

## ヒトゲノム・遺伝子治療研究事業追跡調査（抜粋）

平成14年度 厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

「保健医療分野における研究評価のあり方に関する研究」

主任研究者 林 謙治 国立保健医療科学院 次長

（平成15年3月）

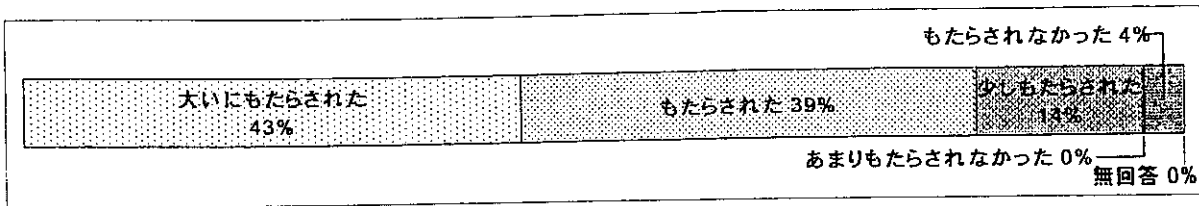
分担研究報告書

## 助成採択研究の追跡評価

分担研究者 伊藤 弘人 国立保健医療科学院経営科学部サービス評価室 室長

研究要旨：本研究では、保健医療科学分野の研究評価における、公正で透明性の高い評価システムの開発の一環として、追跡評価の方法論の開発を行なう。研究方法：対象は、厚生科学研究（現厚生労働科学研究）のヒトゲノム・遺伝子治療研究事業（平成11年度以前）およびヒトゲノム・再生医療等研究事業（平成12年度以後）の採択課題のうち、平成11年度から平成13年度までに事後評価が行なわれた43件である。調査は、自記式調査票を用い、対象となる課題の最終年度の主任研究者へ郵送法により実施した。その結果、28名（65%）から回答を得た。結果：研究の社会へのインパクト（百分率は5つの選択肢のうち程度の高い3つ（大いに該当、該当、少し該当）の合計）については、学術的な発見や解明がもたらされた（96%）、研究成果が引用されたり別刷を請求されたりする（75%）、診療に反映された（68%）、治療成績が向上した（29%）、診療ガイドラインに反映された（14%）、医療に関連する法律や規則に反映された（14%）との回答を得た。社会への総合的なインパクトは、79%が「大いにあった」、「あった」と回答しており、「少しあった」を含めると、全員がインパクトがあったと回答した。また、現在の研究評価が、基礎研究よりも新しい発見や解明を基準にした一元的な視点に基づいていることが指摘された。まとめ：研究の成果が、治療成績や制度にまで反映されるには、長い年月を要することが明らかになった。また、研究評価の視点や体制・過程を改善する必要性も示唆された。厚生労働科学研究の追跡評価は、導入の必要性が高く、専門的な評価主体を組織し、評価の視点を充実させ、長期的に評価を行なえば、追跡評価を実施する意義は大きいと考えられる。

