

検査用プレートを宅配便にて受け取り、検査に使用した。

#### ウイルスゲノムの増幅

2xbuffer, RT-taq, Rnase-Free H<sub>2</sub>O からなる Master Mix に細胞の totalRNA を 100 ng/well となるように加え、Prism7300 (アプライドバイオシステムズジャパン) で 50°C 30 分処理後、PCR 反応: 95°C 15 分処理後、94°C 15 秒, 60°C 60 秒の反応を 45 サイクルで行った。<培養細胞のマイコプラズマ汚染全国調査> 検査試料となる培養上清を用意し、MycoAlert Reagent, MycoAlert Substrate を溶解させた。室温で 15 分間静置し、検査試料 (100 μL) に MycoAlert Reagent (100 μL) を加えて、室温で 5 分間静置した。ルミノメーターで測定 (測定値 A) 後、MycoAlert Substrate (100 μL) を加え室温で 10 分間静置し、ルミノメーターで測定 (測定値 B) した。判定は測定値 B と A の比率を求め (B/A)、比率が 1 以上の時をマイコプラズマ陽性と判定した。

#### C. 研究結果

##### <細胞のウイルス検査法の開発>

##### DNA 試料を用いた検査

ヒト由来細胞株を中心に 511 検体の解析を実施し、43 細胞株においてウイルス検査陽性の判定を得た。

細胞番号	細胞名	ロットナンバー
・ JCRB0135	MT-4	031699
・ JCRB0138	KMH-3S	081799
・ JCRB1209	MT-1	09102007
・ JCRB1210	MT-2	09072007

・ JCRB1216 MT-4 10092007

上記の 5 細胞株は HTLV-1 陽性であることがすでに明らかになっている細胞株であり、細胞の登録情報どおり HTLV-1 陽性の結果が得られた。この 5 細胞株はその他のウイルスは陰性だった。

細胞番号	細胞名	ロットナンバー
・ JCRB9012	RAJI	042095
・ JCRB9123	B95-8	072795
・ JCRB9071	Daudi	120694
・ JCRB9062	HS-Sultan	032395
・ JCRB9071	P39/TSU	031395 (定量低)
・ JCRB0106	SCCH-26	101795 (定量低)
・ JCRB0035	RPMI1788	121198
・ JCRB0024	IM-9	100690
・ JCRB0032	CCRF-SB	090889
・ NIHS0247	SLVL	11102000
・ NIHS0313	OUS-11	08122002 (定量低)
・ JCRB0332	AT (L) 6KY	07212006
・ JCRB0041	HLCL-1	051688
・ JCRB1042	BSL2KA	10022007
・ JCRB0095	P32/ISH	072986 (定量低)

上記の 15 細胞株はすでに EBV 陽性であることが明らかになった。

また、HBV に関しては、下記の 3 株が陽性を示した。

細胞番号	細胞名	ロットナンバー
・ JCRB0406	PLC/PRF/5	122095
・ JCRB1031	JHH-7	12202002
・ JCRB0199	huH-1	01222002

HPV18 に関しては下記 19 株が陽性を示した。

細胞番号	細胞名	ロットナンバー
------	-----	---------

・ JCRB0213	HeLa AG	08152000
・ JCRB0214	HeLa TG	071499
・ NIHS0331	HSGc-C5	10062003
・ JCRB0649	HeLa. P3	120597
・ NIHS0231	HuL-1	03232000
・ JCRB9066	Chang liver	08242001
・ JCRB9086	HeLa 229	08232001
・ JCRB9004	HeLa	051299
・ JCRB9010	HeLa S3	120292
・ FDSC0026	SKG-IIIb	052890 (定量低)
・ FDSC0029	SNG-III	032190
・ IF050004	WISH	#10
・ JCRB0073	J-111	100698
・ JCRB9027	KB	120398
・ JCRB1203	HCS-2	08062007
・ JCRB1205	HCSC-1	08112007
・ JCRB0215	HeLa TG Cap	012999
・ JCRB0713	HeLa S3(SC)	063097
・ JCRB1318	HeLa 9903	08242008

HHV6 に関しては下記 1 株が陽性を示した。

細胞番号 細胞名 ロットナンバー

- ・ IF050271 HUV-EC-C #1121

#### RNA 試料を用いた検査

今回用いた検査用プレートの感度検定を行ったところ、Negative control はすべての well で negative であり、スタンダードを加えた well はすべて positive と判定され、検査に用いるプレートに問題がないことを確認した。また、ヒト由来細胞 2 4 種の検査を実施し、その結果を得た (Table 1)。今回の検査においては 3 つの細胞株に HTLV-1 を認め、その結果は DNA 試料を用いたウイルス検査と同じであった。

#### <培養細胞のマイコプラズマ汚染全国調査>

11 大学、4 国公立研究所、4 企業およびその他の研究機関より検査試料の提供を受け、2061 検体の検査を実施したところ、502 検体 (24.4%) においてマイコプラズマ汚染陽性の判定となった (表 3)。

#### D. 考察

##### <細胞のウイルス検査の実施>

JCRB 細胞バンクで保有するヒト由来細胞株を中心にウイルス検査の実施を開始し、DNA 試料を用いたウイルス検査は既に 511 細胞株の検査を行った。その検査の中で、ウイルス陽性と判定されたのは 43 株であり、そのほとんどが文献報告されているウイルス汚染であった。しかし、一部は文献報告のないウイルス汚染であり、非常に興味深い知見が得られたと考えられる。今回のウイルス検査実施において、検査の途中より HPV18 の検査を追加したが、世界で始めて樹立された細胞株として有名な HeLa 細胞において陽性判定されるウイルスであり、本検査の導入により、培養細胞にしばしば見られる HeLa 細胞とのクロスコンタミネーションをも示唆するデータとなりえる。また、RNA 試料を用いたウイルス検査に関しては、本年度細胞バンクへの検査法の導入を行い、検出感度ならびに再現性において問題がないことを確認した。今後検査対象ウイルスの再選定を行い、ヒト細胞の検査を実施していく予定であり、非常に有用なデータが得られると考えられる。

## ＜培養細胞のマイコプラズマ汚染全国調査＞

今回全国調査を行って、非常に高率にマイコプラズマ汚染が検出されたことは、大きな問題であると捉えるべきである。現在の研究における培養細胞は培養細胞そのものが研究対象ということではなく、培養細胞を用いて、生理活性物質や遺伝子の研究をするものが多く、培養細胞は非常に多くの研究者が用いる1つの研究ツールとなっている。そのため、誰もが培養技術を学ぶこともなく、気軽に培養細胞を扱い、研究を遂行しているのが現状である。そのため、培養細胞に関する知識は浅く、マイコプラズマ汚染に注意を払う研究者は少ない。我々細胞バンクとしてはこれらの全国調査を通じて、マイコプラズマ汚染の現状を把握するとともに、研究者への培養に対する意識の向上を図ることを目的としている。今後も継続して活動を行い、より多くの研究者が、研究の信頼性・再現性確保のために、これらの問題に正面から取り組めるような環境を整備していくことが必要であると考えられる。

## F. 研究発表

学会発表

### 1. 論文発表

- (1) 水澤博, 小澤裕, 小原有弘, 増井徹, 佐藤元信, 岩瀬秀, 深海薫, 西條薫, 中村幸夫  
培養細胞で頻発するクロスコンタミネーションへの警戒, 実験医学;26(3):561-567 (2008)
- (2) 水澤博, 小澤裕, 増井徹, 平田誠, 小原有弘  
STR分析によるヒト培養細胞の迅速同定法

—培養細胞のクロスコンタミネーション防止のために—, 実験医学;26(9):1395-1403 (2008)

- (3) Takeuchi M, Takeuchi K, Ozawa Y, Kohara A, Mizusawa H. Aneuploidy in immortalized human mesenchymal stem cells with non-random loss of chromosome 13 in culture. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* (2009) in press.

