

20112800/A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服事業

難治性疾患克服のための難病研究 資源バンク開発研究

(H21-難病-一般-166)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

亀岡 洋 祐

平成 24 年(2012)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服事業

難治性疾患克服のための難病研究 資源バンク開発研究

(H21-難病-一般-166)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

亀岡 洋祐

平成 24 年(2012)年 3 月

目 次

I. 平成 23 年度研究班名簿	1
II. 総括研究報告	
亀岡 洋祐	3
III. 分担研究報告	
1. 疾患関連細胞の作製	
梅澤 明弘	11
2. 大学病院におけるヒト由来試料「バンク」に関する基盤整備	
横出 正之	14
3. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 患者生体試料の収集保存と難病研究資源バンクとの連携の確立	
山野 嘉久	24
4. 難病研究資源バンクの政策・倫理的側面の研究	
増井 徹	29
5. ヒト疾患関連組織の長期継代維持と保存法研究	
野村 大成	33
6. 疾患関連細胞の品質評価ならびにキャラクタライズ研究	
小原 有弘	37
IV. 班会議資料等	45
V. シンポジウム資料等	55
VI. 研究成果の刊行物に関する一覧表	67
VII. 研究成果の刊行物・別刷	73

I 平成 23 年度 研究班名簿

平成 23 年度 厚生労働省難治性疾患克服研究事業
難治性疾患克服のための難病研究資源バンク開発研究班

	氏名	所属等	職名
研究代表者	亀岡 洋祐	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 難病資源研究室	主任研究員
研究分担者	梅澤 明弘	独立行政法人国立成育医療研究センター 生殖・細胞医療研究部	部長
	横出 正之	京都大学医学部附属病院探索医療センター 探索医療臨床部	教授
	山野 嘉久	聖マリアンナ医科大学難病治療センター 病因・病態解析部門	准教授
	増井 徹	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部	部長
	野村 大成	独立行政法人医薬基盤研究所疾患モデル 小動物研究プロジェクト	プロジェクトリーダー
	小原 有弘	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 培養資源研究室	研究員
研究協力者	村山 敏典	京都大学医学部附属病院探索医療センター 探索医療臨床部	講師
	猪原 登志子	京都大学医学部附属病院探索医療センター 探索医療臨床部	特定助教
	高橋 一朗	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 難病資源研究室	主任研究員
	古江-楠田美保	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 培養資源研究室	研究リーダー
	松田 潤一郎	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 疾患モデル小動物研究室	研究リーダー
	長田 直樹	国立遺伝学研究所進化遺伝学研究室	助教
	坂手 龍一	独立行政法人医薬基盤研究所難病・疾患資源研究部 難病資源研究室	研究員

II 総括研究報告書

厚生労働科学研究費（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

難治性疾患克服のための難病研究資源バンク開発研究

研究代表者 亀岡洋祐 独立行政法人医薬基盤研究所 主任研究員

研究要旨：本研究では「難治性疾患対策研究、生体試料等の収集に関する研究」により収集された患者試料を集中化して品質管理を行う「難病研究資源バンク」を創設に伴う問題点を検討し、統合的管理・支援体制を整備し、品質管理された試料を公平に基礎研究機関に提供するシステム構築を目指している。難治性疾患克服研究事業の研究班から全国ネットで診断研究センターを形成している研究班との共同事業を進め全国規模での患者試料収集の体制を整えてきた。これまでに総計で 534 件の患者試料を集積し、HTLV1 関連脊髄症、希少難治性皮膚疾患、褐色細胞腫、網膜変性症、神経変性疾患の各センター機能を持つ研究班との共同事業を始め、19 研究班との収集体制を構築した。また疾患克服研究に利用分譲の体制を整え、試料の研究利用における問題点を検証した。

A. 研究目的

難治性疾患のうち頻度の低い疾患については、臨床現場において患者を経験することはまれであり、患者試料等の集中化がなされなければ、多数の症例試料を必要とする疾患克服研究の実現は困難である。このような希少疾患試料を経年蓄積収集し集中保存管理し、研究者に提供することで統計的に有意な研究が可能となり、この困難性を乗り越えることができる。

本分担研究の目的は難治性疾患試料の研究資源バンクである「難病研究資源バンク」を設立するための問題点を明らかにし、難病研究資源バンクの具体的なシステム構築を検討することによって、難治性疾患克服研究の推進に貢献することにある。

これまで30年以上にわたり継続されてきた難治性疾患克服研究班の協力を得て試料

等を「難病研究資源バンク」に集中化し、厳しく品質管理された患者試料を一定の規模で集積し統一的研究試料の提供を行うことにより、班内の共同研究を支援すると同時に班外の研究者への公平かつ効率的な研究利用促進を図り、難病研究資源のワンストップを創生することは疾患克服研究推進に大いに貢献することが考えられる。