【資料 2 - 1】学術的な発見や解明（調査票1(1)）

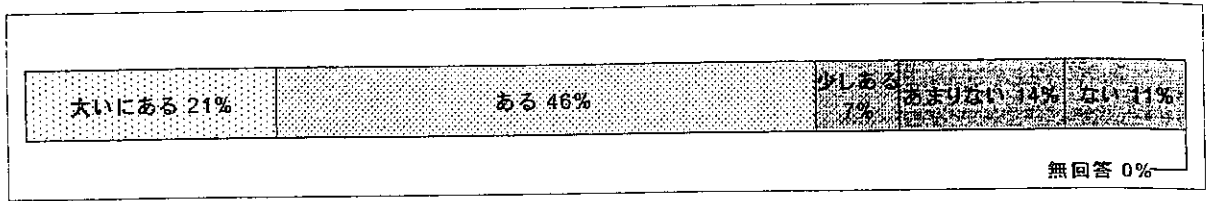


- 本研究は研究資源を国内外の研究者に提供することを目的として運営されている，研究資源バンクにおける基盤研究であり，高品質で有用な細胞・遺伝子を社会へ提供することに役立った。
- 動物ゲノム解析における疾患原因遺伝子の単離には時間がかかる。そのため，この研究のヒトへの成果は現在表れつつある。（新しいヒト難聴の発見による）。3（少しもたらされた）→1（大いにもたらされた）と発展中である。
- 従来のマウス発生工学技術により作成された，遺伝子操作マウスによる研究の限界に，ブレークスルーを与える，全く新しい遺伝子操作マウス作成技術が開発された。特に，点変異を特定細胞で導入したモデルマウスの作成が，本研究ではじめて可能になった。
- ゲノムインプリンティング遺伝子が予想以上に多く存在し，ヒト疾患遺伝子の原因になっていることが明らかとなった。
- 遺伝子導入のためのリボソームに新しい概念を導入できた。
- 新たな治療法の裏付けがされた。
- 特定の細胞にだけ遺伝子を導入できる新しい標的遺伝子導入技術を開発した。
- アデノウイルスベクターを，安全にヒトに投与することが可能であることが実証された。
- 本邦におけるトランスレーショナルリサーチのあり方を具体的に示すことができた。免疫遺伝子治療の臨床的意義を明らかにできた。
- ①最終年度に開始した簡便に目的の蛋白質を発現できる次世代アデノウイルスベクターの開発研究が，我が国の当該分野をリードする形に発展している。  
②血管をターゲットにした新たな癌遺伝子治療戦略を提出できた。  
③遺伝子の核移行への核移行シグナルの応用，染色体外 DNA の安定化因子の同定。  
など
- 純国産技術で開発を進めてきた遺伝子治療製剤（遺伝子包埋リボソーム製剤）の臨床応用の目途が立った。

- 本研究は研究資源基盤の整備を目的とするもので、研究自身が新発見・新発明を目的としていない。本事業の研究により確立された研究資源を利用した研究者が、新しい発見や解明をもたらしてくれると信じている。そのための支援が本研究の目的である。
- 本研究は、ヒトゲノム・遺伝子治療などの研究推進をもたらすため、研究資材として有用な細胞の開発と、細胞の収集を行った。従って、本研究が即新しい発見につながるかの評価は難しい。細胞バンクを通じて、研究者の研究材料として役立てばうれしい。
- ①マウスおよびサル cDNA をもとに、ヒト新規遺伝子を分離することができ、疾病関連遺伝子の機能解明から診療、治療へと結びつけることに道を開いた。  
②多数 cDNA をマイクロアレイ化し、遺伝子発現解析を行うようにし、薬剤応答試験等を *in vitro* で行う道を開いた。  
③ヒト染色体断片をマウス細胞に移入し、染色体レベルの解析を行えるようにした。
- 重篤な遺伝病に関する遺伝情報が、両親から次世代の子供に対して、ほとんど伝えられていない事実が判明した。
- Nature 等の一流誌に掲載された。  
国内外から大きな反響があった。
- これまでメラノーマに限定されていた HLA-A2用ペプチドワクチンが上皮癌患者においても実現可能となった。また、HLA-A24上皮癌患者へのペプチドワクチン第 I 相臨床試験を実施し、その安全性を確認し、CTL 誘導能増強が多くの症例において得られた。従って、第 II 相臨床試験への目途がついたと評価される。
- サイトカインによる細胞死を制御する新規分子アナモルシンをクローニングした。この分子をノックアウトすると、造血不全により胎生後期に死亡した。またこの分子は、造血器腫瘍に強く発現されており、腫瘍化にも関係していると示唆された。
- 本研究では、慢性骨髄性白血病 (CML) の急性転化時には①EEF2 (eukaryotic elongation factor 2), ②HSP90 (heat shock protein 90), ③cMYC が高発現していることを見いだした。
- いくつかの胎児の先天異常に関与する遺伝子異常が解明されている。
- カルシウムホメオスタシスの制御についての新しい知見が得られた。ビタミン D 合成の新しい制御システムの存在が明らかとなった。Klotho 統合分かつとその機能制御機構が明らかになりつつある。
- これまで想像されていた以上に多くの遺伝子が生殖に特異的に関与することが明らかとなった。
- これまであまり研究の進んでいなかった、RecQ ヘリカーゼファミリーの DNA 修復における役割が、かなり明らかになった。