### 2. 学会など口頭発表

- ① 小原有弘, 水澤博  
細胞バンクの現状と課題  
日本組織培養学会第81回大会(つくば)
- ② Arihiro Kohara, Azusa Ohatani, Yutaka Ozawa, Setsuko Shioda, Tohru Masui, Hiroshi Mizusawa. Mycoplasma Contamination and Cross Contamination in Tissue Culture: A Survey of Major Institutions in Japan. Annual meeting of Symposium *In Vitro Technology* Jun. 2008 (Tucson CA).
- ③ Arihiro Kohara Genomic Stability Analysis of Immortalized Human Cells and Human Tumor Cells Using High-Resolution Array-Based Comparative Genomic Hybridization. 48th ASCB Annual Meeting Dec. 2008.
- ④ Yutaka Ozawa, Masao Takeuchi, Kikuko Takeuchi, Arihiro Kohara, Hiroshi Mizusawa Genomic Stability of Immortalized Human Mesenchymal Stem Cells (Non-random Loss of Chromosome 13 in Culture). 日本環境変異原学会第37回大会(沖縄2008年12月)

知的所有権の取得状況 なし



Table 1 RNA試料を用いたウイルススクリーニング検査結果(ヒト由来細胞24種) \* 数値は定性試験におけるRCR増幅を認めたサイクル数(参考値)

Cell No.	Cell Name	Lot. No.	B-actin	HIV-1	HIV-2	HTLV-1 HTLV-2	HAV	HCV	HDV	HEV	HGV	Tissue
JCRB0333	AT(L)7KY	09172008	15	-	-	-	-	-	-	-	-	peripheral blood
JCRB1216	MT-4	10092007	17	-	-	16	-	-	-	-	-	leukocyte(ATL)
JCRB0403	HuH-7	021296	17	-	-	-	-	-	-	-	-	liver cancer
JCRB1209	MT-1	09102007	19	-	-	24	-	-	-	-	-	leukocyte(ATL)
JCRB9054	IMR-90	10292007	17	-	-	-	-	-	-	-	-	fetal lung
JCRB1167	NCR-G2	10112006	19	-	-	-	-	-	-	-	-	germ cell tumor of human testis
JCRB1168	NCR-G3	09122006	16	-	-	-	-	-	-	-	-	germ cell tumor of human testis
JCRB0160	LI90	11192004	14	-	-	-	-	-	-	-	-	liver Ito cell-like cell line
JCRB1166	NCR-G1	08172006	16	-	-	-	-	-	-	-	-	germ cell tumor of human testis
JCRB1182	NCC-RbC-51	12122006	19	-	-	-	-	-	-	-	-	retinoblastoma
JCRB3001	Deh2	05302007	17	-	-	-	-	-	-	-	-	Dyschromatosis (fibroblast)
JCRB1210	MT-2	09072007	17	-	-	17	-	-	-	-	-	leukocyte(ATL)
JCRB0540	TIG-119	11012007	18	-	-	-	-	-	-	-	-	skin (fibroblast)
JCRB0173	SKN	07202007	15	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus
JCRB0162	NEC14	04192001	17	-	-	-	-	-	-	-	-	testicular germ cell tumor
JCRB1219	PL532	10292007	14	-	-	-	-	-	-	-	-	placenta
JCRB1117	HEC-1-A	08182005	18	-	-	-	-	-	-	-	-	uterus body
JCRB1224	UC704	12072007	14	-	-	-	-	-	-	-	-	umbilical cord
JCRB1054	Hep G2	11132005	20	-	-	-	-	-	-	-	-	liver cancer
JCRB0134	MCF-7	022699	19	-	-	-	-	-	-	-	-	breast cancer
JCRB0112	THP-1	08162007	18	-	-	-	-	-	-	-	-	peripheral blood
JCRB0199	huH-1	01222002	19	-	-	-	-	-	-	-	-	hepatocellular carcinoma
JCRB1154	UE7T-13	04182008	16	-	-	-	-	-	-	-	-	bone marrow
JCRB0404	HLE	022396	17	-	-	-	-	-	-	-	-	hepatocellular carcinoma

## 生物種の遺伝的プロファイル法の開発

研究分担者: 内尾こずえ (独)医薬基盤研究所生物資源研究部 研究員

### 研究要旨

ヒト疾患モデル動物として、遺伝子改変が容易であるマウスが広く利用されており、生物資源バンクで維持しているマウス系統の多くは遺伝子改変マウスである。一部の遺伝子改変マウスは開発時にハイブリッドシステムを利用し、その後、近交系マウスと交配を繰り返し、コンジェニック化される。通常のコンジェニック化には約3年を要するため、マイクロサテライトマーカーを利用したスピードコンジェニック技術の普及が必須である。一方、ヒト疾患モデルとして有用な自然発症モデルマウスの原因遺伝子解析およびコンジェニック化においてもマウス系統独自のマイクロサテライトマーカーの情報が非常に有用である。以上のことから、様々なマウス系統のマイクロサテライトマーカーの情報を提供することが重要であることがわかる。そこで本研究では複数のマイクロサテライトマーカーを同時に検出するマルチプレックスPCRおよびキャピラリー電気泳動を用いた方法を改良し、研究資源バンクのホームページにて情報を公開、さらに検索システムを整備する。

### 研究目的

ヒト疾患モデル動物として遺伝子改変マウスが広く利用されており、その作製にC57BL/6、BALB/c、DBA/2、C3H、FVB、129など多様な近交系マウスが利用されている。遺伝子改変マウス作製の際、ハイブリッドシステムが利用されることが多く、研究に利用するためには近交系マウスと交配を重ね、遺伝的に均一な系統とする必要がある(コンジェニック化)。通常のコンジェニック化には約3年を要するが、マイクロサテライトマーカーを利用すると(スピード

コンジェニック法)、1年半に短縮可能である。このスピードコンジェニック法を利用することで、交雑系統であっても、効率的に遺伝的背景を均一にすることができる。

一方、自然発症モデルマウスはヒト疾患モデルとして非常に有用である。自然発症モデルマウスの原因遺伝子を同定することは非常に困難な作業であり、表現型と遺伝型との相関を検出するQTL解析が行われることが多い。また原因遺伝子が同定された場合、C57BL/6などの近交系コンジェニックマウス作製が行われることになる。

QTL 解析およびコンジェニック系統作製のどちらもマイクロサテライトマーカースの情報が必須である。

以上のことからマイクロサテライトマーカースの情報を提供することが重要であることがわかる。そこで本研究では複数のマイクロサテライトマーカースを同時に検出するマルチプレックス PCR およびキャピラリー電気泳動を用いた簡便な方法を提案し、研究資源バンクのホームページにて情報を公開することを目的とする。

## 研究方法

### <マイクロサテライトマーカースの選択>

ゲノム上には、1 から複数塩基対の反復配列（マイクロサテライト）が広範囲に多数散在し、マウス系統によりその反復回数に多型が存在する。この反復配列をはさんだプライマーを用いて PCR を行い、電気泳動パターンの多型として検出可能である。各染色体 20 箇所のローカースを選択し、その中から分子長の差が大きな 12 箇所を抽出した（表 1 に 1 および 2 番染色体のプライマーを示した）。その中から、ローカースおよび分子長が最適な 3 つのマーカースを選択し（表 1：灰色マーカースで示した）、マルチプレックス PCR 法を行った。

