

平成11年度新規課題 (厚生省)

◎国立医薬品食品衛生研究所

1. 超短半減期核種の新規導入反応の開発及びPET用イメージング剤への応用
2. 血液脳関門を透過する放射性組替え抗体の開発
3. γ 線照射による穏やかな重合を利用した精密な放出制御機能を有する刺激応答性薬物送達システムの設計
4. 放射線照射血液の安全性評価指標としての食細胞機能測定系に関する研究
5. 新規ペプチド標識法を用いるアレルギー性試験法の開発に関する研究

◎国立感染症研究所

6. ヒト/マウス放射線キメラを用いた感染症予防、治療薬のヒト型反応評価系の開発
7. 放射性同位元素を用いた抗酸菌感染における宿主細胞の菌の認識、食菌（貪食）並びに殺菌機構に関わる因子の解析

◎国立小児病院

8. 輸血を目的とした血液への放射線照射の有効性評価法の開発に関する研究

◎国立診療所宇多野病院

9. 神経難病関連MBPのRIを用いた高感度微量定量法の開発研究

研究課題名	超短半減期核種の新規導入反応の開発及びPET用イメージング剤への応用
課題責任者	所 属 国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
	氏 名 栗 原 正 明
研究期間	平成 11年 4月 1日 ~ 平成 15年 3月 31日
1. 研究目的・目標	PETは核医学検査の中でも、検出感度が高く、定量性にもすぐれ診断及び治療における重要な非侵襲的方法のひとつである。PET法における、大きな問題のひとつは、超短半減期核種を組み込んだ標識薬剤をどう合成するかということである。標識医薬品の合成が容易でないことには三つの主な理由がある。第一に、超短半減期核種は非常に限られた試薬としてしか供給されない、第二に合成及び精製を短時間で行わなければならない、第三に、操作が簡便でなければならないことである。 今後、PETにおいて画期的な診断薬の開発が可能となるためには、標識薬剤の新しい合成法の開発が大きな鍵となる。しかし、従来の標識薬剤の合成は既存の合成法の組み合わせにより行っているもので、合成できる標識薬剤には限界がある。全く新しいPETのための汎用的な超短半減期核種導入反応を開発することができれば、合成できる標識薬剤の数は飛躍的に増大し、画期的な診断薬の創製が可能となる。 本研究は簡便で、実用的な^{18}Fの新規導入法を開発することを目的とする。それにより従来の方法では合成できなかった新しい^{18}F標識薬剤を開発することができる。そのために本研究では、純化学的手法ばかりでなく、酵素反応や固相反応を利用した合成法の開発も行う。これらをPET薬剤の開発に用いることは世界で初めてのことである。また、ここで開発する合成法は自動合成にも対応でき実用性、汎用性の高い方法である。
2. 研究計画・内容	^{18}Fの新規導入法の開発 1. フルオロメチル基導入反応の開発 現在^{11}Cを$^{11}\text{CH}_3$（メチル基）の形で導入した標識薬剤が多く開発されている。しかし、これらは^{11}Cを用いるので半減期が短い欠点がある。そこで、本研究では、$^{11}\text{CH}_3$のかわりにCH_2^{18}F（フルオロメチル基）を導入する反応を開発する。フルオロメチル基を導入した薬物はメチル基を導入したものと非常に類似した性質を持ち半減期の長い標識薬物となる。具体的には、標識したい薬物にあらかじめCH_2Br（ブロモメチル基）を導入しておき、Fを求核剤としてBrと置き換えることによりフルオロメチル基を導入する。 2. 酵素反応を用いた^{18}Fの新規導入法の開発 酵素反応を用いるメリットは、化学合成では導入困難な位置に^{18}Fをいれることが可能であり、またアミノ酸合成の場合には得られるアミノ酸がL-体であるという点である。具体的には3位^{18}F標識ビルビン酸を基質とし、酵素反応により有用な薬剤—アミノ酸（トリプトファン誘導体、チロシン誘導体）及び糖誘導体（シリル酸誘導体）—に^{18}Fを導入する方法を開発する。 3. 固相反応を利用した^{18}Fの新規導入法の開発 超短半減期核種標識化合物の合成で大きな問題のひとつは大量の未反応物との分離である。そこで、固相（ビーズ）表面に前駆化合物を結合し、^{18}Fを導入したものだけ固相表面から外れるようにすれば、未反応の前駆体は個体に結合したままで、分離が容易である。