試料提供の公平性に関しても、これまでの公的バンク運営の経験やノウハウ等を活かすとともに、研究利用委員会を設置して研究利用における科学的妥当性を判断し、疾患克服研究に有効な資源提供システムを構築することによって担保することを目指した。疾患患者の権利保護や研究利用の倫理問題、また診断臨床医の権利など、法的倫理的及び権利調整の問題克服が重要課題であり、難病克服研究班との生体試料収集

協力に向けた話し合いの中で、この課題での具体的対応策について検討を進め、具体的な難病研究資源バンク活動を進めることを目的とする。

B. 研究方法

難治性疾患克服研究事業の対象疾患は指定 130 疾患と多岐にわたり個々の疾患の克服研究を進める上で有用な研究試料も多種類にわたる。難治性疾患患者試料の収集の拠点となるのは当該疾患の研究を継続的に進めてきた研究班であり、当該研究班の協力を受けて患者試料収集のルートを構築することがキーとなる。平成 21 年度に設定された「生体試料等の収集に関する研究」事業に採択された課題の主任研究者に対して協力を要請するとともに、当該医療機関における医学研究倫理審査のシステムに合わせて、生体試料収集のための倫理申請のサポートを行うことが重要な課題である。このため患者説明文書、同意書、倫理申請等の標準的なフォームを作成し各機関の生体試料収集を円滑に進めるための支援体制を整えてきた。同時に生体試料受け入れ側の難病研究資源バンクにおいても、各研究班からの生体試料受け入れに関し審査を受ける専門の難病研究資源バンク倫理審査委員会を外部有識者を含めて組織し、公明公正な公的バンク運営を行う体制を整えた。

実際の生体試料の収集に関しては、疾患の性質により、研究資源として収集される生体試料は多種類に及ぶ。しかし、基本は血液などの採取しやすい試料が大勢を占めると考えられる。そこで、まず血液から得られる試料の基本操作方法や自動システム、分離された細胞・血漿・DNA などの分離試

料の分注凍結保存を行うに当たり、2 次元バーコードチューブ（2D チューブ）システムを導入し、電子制御によりヒューマンエラーをできる限り回避するシステム構築を行う。

疾患研究に必要とされる試料への研究者側の要請も研究の方向性により多岐にわたると考えられるが、昨年度実施した収集研究班へのアンケート調査をもとに個々の難病研究班に個別に対応し生体試料収集に対応してもらえるよう交渉を進めた。

難病研究資源バンク事業は医学研究関係者の中にその存在が浸透していないことから、パンフレットの作成、学会での講演、ブース展示、シンポジウム開催などを通じて難病研究資源バンク事業の存在とその活動重要性について普及啓発活動を行う。本事業の特徴の一つに研究試料の収集と提供の両面において倫理問題、権利問題などの社会的法的問題が存在しており、医学研究倫理の専門家を加え、患者試料の収集において倫理問題に適切に対応することとし、個々の研究班に対して、難病バンクへの生体試料の移転に関する契約において、各機関の知財部との交渉については医薬基盤研究所の戦略企画部のバックアップを受け円滑に契約締結ができるよう体制を整えた。

（倫理面への配慮）

本研究事業は患者の個人試料をバンクで取り扱うことから、医学研究倫理遵守は中心の課題であり、実際に患者試料の収集に当たる医療機関の実情に合わせて倫理申請の支援を行い、患者試料の受入れに関しても難病研究資源バンク専属の倫理委員会の審査を受けることにより、適正に対応を進めた。

C. 研究結果

「生体試料等の収集に関する研究」事業に採択された 51 の研究代表者等へのアンケート調査や個別交渉により、これまでに生体試料収集に対応が可能な 28 の研究班に関して試料収集のための交渉を進めた。研究班の所属機関の倫理審査委員会により生体試料のバンクへの提供の承認が得られ、現在までに 17 件を難病バンク研究倫理審査委員会に倫理審査を申請し、13 件が承認または条件付き承認を受けている。

実際に難病バンクに提供された症例数は HTLV-1 関連疾患(聖マリアンナ医大山野班) 394 件(DNA、血清、血漿、末梢血リンパ球)、多発性奇形症候群(慶応大学小崎准教授) 2 症例(DNA)、ケネディー症候群 12 件(国立成育医療センター梅澤研)、褐色細胞腫関連 64 件(国立京都医療センター成瀬部長)等、計 534 件である。(図 1 参照) 試料別の内訳は DNA107 件、血清 64 件、血漿 256 件、末梢血単核球 49 件であった。これらの DNA については、SOP に従って品質管理を行っている。また、共同事業を行っている熊本大学より、iPS 細胞 8 クローン提供を受けた。

今年度の到達点 1 (~H23.2.29)



項目	実績
対応中の収集研究班	18 (24)
倫理審査件数(継続審査会)	17 (12)
倫理審査承認件数	13 (7)
収集症例数	317 (158)
収集試料数	534 (176)
分譲可能(公開)試料数	362 (174)
分譲件数(初年度)	1 件100症例
症例数	15 (3)