### <マルチプレックス PCR およびキャピラリー電気泳動>

約 5 ミリメートルのマウス尾より QIAGEN EZ1 DNA extraction kit を用いて DNA を抽出した。PCR 法により、産物

の分子長が異なる 3 種類のプライマーセットを同時に増幅し、通常の電気泳動による解析を行った（3.5%アガロースゲルを使用）。また同様に蛍光ラベルを行ったプライマーセットを用いた PCR 産物をキャピラリー電気泳動にて解析を行った。キャピラリー電気泳動は、Beckman 社 CEQ8800 Fragment Analysis を利用し、マルチプレックス PCR 産物の分子長の差を検出した。

## 結果および考察

ゲノムの広範囲を網羅し、産物の分子長が異なるマイクロサテライトマーカースを選択し、各種マウス系統で利用可能なマーカースを選択した。各染色体 20 箇所のローカースを選択し、その中から分子長の差が大きな 12 箇所を抽出した中からローカースおよび分子長が最適な 3 つのマーカースを選択し最適化した。その一例として C57BL/6(B6)系統と 129 系統について利用可能なマーカースセットを表 1 に示した。ノックアウト作製に多く用いられている ES 細胞は空間学習に障害のある 129 系統由来であり、病態モデルマウスとして解析を行うため C57BL/6 コンジェニック系統を作製することが多い。そのため、表 1 に示したようなマーカースは有用である。他の系統についても汎用性の高いプライマーセットを引き続き設定しており、平成 21 年度末にホームページ上で公開予定である。

遺伝子改変マウスと並んで自然発症モデルマウスがよく利用されている。遺伝子改変マウスと比較すると自然発症モデルの表

現型の方がヒトの病態に近いことが多く、創薬・疾患研究に非常に有用である。しかしながら自然発症モデルマウスの原因遺伝子は複数存在することが多く、解析が困難である。まず QTL 解析にてマイクロサテライトマーカーを利用して原因遺伝子を含むローカスを特定し、さらに絞り込む作業が必要となる。そのためにも各マウス系統のサテライトマーカーの情報が必要である。

自然発症モデルはクローズドコロニーで維持している中から発見されることが多い。中でも ICR 系統由来のマウスが多く利用されている。例えば 1 型糖尿病モデルである NOD マウス、2 型糖尿病モデルである NSY マウスなども ICR 由来の自然発症モデルである。また医薬基盤研究所バンクにおいて利用頻度の高いネフローゼモデル ICGN 系統も ICR 由来の自然発症モデルである。そこで ICR 由来の自然発症モデルにおいても対応可能なマーカーについて解析を行った。その結果の一例を表 2 に示した。主要な自然発症モデルのサテライトマーカーの情報を提供することにより、原因遺伝子の同定および同定後のコンジェニック系統作製に活用可能となる。このような汎用性の高いプライマーセットを引き続き設定していく。

(独) 医薬基盤研究所 疾患モデルマウスバンクは維持マウス系統を疾患・創薬研究に利用していただくことを目指している。だからこそ高品質な資源の提供が最重要課題といえる。高品質といっても、微生物学的汚染がないことは言うまでもなく、遺伝学的にも均一な資源を指す。引き続き遺伝

的モニタリング法を改良し、マウス資源の高品質化に貢献していきたい。

## 研究発表

### <論文発表>

1. Uchio K, Sawada K, Manabe N. The expression of macrophage metalloelastase (MMP-12) in podocytes of hereditary nephrotic mice (ICGN strain). *The Journal of Veterinary Medical Science* 2009 (in press)
2. Yamamoto Y, Ishino F, Kaneko-Ishino T, Shiura H, Uchio-Yamada K, Matsuda J, Suzuki O, Sato K. Type 2 diabetes mellitus in a non-obese mouse model induced by megl/grb10 overexpression. *Exp. Anim.* 2008 57(4): 385-395

### <学会発表>

1. 山田-内尾こずえ・澤田京子・國枝孝典・眞鍋昇：母胎環境が遺伝性ネフローゼマウス (ICGN 系統) 腎病変に与える影響、第 146 回獣医学会、2008 年 9 月 25 日、宮崎
2. 山田-内尾こずえ・澤田京子・國枝孝典・眞鍋昇：胚移植由来ネフローゼマウス (ICGN マウス) 産仔の病態解析、第 100 回関西実験動物研究会、2008 年 12 月 5 日、京都



表1. 1番及び2番染色体マイクロサテライトマーカー

(1番)	Position	C57BL/6	129	サイズ差
<b>D1Mit294</b>	4.23	149	209	-60
D1Mit65	8.4	180	211	-31
D1Mit373	17	123	140	-17
<b>D1Mit213</b>	25.7	105	90	15
D1Mit134	49	143	129	14
D1Mit134	49	143	129	14
D1Mit217	64.1	171	190	-19
D1Mit494	65	218	235	-17
D1Mit30	70	101	117	-16
D1Mit103	73	113	77	36
D1Mit111	90.34	169	183	-14
<b>D1Mit293</b>	109.6	152	117	35
(2番)	Position	C57BL/6	129	サイズ差
D2Mit312	2.35	122	112	10
D2Mit433	31.7	176	163	13
D2Mit9	37	192	179	13
<b>D2Mit37</b>	45	172	143	29
D2Mit75	50.02	104	127	-23
D2Mit78	61.85	217	233	-16
<b>D2Mit30</b>	69	377	120	257
D2Mit22	73.38	194	149	45
D2Mit194	81.4	115	133	-18
<b>D2Mit456</b>	86.3	125	175	-50
D2Mit287	91.7	132	115	17
D2Mit113	103	147	125	22



表2 自然発症モデルマウスのマイクロサテライトマーカー

Marker	Position	B6	DBA	NOD	ICGN
D1Mit415	52.0	157	107	157	160
D1Mit291	101.5	146	125	135	160
D1Mit155	112.0	252	216	218	210
D1Mit318	18.5	126	126	96	110
D2Mit369	27.3	129	110	110	110
D2Mit458	31.7	122	98	98	100
D2Mit398	57.9	146	132	134	132
D2Mit412	78.7	128	104	120	120
D2Mit285	86.0	139	152	138	152
D3Mit164	2.4	135	119	119	140
D3Mit227	23.3	125	145	145	145
D3Mit127	70.3	176	132	240	170
D3Mit17	71.8	197	180	208	180
D4Mit235	1.9	116	90	90	90
D4Mit203	60.0	105	118	112	120
D4Mit259	76.0	146	192	200	195
D5Mit346	1.0	120	174	114	145
D5Mit352	20.0	113	126	128	126
D5Mit197	36.0	154	114	114	114
D5Mit208	54.0	129	117	129	126
D5Mit99	80.0	98	204	204	204

分担研究報告書

マルチプレックスPCR法を用いたウイルス検査に関する研究

研究分担者：清水 則夫（東京医科歯科大学准教授）

研究要旨

医薬品開発や再生医療研究が加速されているのに伴い、ヒト培養細胞研究資源の重要性が増している。研究の質を確保するためには、細胞株の品質管理を徹底することが非常に重要であるが、培養細胞研究資源へのウイルス汚染に関する検討は十分になされていないのが現状である。培養細胞研究資源を使用した研究の質を高めるためには、簡便・安価に多種類のウイルスを測定する手法を開発し、ヒト培養細胞研究資源のウイルス汚染の実態を把握することが必要である。本研究は、多くのウイルスを同時に検出できる新しいウイルス検査系を構築し、細胞バンクが保有している培養細胞に対するウイルス検査体制を確立することを目的に行っている。本年度は、昨年までに開発したウイルス検査系の測定項目にエンテロウイルス、アデノウイルス、TTV、を加えるとともに、Ready-to-Use 検査プレートを作成し、目的の性能を持つことを確認した。