3. 事前評価		
評価項目	自己評価欄	評価者チェック欄
1. 研究開発の目的・目標は適切に設定されているか。	本研究の目的・目標は、社会のニーズ、研究の重要性から見て適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
2. 研究計画 (1) 原子力試験研究として適切であるか。	PETに関する研究は、原子力試験研究として最重要課題のひとつである。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(2) 研究開発の進め方（手順・手法）は適切であるか。	それぞれの課題ごとに期間を設定し、十分に計画されており適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(3) 研究開発日程は適切であるか。	前半で素反応の開発、後半で応用と、十分に計画されており適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(4) 研究成果、波及効果は期待できるか。	本研究の成果は、PET薬剤の数を飛躍的に増大させ、波及効果は大きい。	☒ 期待できる ☐ ☐ ☐ 期待できない
3. 国内外の研究状況から見て、独創性、新規性は十分か。	本研究はPET薬剤の全く新しい合成手法を開発するので新規性は十分である。	☒ 十分 ☐ ☐ ☐ 不十分
4. 研究者の研究能力は十分か。	本研究に携わる研究者は、有機合成化学の豊富な経験と高い研究能力を持っている。	☒ 十分 ☐ ☐ ☐ 不十分
5. 研究推進上の問題点	特になし	
6. 総合評価（研究実施の是非）	本研究は、今後、PET薬剤の開発にとって重要な研究であり、是非実施を希望する。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
	(補足説明)	
評価者氏名	国立医薬品食品衛生研究所副所長 斎藤 行生	

研究の概要がわかるポンチ絵を添付すること

研究課題名		血液脳関門を透過する放射性組換え抗体の開発	
課題責任者	所 属	機能生化学部	
	氏 名	澤田 純一	
研究期 間		平成 11年 4月 1日 ～ 平成 15年 3月 31日	
1. 研究目的・目標		核医学を利用した画像診断は、現在重要な診断手法の一つになっている。最近、脳機能の画像診断にも放射性医薬品が使われ始めているが、それらは低分子医薬品に限られている。一方、放射線標識されたペプチド、タンパク、核酸などの水溶性高分子が、中枢神経疾患の診断に有用であるといわれているものの、血液脳関門 (BBB) による薬物移行障壁が存在することにより、それらの利用が阻まれている。そこで、本研究では、水溶性高分子の中でも用途が広い抗体を選び、抗体医薬品を脳内に送達する方法を開発する。脳以外の各種臓器を対象にした抗体医薬品の開発は、既に積極的に推進されており、ここで得られた方法は、放射性抗体を用いた脳の画像診断 (PET、SPECT) や脳腫瘍の放射免疫療法 (RI内部照射療法) などに容易に応用できるものであり、放射性抗体医薬品の脳への適用拡大を可能にする。 脳には、血液中の物質の中から脳に必要な特定の限られた物質だけを選択的に脳内に移行させる機構が存在しており、脳の毛細血管壁に存在している特定の物質に対するレセプターがその機能の一端を担っている。そこで、本研究では、レセプターを介して血液脳関門を透過する分子を運搬体 (BBB透過性運搬体) として利用し、脳内に送達したい抗体をこの運搬体に結合して、運搬体と一緒に血管脳関門を透過させる方法を検討する。	
2. 研究計画・内容		本研究では、放射性抗体を脳内に送達させるためのBBB透過性運搬体として、脳内毛細血管に存在するトランスフェリンレセプター (TfR) に結合する、トランスフェリン (Tf)、またはトランスフェリンレセプターに対する抗体 (抗TfR抗体) を用いる。送達抗体としては、中枢神経系に大量に発現していることが知られている神経系接着分子OBCAMやプリオンタンパクなどに対する抗体をモデルとして用いる。すなわち、目的とする抗体にBBB透過性運搬体を結合させた組換えタンパクを遺伝子工学的手法で作製し、BBB透過性抗体とする。次に、この結合体を放射線標識し、実験動物 (マウス) における脳内移行性を検証する。 〔平成11年度～14年度の研究項目〕 (1) 送達抗体の遺伝子、および、BBB透過性運搬体タンパクの遺伝子のクローニング (2) 組換え抗体 (送達抗体とBBB透過性運搬体タンパクの融合タンパク) を発現する遺伝子を導入した培養細胞株の樹立 (3) 組換え抗体の調製と放射線標識 (4) 放射線標識した組換え抗体の実験動物への投与と脳内移行性の検証 〔平成11年度の研究計画〕 脳内に送達したい抗体とBBB透過性運搬体との結合体を遺伝子工学的手法で調製するために、この組換えタンパクを発現する遺伝子を導入した培養細胞株を作製する。 (上述の項目 (1) の遂行と (2) の着手)	