() 内は前年度

04/25/22

25

システム整備として難病バンクで取り扱う難病等の研究資源の標準取り扱い手順書(SOP)を作成し、これにしたがって寄託された試料の品質管理、保管管理を行った。また、難病バンク専用の超低温フリーザー 3 機、液体窒素タンク 3 基等を入退出管理システムにより隔離された部屋に整備し、試料情報の管理用に外部から遮断された専用の LAN を構築した。これらの設備で、SOP に準じて、寄託された試料について DNA に関しては濃度及びアガロースゲルによる品質管理を行った。

難病バンクへの理解と協力を得るため啓蒙活動として、基盤研難病バンク独自および難病バンクを構成する三機関(基盤研、理研 BRC、熊本大)連携のパンフレットを製作し、難病関連シンポジウム等で配布した。また、難病研究関係学会、日本難病・疾病団体協議会、難病・慢性疾患全国フォーラムにおいてブース出展等の広報活動に努めた。2011 年 10 月に大阪(千里中央)において難病バンク主催「難病研究と創薬 2011」シンポジウムを開催し、100 名以上の出席を得ることができた。また、難病バンクに関する新聞報道等は 9 件、難病研究資源バンクの広報に関連する学会等のセミナー・講演会等 9 件を行い、難病バンクの広報に努めた。

社会一般への広報と研究者への情報発信

今年度の到達点 2 (~H23.2.29)



収集試料数

分譲件数・プログラム数: 3,643/4

項目名	今年度(1/1~)	前年度	今年度(1/1~)	前年度	累計
1 HTLV-1関連病態	395 (68)	0 (45)	192 (0)	49 (0)	594 (113)
2 HTLV-1感染症 (日本株)	0 (0)	0 (11)			0 (6)
3 多発性奇形症候群	0 (2)				0 (2)
4 クネデッ病 (胚発育性胎毒病)	12 (0)				12 (0)
5 多発性アルドステロン症	23 (0)	21 (0)			44 (0)
6 多発性アルドステロン症 (特発性アルドステロン症)	6 (0)	6 (0)			12 (0)
7 多発性アルドステロン症 (特発性アルドステロン症)	4 (0)	4 (0)			8 (0)
8 多発性アルドステロン症 (アルドステロン産生腫瘍)	13 (0)	13 (0)			26 (0)
9 クラウソウ症候群	2 (0)	2 (0)			4 (0)
10 サブアクリルカルクワン症候群	4 (0)	4 (0)			8 (0)
11 褐色細胞腫	1 (0)	1 (0)			2 (0)
12 褐色細胞腫 (再発)	2 (0)	2 (0)			4 (0)
13 悪性褐色細胞腫	3 (0)	3 (0)			6 (0)
14 悪性褐色細胞腫 (再発)	4 (0)	4 (0)			8 (0)
15 非腫瘍性褐色腫瘍	4 (0)	4 (0)			8 (0)
計	107 (120)	64 (56)	256 (0)	49 (0)	58 (176)

※平成24年度(～8/31)にHTLV-1関連病態症例(熊本大・梅澤研)1件、多発性奇形症候群 1件(12/2010)を納入

○ 内は前年度

のため、難病資源バンクのホームページ (URL <http://raredis.nibio.go.jp/>) を開設した。これにより難病バンクのタイムリーな情報を広く発信できるようになるとともに、研究者からの情報の受け入れも容易になった。アクセス数は月平均で 230 回を超え 2010 年 5 月の運用開始から 4400 回を超えた。2011 年 10 月より研究資源分譲のホームページを開始し、登録者に対して分譲可能な患者試料のデータを公開した。現在までの登録者は 49 名となっている。

また、試料分譲のための体制整備を終了し、本年 11 月の分譲可能資源の公開時より資源の分譲を受け付けることが可能となった。現在 1 件の分譲申請の手続きを進めている。

分担研究者増井は難病研究資源バンク運営に係わる倫理的側面からの組織の基本構成とその基準となる一連の規約等の策定に当たり、これによって難病研究資源バンクの運営を公正公明に行えるように本研究での役割を果たした。

分担研究者横出は新規医療開発における患者保護や基盤システム構築の経験から、難治性疾患克服研究における「臨床研究に関する倫理指針」「疫学研究における倫理指針」「ヒトゲノム・遺伝子解析研究における倫理指針」の各指針の適用範囲と、トランスレーショナルリサーチまでの研究の進行における患者由来試料の取り扱いにおける問題点を解析し、難病研究資源バンク運営における法的必要事項を示した。

分担研究者小原は細胞バンクに既に登録されている難治性疾患患者由来細胞を培養資源化を図ることによって難治性疾患研究に資する培養細胞の整備を行い色素性乾皮

症、ファンconi貧血症の細胞を資源化することにより貢献した。

分担研究者山野は最終年度のみ分担研究として参加したが、HTLV1 関連神経疾患 (HAM) 診断の日本のセンターとして活動しており、難病研究資源バンク設立当初より HTLV1 関連脊髄症 (HAM) の患者試料収集と難病研究資源バンクへの試料寄託に積極的に関わり今年度末までに 500 例近い患者試料を収集し、大規模研究に応用できる研究資源の構築を進め本事業に大きく貢献している。

