

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

分担研究者 小原 有弘（独）医薬基盤研究所・難病・疾患資源研究部 主任研究員

研究要旨：（独）医薬基盤研究所・培養資源研究室は国内初の公的細胞バンクとして事業を開始し、厚生労働省の細胞バンクとして創薬研究・疾患研究に供するヒト細胞資源の収集、品質管理、保管、供給を行ってきた。中でも細胞の品質管理に重点を置き、細胞のマイコプラズマ・ウイルス汚染、細胞のクロスコンタミネーションの問題に取り組んで来た。本研究班においてはこれらの品質管理技術の応用・発展により、資源を利用するために必要な情報を付加するための技術開発を行い、疾患関連細胞の品質評価を実施する。

本年度、遺伝性疾患患者由来細胞を対象として G-band 法を中心とした、染色体の詳細解析を実施した。細胞におけるゲノム情報は病因・病態を解明するために非常に重要な情報であり、これらの詳細解析による情報は研究者にとって有用な情報となる。今後更なる詳細解析を実施し、難治性疾患患者由来の資源に適用することで、研究者にとって有用な情報の付加に勤めるよう技術開発を行う予定である。また、難治性疾患患者からの細胞株樹立についても共同研究実施し、それらの詳細解析による病因・病態解析ならびに創薬研究への応用を期待して研究を進める。

A. 研究目的

細胞資源は多岐にわたる基礎・応用・開発研究において必須の研究資源として利用されており、難治性疾患の克服に関してもこれら有用な研究資源の供給が必要である。（独）医薬基盤研究所・培養資源研究室（JCRB 細胞バンク）は国内初の公的細胞バンクとして研究者への研究資源の供給に勤めてきた（年間分譲 3500 アンプル、保有資源数 3000 株）。中でも細胞の品質管理に重点を置き、細胞のマイコプラズマ・ウイルス汚染、細胞のクロスコンタミネーションの問題に取り組んで来た。これまでの実績を踏まえ、難治性疾患克服のための細胞資源を整備するとともに、これらの品質管理技術の応用・発展により、資源を利用するために必要な情報を付加するための技術

開発を行い、疾患関連細胞の品質評価を実施する。

B. 研究方法

1) 細胞資源化

（独）医薬基盤研究所・培養資源研究室においては、遺伝性疾患患者由来細胞約 2700 種を情報登録しており、そのうち難治性疾患に該当する網膜芽種およびコカイン症候群はそれぞれ 651 種と 83 種登録されている。これらの細胞を増殖させ、様々な品質管理検査を実施した。また、それ以外の難治性疾患関連細胞としてライソゾーム病に関する β -ガラクトシダーゼ変異細胞株の資源化研究を実施した。

2) 染色体解析

細胞は直径 100mm のプラスチックディッシュで培養し、継代後約 2 日目にコルセミドを加え、37°C で 2 時間インキュベートした後、トリプシンで剥離し、ディッシュから回収した。次に 0.075M・KC1 低張処理後、カルノア液で固定した。染色体数の測定には metaphase spread chromosome を DAPI 染色し、AxioPlan II imaging microscope (Carl Zeiss, GmbH) で観察し、プログラムソフト LeicaQFISH を用いて画像の取得と解析をした。pFISH 解析には 13 番染色体、17 番染色体に特異的なプローブ (XCP13 -kit - FITC、XCP17 - kit - Texas Red) (MetaSystems、GmbH) を、mFISH の解析にはマルチカラープローブ (24Xcyte - MetaSystems' 24color kit) を用いた。方法は MetaSystems 社のプロトコールに従った。FISH 像は Zeiss Axio imaging microscope (Carl Zeiss Microimaging, GmbH) で観察し、プログラムソフト mBAND/mFISH (MetaSystems、GmbH) で解析した。

3) SNP アレイ解析 (アフィメトリックス社)

サンプル DNA は約 5×10^6 の細胞から AllPrep DNA/RNA Mini kit (QIAGEN Co., Japan) を用いて抽出・精製した。解析には Genome-Wide Human SNP Array 6.0 を用いた。抽出した Genomic DNA を制限酵素 (NspI, StyI) で切断し、4 塩基の特異的突出末端に対応するアダプターをライゲーションした。アダプター配列に対応する 1 種類のプライマーを用いて、アダプター付加 DNA フラグメントを PCR 増幅した。200~1100bp サイズのフラグメントを優先的に増幅するように PCR を行い、増幅産物を断片化し、Terminal Deoxynucleotidyl Transferase にて末端 Biotin 標識した。標識

した DNA は GeneChip Mapping 500K Set アレイにハイブリダイゼーション後 (Hybridization Oven 使用)、専用装置 Fluidics Station (GeneChip Fluidics Station 450) を用いて洗浄および streptavidin-phycoerythrin の染色を行い、レーザースキャナー (GeneChip Scanner 3000) でデータ収集を行った。

