

200936224A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性  
幹細胞の委託作製とバンク化に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 江良 択実

平成22(2010)年 3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性  
幹細胞の委託作製とバンク化に関する研究

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 江良 択実

平成22(2010)年 3月

## 目 次

I. 平成 21 年度研究班名簿	-----3
II. 総括研究報告	
難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性幹細胞の委託作製と バンク化に関する研究	-----4
江良 択実	
(資料1) 倫理委員会からの研究承認書類	
(資料2) 難病研究資源バンクの説明書・同意書 (iPS細胞樹立用)	
III. 分担研究報告	
1. ヒト皮膚からの皮膚線維芽細胞樹立に関する研究	-----27
尹 浩信	
2. 遺伝子挿入のない iPS 細胞を用いた分化誘導法の 開発に関する研究	-----29
西中村 隆一	
3. センダイウイルスベクターを用いた遺伝子挿入のない疾患由来 iPS細胞株の樹立に関する研究	-----32
房木 ノエミ	
IV. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----35
V. 研究成果の刊行物・別刷	-----36

平成 21 年度 厚生労働省難治性疾患克服研究事業  
 難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性幹細胞の委託作製とバンク化研究班

	氏名	所属等	職名
研究代表者	江良 択実	熊本大学 発生医学研究所 幹細胞誘導分野	教授
研究分担者	北川 道憲	熊本大学 発生医学研究所 系統発生分野	助教
	尹 浩信	熊本大学大学院生命科学研究部 皮膚病態治療再建学	教授
	西中村 隆一	熊本大学 発生医学研究所 腎臓発生分野	教授
	房木 ノエミ	ディナベック株式会社 細胞治療・再生医療ユニット	リーダー
研究協力者	小椋 光	熊本大学 発生医学研究所 分子細胞制御分野	教授
	神人 正寿	熊本大学大学院生命科学研究部 皮膚病態治療再建学	講師

難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性幹細胞の委託作製と  
バンク化に関する研究

研究代表者 江良 択実 熊本大学発生医学研究所 教授

研究分担者 北川 道憲 熊本大学発生医学研究所 助教

### 研究要旨

希少性が高く有限である難治性疾患の生体試料を有効利用するために、難治性疾患由来人工多能性幹細胞(iPS 細胞)の医師や研究者からの委託作製と、作製した iPS 細胞のバンク化システムの構築が研究目的である。同じバンク事業に関わる基盤研、理研と共同で事業を行う体制を確立し、生体試料の収集に向けての規則、患者への説明・同意書を厚生労働省担当者らと共に作製した。iPS 細胞の樹立について所属機関の承認を得て、さらにこれらの連携バンク事業についても、その書類を一般、ゲノム、臨床倫理委員会に申請した。iPS 細胞作製については、合計 10 症例、皮膚生検後に線維芽細胞を樹立した。このうち 4 症例については、研究分担者と共に、1 症例につき数十株の iPS 細胞クローンの分離が終了し、現在分化能力や未熟マーカーを検査中である。残り 6 症例中、4 症例ではすでに iPS 細胞誘導に向けての初期化因子導入済みであり、コロニー形成が進行中である。また、未分化マーカーを免疫染色にて解析する方法を確立し、分化マーカーの発現を検出する定量 PCR 用プライマーを作成して iPS 細胞確認方法の標準化を確立し、樹立した iPS 細胞の次年度以降の検定準備を進めた。