3. 事前評価			
評価項目	自己評価欄	評価者チェック欄	
1. 研究開発の目的・目標は適切に設定されているか。	抗体医薬品の開発が推進されている中で、脳を対象にした抗体医薬品の開発が遅れている現状においては、この研究目的の価値は高い。	☒ 適切	☐ 不適切
2. 研究計画 (1) 原子力試験研究として適切であるか。	現在、脳の画像診断に利用されている放射性医薬品は、神経伝達物質を中心とした低分子化合物のみであり、放射性医薬品の適用範囲を拡大するための方法論を開発する意義は大きい。	☒ 適切	☐ 不適切
(2) 研究開発の進め方（手順・手法）は適切であるか。	遺伝子工学的手法を使うなど、時代に則した手法を探り入れている。国内外の研究から、TfRを介した脳内への薬物輸送は有望と考えられている。	☒ 適切	☐ 不適切
(3) 研究開発日程は適切であるか。	4年間の研究期間で、この研究課題の基本的検討項目は終了できる。	☒ 適切	☐ 不適切
(4) 研究成果、波及効果は期待できるか。	脳以外の各種臓器を対象にした抗体医薬品の開発は、既に積極的に推進されており、ここで得られた方法論は、放射性抗体を用いた脳の画像診断や脳腫瘍の放射免疫療法などに容易に応用できる。	☒ 期待できる	☐ 期待できない
3. 国内外の研究状況から見て、独創性、新規性は十分か。	TfRを介した脳内への生体高分子薬物の輸送のアイデアは有望視されているが、タンパク・核酸の脳内輸送の実際の研究報告は、まだ数報しかない。抗体の脳内輸送は新規性のある研究である。	☒ 十分	☐ 不十分
4. 研究者の研究能力は十分か。	抗体の作製、遺伝子操作、組換えタンパクの作製、タンパクのR1標識など、この研究に必要な基礎技術は、これまでの研究で十分に習熟している。	☒ 十分	☐ 不十分
5. 研究推進上の問題点	特になし。		
6. 総合評価（研究実施の是非）	研究を実施する価値は高い。	☒ 適切	☐ 不適切
	(補足説明)		
評価者氏名	国立医薬品食品衛生研究所副所長 斎藤 行生		