A. : 研究目的

iPS 細胞の登場により再生医療研究が加速され、ヒト培養細胞研究資源の重要性が著しく増している。実際、再生医療の研究に用いるヒト由来の分化能を持った培養細胞のバンクへの寄託も増加傾向にある。今後、再生医療の研究の質を高めるためには、ヒト培養細胞研究資源の品質管理法を確立し、研究に使用する培養細胞の品質管理を徹底することが求められる。培養細胞に微生物が持続感染すると、細胞の性質・増殖性、遺伝子発現パターン、動物に接種した際の細胞の挙動や動物の反応などが大きく変化する可能性があ

るため、細菌やマイコプラズマ汚染の検出に加えてウイルス汚染状況に関する情報も非常に重要である。実際、外国に細胞を出荷する際には、ウイルス汚染状況に関する情報の添付を求められる事が多く、今後その必要性は増していくものと考えられる。

細菌・真菌・マイコプラズマなどと違い、ウイルスの増殖には生きた細胞が必須であり、しかもウイルスは組織・細胞特異性が高いため、培養法により多種類のウイルスの有無を同時に検査することは極めて難しい。したがって、PCR 法などの核酸増幅法によりウイル

スゲノムを直接検出することが必要となるが、その実用化には多くのウイルスを同時・高感度・安価に検出することが可能な新しい検査法の確立が必要である。本研究では、細胞バンクが保有する細胞株や今後新たに寄託される培養細胞株の全数検査に使用する出来る実用的な新規ウイルス検査系を確立することを目的として研究を行なっている。本年度は、これまでに作成したウイルス検査系の測定項目を増やすこと、Ready-to-Use検査試薬セットの開発しその性能を評価することを目的に研究を行った。

## B: 研究方法

### 1. ウイルスゲノムの増幅

ウイルスゲノム DNA, RNA を PCR あるいは RT-PCR 法により増幅した。

○ウイルス遺伝子の増幅・検出にはアプライドバイオシステム社の ABI-Prism 7300 を使用した。

○ PCR 反応

・PCR 反応: 95°C 15 分処理の後、94°C 15 秒、60°C 60 秒の反応を 45 サイクルで行なった。

○ RT-PCR 反応

・逆転写反応: 50°C 30 分処理

・PCR 反応: 95°C 15 分処理の後、94°C 15 秒、60°C 60 秒の反応を 45 サイクルで行なった。

○ 試薬: PCR 試薬: AmpliTaqGold & Gold Buffer (アプライドバイオシステムズジャパン) RT-PCR 試薬 QuantiTect Probe RT-PCR Kit (Qiagen) プライマー: 通常のオリゴマーを使用 (配列は別途記載) プローブ: Taqman Probe を使用 (配列をは別途記載)

### 2. 検査プレートの作成

ウイルスに対するプライマー、プローブと安定化剤としてトレハロースの混合溶液を作成した。96 ウェルプレートを使用し 5  $\mu$ l/well (プライマー、プローブミックス 1.5  $\mu$ l, 各濃度のトレ

ハロース二水和物 0.25  $\mu$ l, スクレアーゼフリー-H<sub>2</sub>O 3.25  $\mu$ l) の割合でマルチピペッターにより混合液を分注した (1 ウェルで 1 種類のウイルスを測定するため、1 ウェルに 1 種類の検査対象ウイルス用のプライマー、プローブを加える)。分注後遠心機で 1000rpm,

1 秒間遠心し、暗所に置いた真空デシケーター内で暗所一晚放置して乾燥させた。なお、PCR 反応が進んでいることを示す陽性コントロールとして細胞遺伝子  $\beta$ -actin mRNA の測定を行なった。

### 3. PCRによる測定方法

○ 反応液の 組成

DNA Sample	10 $\mu$ l
10xBuffer	5 $\mu$ l
d NTP s	5 $\mu$ l
MgCl <sub>2</sub>	5 $\mu$ l
ROX	1 $\mu$ l
Taq	0.25 $\mu$ l
Water	4.5 $\mu$ l

○ 測定方法

a. 96 ウェル 2 ml リザーバーに Master Mix を 560  $\mu$ l ずつ 8 連の 1 列に分注

b. サンプルまたは STD を同じ 8 連の 1 列に 140  $\mu$ l それぞれ加える。サンプルは DNA 濃度 0.5  $\mu$ g / Well になるように加える。

c. マルチピペッターで 3 回ピペッティングした後、8 列分を 11 連に分注する。

d. シールをして 1000rpm, 3 秒間遠心する。プレートを逆さにして 1 分間放置後、シェーカーで 1 分振とうしサンプルとプライマー、プローブを良く混合した後に PCR 反応を開始する。

e. PCR 反応後、結果を解析して、ウイルスの有無および量 (半定量) を測定する。

### 4. RT-PCRによる測定方法

反応液の組成



RNA Sample	20 $\mu$ l
2xBuffer	25 $\mu$ l
RT-Taq	0.5 $\mu$ l
RNase Free Water	4.5 $\mu$ l

#### 測定方法

- 各ウェル2ml の96ウェルリザーバーを使用し、Master Mixを330  $\cdot$  1とサンプルまたは陽性コントロール220  $\mu$  lを混合する。その際、サンプルのRNA濃度が1  $\mu$  g /ウェルになるように調製する。
- マルチピペッターで3回ピペッティングした後、あらかじめ作成した検査用96ウェルプレートに分注する。
- シールをして 1000rpm, 3 秒間遠心する。プレートを逆さにして 1 分間放置後、シェーカーでさらに 1 分振とうして、サンプルとプライマー・プローブをよく混合したのち RT-PCR 反応を開始する。
- RT-PCR 反応後、結果を解析して、ウイルスの有無および量 (半定量) を測定する。

#### 5. プライマー、プローブ配列

##### ★ADV

F primer gacatgacttttgagggtgga

R primer tcgatgacgccgcggtg

Probe FAM-cccattggaYgagcccacct-TAMRA

★Enterovirus (Coxsackievirus, B1, 2, 3, 4, 5, 6, enterovirus 70, 71, Echo virus 2, 5, 6, 8, 12, 13, 25, 30, Poliovirus 1, 2, 3) の各種ウイルスおよびウイルスサブタイプを測定可能)

F primer gccctgaatgagcgc

R primer aattgtcaccataagcagc

Probe FAM-cggaaccgactactttgggtgtccgt  
-iowaBK

##### ★TTV

F primer tccgaatggctgagttt

R primer cgaattgcccttgact

Probe FAM-actcactHeggcacccgc-iowaBK

(他のウイルスに関しては昨年度の報告書に記載のとおり)

#### 6. 検査系の感度、特異性の検討

##### (1) スタンダード作成

各種ウイルスのPCR産物をクローニングしたのち、遺伝子配列を確認した後、制限酵素 Sal I または Nco I で消化後一本鎖にし、フェノールクロロホルム処理・エタノール沈殿後、OD 値を測定した。RiboMAX™ Large Scale RNA Production Systems (プロメガ) により RNA を合成し、添付のマニュアルに従い、鋳型 DNA の分解後に RNA 精製した。濃度測定結果からコピー数をもとめ、MS2RNA 10ng/ul 溶液 (ロシュ) を使用して段階希釈液を作成した。

##### (2) 感度測定

披検ウイルス陰性を確認した細胞の DNA あるいは RNA 1  $\mu$  g に各ウイルスのスタンダード 50 Copy を加えたものを作成し、感度測定に用いた。

##### (3) 特異性の確認

GenBank の相同性解析により各種ウイルスプライマー、プローブ配列の特異性を確認した。陽性コントロールと特定のウイルスが検出された臨床検体を用いて、お互いの交差反応性の有無を検討した。