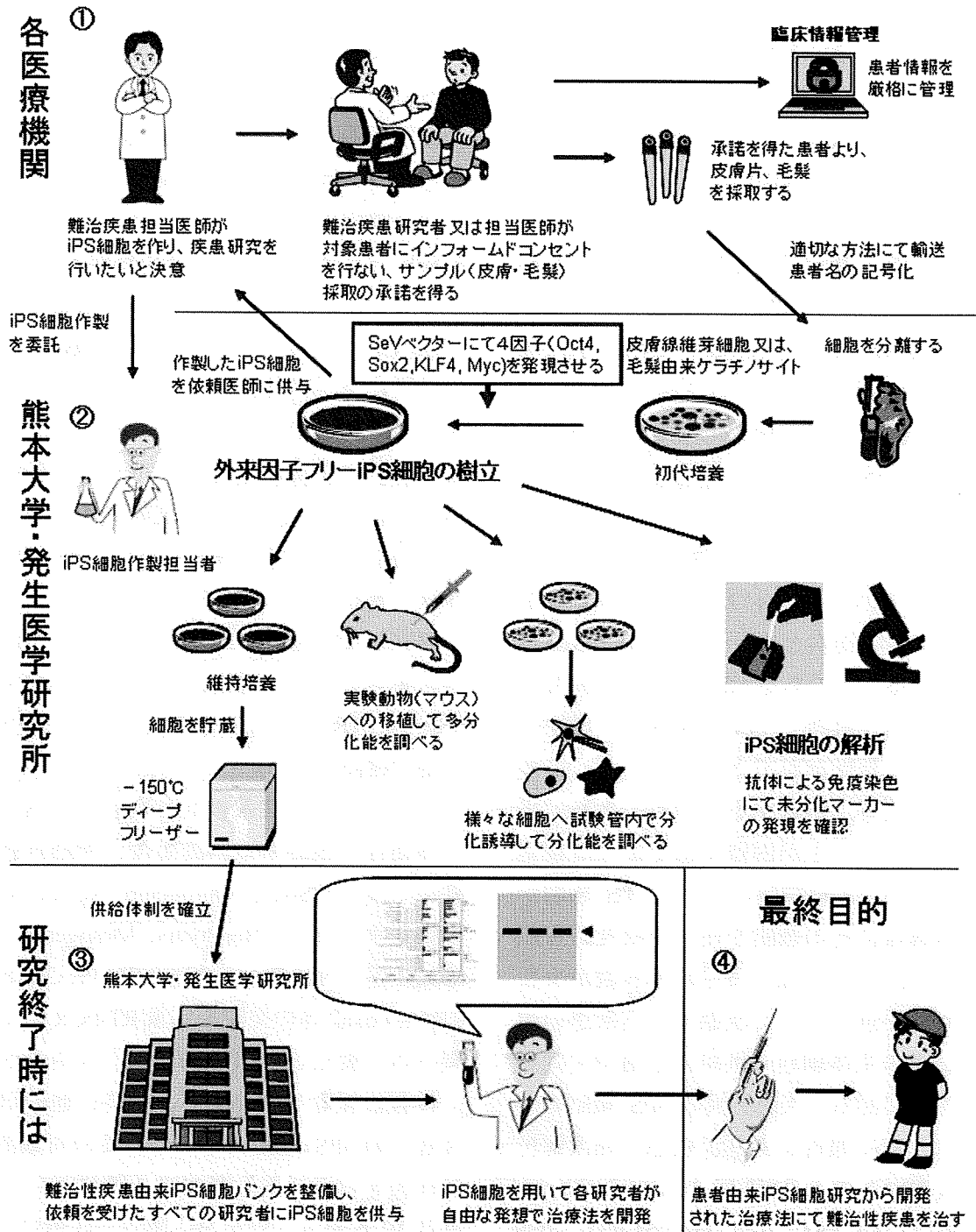
#### A. 研究目的

症例数が限られる難治性疾患の生体試料は、希少性が高いために、公平性を確保した提供体制が必要とされる。しかし、仮に公平性を持つ提供システムを構築したとしても、生体試料そのものは有限であり、多くの研究者に対して要求に応じて幅広く供給することは困難な部分が多い。さらに、同一患者から何度もサンプルを採取することは、患者の精神的・肉

体的苦痛を招く行為であり避けるべきである。そこで、以上の問題点を克服するために、難治性疾患の生体試料から人工多能性幹細胞(iPS 細胞)の委託作製、作製後依頼を受けた研究者に引き渡すとともに、バンク化して研究者からの依頼があれば、どなたにでも提供できるシステム構築を目指す(図1)。このシステム構築に向けて以下の課題を期間内に達成する。

図1 研究の流れ図

難治性疾患由来外来因子フリー人工多能性幹細胞の委託作製とバンク化



1. iPS 細胞樹立に向けての難治性疾患の患者組織提供方法の開発
2. SeV ベクターを使った外来因子フリー iPS 細胞の確立
3. 作製した iPS 細胞をバンク化し提供するシステムの構築

iPS 細胞作製には非組込型センダイ・ウイルスベクター(SeV)を用いる。このベクターは染色体に組み込まれることなく、細胞質内で遺伝子を発現することができる。したがって、iPS 細胞作製のために必要な初期化因子(Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc)が染色体に組み込まれずに iPS 細胞を作製可能で、初期化因子の影響を作製した iPS 細胞から排除することができる。

この研究での最も直接的な成果は、多くの研究者へ容易に疾患由来の細胞を iPS 細胞の提供という形で行うことが可能となることである。iPS 細胞は試験管内で多能性を維持したまま無制限に増幅が可能で長期保存ができる。したがって多くの研究者に提供することができる。また採取することが困難であるような細胞(たとえば神経細胞など)も iPS 細胞から誘導後にその細胞を使った研究が可能となる。これらは、まさに患者数が少なく研究が進みにくい状態である疾患の患者由来の生体細胞の供給力を増やす効果と同じである。疾患特異的 iPS 細胞の樹立はすでに報告があり、疾患の病因解析に役立つとの知見が得られている(Nature 457:277-281,2009; Cell 136:964-977, 2009 等)。以上より、難治性疾患由来の iPS 細胞を作製し医師や医学研究者に供給する

システムの構築が、研究の裾野を広げ、病因の解明と治療方法の開発に貢献できると考えられる。

## B. 研究方法

1. iPS 細胞樹立のための皮膚線維芽細胞の樹立

健康者のヒトの皮膚生検(直径約 5mm 片)から、皮膚由来初代線維芽細胞培養方法を確立する。

2. SeV ベクターを使った iPS 細胞の確立

SeV ベクターによって患者由来細胞へ初期因子(Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc)を一過性に発現させ、もっとも簡便で、確実な iPS 細胞作製方法の確立を行う。また本研究事業関連の研究グループ責任者等と連絡をとり、疾患研究のための iPS 細胞樹立に対しての説明を行い、iPS 細胞樹立の要請があれば樹立を行う。