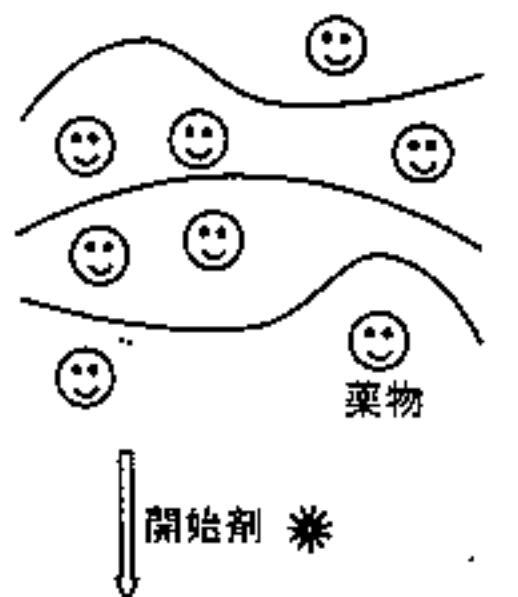
研究課題名	γ線照射による穏やかな重合を利用した精密な放出制御機能を有する刺激応答性薬物送達システムの設計	
課題責任者	所 属	国立医薬品食品衛生研究所
	氏 名	吉岡澄江
研究期間	平成11年4月1日～平成15年3月31日	
1. 研究目的・目標	近年、熱や光、pHなどの刺激に対して応答する機能性ポリマーが種々に開発されているが、それらの中でも特に親水性の高いハイドロゲルは生体適合性も高く、生体内の刺激に応じて薬物を放出できる薬物送達システム(DDS)への利用が期待されている。しかし、有効性および安全性が最優先されるDDSとして応用するためには克服すべき課題が多く、実用化できていないのが現状である。すなわち、重合開始剤を用いてゲル化する従来の方法で調製されたハイドロゲルは、①未反応のモノマーや重合開始剤などの不純物が残存し、安全性に問題があること、②ゲル化した後、不純物の洗浄プロセス後に薬物を封入しなければならず、DDS内への薬物の均一な分布が得られないこと、③重合速度をコントロールできないために均一性の高いゲルが得られず、DDSの最も重要な特性である薬物放出速度の精密な制御が得られないことなどが、実用化を阻む主要な問題になっている。本研究は、重合開始剤を用いる従来の方法に替わる方法として、γ線照射によってあしうる穏やかな重合法を用いることによって、これらの問題点をすべて解決し、有効性および安全性を確保した刺激応答性薬物送達システムを設計することを目的とする。	
2. 研究計画・内容	γ線照射によって得られる刺激応答性ハイドロゲルを利用した薬物送達システムの設計にむけて、下記のような研究を行う。① イソプロピルアクリルアミドなどのモノマーから成る刺激応答性ハイドロゲルのγ線照射による調製法を確立し、pH応答性などの機能を重合開始剤を用いる従来法によるハイドロゲルと比較検討する。それによって、消化管内のpH変化に応答して部位特異的に薬物を放出できる安全で有効な経口DDSの設計を行う。② デキストランやポリアミノ酸などの生分解性高分子を用いて新規な刺激応答性ハイドロゲルをγ線照射によってゲル化する方法を開発し、経口剤以外の注射剤等にも適用できる刺激応答性DDSの設計を行う。ハイドロゲルの架橋度やミクロな運動性などの特性が、薬物放出速度に及ぼす影響を明らかにすると同時に、望ましい薬物放出速度が得られるγ線の照射条件を明らかにすることによって刺激応答性DDSの設計のための基盤を作る。③ ハイドロゲルを構成する分子の運動性をNMRや誘電緩和スペクトル法などで評価する方法を開発し、ハイドロゲルからの薬物放出速度の適切な指標を確立することによって、分子の運動性の観点から最適な薬物放出速度を示す刺激応答性DDSの設計を合理的に行う方法を確立する。④ ハイドロゲルに内包されたタンパク質の存在状態をFT-IRや熱分析などで解析し、内包薬物の安定性と調製条件の関係を明らかにすることによって、不安定なタンパク質にも適用できるハイドロゲルの調製法を開発する。	

