

病理組織標本による臨床研究に関する倫理の最近の動向

- 1、臨床研究の倫理指針の改定による変化
- 2、海外学術研究における国内業績に関する方策
- 3、EBV 関連病変、主に、鼻型 NK.T 細胞性リンパ腫における発癌要因研究の動向

蓮井和久

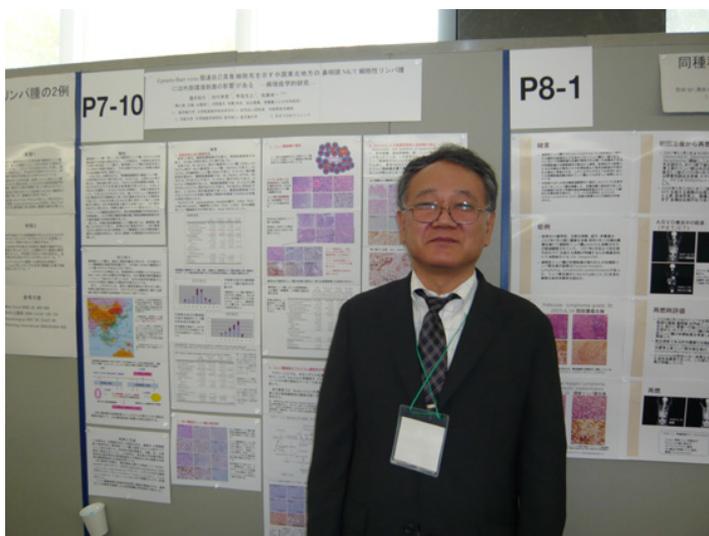
鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 (難治ウイルス病態制御研究センター)

分子ウイルス感染研究分野・講師

2009.7

2007年7月9～11日の日程で、淡路夢舞台国際会議場で開催された第49回日本リンパ網内系学会に参加して来た。日医大の細根先生に、私の研究用ホームページに関するご意見を伺い、最近の研究や研究の倫理面等に関する私観等に興味を持って頂いている方々が居られる旨を聞いた。

第49回日本リンパ網内系学会ポスターの前で今回の発表では、送付抄録のコンピュータ上での消失等があったが、何とか、無事に発表出来た。



(細根先生に、撮って頂いたスナップ。2009.7.11(淡路夢舞台国際会議場)

病理組織標本による臨床研究には、多種多様なものがあるので、この内容は、私が関与している海外学術研究に関するものと、最近、WHO新分類の亜型の解説文の執筆を依頼されて、症例の紹介に関して遭遇した研究の倫理問題に関するものである。

1、臨床研究の倫理指針の改定による変化

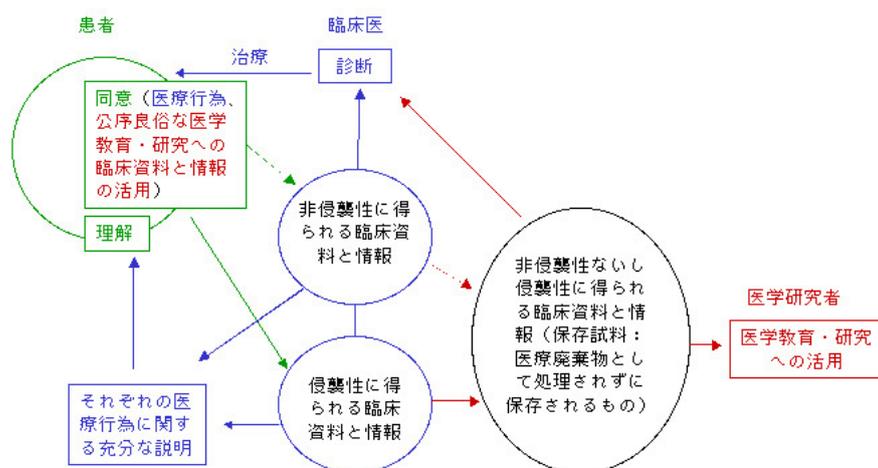
個人情報保護法の成立に伴い、法的な対応として、個人情報保護を限りは、特別な法的な制約は無くなった一方で、厚生労働省の臨床研究の倫理指針が平成20年7月31日に全面改定され、平成21年4月1日から実施されている。