樹立した iPS 細胞については、1)アルカリフォスファターゼ染色 2)Nanog, Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60 の免疫染色による iPS 細胞の確認を行う。

さらに、三胚葉系細胞への分化を誘導し多能性を確認する。誘導後、神経外胚葉マーカー: Sox1, Neurogenin, Nestin 等、中胚葉マーカー: Brachyury, Mesogenin, Mesp2 等、内胚葉マーカー: Sox17, CK18, CK19, Foxa2 等の発現を定量 RT-PCR にて調べる。樹立した iPS 細胞は、すみやかに作製依頼者へ供与する。同時に他の研究者への iPS 細胞供与についての同意書の作製を行う。同意後に、1 株について最低 10 本のストックを作製し、-150℃のデープフリーザーへ貯蔵する。

(倫理面への配慮)



### 1) 倫理審査

正常と疾患由来の iPS 細胞作製とその解析について所属機関の倫理委員会へ申請書類の提出を行う。患者サンプルの所属機関以外からの提供については、提供機関の倫理審査委員会の承認があることを確認した後、研究代表者らの所属機関での倫理委員会での承認を得た上で研究を遂行する。バンク化については、バンク化関連の他の施設所属機関と連携をとり、それぞれの所属機関での倫理委員会での承認を得る。

### 2) 人権擁護上の配慮

本研究は、個人ゲノムそのものの情報を得るわけではない。作製した iPS 細胞等を用いた病因解析・治療薬開発研究は本研究では行わない。また、研究の成果を学術雑誌に投稿することや、学会等で発表する場合、個人が特定される個人情報公表は公表されることはない。本研究のために特別に用意した番号によって管理し、人種・性別・年齢・診断名以外の患者情報はサンプル提供を行う臨床機関にて管理を行う。作製した iPS 細胞は所属機関において施錠できる研究室にて管理し、一般の人々やこの研究に関係ない他の研究者の目に触れることはない。したがって、iPS 細胞から個人の特定の情報につながることはない。また、ヒト iPS 細胞から個体を作製すること、ヒト胚への導入、ヒト胎児への導入、生殖細胞の作製は、行わない。また、バンクからの提供については連結不可能匿名化で行う。

### 3) 不利益・危険性の排除や説明と同意

サンプル採取には、研究目的・予想さ

れる成果、患者情報の保護、予想される不利益等を同意書に記述している内容に準じて、担当医からの十分な説明の後(必要であれば代表申請者も同席して)、同意(インフォームド・コンセント)を得て行う。

皮膚由来線維芽細胞を得るための皮膚生検は通常の医学診療の範囲で行われている方法に準じて行う。生検は、直径 5mm ほどを前腕伸側から局所麻酔を使い行う。痛みは、局所麻酔注射の時のみである。瘢痕は普通のけがの場合と同じである。以上より、危険性はほとんどない。

本研究による成果が知的財産権の対象になる場合もあるが、提供者に権利が帰属したり、利潤を得ることはない。サンプル提供者にご負担していただく必要経費はなく、また、サンプル提供による謝金・交通費の支給もない。研究にかかる費用については、研究費から支出する。

## C. 研究結果

### 1. バンク事業の連携

同じバンク事業に関わる独立行政法人医薬基盤研究所、独立行政法人理化学研究所バイオリソースセンターと共同で事業を行う体制を確立し(図2)、生体試料の収集に向けての規則、患者への説明・同意書を厚生労働省担当者らと共に作製した。