3. 事前評価					
評価項目	自己評価欄	評価者チェック欄			
1. 研究開発の目的・目標は適切に設定されているか。	サイトカインなどを医薬品として利用できる形にするためのDDS化は、緊急な課題であり、γ線照射を利用したハイドロゲルの開発はその可能性を開く重要なテーマである。	☒ 適切	☐	☐	☐ 不適切
2. 研究計画 (1) 原子力試験研究として適切であるか。	γ線照射を有効利用して精密な放出制御機能を持つハイドロゲルを製造する方法が確立されれば、γ線照射の応用を大きく広げることができる。	☒ 適切	☐	☐	☐ 不適切
(2) 研究開発の進め方（手順・手法）は適切であるか。	NMR、誘電緩和スペクトル法、熱分析、FT-IRなどハイドロゲルの物性を評価できる適切な手法を用いる。	☒ 適切			☐ 不適切
(3) 研究開発日程は適切であるか	第1,2年度はγ線照射による刺激応答性ハイドロゲルの調製法の確立、第3,4年度はハイドロゲルの物性の多面的評価法の確立を中心に研究し、4年間での総括を目指す。	☒ 適切			☐ 不適切
(4) 研究成果、波及効果は期待できるか。	ハイドロゲルをDDSとして利用するために克服すべき安全性の問題をすべて解決できる方法を確立する研究であり、医療の場での活用につながる可能性がある。	☒ 期待できる	☐	☐	☐ 期待できない
3. 国内外の研究状況から見て、独創性、新規性は十分か。	通常の滅菌条件より1～2桁低い線量で、穏やかなゲル化が可能であることは、我々が独自に見出した知見であり、それによるγ線照射の有効利用は新規な発想に基づいている。	☒ 十分	☐	☐	☐ 不十分
4. 研究者の研究能力は十分か。	我々はすでに、当該テーマに関する基礎的知見を得ており、国際誌への投稿も行っている（Rad. Phys. Chem. Accepted (1997)、Polymer J. および J. Controlled Rel. にsubmitted (1998)）。	☒ 十分	☐	☐	☐ 不十分
5. 研究推進上の問題点	特になし。				
6. 総合評価（研究実施の是非）	優れた製剤の開発と評価のための基盤を築くことにより、国民の福祉に貢献できると考える。	☒ 適切	☐	☐	☐ 不適切
	(補足説明)				
評価者氏名	国立医薬品食品衛生研究所副所長 斎藤 行生				