- マイクロダイセクション法により病理組織標本上の病変の現場から少数のターゲットの組織を正確に取り出し、ここから高品質の核酸を抽出・増幅する技術が確立した。この核酸標本を実用化された cDNA チップ解析に供することで、本研究課題の発足時には不可能であった病理組織における疾患関連遺伝子の網羅的解析を理想的な形で実現できるようになった。マイクロダイセクション法・cDNA チップ解析は研究に必須の手技として今日までに既に広く普及し、極微量 RNA 増幅法も多くの学術集会のシンポジウムで取り上げられるなどの反響がある。がんの発生・進展に寄与し、病態診断・分子標的治療・予測医療の鍵を握る可能性のある新規および既知遺伝子が既に同定されているのみならず、本研究課題の成果が同様の遺伝子の単離の基盤技術として継続して多大な貢献をなすことが期待される。
- 小児がん、特に乳児白血病やホジキン病の発症に遺伝的要因がかくされていることを発見し、論文を2報投稿した。一報は BLOOD 誌に accept、もう一報も現在審査を受けている段階である。我々の発見した知見はレビューアーによって高く評価され、今後のがん研究の方向を左右すると考えられる。
- センダイウイルスベクターによるワクチン抗原の発現は、強い抗原刺激となることがわかった。アデノ随伴ウイルス (AAV) 持続感染細胞がアポトーシスに至る刺激を受けると、ウイルスが増殖すること、AAV ベクターは、野生型 AAV、ヘルパーウイルスの共感染でレスキューされることを明らかにした。弱毒型変異ヘルペスウイルスによる、末期癌治療の基礎研究が進んだ。
- 樹状細胞療法を開発することに成功した。NKT 細胞についての研究が進み、治療への応用が可能であると考えられた。
- 原因不明であった成人発症 II 型シトルリン血症 (CTLN2) ならびにある種の乳児性肝炎 (NICCD) の責任遺伝子 SLC25A13が発見できた。また、新規遺伝子産物 citrin が aspartate glutamate carrier (AGC) であることが解明でき、多彩な病態の一部は説明可能になった。さらに、SLC25A13変異遺伝子を持つ保因者が高頻度 (1/50~1/100) に存在することが明らかになった。

【資料 2 - 2】研究成果の引用・別刷請求（調査票1(2)）

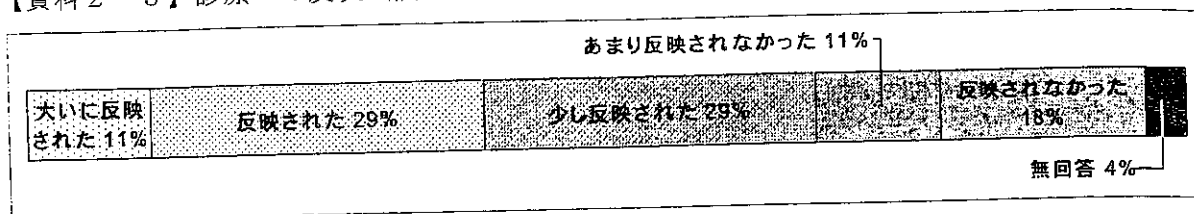


- Y. Nakagaito, M. Satoh, H. Kuno et al. Establishment of an epidermal growth factor-dependent, multipotent neural precursor cell line. *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 34: 585-592, 1998.
- Human Molecular Genetics in press  
(new deafness gene の単離)
- 新しいマウス発生工学技術の開発を発表する原著論文は現在投稿中であるが、学会発表を聞いた研究者からの問い合わせは少なくとも20件以上寄せられている。
- Miyoshi N et al. Identification of the Meg1/Grb10 imprinted gene on mouse proximal chromosome 11, a candidate for the Silver-Russel syndrome gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 1102-1107, 1998.
- Y Saeki et al. Development and characterization of cationic liposomes conjugated with HVJ. *Human Gene Therapy* 8: 2133-2141, 1997.
- Igarashi T, Suzuki S, Takahashi M, Tamaoki T, and Shimada T. A novel strategy of cell targeting based on tissue specific expression of the ecotropic retrovirus receptor gene. *Human Gene Ther* 9: 2691-2698, 1998.
- Nishizaki et al. Recombinant adenovirus expressing wild-type p53 is antiangiogenic. *Clin Cancer Res* 5: 1015-1023, 1999.
- ①Takeda K et al. Involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in surveillance of tumor metastasis by liver natural killer cells. *Nature Medicine* 7: 94-100, 2001.  
②Tanabe T et al. Oncogene inactivation in a mouse model: Tissue invasion by leukaemic cells is stalled by loading them with a designer ribozyme. *Nature* 406: 473-474, 2000.
- Mizugushi H, Nakagawa S, Hayakawa T, and Mayumi T et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -mediated tumor regression by the direct delivery of the gene into the artery controlling tumors in vivo. *Cancer Res* 58: 5725-5730, 1998.
- Natsume A et al. Antitumor effect and Cellular immunity activation by murine interferon- $\beta$  gene transfer against intracerebral glioma in mouse. *Gene Therapy* 6: 1626-1633, 1999.
- 不明。引用回数を検索することはしていないし、別刷請求も on-line でとれるようになって、ほとんどなくなっているため把握してない。特に分担研究者の分は3年近く経って、交流もない人もおり、掌握できない。