##### (倫理面への配慮)

検査系のバリデーションを行う際には一部ウイルス陽性の臨床検体を使用したが、その際患者検体は匿名化した上で受け取り、患者の個人情報と解析結果との連結が不可能なように配慮した。また、ウイルス検査以外の検査 (遺伝子検査など) は一切行わないこととした。

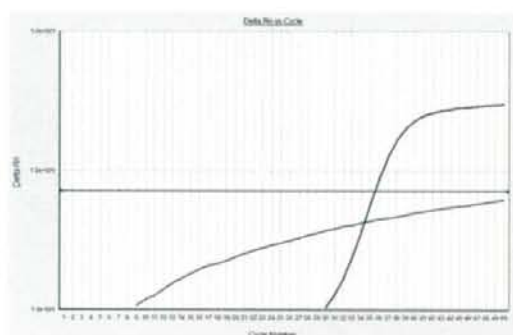
#### C: 結果

##### 1. 検査系の感度測定

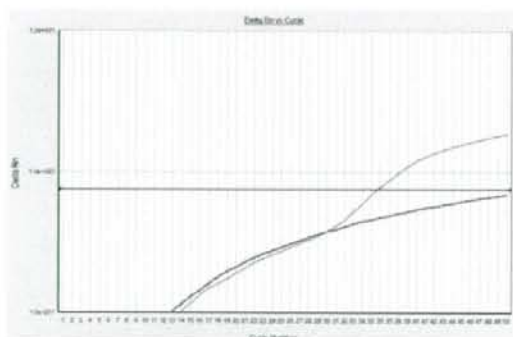
検査系の感度を測定するため、披検ウイルス陰性が確認されている細胞の DNA あるいは

RNA 1  $\mu$ g に各ウイルスのスタンダード DNA あるいは RNA を 100 コピー加えた測定用サンプルを各種ウイルス毎に作成した。作成したサンプルを使用した検討の結果、ウイルススタンダードを加えなかった場合は全て陰性だったが、ウイルススタンダード DNA あるいは RNA を加えたサンプルからは、すべて陽性シグナルが検出され、測定系は全てのウイルスに対して 100 コピー/ウェルの測定感度を持つことが確認された（以下に、HCV、TTV の測定結果を示す）。

HCV



TTV



### 3. 特異性（交差反応性）の検討

検査系の交差反応の有無を検証するため、披検ウイルス陰性が確認されている細胞の DNA あるいは RANA1  $\mu$ g に各ウイルスのスタンダード 100~10000 コピー分加えた測定用サンプルを各種ウイルス毎に作成した。測定の結果、すべてウイルススタンダードを加えたウイルスの検出用ウィルのみ陽性で、他のウイ

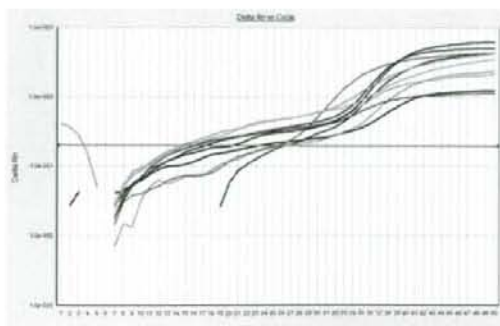
ルス検出用ウェルは陰性だった。したがって、交差反応性はなく検査系が特異的に披検ウイルスを検出可能なことが示された。

### 4. Ready-to-Use 検査プレートの作成

多数のウイルスの検査を簡便に行えるようにするため、適切な濃度に調製した試薬（各種ウイルスに対するプライマー・プローブの混合液）を予め 96 ウェルプレートの各ウェルに固相化した検査プレートの作成を試みた。試薬を固相化するには、オリゴマー混合液単独、安定化剤としてトレハロースを様々な濃度で加えて作成したウェルを用意し、ウイルススタンダードを 1000、100、10 コピー加えて感度測定実験を行った。その結果、トレハロースを 3.5mol/ウェル加えた場合、感度・安定性・保存性ともに最も良好な結果が得られた。

### 5. 作成した検査プレートのチェック

試薬を固相化した 96 ウェルプレート（作成後デシケーター内で3ヶ月保存したもの）の各ウイルスに対する感度測定を行い、予定した性能を持つことを検証する実験を行った。結果を下に示す。



図の説明：HAV, HCV, HEV, HGV, HTLV-1, HTLV-2, HIV-1, HIV-2, Entero, ADV, TTV の各種ウイルススタンダードを 100 コピー加えたサンプルをそれぞれ測定した結果を同時に表示した結果。すべてのウイルスを 100 コピー/ウェル以上の感度で検出可能だった。

## D: 考察

1. 各種ウイルスに対するプライマー・プローブを予めウェル内に固相化した検査プレートを作成し、3ヶ月間保存した後も感度を損なうことなく測定可能なことが確認された。このようなプレートを予め大量に作成しておけば、検査を行う際に多数のウイルスに対するプライマー・プローブを各検査ウェルに分注する手間が省け、非常に簡便に検査を行うことが可能になる。実際の検査に際しては、細胞から抽出した核酸溶液とバッファ、酵素などを混合してプライマー・プローブを固相化したウェルに分注して検査を行うことになるが、更なる省力化と検査の安定性を確保するため、現在バッファおよび酵素をも固相化した検査プレートの作成を試みている。

2. 細胞株、特に古い時期に樹立された細胞株は、口を使うピペットを使用していたためマイコプラズマの混入率が高く実験結果の質を低下させる大きな原因となっている。今後、今回作成したウイルス検査用系に加えマイコプラズマの検出も同時に行えるReady-to-Use検査系の作成を行い、細胞株の品質向上に繋げていく予定である。

3. これまでヒトウイルスの検査系を作成してきたが、今後はマウス肝炎ウイルス、ハンタウイルス、センダイウイルスなどヒト以外の動物細胞へ感染するウイルスに対する検査系の作成を行う必要がある。

## E: 結論

多くのウイルスを同時に検出できる新しいウイルス検査系を構築し、細胞バンクが保有している培養細胞に対するウイルス検査体制を確立することを目的に昨年までに確立したウイルス検査系の測定項目にエンテロ

ウイルス、アデノウイルス、TTV、を加えるとともに、Ready to Use 検査プレートを作成した。さらに、作成した検査プレートは、3ヶ月保存した後も100コピーのウイルス遺伝子を安定して検出する性能を持っていることを確認した。

## F: 健康危険情報

なし

## G: 研究発表

### 論文発表

1. Takahashi H, Sugita S, Shimizu N, Mochizuki M. A high viral load of Epstein-Barr virus (EBV) DNA in ocular fluids in a HLA-B27 negative acute anterior uveitis patient with psoriasis. *Jap. J. ophthalmol*, 52(2):136-138, 2008
2. Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, Mizukami, Morio T, Sugamoto Y and Mochizuki M. Use of multiplex PCR and real-time PCR to detect human herpes virus genome in ocular fluids of patients with uveitis. *Br. J. Ophthalmol*, 92(7):928-932, 2008.
3. Kido S, Sugita S, Horie S, Miyana M, Miyata K, Shimizu N, Morio T and Mochizuki M. Association of varicella zoster virus load in the aqueous humor with clinical manifestations of anterior uveitis in herpes zoster ophthalmicus and zoster sine herpette. *Br. J. Ophthalmol*. 92(4):505-8. 2008.
4. Nakamura H, Ishii C, Suehiro M, Iguchi A, Kuroda K, Shimizu K, Shimizu N, Imadome K, Yajima M and Fujiwara S. The latent membrane protein 1 (LMP1) encoded by Epstein-Barr virus induces expression of the putative oncogene



Bcl-3 through activation of the nuclear factor-kappaB. *Virus res.*, 131(2):170-179, 2008.

5. Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S.

A new humanized mouse model of Epstein-Barr virus infection that reproduces persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. *J. Infect. Dis.*, 198(5):673-82, 2008.

6. Kanno H, Watabe D, Shimizu N, Sawai T. Adhesion of Epstein-Barr virus-positive natural killer cell lines to cultured endothelial cells stimulated with inflammatory cytokines. *Clin. Exp. Immunol.*, 151:519-527, 2008.

7. Imadome K, Shimizu N, Yajima M, Watanabe K, Nakamura H, Takeuchi H, Fujiwara S. CD40 signaling activated by Epstein-Barr virus promotes cell survival and proliferation in gastric carcinoma-derived human epithelial cells. *Microbes Infect.*, (in press)

8. 木戸さやか、杉田直、二神百合、堀江真太郎、佐々木秀次、望月學、清水則夫、森尾友宏 ステロイド点眼治療中に樹枝状角膜炎を合併したヘルペス性角膜内皮炎の4例 *臨床眼科* 2008, 62:1061-1065.

9. 鴨居功樹、杉田直、木戸さやか、堀江真太郎、菅本良治、望月學、森浩士、宮永将、宮田和典、清水則夫 皮膚症状を伴わない水痘帯状疱疹ウイルス前部ぶどう膜炎の3例 *臨床眼科* 2008, 62: 1067-1071.

#### 国内学会発表

1. 今留謙一、矢島美彩子、清水則夫、中川温子、川野布由子、藤原成悦 NOG マウスを用いた慢性

活動性EBウイルス感染症モデルの作製 第5回 EBウイルス研究会 鳥取 7/18/2008

2. 鴨居功樹、杉田直、菅本良治、高瀬博、望月學、清水則夫、渡邊健 硝子体液の定量PCRで診断できた細菌および真菌混合感染による遅発性眼内炎の1例 第42回日本眼炎症学会 福岡市 7/4/2008

3. 山本紗也香、杉田直、二神百合、堀江真太郎、望月學、清水則夫、森尾友宏 角膜病変を伴わないHSV-1関連虹彩毛様体炎の3症例 第42回日本眼炎症学会 福岡市 7/4/2008

4. 宮永将、杉田直、清水則夫、森尾友宏、宮田和典、望月學 サイトメガロウイルスによる虹彩炎と角膜内皮炎の臨床像比較 第62回日本臨床眼科学会 東京 10/26/2008

5. 山本紗也香、杉田直、森尾友宏、清水則夫、望月學 帯状疱疹に伴う角結膜炎の涙液中VZV-DNA量および眼所見 第62回日本臨床眼科学会 東京 10/26/2008

6. 鴨居功樹、高瀬博、杉田直、菅本良治、田中裕一郎、望月學、渡邊健、清水則夫 Broad-range PCRシステムで診断した真菌性眼内炎の1例 第62回日本臨床眼科学会 東京 10/25/2008

7. 清水則夫 再生医療とウイルス安全性確保 第8回医薬品等ウイルス安全性シンポジウム 東京 12/12/2008

#### 国際学会発表

Fox CP, Long HM, Lowe C, Shimizu N and Rowe M. LMP2A AS A TARGET FOR T CELL RECOGNITION IN EBV-ASSOCIATED T AND NK CELL TUMOURS EBV Association General meeting, November 2008, Guangzhou, China.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

ISBN978-4-86031-056-1

C1032 ¥2500E

定価(本体2500円+税)



9784860310561



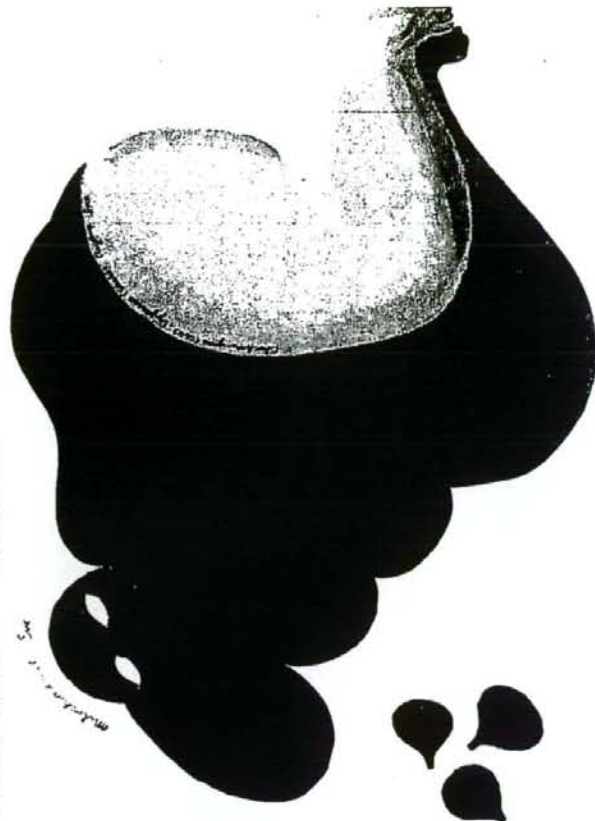
1921032025009

- 岩志和一郎 第1回 序論
- 増井 徹 第2回 ヒトの生物学としての医学の時代
- 第3回 ヒトゲノム研究とその周辺
- 第4回 医学・生物学における問題の所在
- 第5回 見も知らぬ彼らの未来のために
- 白井泰子 第6回 ヒトゲノム解析研究が医療に与えた衝撃
- 第7回 生命初期における人為的介入技術と医療
- 第8回 個人の遺伝情報の取扱いをめぐる諸問題
- 第9回 再生医療研究のゆくえ
- 第10回 近未来からの質問状
- 長谷川知子 第11回 臨床に必要な遺伝子と染色体の基礎
- 第12回 遺伝性疾患による障害とは
- 第13回 出生前診断と医師のジレンマ
- 第14回 医師が恐れる「訴訟」とは
- 甲斐克則 第15回 生命科学と法的ルール

# 講義 生命科学と法

# 講義 生命科学と法

岩志和一郎／増井 徹／白井泰子  
長谷川知子／甲斐克則



尚学社



尚学社



## 第2回 ヒトの生物学としての医学の時代

### 1. 講義の目的

私の担当する第2～5回までの講義は、「ヒトという一（いち）生物種」が科学研究の対象になった時代に、法がどのような役割を果たしたかという課題について、皆さんが考えるための基礎的な知識と視点、考え方を伝えることを目的としています。

### 2. 「医療」と「医学・生物学研究」、「ヒト」と「人」

この問題がもっとも先鋭化する領域として、生命科学の中で「人の生物学としての医学」、すなわち「医学・生物学」の分野、特に人の病気の研究を取り上げます。というのは、ここでは、「医療」と「医学・生物学研究」、「ヒト」と「人」という対立軸を鮮明に捉えることができると考えるからです。

「医療」と「医学・生物学研究」、「ヒト」と「人」の問題は2組の2項対立で考えられるような単純な問題ではないのです。とはいえ、「入門」としてはわかりやすい立場をとるよう心がけました。それでも全体が玉石色に見えるのは、私の力不足はあるのですが、ここで論じようとしている問題自体がそうであるからという部分もあるのです。整理するということですが、この問題を鮮明な2項対立にする操作ではないのです。

「こうしていつも振り出しに戻る過程の繰り返しに、われわれの眼の曇りはすこしずつ薄れ、現実に対するわれわれの姿勢は正しさとしたたかさ加えてゆくのではないだろうか。わたくしはこのささやかな願望をいたす中に空気に霧消させたくはない。」と川喜田愛一郎氏が述べていることは、この問題が繰り返される中で、豊かさを生む問題であり、希望をもって対処し、考え続ける以外ないことを鮮明に示しているのです。