研究の概要がわかるポンチ絵を添付すること

1. 従来のハイドロゲルの調製法

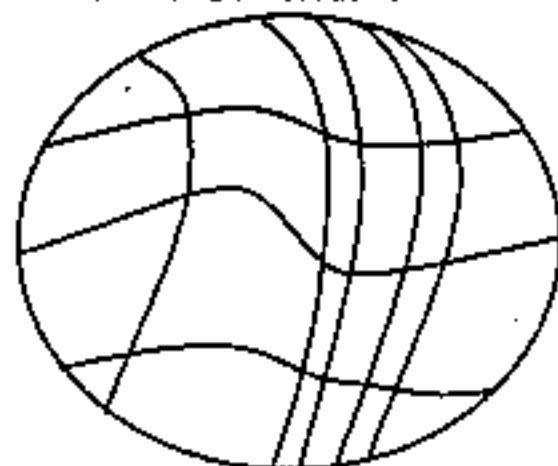
a 薬物共存下にゲル化



有害な開始剤の残存
薬物分解の可能性

DDSとしては使えない

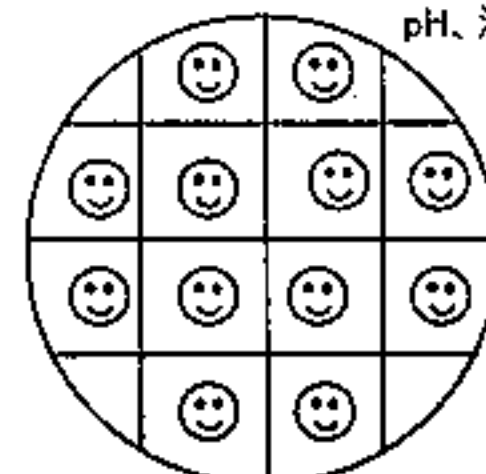
b ゲル化後に薬物封入



不均一な薬物分布
不均一なゲル構造
薬物濃度の制御困難

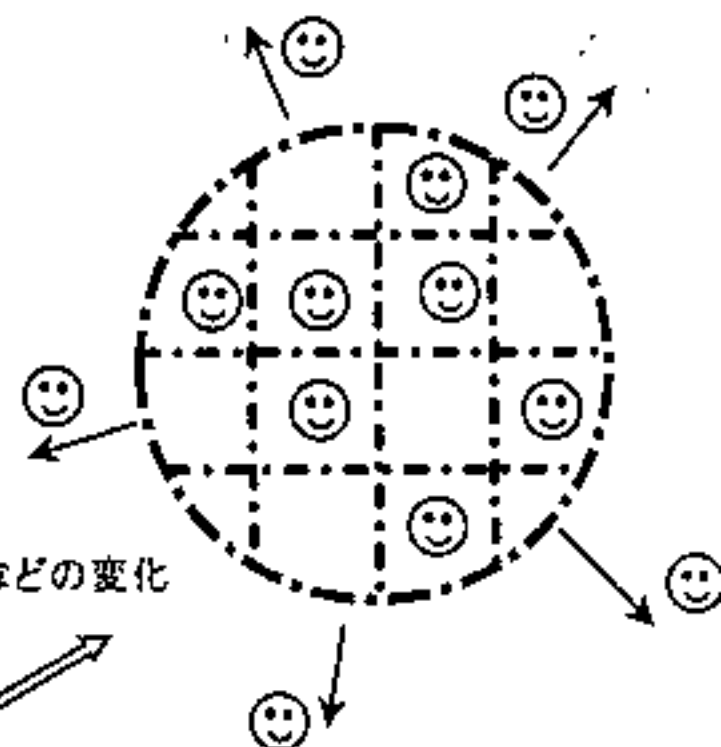
不正確な薬物放出制御

2. γ 線照射による方法



均一なゲル
均一な薬物分布

精密な薬物放出制御



刺激に応答した薬物放出が
可能なゲル

研究課題名		放射線照射血液の安全性評価指標としての食細胞機能測定系に関する研究	
課題責任者	所 属	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部	
	氏 名	山口照英	
研 究 期 間		平成 11 年 4 月 1 日 ~ 平成 14 年 3 月 1 日	
1. 研究目的・目標		近年、輸血後肝炎の減少など血液事業が急速に進歩した一方で、緊急の課題と位置づけられているのが輸血されたドナーの白血球がレシピエントの組織を異物として攻撃する宿主対移植片反応の発症である。これは、輸血したドナーの白血球にレシピエントの組織に対する拒絶反応であり頻度は多くないものの極めて予後が悪いのが特徴である。 このような重篤な経過をたどる宿主対移植片病の発症を防ぐには輸血する血液のリンパ球を除くことが有用である。このために、白血球吸着カラムを用いるなどにより除白血球血液を輸血することが試みられたが、充分な除去が困難なため宿主対移植片病の発症を防ぐことができなかった。近年、放射線照射によりドナーのリンパ球を不活化することにより、宿主対移植片病の発症を防ぐことが非常に有用であることが明らかになりつつある。宿主対移植片病を起こさないように血液を放射線照射するためには、目的とするリンパ球を確実に不活化できる照射量を用いる必要があるが、このような照射により他の血球機能が望ましくない影響を受けることによる様々な副作用も生じる可能性がある。そのうち赤血球溶血、リンパ球不活化、血小板機能などへの影響についてはいくつかの報告があるものの、生体防御に重要な役割を担っている好中球や単球の機能に対する影響は余り研究されていない。 そこで、本研究では血液の好中球や単球などの食細胞の機能が放射線照射にどのような影響を受けるか、他の血球成分と比較しながら解析を行う。さらに、これらの食細胞の機能を制御するサイトカインに対する応答性や、様々な刺激に伴うサイトカインの産生能に対する影響についても解析する。このような解析を通じて、放射線照射血液の安全性評価に関する基礎的データを提供することを目的とする。	
2. 研究計画・内容		1. 分離血液及び全血での食細胞機能の解析 1) 食細胞の重要な機能である走化性や貪食能が放射線照射によってどのような影響を受けるのかを明らかにするための検討を行う。このために、分離した細胞と全血の活性を比較する。次に、このような成果をふまえて食細胞を全血より分離することなく上記の機能を解析するのに最も有用なパラメーターを確立する。 2) 食細胞の重要な機能である活性酸素生成能についても、全血レベル及び分離した細胞を用いて解析し、全血を用いて活性酸素生成能を測定する系を確立する。 以上の成果をふまえ、様々な線量の放射線を照射した血液を用いて食細胞の機能に密接に関連するパラメーターや活性酸素生成能がどのように変動するのかについて明らかにする。 2. 放射線照射血液中の食細胞の各種サイトカインとの反応性を解析するとともに、様々な刺激応答に伴う食細胞のサイトカイン生成能を解析し、放射線照射によりこのような機能がどのような影響を受けるのかあるいは線量との関係を明らかにする。 3. 1 及び 2 の成果を基礎として、放射線照射血液の安全性評価のために食細胞機能の指標とすべき項目を提示する。	