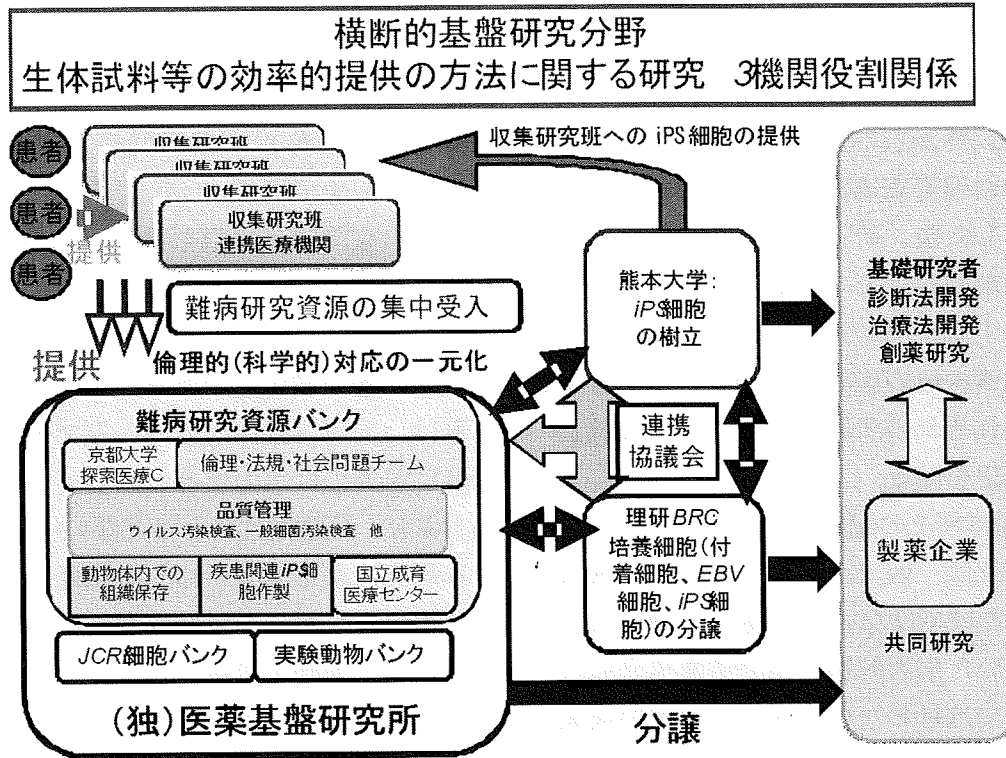
### 2. 倫理委員会での審議

疾患由来 iPS 細胞作製と解析については3つの熊本大学倫理委員会(一般・ゲノム・臨床)へ申請書類と同意書を提出し承認を受けた(資料1-1, 2, 3)。また、バンク化については上述のバンク



図2 バンク事業に関わる機関の連携図

(基盤研 亀岡先生、増井先生 作成)



化研究班と共同で作製した書類と同意書を iPS 細胞のバンク化用に改変し(資料 2)、所属機関の倫理委員会へ提出、審議中である。

### 3. 臨床データの管理

使用した生検サンプルの患者の臨床データはすべてサンプルをいただいた診療機関で厳格に管理されている。その上で、年齢、性別、疾患名の情報のみ受け取った。いただいた皮膚生検サンプルは培養開始前に記号をつけた (A000001 から開始、表 1)。また、バンク化の前段階であるので匿名連結可能としている。

### 4. 皮膚由来線維芽細胞の樹立

患者からの同意が得られた 10 例の症例において皮膚生検を行い、iPS 細胞作成に

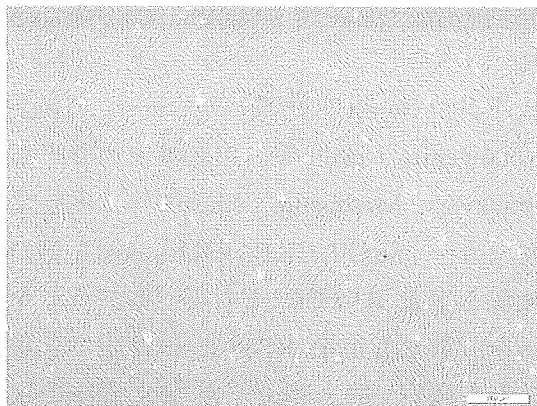
必要な皮膚由来の線維芽細胞を樹立した (表 1)。生検は約 5mm 片の組織から行った。

表 1 iPS 細胞作製中の疾患名

A000001	糖原病 type1b
A000002	家族性アミロイドポリニューロパチー
A000003	家族性アミロイドポリニューロパチー
A000004	家族性アミロイドポリニューロパチー
A000005	sporadic ALS
A000006	三好型筋ジストロフィー
A000007	sporadic ALS
A000008	Variant CMT
A000009	皮膚筋炎
A0000010	familial ALS

皮膚組織をメスを用いて細かくバラバラにして（ミンス後）、トリプシンを用いてさらに細胞1個1個に分離した。その後、その細胞片を培養した。約1週間後に線維芽細胞様の細胞集団の増殖が始まった（図3）。培養液の交換を週2回行い、細胞をトリプシン-EDTAを使ってはがしながら、増幅する。10cmディッシュ1枚の線維芽細胞までに増幅させて、さらにpassage 4まで増幅しながら、細胞ストックを平均5本以上作成し、-150°Cのデープフリーザーへ貯蔵した。

図3 皮膚由来の線維芽細胞

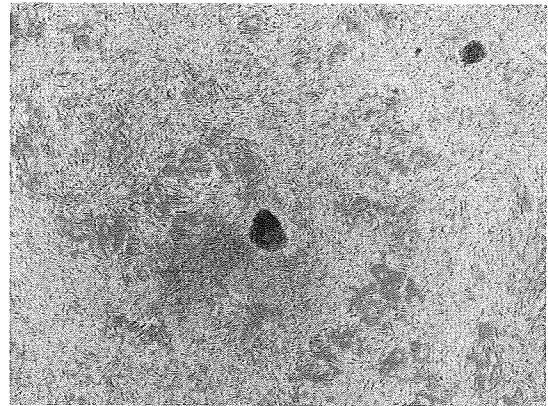


#### 4. iPS細胞の樹立

樹立した線維芽細胞を用いて iPS 細胞の作製を行った。iPS 細胞作製中の症例は表 1 に示す。線維芽細胞に初期化因子 (Oct3/4, Sox2, KLF4,c-Myc) を持つセンダイ・ウイルスを感染させ、感染後 1 週間目にマイトマイシンで処理したマウス胎仔初代線維芽細胞(MEF)上へまきなおした。感染から 14 日後ぐらいからコロニーが出現した(図4)。この時点でコロニーが iPS 細胞であるかをおおまかに把握するためにアルカリフォスファターゼ(ALP)染色を施行した。ヒト線維芽細胞と MEF