C. 研究結果

1) 細胞資源化

情報登録されている網膜芽腫およびコカイン症候群について、細胞増殖ならびに品質管理検査を実施し、網膜芽腫 19 株、コカイン症候群を 4 株資源化し (表 1)、研究者に分譲できる体制を整備した。また、ライソゾーム病に関して β -ガラクトシダーゼ変異株 3 株を高品質で資源化することができた。これによりインビトロにおいて X-gal 染色で評価できるモデル細胞系として創薬・疾患研究に応用可能となった。(図 1)

2) 難治性疾患患者由来細胞資源の G-band 法による染色体解析

網膜芽腫は 40% (両側性) が常染色体優性遺伝性の疾患、コカイン症候群は常染色体劣性遺伝性の疾患であり、原因となる遺伝子変異によってそれぞれの表現型が異なっている。

網膜芽細胞腫 (retinoblastoma) は眼球内に発生する悪性腫瘍であり、大部分は 2~3 歳ころまでに見られる小児がんである。胎生期網膜に見られる未分化な網膜芽細胞から発生する。治療は原則として眼球摘出となり、患者の QOL は非常に悪い。原因は 13 番染色体

上にあるRB 遺伝子の変異であり、この遺伝子が両方で変異すると網膜芽細胞腫となる。

本研究においては染色体解析を実施し、詳細な情報を細胞情報として付加することができた。(図2)

コカイン症候群の原因遺伝子はCSA(I型)、CSB(II型)の両型で特定されており、ヒト10番染色体上に存在する。原因遺伝子としてI型10%、II型80%が単離されており、その他として10%は色素性乾皮症遺伝子異常によって病態を示す。今回解析した患者由来細胞においては大きな染色体異常は認められなかったが(図3)、DNA損傷を与えるような状況下では大きな変化を示すものと考えられる。

3) 難治性疾患患者由来細胞資源のmFISHd法による染色体解析

次に、G-band法によって異常が認められた細胞についてmFISH法による染色体解析を行った。

mFISH解析による詳細解析が、染色体異常を起こしやすい細胞の解析に非常に有効であることがわかった。

D. 考察

本研究では、培養細胞、特に難治性疾患患者由来細胞資源の染色体解析による細胞特性解析の可能性について研究を行った。G-band法は職人的技術を要するが比較的安価に解析が可能である。しかし、構造異常や大きな染色体の変化を捉える事は可能であるが、mFISH法やアレイCGH法と比べると染色体の異常を見逃す可能性が高いといえる。今回の研究においてもG-band解析において正常核型と判定された細胞においてmFISH法によって異常が見出された。しかし、mFISH法、アレイ

CGH法は設備や試薬コストが非常に効果であり、すべての細胞に対して解析を実施すると非常に大きなコストがかかり、研究者への負担も増加する。これら技術を組み合わせることで、より多くの情報を細胞に付加した形で研究者に細胞供給することが我々細胞バンクにとって重要な意味を持ち、今後の研究の基盤になると考えられる。

E. 結論

細胞のゲノム詳細解析技術を用いて、難治性疾患患者由来細胞資源の特性解析を実施したが、細胞プロファイル情報として非常に有用なデータを取得することが出来、細胞評価法として重要な意味を持つことが明らかとなった。今後、本研究班で資源化した細胞が細胞ツールとして難治性疾患研究に貢献し、研究が進展・発展する可能性があり、そのために必要な情報を付加する技術を開発することが出来た。今後細胞細胞のコンタミネーションやマイコプラズマ汚染、ウイルス汚染チェックなどの品質管理技術とともに細胞を供給する立場として研究者に必要な資源、情報を提供していく必要があると考えられる。

F. 健康危険情報

適用なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Use of BAC array CGH for evaluation of chromosomal stability of clinically used human mesenchymal stem cells and of cancer cell lines. Saito S, Morita K, Kohara A, Masui T, Sasao M, Ohgushi H, Hirano T. Hum Cell. 24(1):2-8(2011)

- (2) Growth factor-defined culture medium for human mesenchymal stem cells. Mimura S, Kimura N, Hirata M, Tateyama D, Hayashida M, Umezawa A, Kohara A, Nikawa H, Okamoto T, Furue MK. Int J Dev Biol. 55(2):181-7(2011)
- (3) ヒト多能性幹細胞の命名法の国際統一規格案について. 菅三佳, 高田圭, 小原有弘, 末盛博文, 青井貴之, 中村幸夫, 古江・楠田美保 再生医療 (日本再生医療学会雑誌) vol.11(1)2-8 (2011)

2. 学会発表

国内会議

- ①細胞認証試験によるリスク管理の必要性と論文投稿における国際動向、小原有弘, 古江楠田美保、第 29 回日本ヒト細胞学会 学術集会 8 月 (富山)