分担研究者梅澤は、所属する成育医療研究センターにおける既存の難治性疾患患者試料研究資源として寄託可能なものを難病研究資源として寄託するとともに、遺伝病患者由来細胞をもとに iPS 細胞を作成し、その性状を検討し研究資源として提供することを試みた。

分担研究者野村は貴重な患者試料を生体内で維持する高度な研究資源を作出するための技術として免疫不全マウスである SCID マウスの体内でのヒト組織を生きたままで維持する技術を確立し、難治性疾患患者研究資源の高度化に寄与した。

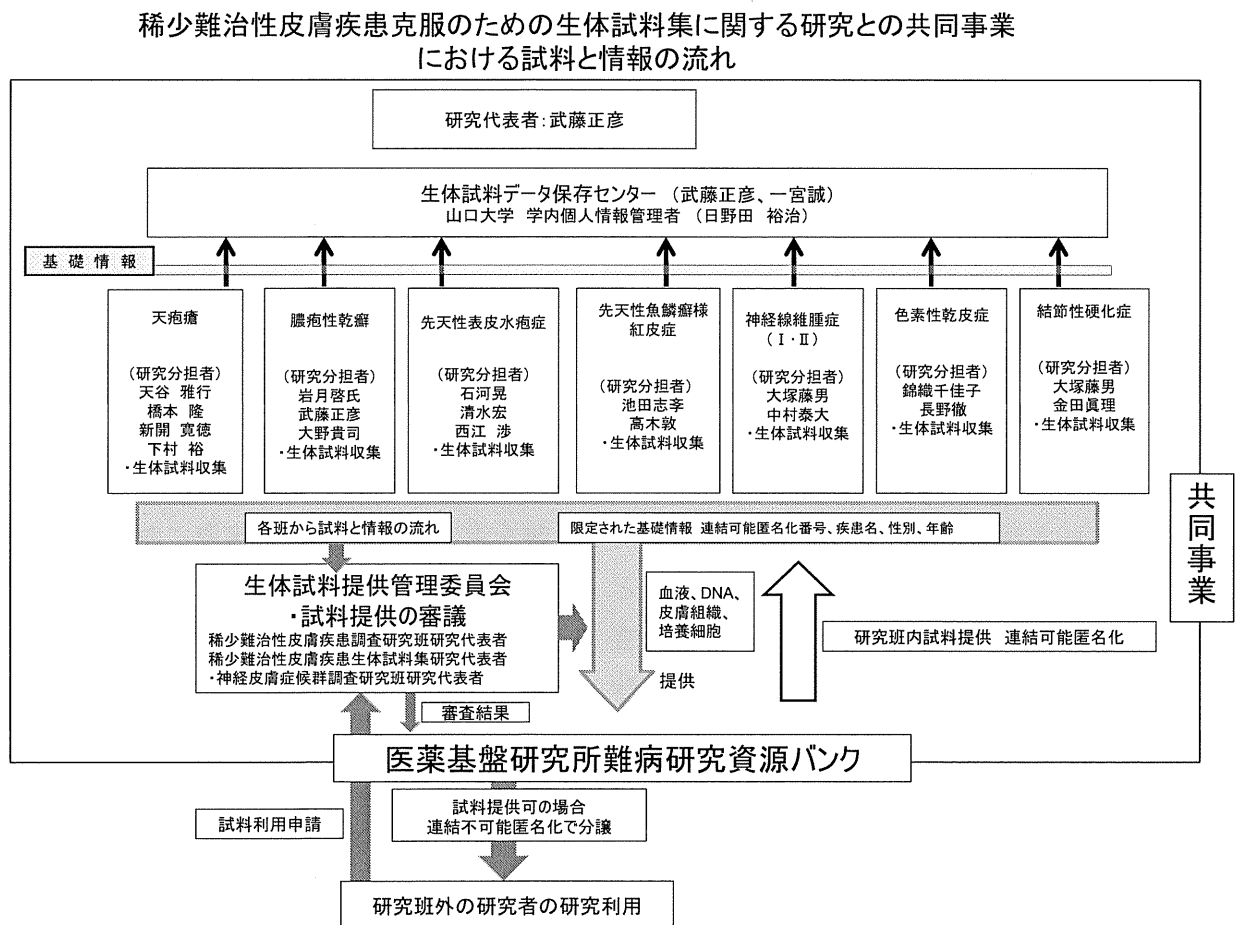
上記の分担研究者の協力により、難病研究資源バンク開発研究としての難病研究資源バンクの事業化における問題点と今後進めるべき方策を描くことができた。