- 最近は on line で PDF file にして print out できるため別刷請求はない。
- ①Ito M, Shichijo S, Tsuda N, Ochi M, Harashima N, Saito N and Itoh K. Molecular basis of T cell-mediated recognition of pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 61: 2038-2046, 2001.
- ②Hida N, Maeda Y, Katagiri K, Takasu H, Harada M and Itoh K. A simple culture protocol to detect Peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in the circulation. *Cancer Immunol Immunother* 51: 219-228, 2002.
- 現在, Nature に投稿中 (主な研究成果の論文)。  
その他, 関連する仕事では多くの引用あり。
- Sato Y, et al. Chromosomal instability in chromosome band 12p13: multiple breaks leading to complex rearrangements including cytogenetically undetectable sub-clones. *Leukemia* 5: 1193-1202, 2001.
- ①Kuro-o M et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling aging. *Nature* 390: 45-51, 1997.
- ②Matsumura et al. Identification of human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted Klotho protein. *Biochem Biophys Res Comm* 242: 626-630, 1998.
- Yoshida, K. et al. The mouse RecA-like gene Dmcl is required for homologous chromosome synapsis during meiosis. *Mol. Cell* 1: 707-718, 1998.
- Kitao et al. Mutations in RECQL4 cause a subset of case of Rothmund-Thomson syndrome, *Nature Genetics* 22: 82-84, 1999.
- Ono Y, Nakanishi Y, Ino Y, Niki T, Yamada T, Yoshimura K, Saikawa M, Nakajima T, Hirohashi S. Clinicopathologic significance of laminin-5 gamma2 chain expression in squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer* 85: 2315-2321, 1999. (25回)
- Asada M, Mizutani S et al. Apoptosis inhibitory activity of cytoplasmic p21 Cip1/WAF1 in monocytes differentiation. *EMBOJ* 18: 1223-1234, 1999.
- Kano M, Matano T, Nakamura H, Takeda A, Kato A, Ariyoshi K, Mori K, Sata T, Nagai Y. Elicitation of protective immunity against simian immunodeficiency virus infection by a recombinant Sendai virus expressing the Gag protein. *AIDS* 14: 1281-1282, 2000.
- Takahashi T, et al. Analysis of human V $\alpha$ 24+ CD4+ NKT cells activated by  $\alpha$ -glycosylceramide-pulsed monocyte-derived dendritic cells. *J. Immunol.* 164: 4458-4464, 2000.
- Kobayashi K, Sinasac DS, Iijima M, Boright AP, Begum L, Lee JR, Yasuda T, Ikeda S, Hirano R, Terazono H, Crackower MA, Kondo I, Tsui L-C, Scherer SW, Saheki T. The gene mutated in adult-onset type II citrullinaemia encodes a putative mitochondrial carrier protein. *Nature Genetics* 22: 159-163, 1999.