最近、病理組織標本を用いた病理診断や医学研究に用いようかとするその施設にとって新しい抗体等の試験的・パイロット的な免疫染色が、上記の臨床研究の倫理指針の施行で困難な状況になったと聞いた。しかし、適応範囲で、1) 診断および治療のみを目的とし

た医療行為は適応範囲外とされており、診断病理部門での新たな抗体導入における染色方法等の決定とコントロール染色は、この範疇に入るものと考えられる。

また、研究者等の責務等で、規定された手続きによりインフォームドコンセントを得る必要があるのだが、文書による説明と文書による同意を得る必要があると記載されているが、病理組織標本の検索は、一般に、診断と治療の為に病変の生検や切除が行われた後に行われるので、その但し書きにある説明と同意の記録を残す方法でインフォームドコンセントを得たとする項目に相当する。しかし、被験者（患者さん）からインフォームドコンセントを得る方法が、現在の臨床研究等（疫学研究を含む）で病理組織標本を用いた研究を、規定された手続きで被験者（患者さん）から特定の研究での病理組織標本の医学研究への活用の同意としてインフォームドコンセントを得ると、予想外の事情が生じる。つまり、特定の研究者による研究計画として倫理申請を行っていた場合には、その他の研究者が研究を計画した場合に、所謂、病理標本の医学研究への活用は公序良俗に従った行為と規定した対応を行う必要が生じる。これは、現実的な対応であるが、何の為のインフォームドコンセントの徹底を強化して来たのかと云う嘆きの元凶となってしまう。更に、特定の研究の倫理申請を行い、それに従ってインフォームドコンセントを得た研究者の病理標本の囲い込みの問題が、研究者の意図に反して、生じてしまう。これらの問題を回避する一つの方法は、病理組織標本が作成される前の段階、つまり、生検と切除が行われる前の患者さんへの説明の段階で、病理標本が、将来、特定の研究に限らずに広く医学研究に活用される場合があることを説明して、その同意を得て、カルテないし生検・切除の同意書に記録する方が望まれる。更には、病理標本に限らずに、血液生化学等の所謂検査結果や医学画像情報との医学教育と研究への活用に必要と思われるので、主治医が、一般診療の過程で、この同意を得て、カルテに記録して置く方がベターであると思われる。この対応は、臨床各科と病理分野での症例報告等での医療情報の活用の際に特に有用になるようである。

汎用の同意の方策は、特定の研究目的のある研究計画の倫理委員会への申請が日常化してきた現在、その次の段階の倫理的な対応であると考えられ、また、煩雑な手続きの追加ではなく、臨床での諸検査



汎用の同意（善意の特定の研究目的のある研究倫理申請による個別研究の同意間を補完する同意）

実施では常にその目的の説明が行われ、診断と治療目的であれ侵襲性のある生検・切除では、十分な説明が行われ、その同意が文書として得られている現状であることから、この対応は有効な対策と考えられる。また、この対応は、倫理委員会での研究計画の審査の多忙と症例報告等の倫理審査の省略化の現状への対応策の一つとも考えられる。

一方、国際共同研究においては、国内での研究の倫理指針の他に、当事国での法律等で規定された研究形態で行う必要がある場合があるようだ。しかし、当事国の国立の研究機関との共同研究であれば、相互の研究の理解で対応して行ける。従来外国での日本の研究計画に従っての研究活動は、当然、“日本から来て、何をしているのか！？”と云った問題が生じるのは当然のことである。現在、この外国での共同研究者は海外研究協力者と呼ばれている。この海外研究協力者とは、研究をサポートしてくれるガイド等ではなく、その国での研究活動の代表者であり、その日本発の研究計画のその国での実施に必要な研究に関わる倫理問題等の対応も出来る研究者である。過去において、海外学術研究での研究遂行のトラブルの原因は、その国のそのような海外研究協力者の選択の間違いから生じている可能性もあるようである。