は、アルカリフォスファターゼ染色陰性であり、これに対して iPS 細胞は陽性である。

図4 ウイルス感染 17 日目のコロニー



x 40 倍 (上)、x 100 倍(下)

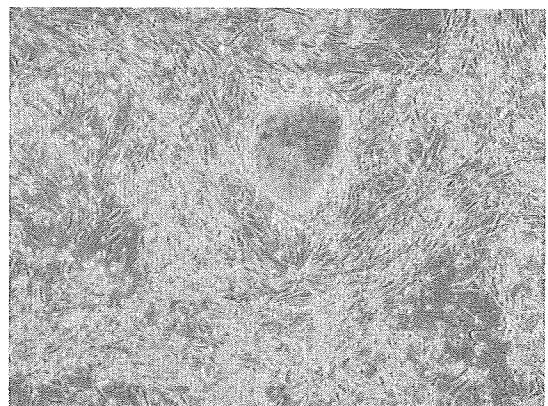
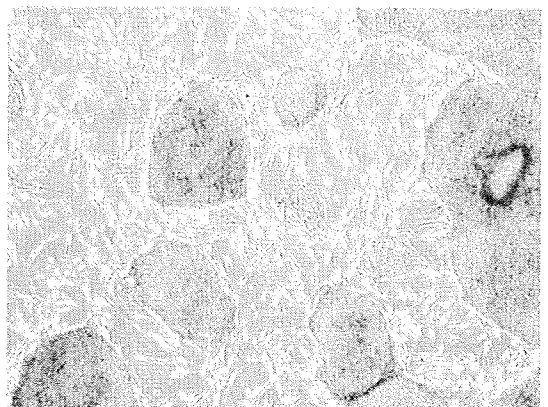


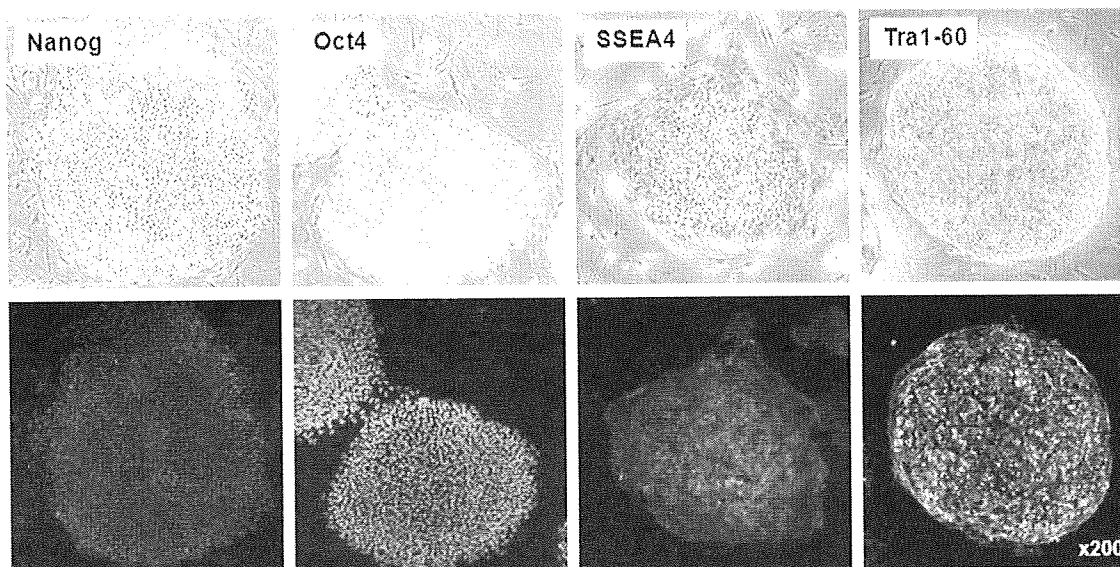
図5 ALP 陽性のコロニー



ほとんどのコロニーが陽性に染まり iPS 細胞類似の細胞コロニーが形成されてい

図5 未分化マーカーの免疫染色

未分化マーカーの免疫染色方法のルーチン化



ることが明らかとなった。そこで培養液交換を繰り返し、ウイルス感染1ヶ月後に単離できるほどの大きさになった。その時点でコロニーのピックアップを行い、スケールを拡大しながらクロン化に向けての培養増幅を進めている。増幅後に細胞ストックを作成しながら、未分化マーカーの発現を免疫染色にて調べる予定である。

#### 5. 未分化マーカー発現の検討

未分化マーカーを免疫染色にて解析する方法を確立した。すでに樹立されているヒトiPS細胞を用いて未分化マーカーであるアルカリフォスファターゼ、Nanog, Oct3/4, SSEA4, Tra1-60発現を免疫染色にて調べた(図5)。免疫染色条件を検討してこれらのマーカーの発現を確認できる条件を確立した。今後この染色条件を用いて作製したiPS細胞の検討を行う予定である。また、その他の未分化マーカーについては、PCR用のプライマーを作製した。

#### 6. 分化マーカー発現のチェック方法の確

立

ヒト用の神経外胚葉マーカー：Sox1, Neurogenin, Nestin等、中胚葉マーカー：Brachyury, Mesogenin, Mesp2等、内胚葉マーカー：Sox17, CK18, CK19, Foxa2等の発現を定量RT-PCRにて調べるプライマーを設計して定量RT-PCRに使用できることを確認した。樹立したiPS細胞の次年度以降の検定に用いる。