(無回答 5 件)

【資料2-3】診療への反映（調査票1(3)）



- 本研究での成果物である神経系幹細胞は神経変性疾患などの診療の基盤となる研究に利用された。
- これから期待している。
- 本研究は、病態モデル動物を開発し、神経疾患の病態の理解・治療法開発を行なうための基礎医学研究であるが、神経疾患とNMDA型グルタミン酸受容体の異常活性化の関連に重要な知見が得られている。
- ①グリオーマにおけるPEG3の効果については、遺伝子治療への応用を検討中。  
②多因子疾患へのエピジェネティクスの関わりへの視点を広める一助となった。
- 本来、治療を目指したものではない。
- 治療の可能性を支持した。
- 基礎研究であり、臨床応用は行っていない。
- p53アデノウイルスを肺癌腫瘍内に投与することで、腫瘍縮小が見られ、複数の患者で症状が緩和された。
- トランスレーショナルリサーチであるため、新規トランスレーショナルリサーチへの反映がある。例えば、骨髄非破壊的同種移植術との比較が考えられる。
- 現時点では、基礎研究、前臨床の段階なので、設問には該当しない。
- 遺伝子治療製剤の臨床応用の目途が立ち、本研究終了の翌年に臨床研究を開始することになった。
- 培養細胞の誤りを複数発見した。またマイコプラズマに汚染された細胞も多数発見し、汚染を除去して提供している。我々がこのような活動を行わない限り、国内の多くの研究者はマイコプラズマに汚染されたり、誤った細胞を使い続けたりして、研究の質を落とすことになる。
- 本研究は、ヒトゲノム・遺伝子治療などの研究推進をもたらすため、研究資材として有用な細胞の開発と、細胞の収集を行ったので、即、診療に反映されるわけではない。

- 直接検査，診断に用いられるまでに至ってないが，
  - ①cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析技術を確立し，検査診断への道を開いた。
  - ②ヒト単一染色体保持細胞を用いて，ヒト型抗体を作らせる細胞を確立し，in vitro 抗体産生への道を開いた。
- 遺伝病の説明を行う際に，なるべく多くの家系内メンバーに実施している。
- 本研究成果は，癌患者個々の免疫学的特性（HLA 多様性，癌抗原の有無，CTL 前駆体の有無）に基づいたオーダーメイドの癌予防や治療法の開発に科学的基盤を賦与するものと考えられる。さらに，癌特異免疫療法や宿主免疫機能を温存した集学的癌治療の実現や，発癌初期における予防及び防御免疫誘導を主目的とした癌免疫療法の開発にも科学的基盤を賦与するものと考えられる。
- 現在，病態との関連を解析中。
- 現在，急性期 CML の効果的な治療剤はないとされている。しかし，本研究成果により，急性期 CML では EEF や HSP90 が高発現していることが判明したので，EEF 阻害剤，HSP90 阻害剤を従来の化学療法剤と併用することにより，より良好な治療成績が得られる可能性がある。今後，上記のことを訴え，治療方針に反映させていきたい。
- 神経系閉鎖障害の分娩例に対し，予防的葉酸投与を導入する際に有用。
- ①ヒトにおける Klotho 発現異常患者が見いだされ，現在，関連する患者群の大規模解析が進行している。  
②骨密度の低下と連鎖する SNP's が Klotho 遺伝子座から見つかった。
- 男性不妊症の原因遺伝子探索の道が開かれた。
- 海外及び国内より遺伝子診断の依頼が10件ほどあった。
- 複合因子によって規定される診療上の成果を，本研究課題終了からの2年間をもって評価するのは時期尚早と考えられるが，大いに反映されることが充分期待される。本研究課題の成果として既に同定された疾患関連遺伝子に着目し，肝細胞がんの悪性度診断と予後予測，腎がんの発生母地の判定と病態の把握，食道がんの放射線化学療法感受性予測などが試みられており，近い将来種々のがんにおけるこれらの遺伝子産物に関する分子標的治療の可能性が充分期待される。
- がんの予防という面で今後反映される可能性が高い。
- 我が国での遺伝子治療臨床試験は少数にとどまり，しかも米国の追試である。本研究班の成果は，将来必要となるもので，直ちに診療に反映されるものではない。
- 新しい細胞療法の開発に反映された。



- SLC25A13遺伝子の発見ならびに変異遺伝子診断法の確立により、CTLN2患者と肝移植ドナーを正確に診断できるようになった。さらに、CTLN2における新生児期の病態（NICCD）が判明し、ある種の乳児性肝炎の診断を行なう上で大いに役立っている。この3年間で100例を超えるNICCD患者を診断してきた。

（無回答1件）