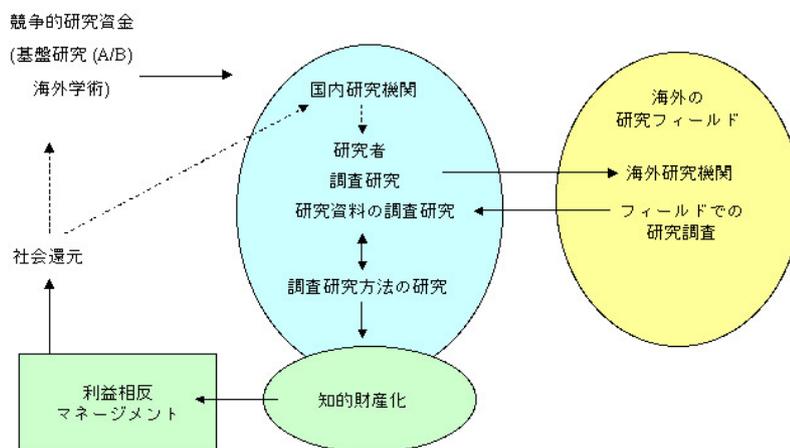
2、海外学術研究における国内業績に関する方策

私は、現在、海外学術研究を、競争的研究費にて、実施している。私が実施している海外学術研究は、海外の研究フィールドで多発している Epstein-Barr ウイルス(EBV)の関連している悪性腫瘍の発病要因を、当該研究フィールドの病理組織標本の解析により、明らかにしようとするものである。当然、この研究を遂行するに当たり、国内での研究業績も上げる必要がある。私の研究では、病理組織標本で解析できる方法を確立して、実際の症例の病理組織標本の解析に導入して、研究の問題解決を図る方策を用い、確立した方法の特許化、方法論の論文発表で国内業績に当てることにしている。

海外学術研究における国内業績

最近の国策として、知的財産の強化、国内での大学での知的財産の特許化、それに伴う国際特許競争力の強化の機運が高まり、この私の国際学術研究でも、国内業績として、6件の

海外学術研究における研究フィールド、国内研究とその研究成果の知的財産化に伴う利益相反の関係



申請で、現在、超高感度免疫染色に関する2件と多重免疫染色に関する1件の特許が成立している。また、それらについての論文発表も行うことが出来ている。医学領域の研究の成果の特許化は、従来、患者さんへの医療に還元することで特許とは無関係の分野であるとの考え方も根強く存在するが、既に、種々の医学研究の成果が創薬や診断治療の方法の開発の分野に導入され、特許化が進められ、所謂、病理学分野での研究においても、聖域という見方は、現実的な対応では無くなっている。そして、国策としての国立大学の法人化に伴い、税金の投入される研究には、国、大学、国民への還元が求められつつある現状では、この特許に関しても、そろそろ、利益相反に関する考察が必要になって来ている。

病理組織標本であれ、その他の患者さん由来の研究資料であれ、医学研究に用いられて、その研究成果の特許化が進められている最中でも、これらの特許等が将来利益を生む可能性があっても、患者さんへの還元は、医療の進歩と云う形で還元するのが妥当であるのは、従来と変わらない。

国、大学、競争的研究資金の提供団体への還元が、医学研究成果の特許化とそれが生む可能性のある利益の配分に関して問題となる。法人化前の国立大学における競争的研究資金により実施された研究の成果の特許化では、その権利者は大学等の研究機関であり、その費用は別枠で文部科学省等から補填され、特許出願権利者としての権利の行使は、大学の発明委員会で判断され、将来のその特許の利益については、大学に入り、発明者の功労・尊重という形でその半分程度が研究者（発明者）に還元される。つまり、特許の利益が大学に入ること、国（国民）への還元については、特許の利益の大学への配布で税金化が図られ、研究者（発明者）の研究への功労の問題も解決されて来た。大学発のベンチャー企業における成功は、当然、一般の企業の社会貢献以上の公への還元が求められていることは、このような背景から来るものと考えられる。