#### D. 考察

##### 1. 研究倫理について

まずバンク化にあたり、サンプルの連結についてどのように行うかが1つの問題である。国のゲノム指針に従いバンクからiPS細胞を提供する際には、連結不可能匿名化が必要である。しかし、バンク内ですべてを連結不可能匿名化してしまえば、将来疾患名の変更があった時などに対応できず、研究に使用しにくいバンクになる可能性がある。この点については、現在所属機関の倫理委員会申請で

はバンクから出す部分での連結不可能匿名化として審議をしていただいている。

## 2. サンプル収集

今年度は開始したばかりということもあり所属機関の先生方を中心に iPS 細胞の作製の PR 活動を行いサンプルを収集した。そのほとんどは収集班等とは関係なく研究の主旨に賛同していただき、患者サンプルを提供してくださる医師の方々であった。これは意外でもあったのであるが、iPS 細胞の作製について興味をいただき協力姿勢を示す医師が多いことがわかった。

## 3. iPS 細胞の樹立と検定

現在、皮膚由来の線維芽細胞を樹立し、その細胞を使って iPS 細胞作製を行っている。線維芽細胞樹立のためには生検が必要であり、樹立まで 1 ヶ月かかる。また後天的血液疾患では使用できない。そこで、血液細胞あるいは血液細胞由来の細胞を iPS 細胞作製のソースとすることを検討中である。これが可能であれば、生検を行わずに末梢血の採血で iPS 細胞作製が可能となるために安全かつ容易に行える。iPS 細胞のコロニー形成についてはセンダイウイルスベクターで作製したほうがレンチウイルスベクターよりも効率がよかった。したがって、iPS 細胞作製をよりスムーズに進めることができる。

## E. 結論

1. バンク化を進めるために他のバンク事業との連携が重要である。
2. 倫理面として連結可能匿名化をどこまで認めるかの議論を詰めなければならな

い。

3. 皮膚由来線維芽細胞で iPS 作製は可能であるが、よりよい生体試料を検討すべきである。

4. iPS 細胞の樹立ではセンダイウイルスベクターによる方法は効率が高い。

5. サンプル供給体制確立のために研究班を含めて事業を広く PR する必要がある。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Kitagawa, M. and Era, T. Differentiation of mesodermal cells from pluripotent stem cells. *Int. J. Hematol.*, published online 11 March 2010, DOI 10.1007/s12185-010-0518-8.

### 2. 学会発表

国際会議

Takumi Era Origin of mesenchymal stem cell. Personalized Stem Cell Medicine- A Canada-California-Japan discussion workshop. March 25-26, 2010, San Francisco

国内会議

江良 択実 (熊本大学) 多能性幹細胞から間葉系幹細胞への分化 第 9 回日本再生医療学会総会シンポジウム 2010 年 3 月 19 日、広島

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

資料 1-1

別記様式第6 (第9条関係)

臨床研究・医療技術審査結果通知書

平成21年11月27日

発生医学研究所  
幹細胞誘導分野  
江良 択実 殿

大学院医学薬学研究部長  
原田 信志



受付番号 先進第1018号  
課題名 「ヒト疾患由来iPS細胞の樹立とそれを用いた病態解析および  
治療法の研究」  
実施責任者名 発生医学研究所 幹細胞誘導分野 江良 択実 教授  
期 間 平成21年11月27日から平成24年3月31日まで

上記実施計画書について、平成21年10月26日の熊本大学大学院医学薬学研究部等  
臨床研究・医療技術倫理委員会の判定に基づき、下記のとおり決定したので通知します。

記

決定内容	<input checked="" type="radio"/> 許 可 <input type="radio"/> 不 許 可 <input type="radio"/> 審査対象外 <input type="radio"/> そ の 他
不許可等 の理由	※先進第1018号は、平成21年11月16日の熊本大学大学院医学薬学 研究部等一般研究倫理委員会で審査された倫理第335号の皮膚生検につい て、倫理審査申請されたものである。

※実施計画を変更又は中止しようとする場合は臨床研究・医療技術実施計画(変更・中止)申請  
書(別記様式第2)を、研究等が中止又は終了した場合は臨床研究・医療技術(中止・終了)報  
告書(別記様式第3)を提出ください。

資料 1 - 2

別記様式第 6 (第 9 条関係)

審 査 結 果 通 知 書

平成 21 年 11 月 27 日

発生医学研究所  
幹細胞誘導分野  
江良 択実 殿

大学院医学薬学研究部長  
原田 信志



受付番号 倫理第 335 号  
課題名 「ヒト疾患由来 iPS 細胞の樹立とそれを用いた病態解析および  
治療法の研究」  
実施責任者名 発生医学研究所 幹細胞誘導分野 江良 択実 教授  
期 間 平成 21 年 11 月 27 日から平成 24 年 3 月 31 日まで

上記研究計画書について、平成 21 年 11 月 16 日の熊本大学大学院医学薬学研究部等  
一般研究倫理委員会の判定に基づき、下記のとおり決定したので通知します。