まず、「人」と「ヒト」の差異について解説を加えておきます。「ヒト」は生物種としての人間を意味し、「人」は尊厳と基本的人権をもつ人間を意味しま

す。それらは、ひとつの肉体の中に詰め込まれているのです。そして、医療と医学・生物学もその本質においてこの2つの性質の両方をもっています。そのため、この2つの側面を引き離し、論じることの意味がないと考えられます。

このような2つの人間の側面を前提として、「医療」と「医学・生物学研究」の違いは、目の前の患者との関わり方です。「医療」は「目の前の『この患者』の健康の増進」を、場合によっては「この患者のみ」という性質をもつものです。一方で、「医学・生物学研究」は多くの今の患者を対象とした、未来の患者に益することを考えるものです。研究は1例1例積み重ねられたとしても、そこで問われているものは「その1例」ではなく、そこに積み重ねられた「多くの症例」を集めた集団的な出来事の観察です。この点で医療と医学・生物学は根本において違ったものです。

そしてこの2つの領域が重なりをもたなければ、問題は少し簡単では、といえるかも知れません。しかし、実際には、何度も違った角度からお話しするよう医療を通して集められた過去の多くの患者のデータを利用した医学・生物学研究の仮説を、多数の患者によって検証し、目の前の1人の「この患者」にFittingする行為が医療であると考えることができます。この円環の中に医療も医学・生物学研究もがちりと組み込まれているのです。

例えば手術の基礎となる人体の構造、診療の基礎となる病気の記載、治療を担う薬の開発や適応などを考えても、それらは医療と医学・生物学研究が積み重ねてきた過去の膨大な知識が生かされているのです。このように、今までの医療を考えても、それを医学・生物学研究と引きはなすことはできません。

### 3. 不鮮明になりつつある境界

現在の医療と医学・生物学研究はその境をさらに不鮮明にしつつあるのです。その原因として、人・ヒトを科学的に研究できる基盤が作られ、実験的医療の幅が広がり、人々がよりよい治療を貪欲に求めるようになったことを掲げることができます。すなわち、現在医療の選択の幅は医療技術と医学・生物学研究の進歩によって格段に広がり、先端の、もっとも進んだ治療というのは、実験にしか過ぎないという側面をもち、かつ「最善の医療を受けたい」という欲望が患者を掻き立てて「実験的医療でも良いから『最善の医療』を受けたい」と



いう状況をつくっています。

例えば、生体間の肝臓移植は、根治療法的側面をもつと考えられています。しかし、現在小児の先天性の障害への治療から、大人の肝炎ウイルスによる肝がんの患者に適用拡大されています。小児の場合に根治としての意味をもつ可能性が高いのに対して、大人の肝がんウイルス感染者では感染により移植肝臓が早期にだめになる確率が高く、一時避難的措置という性質が強いと言われていきます。このように、治療法が同じでも適用患者によって、医療としての意味合いが全く異なるのです。医療の幅が広がったという意味は、このような問題まで含む広い領域の問題です。後で別のコンテクストの中で論じますが、ヘルシンキ宣言7条は「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、診断および治療方法に危険と負担が伴う」と述べています ([http://www.med.or.jp/wma/helsinki02\\_j.html](http://www.med.or.jp/wma/helsinki02_j.html))。ここで、危険と負担があるのは、医学研究のみでない点に注意する必要があります。一般に、医学・生物学研究における危険のみが喧伝されがちですが、医療自体に含まれる危険と負担の問題を、研究のそれと比較することが重要になっていきます。

もうひとつは、医療を取り巻く環境の急速な市場形成がもたらす問題です。交換可能な価値としてヒト由来の試料や情報や情報利用されることと、医療の経済化、患者の消費者化の動きとの関係は思っているよりも深く、ここに人を均質化する科学の持つ比較検証の問題が入ってくると、「人」は一段と「ヒト」に近くなると考えられます。

最後に再度強調しておきたいことは、医療では人が、医学・生物学ではヒトが問題になるわけではないことです。医療では、ヒトの肉体が治療の対象であると同時に、患者の統合された人としての存在が重要な位置を占めます。一方医学・生物学では、生物としてのヒトが研究対象となりますが、と同時に、そこにはヒトと不可分の人を一層強く意識することが必要となるのです。

#### 4. 私の闘病体験

医療の問題について述べるときに、ひとつお話ししておいた方がよいと思われる私の経緯があります。35歳を中心にしてアメリカで2年、帰国して2年、約8カ月の入院をささんだ計4年の闘病経緯です。帰国して長期に入院したとこ

ろは、アメリカにいる時から私の体を見てくれた友人が助教授であるなど、私自身にとつて、良き手に委ねられた医療の感覚がいろいろな思考の元となつています。そこでは、ヒトとして観察され医療を受ける自分と、人としてケアされている自分が同時に存在するという実感をもつことができました。とはいえ、経過は順調なものではなく、医師にとつて意外な展開の連続であり、私自身もこれで死ぬかなと覚悟をしたこともありました。入院中最も大きな安心は、「ここでだめならまあいいか」と思えたことです。本当に在り難いことであつたと感謝しています。検査自体すら危険が伴い、少しずつ試しながらデータを取つて考えていく診断の基本を知ることができたことも重要な体験でした。

また治療すら診断の仮説の上になり立つ、ひとつの実験であるということが理解できました。退院するときに、教授から「すべての状況から私たちは診断し、治療を行ったが、あなたが元気になるならなら、その診断と治療は間違っていたということになる、だから元気になるよ」といわれたことは、診断・治療の仮説性を示すとともに感銘深いことでした。そして、体験が何かを語る資格になると考えたことはないのですが、実感をもつことは、論理を構築する支えとなる部分があります<sup>1)</sup>。

#### 5. 自己紹介を兼ねた問題意識について

もうひとつ本講義でお話するような問題へと筆者が係わってきた経緯について話しておきます。というのは、問題への係わり方が私の視点を理解することに大きな意味をもつと考えるからです。

筆者は理学部の動物学教室で発生学を学び、ヒトのがんを研究していました。米国留学中に実験動物を使うのをやめ、ヒト組織を研究材料として使い始めました。後でお話ししますが、人間という生物の研究環境は、研究材料の入手以外の部分では良く整っています。そこで、帰国後もヒト組織を材料として研究を続けていきました。1995年に現在働いている厚生労働省の細胞バンクに移り、日本ではヒト組織の入手の手続が整備されていないことが判りました。そこで、ヒト組織の研究利用がどのように社会に受け入れられる形にできるかという課題にかかわり始めました。主題は「人・ヒトに由来する研究資源を社会的に承認された形で医学・生物学研究に利用するために何が必要か」ということです。

ここには、法的、倫理的、社会的問題といわれるものと、科学的・技術的問題が含まれるのです。そして、本講義では科学的・技術的な問題意識から法的、倫理的、社会的問題を考えます。

#### 6. 人のことはヒトで一外からの規制と内からの規律

これまでの研究から、動物実験をくり返しても、ヒトのことが判るとはかぎらないことが明らかになってきました。また、動物愛護の観点からも、実験動物の利用に対する反対が強くなっています。それらの理由から現在在は、「ヒトで研究できることはヒトを利用する」という時代になっているのです。そのような中で、人・ヒトを研究することが重要であるというならば、研究者や医師にとって人・ヒトの研究資源を倫理的に取り扱い内的な動機づけを育てる「倫理指針」や「法」の構成が必要です。

