Immunohistochemical Diagnosis of Muscle Diseases. 7th Biennial Convention of the ASEAN Neurological Association. Phetchburi, Thailand. 3.6, 2007.
- 5) 小林英司: Transborder Transplants in Japan.

第42回日本移植学会総会/第6回日韓移植フォーラム. 2006年9月7日～9日、千葉

- 6) 中谷祥子. 臨床研究の支援～ヒト組織バンク事業にかかわって. 第27回日本臨床薬理学会年会.
- 7) 熊井俊夫, 中谷祥子, 武半優子, 磯辺貴子, 都築慶光, 柳田洋平, 田中政巳, 朝倉武士, 渡邊泰治, 小泉哲, 大坪毅人, 小林真一. 学内ヒト組織バンクシステムの基盤整備と研究資源高度化の検討. 第27回日本臨床薬理学会年会.
- 8) 磯辺貴子, 櫻井史穂子, 中谷祥子, 熊井俊夫, 田中政巳, 松本直樹, 大坪毅人, 小林真一. ヒト組織バンク事業に関する患者ならびに医師等の意識調査. 第27回日本臨床薬理学会年会.
- 9) 板本敏行 他: 肝細胞癌肝切除における手技の工夫: 輸血ゼロを目指して (ビデオセッション). 第61回日本消化器外科学会学術総会, 横浜, 2006. 7. 13-15
- 10) 天野尋暢 他: ミラノ基準逸脱肝細胞癌に対する肝切除例の検討. 第61回日本消化器外科学会学術総会, 横浜, 2006. 7. 13-15
- 11) 初迫博幸 他: 多発肝細胞癌症例に対し施行した術中局所焼灼療法併用肝切除術の検討. 第61回日本消化器外科学会学術総会, 横浜, 2006. 7. 13-15
- 12) 小橋俊彦 他: 肝予備能低下症例 (ICG R15 $\geq$ 30%) における肝切除の意義. 第81回中国四国外科学会総会, 岡山, 2006. 8. 31-9. 1
- 13) 福田三郎 他: 初回肝切除後の長期生存の肝細胞癌患者の特徴について. 第23回中・四国肝臓病研究会, 岡山, 2006. 9. 9
- 14) 浅原利正 他: 教室における肝臓外科臨床、肝疾患研究と今後の展開. 第68回日本臨床外科学会総会, 広島, 2006. 11. 9-11
- 15) 天野尋暢 他: 生体肝移植ドナーの肝切除の工夫—合併症ゼロを目指して— (ビデオシンポジウム). 第68回日本臨床外科学会総会, 広島, 2006. 11. 9-11
- 16) 小橋俊彦 他: 肝切除後再発肝細胞癌に対する salvage liver transplantation の適応. 第68回日本臨床外科学会総会, 広島, 2006. 11. 9-11
- 17) 小橋俊彦 他: 非進行肝細胞癌に対する肝切除の

意義（サージカルフォーラム）、第 68 回日本臨床外科学会総会、広島、2006. 11. 9-11

- 18) 小橋俊彦 他：多発肝細胞癌症例に対する外科的治療戦略（術中局所焼灼療法併用肝切除術の意義と問題点）、第 68 回日本臨床外科学会総会、広島、2006. 11. 9-11.

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

平成18年度
政策創薬総合研究
重点研究報告書(Ⅱ)

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団
〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社