しかし、大学の民営化に伴い、大学での競争的研究資金による研究での発明も職務発明も、全て、大学にその特許化の権利が帰属することになり、大いに、知的財産の特許化による保全が確保されたが、大学の運営資金の減少、競争的研究費の間接経費の大学運営資金への導入による一般化が行われ、大学の運営の状況により特許化する研究成果の近視眼的な利益を生む可能性のある申請に限定されて来た結果、競争的研究資金による研究成果の特許化の申請の多くは、発明委員会により承認されずに、将来の不確定な利益の国（国民）と大学への還元の道が閉ざされて来ている。このような申請は、研究者自信にとっては、当然、特許申請されるべきものであり、研究者の公への競争的研究費の還元の倫理的な責務からは、可能な限り、研究者個人での特許申請の申請による将来の不確定な特許による利益の保全の必要が生じて来ている。この場合、不確定な特許による利益は、大学における利益相反マネジメントに従い、研究者の発明者としての功労等と必要経費を除く部分の社会貢献や大学等への寄付を行う義務が生じて来ると考えるべきである。こう云った利益相反マネジメントの実施は、研究者の個人レベルの経済的な背景に負う所が大きく、当然、研究者が不確定な特許による利益の保全が出来ない場合でも、その責任を問わ

れることはないであろう。

一方、私の関係している中国の大学における利益相反マネジメントは、事情が異なるようである。日本では、特許化するまでが大学であり、最近は、産官学連携部門の強化にて、産業界との接触が大学として強くなって来て、研究者と産業界の関係が利益相反マネジメントの対象となると思われる。中国では、従来から、大学はその教職員の生活全般の面倒を見る部門を内在しており、いわばコングロマリットといった存在形態であり、特許化するしないに関係なく、商売になるものでは、その産物を生産ないし製作して、大学の名前の下で、商業活動を行っている。共同研究の相手が中国の大学（の教職員）であれば、その研究成果の日本での特許化を終えれば、商業的に意味があれば中国の大学が活動するのではないかと思われ、中国での特許化の必要性が実質的な問題ではないかと思われる。当然、最近の中国での日本の地名等の商標化等の問題があるので、この点は注意しておく必要があるであろう。

3、EBV 関連病変、主に、鼻型 NK/T 細胞性リンパ腫における発癌要因研究の動向

EBV ウイルス関連疾患に関する研究は、国内では、EBV の分子生物学的な研究と臨床的な慢性活動性 EBV 感染症と云ったものがあるようだが、中国は、EBV 関連鼻 NK/T 細胞性リンパ腫の多発地域であり、私の海外学術研究は、今、この EBV 関連鼻 NK/T 細胞性リンパ腫を対象にしている。日本でも、このリンパ腫は、北海道や沖縄での散発例はあるのだが、多くの症例の検討には無理がある。

この鼻 NK/T 細胞性リンパ腫には、その名前の様に、NK 細胞性、T（細胞障害性 T）細胞性の症例があると共に、青笹克之等が見出した polymorphous reticulosis (PR: 多形細網症)と呼ばれる両細胞性の病変も含まれ、病理学的診断の時に、PR の診断では少なからず困難な場合もあるが、腫瘍性に発現する survivin の陽性所見を手掛かりに、その腫瘍細胞の免疫学的形質を同定すれば、難しい問題ではない。

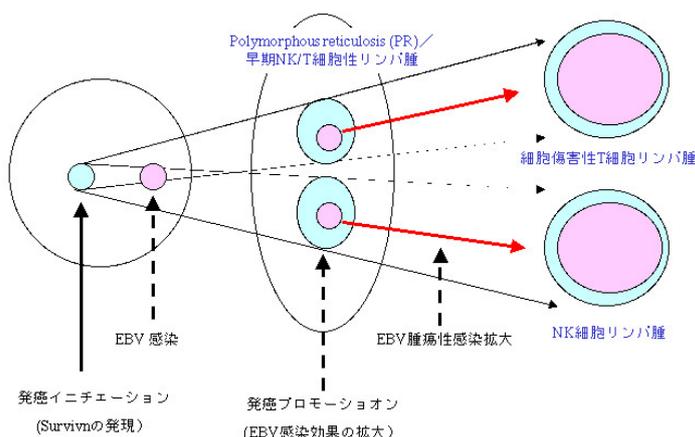
このリンパ腫の多くは、EBV 関連症例である。EBV は感染者の極少数のメモリー B 細胞に潜伏感染(Latency) 0 期の状態で感染しており、EBV-encoded small RNA-1 (EBER-1)を百万コピー単位で発現しており、その in-situ hybridization (ISH)で、病理組織標本でも見出すことが出来るが、陽性細胞は極々少数のリンパ球である。この EBV 関連鼻 NK/T 細胞性リンパ腫は、EBV 潜伏感染は Latency III であることが北海道での症例で原淵らにより明らかにされている。しかし、最近の青笹らの疫学的研究で、主に、多発地域である韓国、台湾等の症例の検索で、その発病に農薬の関与が示唆されて来ている。この研究は、中国では、その患者の多くが都市住民で農業従事者でないことから、現在、先ず、環境因子の影響の有無を病理組織学的に把握できないかと云うことを検討している。