表1 資源化した難治性疾患患者由来細胞資源

	細胞番号	細胞名	疾患名	タイプ
1	JCRB0311	RB16KY	網膜芽種	両側性
2	JCRB0312	RB24KY	網膜芽種	両側性
3	JCRB0313	RB28KY	網膜芽種	片側性
4	JCRB1182	NCC-RbC-51	網膜芽種	両側性
5	JCRB1183	NCC-RbC-54	網膜芽種	両側性
6	JCRB1186	NCC_RbC-59	網膜芽種	両側性
7	JCRB1190	NCC-RbC-57	網膜芽種	片側性
8	JCRB1200	NCC-RbC-53	網膜芽種	片側性
9	JCRB1212	NCC-RbC-56	網膜芽種	両側性
10	JCRB1214	NCC-RbC-67	網膜芽種	片側性
11	JCRB1221	NCC-RbC-92	網膜芽種	片側性
12	JCRB1223	NCC-RbC-T1	網膜芽種	両側性
13	JCRB1303	NCC-RbC-83	網膜芽種	片側性
14	JCRB1305	NCC-RbC-39	網膜芽種	片側性
15	JCRB1326	NCC-RbC-60	網膜芽種	両側性
16	JCRB0328	RBL162T	網膜芽種	-
17	JCRB0329	RBL221T	網膜芽種	-
18	JCRB0330	RBL182T	網膜芽種	-
19	JCRB3005	R59	網膜芽種	両側性
1	JCRB0309	CS2OS	コカイン症候群	
2	JCRB0310	CS2AW	コカイン症候群	
3	JCRB1056	CS2OS(SVT)	コカイン症候群	
4	JCRB1059	CS2AWTERT	コカイン症候群	

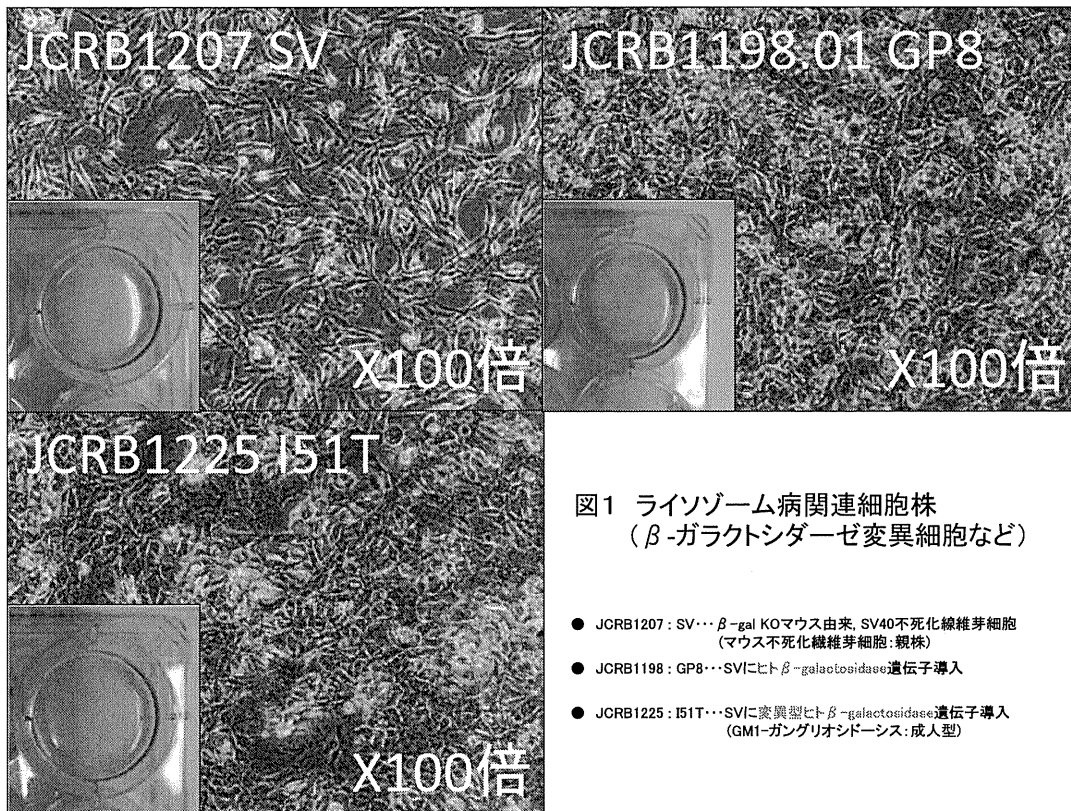
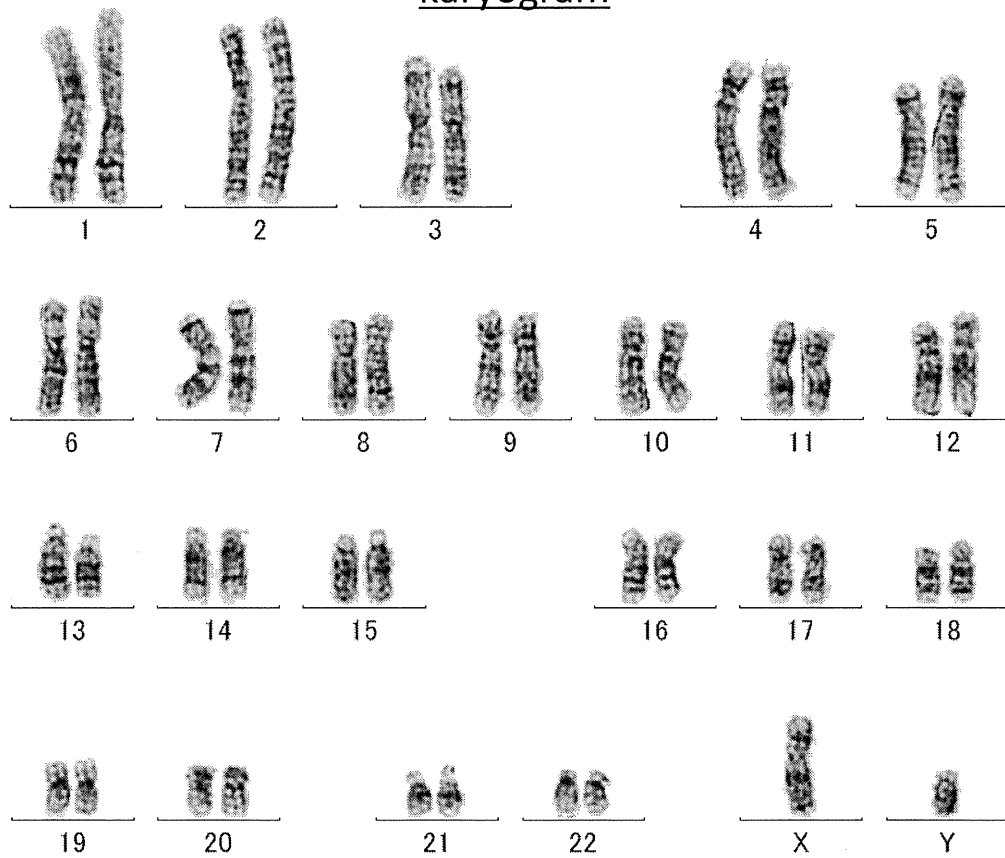