法や指針がもつ機能が外からの規制であるならば、倫理がもつ機能は内的な動機づけを伴った規律であり、医学・生物学での問題は内面的規律問題として捉えるべきだと筆者は考えています。そして、この視点を補足し、方向性を与え、研究者と社会で共有できる規範へと育てるものとして倫理指針が外の殻として重要な役割を果たすと考えるのです。そして、このような場で「法」が果たす役割はどのようなものでありうるでしょうか。

ヒトを研究する必要の高まりの中で、政府は1998年の旧厚生省の黒川委員会がヒト組織の研究開発利用について検討して答申し、その後2000年代に入りゲノム研究指針、疫学研究指針、臨床研究指針というように整備しました ([http://www.imext.go.jp/a\\_menu/shinkou/scimst/main.htm](http://www.imext.go.jp/a_menu/shinkou/scimst/main.htm), <http://www.mhlw.go.jp/general/seido/kousei/henkou/index.html>)。しかし、指針が整備されていく過程で、いろいろな意見をもっていた医師や医学・生物学研究者が受身になりました。すなわち、医師や研究者は「これは法律や指針上問題ありませんか」という具合に、自分の研究に関わる問題について外の規制のみにこだわる、受身の問題として捉えるようになりました。

このことは、ヒト由来研究資源の利用が、どうしても見えないところで研究者や医師だけが関わって起こる可能性があるという性質を考ええると難しい問題を投げかけます。見えないところで事を行う可能性が高いがゆえに、医学・生

物学に関わる研究者や医師の内的規律があって、始めて科学としての医学・生物学研究を考えることができのです。

ヒトを科学的に研究することの恩恵を私たちは受けています。現在私たちが受けている医療や医薬品、また公衆衛生のインフラなどは、科学・技術の成果です。そして、このような成果は多くの困難を乗り越えながら、過去の過ちを正すかたちで試行錯誤の中から、積重なりとして形成され、ヒトを研究する基礎も最終的な目に見える成果とは独立の部分もしながら形成され、ヒトゲノムプロジェクトをひとつの契機として爆発的に人・ヒトの医学・生物学研究の環境が整ってきたのです。

この広範な問題の根底には「人」を「物」として、「交換可能な物」として取り扱い、或いは「要素」としてしか見ない見方があります。そして、この現代における「人・ヒト」の位置づけの姿容が、筆者が「医学・生物学の研究を進める」とは何なのかという問題に取り組みでいかなければならないと考える原点でもあるのです。

#### 7. 問題の所在

これらの現在の「科学・技術」の問題点は、その進歩の速度が速すぎて、「法や規制」が追いつくことができないのが問題であるといわれます。しかし、ここにはもう1人の役者がいます。それは、「科学・技術」や「法と規制」の後に控えめに追い、追いつくことができない「policy and ethics」です。これを日本語で「政策と倫理」と訳してみてもこの2つの言葉の仲はしっくりきません。しかし、英語ではこの2つの言葉は結びついてよく使われます。次のように訳してみるとしっくりくるのではないでしょうか。「policy」を「私はどのような世界に住みたいのか」「私はどのような世界を作りたいたいのか」或いは「私はどのような世界を次の世代に引継ぎたいのか」という問いとして、そして「ethics」を「policyは今の私に何を求めているか」あるいは「policyのために今の私は何ができるか」という問いと結びつくものとして定義すれば話はすっきりします。

科学・技術にしても、法や規制にしても、私たちが望む社会のために生かされることに意味があるといえます。しかし同時に、後に詳しく述べるように科



学はそれ自身の原理をもつのです(第3回11~14)。そのために、ヒトの生物学としての医学が、時には非人間的な衝動をもつことがあるのです。そして、この非人間的な衝動が、「次の患者の救いのため」という言い訳をもったときには、問題はより大きくなるように思われます。今ここでは、犯罪的な衝動とは別の問題について述べています。すなわち「善意の【医師、医学・生物学研究者】が持つ課題」を述べているのです。

「善意」という言葉と「内の規律(倫理という言葉が日本語でも教養的なひびきを選けるために使用)」という言葉は、全く異なった位相をもちます。「善意」のもつ無批判な性格は、内の規律がもつ迷い、決断し、そして反省するということと異なったものです。イギリスのことわざに「地獄への道は善意に敷き詰められている」というものがあることが何を意味するかを知ることが重要です。本講義の記述に時に現れる主題であると同時に、後に続く白井氏、長谷川氏の講義ではより大きな意味をもつ問題であると考えます。

## 8. 時制と人称の問題

今度は Policy and Ethics について、時制と人称に注目して考えてみます。それは、「現在の私」が、「未来の彼ら」への責任を負うという問題です。今の自分の問題でもないことに、今の私がどのように関わらうのか。この問題に答えることが本講義の目的ではなく、本講義ではこの問題の周りをぐるぐる回り、一回りしたときに、出発点よりもよりよい問題への見晴らしを手に入れることができたと考えています。

Policy and Ethics の問題に含まれる「自分のもの」が「他人のもの」へと移っていく段階を考えてみます。

①まず、「私の何が私のものなのか」という問いから始まります。自分自身の心体に対して自分がどのような関わりをもつかという問題です。

②次の段階が「私の何が私たちのものなのか」という問いです。これは、私から私たちと「自分以外の人を含む集団」が、私の一部について係わることを示します。共有するといふ枠組みであり、渡す「私」と共有する「私たち」の間が時間的・空間的に直接つながっている世界の出来事です。

③次の段階は、「私の何があなた(たち)のものなのか」というものです。これま

での2つの場合は自分を含んだところへの引渡しが想定されています。しかし、今度は「あなた(たち)」という私から離れた、断絶されたところへ、私が私の一部を渡すということを意味します。私とあなたは明らかに関係があり、私と向きあっているけれども明らかに異なる主体です。

④最後の段階として、「私の何が(見も知らぬ)彼らのものなのか」ということとなります。この段階では、私の一部は全く断絶して時間的・空間的に、それ故に知覚的に断絶した「見も知らぬ彼ら」のものとなります。ここでは、「私が渡すという行為」は、相手がないので成り立たないといえます。私の一部が、私の知らないところで、私の見も知らない彼らのものとなるということを考えることになるのです。私の感覚的範囲すら超えた関わりを、どのように支えるのか。大きな問題となります。他人が私の代わりに関わらざるを得ないのであります。

研究での「由来者」と研究者の現代的な係わり方はこのような最後に示した、「私(由来者)の何が見も知らぬ彼ら(患者たち)のものなのか」を支えるために、媒介者として研究者が集団として何ができるかと捉えることができるのです。

医学・生物学研究のためにヒト由来の試料や情報(まとめてヒト試料或いはヒト研究資源と表現します)を提供する人たちを一般的に被験者、研究対象者、研究参加者と呼びます。これらの人たちを本講義では由来者(医学法科学の宇都木伸氏の用語)と呼びます。それは、前の3つの呼び名がもつ直接性が失なわれ、間接性を得たところに、現代的課題があると考えているからです。

人を対象とした研究はこれまでは、②或いは③のカテゴリーに入るものと考えていました。対面でのつながりのわかるような関係——医師患者関係とその延長——が重要と考えられてきたのです。そこでは、信頼という人間同士をつなぐメカニズムが働く余地がありました。ところが、現代の医学・生物学研究は、多くの由来者の協力を得て、多くの研究者、医師、そして企業や私が働いているヒト由来研究資源バンクなどが係わって行われる大きな研究体制の中で行われるようになっていきます。その点で、「個人」や「人」に対する信頼ではなく、「機構」とか「制度」に対する信用へと変化しているのではないのでしょうか。そして、その機構や制度の由来者に対する適切性に研究者は責任をもつと考えることが妥当となったのかもしれない。由来者への直接の責任といわ