難治性疾患克服研究事業においては 300 近い研究班があるが、過去 30 年間の事業の中で継続的に班研究を行ってきた研究班には全国的なネットワークが形成されており、このような全国規模で組織化された研究班とタイアップすることによって、難治性疾患患者試料の収集を効率よく進めることができることを、聖マリアンナ医科大学山野

班との連携による成果が示している。このことから、岡山大学岩月総班長のもと「希少難治性皮膚疾患に関する調査研究班」の生体試料収集班である山口大学武藤班と連携し、生体試料収集を行う体制を整備し(図2参照) 全国レベルでの希少難治性皮膚疾患患者試料の収集整備が期待できる。神戸先端医療センター高橋班(理研発生再生科学総合研究センター併任)は網膜変性症の診断拠点として活動しており、高橋班との連携共同事業も整備することができた。京

都医療センター成瀬班を中心として副腎資源バンクとの連携共同事業を設定し血清64検体、血漿64検体計128検体を受入れた。成瀬班は褐色細胞腫の診断センターとしてOpen PHEOnet 設立し活動しており全国レベルでの患者試料収集が期待できる。また神経変性疾患に関する調査研究班(総班長中野)のもと鳥取大学中島班との共同事業も整備が進みパーキンソン症候群の試料収集を進めている。

図2 センターとなる研究班との共同事業の例



D. 考案

本研究では「難治性疾患対策研究、生体試料等の収集に関する研究」により収集された患者試料を集中化して品質管理を行う「難病研究資源バンク」を創設し、統合的管理・支援体制を整備して、品質管理された試料を基礎研究機関に提供し、難治性疾患克服研究の、より一層の効率的推進を図ることを目的としている。個々の研究班との試料提供に関する交渉の中で各機関の倫理審査申請などのサポートが重要な部分であり時間的、労力的にも大きく力を割かなければならなかった。生体試料収集に当たる各機関や研究班の状況把握と倫理審査申請サポートについて集中的に注力する必要があった。難病バンクにおいて患者説明書、同意書、申請書などの標準フォームを提供したことは一定の効果があったと考えられる。

生体試料収集の点で最も進んだのは聖マリアンナ医大山野班であり、この要因として全国 HAM の診断センターとして活動していることによるものと思われる。山野班からは年度末までに 500 を超える試料が集積されることが予想される。同じように全国ネットで褐色細胞腫診断センターとなっている京都医療センター成瀬班からも 96 試料が寄託される予定である。同様な全国的な診断研究ネットを形成している研究班として、「希少難治性皮膚疾患に関する調査研究班」岩月班（武藤班）、網膜変性症の診断拠点として活動している神戸先端医療センター高橋班、「神経変性疾患に関する調査研究班」中野班（中島班）などとの連携共同事業を進めることができ、今後、多数の生体試料が集積されることが期待される。

また、試料の分譲についても体制整備を整え 10 月には試料データベースを登録者に公開して試料の利用分譲が可能となった。現在 1 件ではあるが試料分譲の手続きを進めている。

E. 結論

本研究事業の目的は「難治性疾患対策研究、生体試料等の収集に関する研究」により収集された患者試料を集中化して品質管理を行う「難病研究資源バンク」を創設し、統合的管理・支援体制を整備して、品質管理された試料を公平に基礎研究機関に提供し、難治性疾患克服研究のより一層の効率的推進を図ることにある。難病研究資源バンクのハードソフト両面でのシステム構築がなされ、試料の収集から分譲まで行える体制として整えることができた。本稿作成時点での収集試料の総数は 456 件ではあるが、全国のセンターとなる機関との連携共同事業が進んでいることから、加速度的に試料の集積が進んでいくことが予想される。さらに多くの難治性疾患研究班と共同事業を進めることによって、難治性疾患を広く網羅する研究資源バンクを構築する必要がある。また研究資源は疾患克服研究のためのものであり、集積した試料の研究利用分譲を進めることが、本事業において重要であると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

国際会議

国内会議

1. 東濃 篤徳, 坂手 龍一, 高橋 一朗, 足立 淳, 朝長 毅, 保富 康宏, 亀岡 洋祐、カニクイザル白血球における細胞外カルレティキュリンによる遺伝子発現の変化、第34回日本分子生物学会年会、2011年12月 横浜
2. 竹内 昌男, 東濃 篤徳, 竹内 喜久子, 牧野 初音, 田沼 玲子, 足立 淳, 高橋 一朗, 朝長 毅, 梅澤 明弘, 亀岡 洋祐、ヒト間葉系幹細胞株 (UE6E7T-3) の形質転換過程における mRNA 発現解析、第34回日本分子生物学会年会、2011年12月 横浜