図1 ライソゾーム病関連細胞株
(β -ガラクトシダーゼ変異細胞など)

- JCRB1207: SV... β -gal KOマウス由来, SV40不死化線維芽細胞 (マウス不死化線維芽細胞:親株)
- JCRB1198: GP8...SVIにヒト β -galactosidase遺伝子導入
- JCRB1225: I51T...SVIに変異型ヒト β -galactosidase遺伝子導入 (GM1-ガングリオシドーシス:成人型)

JCRB0330 : RBL182T(06072010)seed

karyogram



karyotype

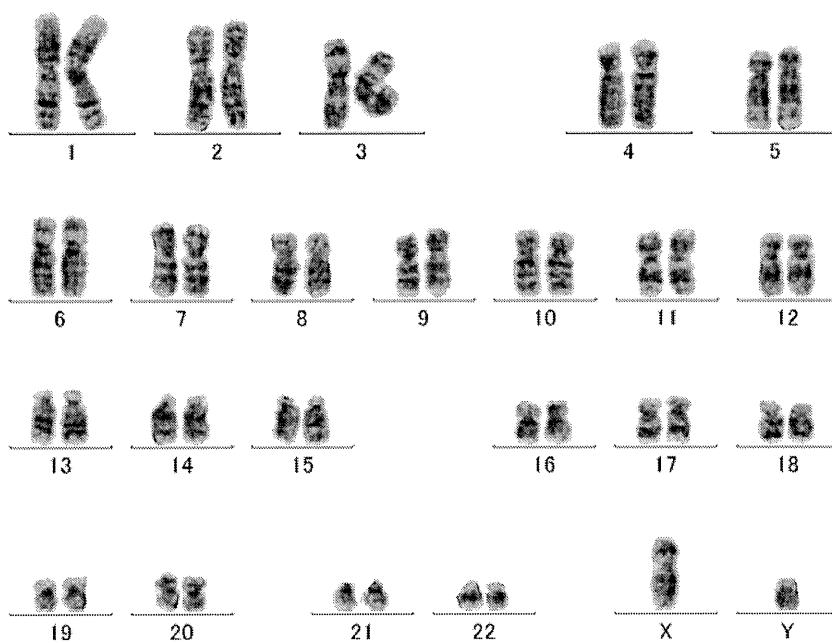
(n=20 cells)