記

決 定 内 容	許 可	不 許 可	審 査 対 象 外	そ の 他
不 許 可 等 の 理 由	※倫理第 335 号の ・皮膚生検については、先進第 1018 号として、平成 21 年 10 月 26 日 の熊本大学大学院医学薬学研究部等臨床研究・医療技術倫理委員会で審査さ れ、平成 21 年 11 月 27 日付け許可されています。 ・遺伝子解析については、ゲノム第 153 号として、平成 21 年 11 月 20 日の熊本大学大学院医学薬学研究部等ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員 会で審査され、平成 21 年 11 月 27 日付け許可されています。			

※研究計画を変更又は中止しようとする場合は研究計画(変更・中止)申請書(別記様式第 2)  
を、研究等を中止又は終了した場合は研究等(中止・終了)報告書(別記様式第 3)を提出くだ  
さい。



資料 1 - 3

別記様式第 6 (第 10 条関係)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究審査結果通知書

平成 21 年 11 月 27 日

発生医学研究所  
幹細胞誘導分野  
江良 沢実 殿

大学院医学薬学研究部長  
原田 信志



受付番号 ゲノム第 153 号  
課題名 「ヒト疾患由来 iPS 細胞の樹立とそれを用いた病態解析および治療法の研究」  
実施責任者名 発生医学研究所 幹細胞誘導分野 江良 沢実 教授  
期 間 平成 21 年 11 月 27 日から平成 24 年 3 月 31 日まで  
(うち試料採取期間は平成 24 年 3 月 14 日まで)

上記研究計画書について、平成 21 年 11 月 20 日の熊本大学大学院医学薬学研究部等ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会で審査が行われ、その結果、申請書を修正等の上、再申請と決定されました。平成 21 年 11 月 24 日付け再申請があり、下記のとおり決定したので通知します。

記

決定内容	許 可	不 許 可	審査対象外	その他
不許可等の理由	※ゲノム第 153 号は、平成 21 年 11 月 16 日の熊本大学大学院医学薬学研究部等一般研究倫理委員会で審査された倫理第 335 号の遺伝子解析について、倫理審査申請されたものである。			

※許可された研究計画を変更又は中止しようとする場合はヒトゲノム・遺伝子解析研究計画(変更・中止)申請書(別記様式第 2)を、研究が中止又は終了した場合はヒトゲノム・遺伝子解析研究(中止・終了)報告書(別記様式第 3)を提出ください。



## 資料2 難病資源バンク同意書 iPS細胞用に「改訂」

### 難病研究資源バンクへの検体の提供協力をお願い

2010年3月12日

厚生労働省において難治性疾患克服研究事業が長年継続されています。難治性疾患（以下「難病」という）は、患者の皆様に困難な生活を強いるものであるとともに、研究者にとっても研究の難しい疾患であります。このたび難病研究の体制をさらに強化するために難病研究資源バンク（以下「難病バンク」という）が設立されました。医薬基盤研究所・生物資源研究部、理化学研究所バイオリソースセンター（以下「理化学研究所 BRC」という）・細胞材料開発室、熊本大学・発生医学研究所が連携をして難病バンクとして働きます。尚、皆様から提供された組織・血液と医療情報などの受入の倫理審査、及び実際の受け入れ、保管等に関しては、医薬基盤研究所が一元化して対応します（研究代表者亀岡洋祐、研究倫理担当者増井徹）。

医薬基盤研究所は提供されるすべての組織・血液、DNA、培養細胞(\*1)と iPS 細胞(\*2)と、医療情報などを受け入れ、保管し、分譲します。同時に医薬基盤研究所は理化学研究所 BRC と熊本大学へ血液細胞、組織などを分配し、それぞれの機関はその専門性にシタガって培養細胞や iPS 細胞を作成します（注：今回の場合、作製した iPS 細胞のみのバンクへの提供です。患者様からいただいたサンプルは熊本大学で iPS 細胞を樹立したのち、理研 BRC へ iPS 細胞を提供することになります。）。

難病バンク（医薬基盤研究所、理化学研究所 BRC、熊本大学）は、組織・血液、医療情報と培養細胞及び iPS 細胞を広く研究者に分譲します。

それでは、なぜ培養細胞や iPS 細胞を作成することが難病研究の促進に重要なのでしょうか。以下にその説明をいたします。

(\*1)

ご提供していただいた組織・血液は、そのままでは少数の研究者しか使用できません。そこで、「試験管の中で培養する。」という増やす作業を行い、多くの研究者が使用できるようにさせていただく可能性があります。例えば、皮膚などの組織からは培養皿の底に付着する細胞（線維芽細胞と呼ばれます）を増やすことができます。また、血液中の細胞を特殊な処理によって長期間培養可能な細胞を作ることでもあります。

(\*2)

iPS 細胞（人工多能性幹細胞）は、患者さんから頂いた少量の細胞から特殊な処理により作ることができます。この iPS 細胞は簡単に試験管内で増え、貯蔵することができるため、多くの研究者に分譲し、病気の研究に使うことが可能です。現時点で、すぐに治療法に繋がるものではありませんが、iPS 細胞からいろいろな臓器の細胞を作り出すことにより、研究を行うことで、病気の発症機序などを解明したり、薬の開発研究をおこなうことが出来ると期待されています。