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

Ⅲ 分担研究報告書

1. 疾患関連細胞の作製

梅澤 明弘

2. 大学病院におけるヒト由来試料「バンク」に関する基盤整備

横出 正之

3. HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) 患者生体試料の収集保存と難病研究資源バンクとの連携の確立

山野 嘉久

4. 難病研究資源バンクの政策・倫理的側面の研究

増井 徹

5. ヒト疾患関連組織の長期継代維持と保存法研究

野村 大成

6. 疾患関連細胞の品質評価ならびにキャラクタライズ研究

小原 有弘

疾患関連細胞の作製

研究分担者 梅澤 明弘 国立成育医療研究センター研究所 部長

研究要旨：平成 21 年度に創設された「難病研究資源バンク」により、難治性疾患克服研究の一層の効率的推進が図られている。その中で疾患由来の多能性幹細胞は、未だ根本的な治療方法の確立がなされていない疾患の克服に向けて大きな期待が寄せられている。そこで本研究では難病克服に係る治療法や医薬品の開発を促進し、その研究成果を臨床機関にフィードバックすることを目指している。今年度は遺伝病患者由来細胞から iPS 細胞を作製しその特性を評価するとともに、疾患の表現型に対して *in vitro* 系での再現を試みた。その結果、疾患モデル細胞としての iPS 細胞の有用性が示せた。

A. 研究目的

指定されている難治性疾患の殆どにおいてははまだ根本的な治療方法の確立がなされていないのが現状である。この要因として、症例が希少で臨床機関での症例や患者試料の蓄積が殆どないため、当該疾患克服研究を進めることが困難であることが挙げられる。この障害を取り除くために、「難病研究資源バンク」が構築され、患者試料の利用が必要な研究に基盤的横断的プラットフォームを提供することが可能になる。治療法開発のための有用な細胞ソースとして難治性疾患由来の iPS 細胞が期待されているが、疾患モデルとなりうるかどうかの検証はまだ十分とはいえない。そこで本研究では、種々の遺伝性疾患由来の iPS 細胞の作製を行うとともに、疾患の表現型を *in vitro* の系で再現させる事を試み、疾患モデルとしての iPS 細胞の有用性を示す事を目的とする。

B. 研究方法

(1) 遺伝病由来細胞からの iPS 細胞の作製
遺伝病由来の細胞から、レトロウイルスもしくはセンダイウイルスを用いて *OCT-3/4*, *SOX2*, *KLF-4*, *c-MYC* を導入し iPS 細胞の作製を行う。

(2) 疾患由来 iPS 細胞の特性解析
遺伝病由来の iPS 細胞について、未分化性評価を *in vitro* ならびに *in vivo* において行い、正常細胞由来 iPS 細胞と比較検証する。

(3) 疾患由来 iPS 細胞の神経幹細胞分化
遺伝病の表現型の一つとなっている神経症状の再現を *in vitro* の系で構築するため、作製された iPS 細胞を分化誘導し、神経幹細胞としての性質を検証する。

C. 研究結果

(1) 遺伝病由来細胞からの iPS 細胞の作製
5 種類の遺伝性疾患患者由来細胞から複数の iPS 細胞を作製した。作製効率は正常細

胞とそれほど変わらなかったが、その後の継代培養においての安定性に一部の遺伝子性疾患由来細胞で違いが認められた。

(2) 疾患由来 iPS 細胞の特性解析

遺伝病患者由来細胞 iPS 細胞はいずれにおいても iPS 細胞としての特性を有していた。またいずれの iPS 細胞においても正常核型を示した。さらに対象とした遺伝性疾患の表現型を iPS 細胞が保持しているかを検証したところ、親細胞と同様な傾向を持っている事が示された。

(3) 疾患由来 iPS 細胞の神経幹細胞分化

今回対象とした遺伝性疾患の表現型の一つとして神経症状がある。そこで、作製した iPS 細胞を神経幹細胞分化誘導した。その結果、神経幹細胞の状況下で、疾患の表現型に対応した細胞の状況が認められた。現在詳細な分子機構について検討している。

D. 考案

今回対象とした遺伝病患者由来の細胞は、いずれも染色体不安定性を有し、細胞を維持しにくいものの、得られた iPS 細胞はこれまでのところ染色体の異常は認められず、未分化性の評価も保持していることが確認できた。また疾患由来 iPS 細胞が期待されている、疾患表現系の in vitro での再現について検証し、疾患の表現系を in vitro で再現できる可能性が示唆された。今後詳細な解析を進めていく必要があるが、難治性疾患解明に iPS 細胞が強力なツールとなりうる事が示唆された。能や治療法開発へとつながることが期待される。

E. 結論

遺伝子性疾患由来の iPS 細胞の作製を試み、

疾患表現型を in vitro の系として再現できる事が示された。疾患の原因遺伝子の機能特性解析と疾患発症機構の解明につながる、有用な疾患モデル細胞となり、「難病研究資源バンク」としての活用、さらには難病克服に係る治療法や医薬品の開発を促進することが期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nishino K, Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Fukawatase Y, Chikazawa E, Sakaguchi H, Akutsu H, **Umezawa A**. DNA methylation dynamics in human induced pluripotent stem cells over time. *PLoS Genet.* 7:e1002085, 2011.