46,XY,del(13)(q21q14)

図2. JCRB0330: RBL182T の G-band 法による染色体解析結果

JCRB0309:CS2OS(08152008)

Karyogram



Karyotype

46,XY (n=5cells)

図3. JCRB0309: CS2OS の G-band 法による染色体解析結果

IV 班會議資料

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服事業
(H21-難病-一般-166)

「難治性疾患克服のための難病研究 資源バンク開発研究」

平成23年度 第一回班会議



平成24年 1月20日(金)
千里ライフサイエンスセンタービル
大阪府豊中市

主任研究者：亀岡 洋祐（独立行政法人医薬基盤研究所）

「難治性疾患克服のための難病研究資源バンク開発研究」

班会議プログラム

会場：千里ライフサイエンスセンタービル

2012年1月20日（金）

13:30-13:40

開催にあたって 亀岡 洋祐

13:40-15:10

1-1 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（独立行政法人医薬基盤研究所 培養資源研究室）

1-2 平成23年度進捗報告

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）

1-3 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

ーヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針の見直しにあたっての検討事項を踏まえてー
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）

15:10-15:30 休憩

15:30-17:00

2-1 難病研究資源バンクの現状の課題と遺伝子レファレンスライブラリー構築

増井 徹（独立行政法人医薬基盤研究所 政策・倫理研究室）

2-2 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（独立行政法人医薬基盤研究所 疾患モデル小動物研究室）

2-3 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（聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 病因病態解析部門）

2-4 今年度事業の総括と報告

亀岡 洋祐（独立行政法人医薬基盤研究所 難病資源研究室）

まとめ

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

(独) 医薬基盤研究所 細胞資源研究室

本研究の目的は「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のうち、培養細胞資源に関してその品質評価・品質管理を行うとともに、細胞キャラクタライズ情報の付加を行うことである。

(独) 医薬基盤研究所・培養資源研究室は国内初の公的細胞バンクとしてJCRB細胞バンク事業を開始し、厚生労働省の細胞バンクとして創薬研究・疾患研究に供するヒト細胞資源の収集、品質管理、保管、供給を行ってきた。中でも細胞の品質管理に重点を置き、細胞のマイコプラズマ・ウイルス汚染、細胞のクロスコンタミネーションの問題に取り組んで来た。本研究班においてはこれらの品質管理技術の応用・発展により、資源を利用するために必要な情報を付加するための技術開発を行い、疾患関連細胞の品質評価・特性解析を実施する。

本年度、遺伝性疾患患者由来細胞を対象としてG-band法とアレイCGH法を中心とした、染色体・ゲノムの詳細解析を実施した。細胞におけるゲノム情報は病因・病態を解明するために非常に重要な情報であり、これらの詳細解析による情報は研究者にとって有用な情報となり、資源の活用に活かされるものである。本研究によって得られた詳細解析情報を細胞への情報負荷としてデータベース化し、難治性疾患患者由来の資源の活用を促進することで、難治性疾患克服のための研究を進展させ、しいては治療薬・治療法開発につながるものと考えられる。また、自己免疫疾患患者由来の細胞を用いた網羅的遺伝子発現解析ならびに病態・病因解析についても共同研究実施し、創薬研究への応用を期待して研究を進めた。

厚生労働科学研究費（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」

平成23年度研究班会議 発表資料

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 梅澤 明弘

【平成23年度進捗報告】

本研究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。今年度は医薬基盤研究所から入手した遺伝病患者（色素性乾皮症）由来細胞および国立成育医療研究センターにおいて収集した患者（先天性代謝異常症）由来細胞を用いて iPS 細胞の作製を試みた。その結果各疾患由来の細胞について iPS 細胞としての未分化性および多分化能性を確認した。さらに疾患遺伝子のもつ各疾患特有の表現型に対して、*in vivo* ならびに *in vitro* での再現構築について検証を行った。具体的にはテラトーマにおける組織学的解析(*in vivo*)や特定方向への分化誘導(*in vitro*)に対して、正常細胞由来 iPS 細胞と比較し、疾患遺伝子がもたらす表現型について解析を進めている。これまでの解析から疾患の表現系を再現できる可能性が示唆された。今後さらに各原因遺伝子の機能特性解析に必要な基盤を築き、正常細胞から樹立した iPS 細胞と様々な角度から比較検討することによって疾患遺伝子の機能や難治性疾患の診断・治療法開発へとつながることを目指す。

【今後の展望】

iPS細胞の疾患モデルとしての基盤を構築し、規格化されたiPS細胞については、順次高度化した難病患者試料として難病資源バンクへの寄託を進めていく。

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

-ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針の見直しにあたっての検討事項を踏まえて-

研究分担者 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 村山敏典 同 講師

猪原登志子 同 特定助教

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。これら大学や病院における「バンク」については提供者から特定の試料等の提供を受け、特定の研究者により研究利用される場合が多く、他の研究機関に試料等の提供を行う場合においても共同研究の範疇である意味合いが強いが、近年、他の研究者への提供のニーズも高まっている。