3. 事前評価					
評価項目	自己評価欄	評価者チェック欄			
1. 研究開発の目的・目標は適切に設定されているか。	本研究の目的・目標は医療上のニーズや研究の重要性から見て適切である。	☐ 適切	☐	☐	☐ 不適切
2. 研究計画 (1) 原子力試験研究として適切であるか。	放射線照射血液に関する研究は原子力の有用性拡大の点から見ても原子力試験研究として適切である。	☐ 適切	☐	☐	☐ 不適切
(2) 研究開発の進め方(手順・手法)は適切であるか。	いくつかの課題ごとに期間を設定し、十分に計画されており適切である。	☐ 適切			☐ 不適切
(3) 研究開発日程は適切であるか。	前半では、各検討項目の基礎的研究を行い、後半ではこの基礎的検討を応用した研究を行うように設定されており適切である。	☐ 適切			☐ 不適切
(4) 研究成果、波及効果は期待できるか。	本研究の成果は、放射線照射血液の有効性・安全性確保の点から非常に重要であり、医療現場への波及効果は大きい。	☐ 期待できる	☐	☐	☐ 期待できない
3. 国内外の研究状況から見て、独創性、新規性は十分か。	現在まで、放射線照射による血中の食細胞機能の解析はほとんどされておらず全く新規な課題である。	☐ 十分	☐	☐	☐ 不十分
4. 研究者の研究能力は十分か。	本研究に関わる研究者は、長年食細胞機能の研究に携わっており、高い研究遂行能力を有している。	☐ 十分	☐	☐	☐ 不十分
5. 研究推進上の問題点	問題点は特になし				
6. 総合評価(研究実施の是非)	本研究は、放射線照射血液の安全性や有効性確保の点から重要な研究課題であり是非実施を希望する。	☐ 適切	☐	☐	☐ 不適切
	(補足説明)				
評価者氏名	国立医薬品食品衛生研究所副所長 斎藤 行生				