Takezawa Y, Yoshida K, Miyado K, Sato M, Nakamura A, Kawano N, Sakakibara K, Kondo T, Harada Y, Ohnami N, Miyado M, Saito H, Takahashi Y, Akutsu H, **Umezawa A**. β -catenin is a molecular switch that regulates transition of cell-cell adhesion to fusion. *Scientific Reports.* 1:68, 2011.

Nakamura A, Miyado K, Takezawa Y, Ohnami N, Sato M, Ono C, Harada Y, Yoshida K, Kawano N, Kanai S, Miyado M, **Umezawa A**. Innate immune system still works at diapause, a physiological state of dormancy in insects. *Biochem Biophys Res Commun.* 410:351-357, 2011.

Toyoda M, Yamazaki-Inoue M, Itakura Y, Kuno A, Ogawa T, Yamada M, Akutsu H,

Takahashi Y, Kanzaki S, Narimatsu H, Hirabayashi J, Umezawa A. Lectin microarray analysis of pluripotent and multipotent stem cells. *Genes Cells*. 16:1-11, 2011.

Cui CH, Miyoshi S, Tsuji H, Makino H, Kanzaki S, Kami D, Terai M, Suzuki H, Umezawa A. Dystrophin conferral using human endothelium expressing HLA-E in the non-immunosuppressive murine model of Duchenne muscular dystrophy. *Hum Mol Genet*. 20:235-244, 2011.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

大学病院におけるヒト由来試料「バンク」に関する基盤整備

研究分担者 氏名 横出正之

京都大学医学部附属病院探索医療センター探索医療臨床部 教授

(研究協力者 氏名 村山 敏典 所属 同上 役職 講師
猪原登志子 所属 同上 役職 特定助教)

研究要旨：医学研究において、ヒト生体試料を用いた研究は医学の発展にとり非常に重要であり、必要不可欠である。生体試料バンクには、ナショナルバンクだけでなく、様々な形態のバンクが存在し、特に大学病院においては、個別の医師・研究者あるいは教室・診療科が研究目的で試料を採取・保管しているヒト試料の「バンク」が存在する。大学病院における試料バンクについても、試料の提供者の権利を保護しながら、一定の水準での管理体制を構築することで、研究を適正に推進するための枠組みを作るとともに、より信頼性の高いナショナルバンクへの寄託を行っていくことができると考えられる。本邦においてはヒト試料を扱う研究におけるガイドラインとして統一した指針はなく、厚労省「臨床研究に関する倫理指針」、厚労省・文科省「疫学研究に関する倫理指針」、厚労省・文科省・経産省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」の3指針にそれぞれ試料の採取、保存、利用におけるガイドラインが示されている。我々はこれら試料を扱う3指針には重複する部分と相違する部分があり複雑であるという問題点につき、本分担研究班で検討してきた。今年度は、大学病院の診療科におけるヒト由来試料「バンク」の基盤整備を行う段階において、京都大学医学部附属病院腎臓内科の事例から実際の問題点を抽出した。

A. 研究目的

腎疾患や糖尿病、高血圧などの慢性疾患の進行による臓器不全に至る患者は年々増加の一途をたどっている。これら慢性に進行の一途をたどる疾患にはいまだ病態が解明されていないために、治療法が確立されていない疾患が数多いこともこの増加の一因となっている。

個体群単位の大規模な試料・情報の集積が、疾患の発生および治療のメカニズムの

研究に不可欠であることは広く認識されている。試料を用いた研究の手法には、疾患をもたらす遺伝的要因の特定、遺伝的要因と環境的要因の関連性、遺伝的要因による薬物に対する反応の相違の検討などがあるが、近年ではエピジェネティクスと呼ばれる後成的な遺伝子発現機構と疾患との関係が明らかになりつつある。エピジェネティクスの異常は、先天性疾患のほか、癌、精神疾患、生活習慣病など様々な後天性疾

患と関係することが報告されており、この研究成果を活用した医薬品や診断法の開発も加速している。癌領域の治療薬開発において、細胞の癌化には癌遺伝子の活性化と癌抑制遺伝子の不活性化が関与し、これら遺伝子のオン・オフに関与するエピジェネティクス関連分子が新たな抗癌剤の標的として注目され、実際に代表的な標的分子である DNA メチル基転移酵素及びヒストン脱アセチル酵素に対する阻害剤が抗癌剤として開発されている。また、診断法では、正常細胞と疾患細胞における DNA のメチル化状態やヒストンの修飾状態の比較データを活用した早期診断のための診断薬キットなどが開発されてきている。

このように、疾患に関する研究の進展は、医療・製薬の発展に直結し、その意味で、研究の進展は国民の健康・福祉の増進にとって重要であることはいうまでもない。疾患の複合的要因を明らかにするための研究が医療等の進歩にとって決定的な重要性を持つこと、研究の推進のためにはデータ、ヒト由来試料、情報のバンク構築および共有がきわめて重要であり、ヒト試料の収集はこれからの疾患の研究にとって不可欠のインフラであり、その整備・推進は喫緊の課題である。しかしながらこれと同時に、試料提供者の権利を保護し、研究を適正に推進するための枠組みを策定する必要がある。