## 1. 難病バンクの目的

主治医を通じて収集された組織・血液と医療情報などは、医薬基盤研究所の難病バンクに一旦集められ、そこから理化学研究所 BRC と熊本大学へ、それぞれの専門性に応じて分配されます(注：今回は患者様からいただいたサンプルは熊本大学で iPS 細胞を樹立したのち、熊本大学での保存のほか、理研 BRC へ iPS 細胞を提供することになります。)。難病バンクは皆様の組織・血液、医療情報と培養細胞及び iPS 細胞を広く研究者に分譲することにより、あなたが罹患されている疾患およびその関連疾患の予防・診断・治療のための医学研究の発展を支援することを目的としています。難病バンクの活動によって期待される具体的な成果を以下に示します。

### ① 症例数が少なく、十分な研究が困難であったことの克服

病気の研究は、多くの患者さんの協力を得て、組織・血液と医療情報など

を収集し、研究に利用できる仕組みをつくり、研究を進める必要があります。これまで、症例数の少ない難病の領域では十分な研究が困難でした。難病バンクに症例が集積することにより、この問題を解決することができると思っています。また、培養細胞や iPS 細胞の作成も、組織・血液の研究利用の幅を拡大し、多様化させることが期待されます。

② 難病患者の皆様に関わる医師と、基礎医学研究者との継続的な連携の創出  
医師と基礎医学研究者との連携を、難病バンクが手助けできると考えています。

③ ひとつの疾患を対象とした研究の活性化と多様性の拡大

それぞれの研究を比較するために、標準となる組織・血液と医療情報などが共有されることが必要です。難病バンクから、一つの患者さんグループの組織・血液と医療情報などを、多くの研究者に提供し、そこで研究が行われ、それぞれの研究成果を比較することにより、研究が進展する可能性が高まります。また、培養細胞や iPS 細胞の作成も、限られた量の組織・血液を増やすことができるようになるために、将来の研究利用を多様化させることが期待されています。

◎ 医学研究の成果は、企業の活動を通じて多くの患者の治療に使える安全で有効な治療・診断へと還元されます。その点で、難病研究資源を企業の研究に利用できることが重要と考えております。同意書の中で、企業研究への提供についての意思を伺います。ご協力よろしくお願いいたします。

このように、難病バンクは、難病研究の促進を図り、一つでも多くの成果を生む仕組みを作ることを目指しています。

## 2. 研究計画の例

① 同じような病態を示す疾患の比較研究を、多くの患者さんから提供していただいた組織・血液と医療情報などを利用して行い、疾患に関係

するタンパク質を探す研究。

- ② 患者の皆様の遺伝情報全体を解析して、どのような遺伝子が発症に関係しているかを明らかにする研究。詳しくはお配りしました「パンフレット（明日のためにできること、ゲノム研究の理解のために）」に説明がございます。ご質問がございましたら、医師や医療スタッフまたは難病バンクへご連絡ください。
- ③ iPS 細胞から、その細胞が由来する疾患の病態に関連する細胞を作り出し、その病気の原因となる細胞を標的にして薬のスクリーニングや開発に利用する。

研究技術の進歩が早いので、研究を実施する時点で最もよい研究手法を用います。そのため、実際に難病バンクの組織・血液と医療情報などを利用する研究は、最新の技術を使うこととなります。ただ、研究の目的は疾患の医学研究の範囲内であることをご理解ください。

### 3. 個人情報保護

医療機関から難病バンクへ提供される、組織・血液と医療情報などは連結可能匿名化されます。難病バンクはそれらを、独自の匿名化番号によって管理いたします。

- 直接に個人を特定できる情報は、医療機関から難病バンクへは提供されません。また、難病バンクや研究者は、組織・血液と医療情報などから患者個人の識別を試みません。また最終的には、難病バンクへ提供された組織・血液と医療情報などは、連結不可能匿名化（\*3）という、誰のものかわからない状態にして、研究者へ提供されます。それらの手続きは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成13年3月その後3回改正）文部科学省、厚生労働省、経済産業省」に従ったものです。

（\*3）匿名化：個人を特定できない状態に加工された個人情報を指す。

提供者の個人情報外部に漏えいしないよう、その個人情報から個人を識別する情報の全部又は一部を取り除き、代わりに当該提供者とかかわりのない符号又は番号を付すことをいう。試料等に付随する情報のうち、ある情報だけでは特定の人を識別できない情報であっても、各種の名簿等の他で入手できる情報と組み合わせることにより、当該提供者を識別できる場合には、組み合わせに必要な情報の全部又は一部を取り除いて、当該提供者が識別できないようにすることをいう。

連結可能匿名化とは、患者さんの個人情報と、難病バンクに提供される組織・血液と医療情報などを整理するためにつける番号（収集機関での整理番号）との対応表を作り、それを厳重に管理する匿名化の方法です。収集機関の「整理番号」は、難病バンクで「匿名化番号」に付け替えられます。

また、連結不可能匿名化とは、個人情報と提供される組織・血液と医療情報などと難病バンクでの匿名化番号との対応表を作らず、研究者へ分譲する際の「提供番号」と患者さんとの関連を意図的に断つことです。

### 試料と情報の流れ図