鼻 NK/T 細胞性リンパ腫の特異な壊死のプログラム細胞死のシグナル伝達のトランスレショナル研究で、確立したその免疫組織化学的染色による解析方法で、上記の survivin の免疫染色が、免疫組織化学的な癌やリンパ腫の同定の一つの方法であることが判明して

来た。そこで、この研究では、発癌の同定を **survivin** の免疫染色で把握し、EBV 感染を **EBER-1** の ISH で標識することで、環境因子による発癌なのか、EBV 感染による発癌なのかを検討した。その結果の詳細は、論文等での発表に譲るが、1) EBV 感染が発癌に先行するのであれば、EBER-1 陽性の炎症ないし過形成病変が存在する必要があるが、それと思われた PR では、**survivin** 陽性の腫瘍性リンパ球や NK 細胞が見出されて、EBV 感染はこのリンパ腫の発癌の後であることが示唆された。2) 感染原になるのは EBV 感染メモリー B 細胞であるので、このリンパ腫細胞における EBV のクローンの検索は、単一か複数かの EBV クローンの感染メモリー B 細胞からの感染を示唆するだけであり、EBER-1 シグナル陽性腫瘍細胞の拡大 (腫瘍性感染拡大) がこの病変の腫瘍性診断に用いることを示唆した。更に、3) このリンパ腫の被蓋粘膜上皮に併存するとされる上皮腫様過形成病変が **survivin** 陽性の微小分化扁平上皮癌であることが示唆された。これらの所見は、このリンパ腫の発癌が EBV 感染に先行し、その発癌刺激は、鼻咽頭の粘膜上皮にも発癌性を示していることが示唆された。今後、発癌前の病変の性格の検討は今後の課題である。

鼻 NK/T 細胞性リンパ腫

(NK 細胞性、細胞傷害性 T 細胞性、PR) における EBV 感染と発がん 本当の初期病変は未だ発見されていないが、PR で、腫瘍性の NK 細胞と細胞傷害性 T 細胞を認めることから、これらの3つの腫瘍性病変が鼻 NK/T 細胞性リンパ腫の代表的な例になる。当然、NK 細胞性と細胞傷害性 T 細胞性リンパ腫には、**de novo** に発病して来るものもあると思われる。EBV は、メモリー B 細胞の感染の再活性化 (融解性感染) で、腫瘍性 NK 細胞と腫瘍性細胞傷害性 T 細胞に感染すると考えられるが、その病変自体は把握されていない。その後は、腫瘍細胞の増殖に伴い、感染細胞が増加する腫瘍性感染拡大であり、EBV 感染は感染した細胞の増殖を僅かに亢進させていることが示唆されるが、圧倒的な増殖の差でないことから、全てのリンパ腫細胞が EBV 感染細胞でない (EBER-1 シグナル陽性でない) 症例が存在する。