大学病院内でのバンクについては、試料の保存に関し、病院であることから診療と研究の切り分けが明確でない場合もある。研究用保管に関しては連結可能匿名化試料・情報として対応表を自施設に有することが多いと考えられる。病院であり、診療情報は常にアップデートされること、診療情報へ直接アクセスが可能であることから、有益性の高い医療情報を得ながら研究を遂行することができる一方、試料のみならず情報の厳格な管理も求められる。特殊な事情として、試料の有効利用期間は、試料を採集した研究者や試料を保有する教室の寿命より長い場合もある。また、大学内バンクの存続期間中であっても、特定の難治性疾患等の研究開発のためには、一定の期間の存続が保障されたナショナルバンクへの試料の移管についても検討する必要がある。このため、大学病院におけるバンクについても、一定の水準での管理体制を構築することが重要と考えられる。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、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」（以下「ゲノム指針」）の3指針への準拠が必要となる。平成13年に策定され平成17年に全部改正・施行されたゲノム指針は平成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。このような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。

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・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指針に準拠すべく研究実施計画書並びに説明同意文書の変更申請を計画し、また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変更申請との整合性をはかる予定である。本班会議においては本事例における具体的な問題点について紹介し、意見交換を行いたい。

難病研究資源バンクの現状の課題と遺伝子レファレンスライブラリー構築

医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部

増井徹

難病研究資源バンク(難病バンク)が始まってから2年4ヶ月が過ぎました。皆様のご協力の下に困難を乗り越え、この方向で進むという方向性が明確に見えて参りました。これも皆様のご協力の賜と感謝いたしております。

とはいえ、難病研究資源の受入れに関する交渉の調整は思っていたよりも難しいものでした。特に、自分の研究のために収集した研究資源について、広範な利用を可能にする枠組みについては、収集研究者の権利を守ることを基本としてきましたが、この方式には限界があることも事実です。「後腐れ無く利用できる試料と情報」という考え方自体が、患者、医療と近いところで行われる難病バンク事業にとっては背反する課題なのかもしれません。同時に、難病バンクとしては、誰が適切な研究アイデアを持っているか判断できないのだから、多くの研究者が手軽に利用できる生物資源の利用基盤を作るという姿勢を大事にしたいと思えます。

このような状況の中で、今年度は大きな動きがありました。ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理指針が改正されています。私も委員として参加して、多くの課題の内、ほんの一握りの問題について検討がされました。その中には、バンクについての見直しがあります。ただ、実態に即した広範なプラットフォームの設定をしていただけそうなのですが、混乱を招く部分もあります。現在、臨床材料の研究用バイオバンクの実務者の研究会を設立する努力をしております。共通の自主ルールの作成とそのための議論が必要であることは明らかであると思われれます。

もう一つ気になる動きは、米国のDHHS(Department of Human Health Services)の長官への被験者保護に関する助言委員会(SACHRP)が助言文書を出しました。この問題はより大きな動きである米国のCommon Ruleの改正とも関係があるように思われれます。

発表においては、指針の改訂から、バンクについてまとめてお話すると同時に、米国での状況について、簡単に報告する。また、今後の難病バンクの方向性について解説する。

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

(独) 医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部

本研究は、難治性疾患対策のため収集された患者試料を、DNA、RNA、細胞レベルに加え、その組織形態、機能を生かしたままの保存法の確立、さらに、Super-SCID マウスに継代維持を可能にすることにより、難病研究資源バンク開発研究における総括的ヒト難治性疾患組織維持システムの基盤研究を行い、難病の基礎研究、治療研究、創薬研究に結びつけるのを目的とする。

23年度は118症例および54れいのヒト組織の移植を行った。ヒト悪性腫瘍では、これまで移植が不可能とされた前立腺がん（まもなく男性1位になる）と希少がんであるGIST(Gastrointestintal Tumor)の継代移植に成功している。ヒト正常組織に関しては、ヒト肺、甲状腺、皮膚、脂肪組織等の継代移植と一定のプログラムを用いた再生可能な形での凍結保存を行い、ヒト甲状腺、肺はその形態はよく維持され、甲状腺はホルモン分泌・反応、遺伝子発現もよく維持されている。中性子線にすばやく反応する遺伝子14個も見つかった。ダイオキシシン、ウレタンを用いた解析を行っている。