本邦においてはヒト試料を扱う研究におけるガイドラインとして統一した指針はなく、厚労省「臨床研究に関する倫理指針」（以下「臨床指針」）、厚労省・文科省「疫学研究に関する倫理指針」（以下「疫学指針」）、厚労省・文科省・経産省「ヒトゲノ

ム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（以下「ゲノム指針」）の 3 指針にそれぞれ試料の利用におけるガイドラインが示されている。我々はこれら試料を扱う 3 指針には重複する部分と相違する部分があり複雑であるという問題点につき、本分担研究班で検討してきた。しかしながら大学病院内でバンクに関する研究実施計画書の策定にあたっては、これら 3 指針への準拠が必要となる。これら指針改正の背景からも、現在存在する大学内バンクの規定も見直しを行い、倫理委員会への変更申請を行う必要がある。今年度は、実際に大学病院におけるヒト由来試料「バンク」の基盤整備を行う段階において、問題点を抽出し、計画案を策定した。

B. 研究方法

本研究分担者並びに研究協力者は、大学病院内のバンクとして、京都大学医学部附属病院（以下京大病院）腎臓内科において過去に構築されてきた試料バンクを 3 指針に準拠すべく新たな研究実施計画を策定するとともに、同一大学病院内の病理診断科において構築されてきた組織バンクとの整合性をはかる計画を策定することで、大学病院におけるヒト由来試料バンクの基盤整備における問題点を抽出した。

本計画では、「ヒト由来試料およびそれに関する情報を、医学・科学研究に利用するために、体系的に収集・保管・研究利用するシステム」を「京大病院腎臓内科試料バンク」と定義し、そこで扱う「ヒト由来試料」は、臓器、組織、血液、尿のほか人体に由来する試料および DNA を含むものと定義した。

同じ大学病院内の別部署である京大病院病理診断部においては、「病理組織材料の診療目的外使用」システムが存在する。これは、京都大学大学院医学研究科基礎病態学、医学部附属病院病理診断部、真鍋俊明前教授により残余病理検体の研究・教育利用を可能とするために構築されたシステムである。平成14年より病院協議会で提案・議論、検討委員会を設置され、平成14-16年に説明同意文書の検討、倫理委員会への申請、審議とヒアリングを行い、平成16年10月から運用されている。

ここで前述の本邦における3指針について制定時期を整理する。「臨床指針」は平成15年7月30日に制定され、平成16年12月28日(全部改正)を経て平成20年7月31日に全部改正され、平成21年4月1日から施行された。改正臨床指針には介入研究のみならずヒト試料を用いる観察研究についても定義され、試料の保管方法の計画書および説明文書への記載と既存試料・他の機関の試料の使用に関する規定が定められるとともに、試料の採取に侵襲性を伴う場合には、補償のための必要な措置の有無等十分な説明の上、インフォームド・コンセントを受けるように留意することなどが定められた。「疫学指針」は平成14年6月17日に制定され、平成16年12月28日(全部改正)、平成17年6月29日(一部改正)を経て平成19年8月16日に全部改正され、平成20年12月1日一部改正後現在に至る。「ゲノム指針」は平成13年3月29日に制定され、平成16年12月28日全部改正され、平成17年6月29日と平成20年12月1日に一部改正された。本指針は遺伝病遺伝子の研究を想定して厳格な手続きを規定

し、カウンセリングの必要性など、実際の遺伝子多型の研究にはそぐわない点もある。また、本指針は平成23年4月から現在までに三省合同の専門委員会により見直しに関する検討が行われ、改正案が提示されつつある。図1に各指針の策定・改正時期を示す。

C. 研究結果

腎臓内科医は、患者の診療、理学所見や腎生検を含む検査による診断、治療と長期にわたる経過の診療を行う。病理診断医は各診療科で採取された病理検体から病理診断を下し、各診療科との合同カンファレンス等の実施により緊密に連携することで、病理診断結果を治療に反映させることで医療を行っている。双方において緊密な連携を保ち、診断の精度管理、検査の質の保証、試料の保管・管理、検査技術の開発・改良を行う義務がある。またどちらの医師も、新しい医療の進歩に対応すべく、自己学習に努めるとともに教育を行っていくこと、新しい診断基準の確立や病態把握、病因、疾患発症のメカニズムの解明などの基礎・臨床研究を行うことで、医療全体に対する精度管理にも貢献しなければならない。同じ大学内に複数のバンクが存在することの問題点を解消すべく、平成23年度内に腎臓内科と病理診断部とで試料バンクに関する会議を複数回実施した。これにより講座の歴史的背景から、同一の腎生検組織をこれら2つの部署で異なる固定方法で保管管理を行ってきた経緯を確認した。腎臓内科においては講座の責任者の交代により、試料の保管管理責任者が交代してきたが、この過程で保管管理の手順や計画書、説明同