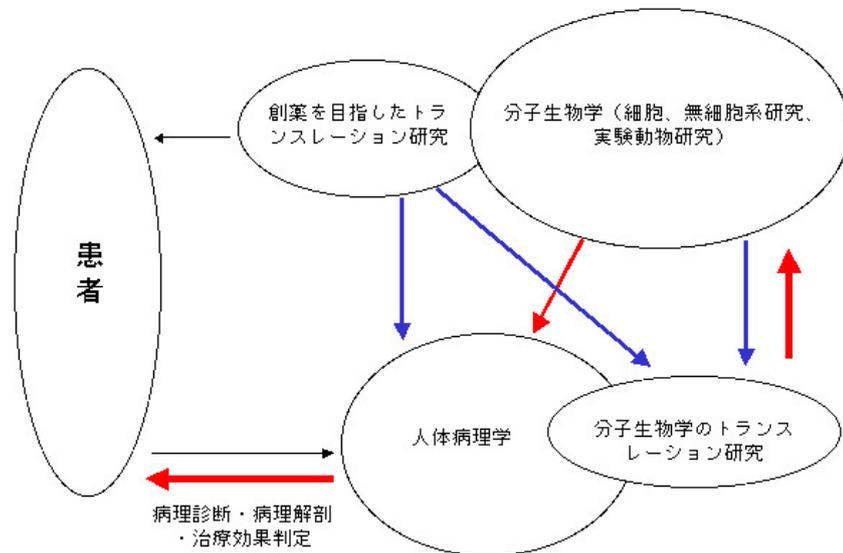


次に、鼻咽頭リンパ腫の特異な壊死は、EBV 感染症例に見られ、上記の確立したプログラム細胞死のシグナル伝達の免疫組織化学的解析にて、自己貪食細胞死であることが判明し、EBV 潜伏感染 III 期は腫瘍細胞の自己貪食機能にも影響を与えている可能性が示唆された。その一方で、従来、特異な NK/T 細胞性リンパ腫細胞株にて分子生物学的に検索されて、このリンパ腫細胞のアポトーシスは、シグナル伝達経路の抑制因子である **Flip** の発現による抑制される一方で、リンパ腫細胞の有する細胞毒性顆粒の漏出によ

るアポトーシスにより特異な壊死が生じている可能性が報告されていたが、実際の症例の鼻 NK/T 細胞性リンパ腫細胞では、腫瘍性の survivin の発現とアポトーシスのキー分子である cleaved caspase-3 が発現していないことが検索全例で見出され、前の特異な細胞株による報告は、その特異な細胞株の特徴であり、実際の症例での特異な壊死を説明していないことが判明した。自己貪食に関する所見等は論文にて報告する。

このことは、ヒトの病気の研究という大きな観点から見ると、細胞ないし無細胞系や実験動物による分子生物学の成果は非常に大きく、その創薬を目指すトランスレーション研究が現在脚光を浴びているが、実際のヒトの悪性腫瘍の病理組織標本でプログラム細胞死のシグナル伝達の解析方法を確立して検索した所、これは分子生物学のトランスレーション研究になるが、所謂、細胞ないし無細胞系や実験動物による分子生物学の成果の中には、それぞれの細胞ないし無細胞系や実験動物の特徴を示し、ヒトの悪性腫瘍では適応できない知識が混在し、そう云った知識を基礎に創薬を目指すトランスレーション研究を行っても、その直接的な目的は達成出来ないことが判明した理由である。更に、所謂、ヒト病理標本での分子生物学のトランスレーション研究は、兎角、地味な研究に見られるのだが、病気の生じているフィールドの患者の病変の検索を可能とし、その成果は、直接的に患者さんの医療にも貢献することが出来ると共に、分子生物学へも大きく還元できる研究成果も出て来る可能性もある。今後、期待すべき研究領域と思われる。

分子生物学と創薬
を目指したトランスレーション研究、
人体病理学、そして、分子生物学の
人体病理学へのトランスレーション
研究の関係



創薬を目指した
トランスレーション研究が現在脚光

を浴びているが、人体病理学への分子生物学並びに創薬を目指すトランスレーション研究の人体病理学へのトランスレーション研究は絶対に必要であれと共に、未だ、研究されていない分野が多い。

従って、この一連の研究の成果は、特許化の努力を行い、バイオアカデミックフォーラム 2009にて発表した

国際バイオフィォーラムの大学の研究成果発表の場であるバイオアカデミックフォーラムの鹿児島大学のポスターブースのポスター基調講演や講演等で、所謂、臨床治験やその前の段階のプロジェクトの状況を理解出来たのは有意義であった。しかし、所謂、

人体病理学の範疇のものは極めて少ないようで、今後、期待されると共に、それぞれのプロジェクトに対応した人体病理学のトランスレーション研究の発表が必須ではなかろうか？