ヒト疾患臨床組織を生きたままの凍結保存し、必要時に組織培養、細胞培養、組織の継代移植を可能にするため、ヒト疾患組織（肺、甲状腺、脂肪組織等）をプログラム凍結を行っている。現在のところ、脂肪組織、肺組織、前立腺肥大組織で実施し、病態はよく維持されている。これらヒト組織の継代移植維持のために、より重度の複合免疫不全マウスの作成、培養資源研究部・小原との共同研究でルシフェラーゼ標識細胞のSCIDマウス体内での動態観察法の確立を行っている。

協力研究者・竹森（代謝疾患関連タンパク探索プロジェクト）が発見し、昨年度系統化した脊髄小脳変性症モデルマウス（TS3）の責任遺伝子を同定することを試み、TS3の遺伝子産物は、膜チャンネルをコードするタンパクのORFに1kbの欠損があり、産生されていないことが判明した。TS3マウスの病態を薬理的に修飾可能か否かを検討する目的で、約30種の市販薬等の投与を行い、TS3マウスの病態は抗鬱薬（フェノバル・バルプロン酸）で改善した。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では、自然発症モデル中心に系統保存と解析を継続して行っている。

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

研究分担者：山野 嘉久

聖マリアンナ医科大学 難病治療研究センター 病因病態解析部門

1. 研究目的

HTLV-1 関連脊髄症 (HAM) は、全国患者数が約 3000 人と稀な疾患であるため、患者は様々な医療機関に点在しており、HAM の情報が効率的に集約されず、病態・治療研究が進展しない大きな原因となっている。そこで本研究は、HAM 患者の臨床情報と生体試料を効率的に収集・バンク化し、さらに国の難病バンクとの連携体制を確立することによってその試料を公平に提供する体制を構築し、HAM に関する共同研究を加速させ、革新的研究の進展に資することを目的とする。

2. 研究方法

関東で唯一の HAM 専門外来を実施することによって、稀な疾患である HAM 患者の情報や検体が効率的に集約される体制を構築する。さらに、そこで詳細な臨床情報を蓄積するとともに、倫理委員会で承認済みの同意書を得て検体を収集し、末梢血単核球細胞 (PBMC)、血清、DNA を分離して保存・バンク化する。さらに、生命倫理委員会の書類を改訂し、国主導の難病研究資源バンクに生体試料を提供できる体制を整備する。

(倫理面への配慮)

臨床検体の収集に際しては、本学の生命倫理委員会で承認された (承認番号: 第 1646 号) 同意書を用いて、不利益や危険性の排除などに関するインフォームドコンセントを行った。また検体は、個人情報管理者が連結可能匿名化により番号化する為、提供者を特定できないようにし、患者の人権擁護に努めた。

3. 研究結果及び考察

HAM 専門外来において臨床情報を集積すると同時に、患者検体を経時的に収集し、血清、血漿、PBMC、PBMC のゲノム DNA、髄液を保存・バンク化した。これまでに、本邦における推定 HAM 患者 (約 3000 人) のうち HAM 患者 124 例、未発病感染者 (AC) 144 例の患者検体を収集・保存した。特に HAM 患者検体は経時的に保存しており、疾病の時間的な変化、治療による影響なども把握することを可能とした。

また、国主導の難病研究資源バンクに生体試料を提供できる体制を整備する為に、本学の生命倫理委員会へ提出する書類を改訂し、新しく申請、承認された。これまでに、血清 (HAM 患者 45 検体、AC 11 検体)、血漿 (HAM 患者 128 検体)、ゲノム DNA (HAM 患者 163 検体、AC 50 検体)、PBMC (HAM 患者 49 検体) を、難病研究資源バンクに送付し、保存した。専門外来の開設と難病バンクとの連携体制の確立といった研究基盤の形成に関しては、HAM の患者会で講演し、また書籍にも執筆してその有用性を紹介した (神経内科 2011)。

以上のように、HAM の専門外来の実施による、生体資料の収集保存の拠点形成と難病研究資源バンクとの連携体制の確立は、希少疾患である HAM 患者の臨床情報と生体試料を収集する為に、非常に効率的であることが示された。また、全国に拠点機関を形成して協力することで効率性をさらに高めることが、このような希少疾患に関するゲノム解析などの大規模解析による革新的な研究の実施に必要な不可欠であることが示された。これだけの規模の詳細な臨床情報と検体を経時的に保存している施設は世界的にも貴重であるため、国内外の様々な研究グループから共同研究の依頼を受けるようになってきている。

難病研究資源バンク開発研究事業

平成 23 年度の事業の総括

亀岡洋祐

(独) 医薬基盤研究所 難病資源研究室

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。今年度は本研究事業の最終年度に当たり、最終的なシステム整備と試料収集班への対応を進めるとともに、新規倫理申請を進めた。今年度は現在までに4回の倫理審査委員会が開催され、さらに年度内に1回開催を予定している。今年度は再審査も含め13件の倫理審査を受け10件の承認を得た、3年間の合計承認案件は15件となった。試料収集の面では現在まで598件の試料提供を受け、疾患としてはHTLV-1関連脊髄症、HTLV-1感染症、多発奇形症候群、ケネディー病、ミトコンドリア病、糖原病、メルセウス・バツハー病の7疾患であった。また、近々に褐色細胞腫64症例が寄託される予定となっている。試料種類別ではゲノムDNA226件、血清56件、血漿192件、DNA用末梢血リンパ球65件、末梢血リンパ球生細胞49件、iPS細胞8件となった。これらの試料提供を受け、研究利用のための試料分譲要領の策定、難病バンクホームページより、ユーザー登録システム構築、登録ユーザー用利用可能分譲試料閲覧ページ、分譲申請様式ダウンロードサイト等の分譲に向けたシステムを完備した。現在、分譲申請1件を受付し分譲の審査手続きに進んでいる。

難病バンクに提供された症例で最も多いものは聖マリアンナ医大、山野班より提供された575件（HTLV-1関連疾患およびHTLV-1 感染症）（DNA、血清、血漿、末梢血リンパ球生細胞、DNA用末梢血リンパ球）である。難治性疾患克服研究事業には300近い研究班があり、30年間の事業で継続的な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、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近く血清、血漿を受入れる予定となっている。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。このような全国的な規模で班研究を進める研究班との共同事業として試料収集を進めること、また班研究での試料利用分譲を進めることが、今後のバンク運営にとって重要な課題である。

V シンポジウム資料

難治性疾患克服研究事業

市民・研究者シンポジウム

難病研究と創薬2011

日時

平成23年 **10月16日** 日

入場無料

講演時間 / 13:00 ~ 16:30

定員: 130人

ところ

千里ライフサイエンスセンター 5階 サイエンスホール

〒560-0082 大阪府豊中市新千里東町1-4-2 TEL.06-6873-2010

プログラム

前半

- 13:00 **開 会**
シンポジウム開催のご挨拶
(独)医薬基盤研究所 戦略企画部長 **新見 裕一**
- 13:10 **セッションI 「我が国の難病対策と疾患研究」**
座 長
(独)理化学研究所 バイオリソースセンター 室長 **中村 幸夫**
- 13:10 **「わが国の難病研究の現状について」**
福井県健康福祉部健康増進課 課長 **中田 勝己**
- 13:40 **「薬事審査から見た
難治性疾患・希少疾患と医薬品・医療機器」**
(独)医薬品医療機器総合機構(PMDA) 審査センター長 **内海 英雄**
- 14:10 **「皮膚の再構成と難病への応用」**
愛媛大学大学院医学系研究科 感覚皮膚医学 講師 **白方 裕司**

14:40-14:55

休 憩

後半

- 14:55 **セッションII 「難治性疾患研究と
難病研究資源バンク事業」**
座 長
(独)医薬基盤研究所 難病研究資源バンク 主任研究員 **亀岡 洋祐**
- 14:55 **「日本人における多発性硬化症の
最近の動向と治療の展望」**
九州大学大学院医学研究院神経内科学 教授 **吉良 潤一**
- 15:25 **「ブレインバンクの実務経験から
一生前向きシステムに基づく神経疾患ブレインバンクを中心に」**
(独)国立精神・神経医療研究センター病院 臨床検査部病理検査室 医長 **齊藤 祐子**
- 15:55 **「難病研究資源バンクについて」**
(独)医薬基盤研究所 難病・疾患資源研究部 部長 **増井 徹**
(独)理化学研究所 バイオリソースセンター 室長 **中村 幸夫**
- 16:25 **閉会のご挨拶**
(独)医薬基盤研究所 研究振興部 部長 **北窓 隆子**
- 16:30 **閉 会**
総合司会
(独)医薬基盤研究所 政策・倫理研究室 **松下 京子**

協 力 日本製薬工業協会、JPA日本難病・疾病団体協議会
希少難病患者支援事務局 SORD

主 催 NIBIO 独立行政法人医薬基盤研究所
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」研究班

お申込み お申し込みはホームページ・メールまたはFAXにて受付いたします。

お問合せ 難病研究資源バンク TEL / FAX : 072-641-9019

E-mail : raredis-office@nibio.go.jp

H P : http://raredis.nibio.go.jp/



- ・地下鉄御堂筋線千里中央駅下車（北出口すぐ）
- ・大阪モノレール千里中央駅下車（徒歩約5分）
- ・新大阪駅から約15分、大阪国際空港（伊丹空港）から約15分

市民・研究者シンポジウム

「難病研究と創薬 2011」
講演要旨集

場所 千里ライフサイエンスセンター 5F サイエンスホール

日時 平成 23 年 10 月 16 日（日）13：00－16：30

協力 日本製薬工業会、JPA 日本難病・疾病団体協議会、
NPO 法人希少難病患者支援事務局 SORD

主催 独立行政法人医薬基盤研究所
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」研究班