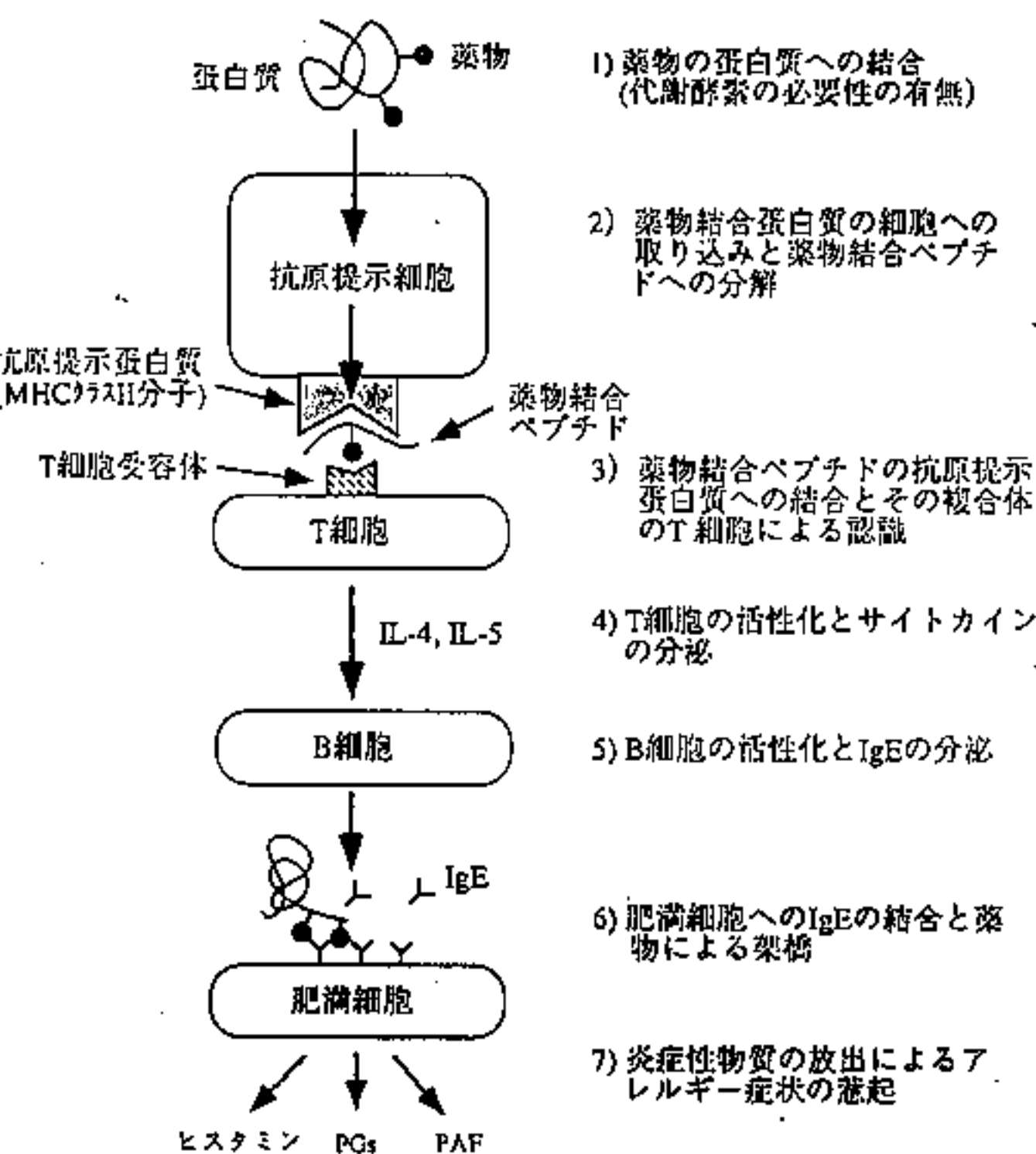
研究の概要がわかるポンチ絵を添付すること

研 究 課 題 名		新規ペプチド標識法を用いるアレルギー性試験法の開発に関する研究	
課題責任者	所 属	国立医薬品食品衛生研究所	
	氏 名	澤田 純一	
研 究 期 間		平成 11年 4月 1日 ~ 平成 15年 3月 31日	
1. 研究目的・目標		医薬品や農薬などの低分子化学薬品は、時に皮膚の紅斑や蕁麻疹、下痢、さらには呼吸困難や循環不全などの重篤な症状を誘発することが知られている。時には死に至るケースもあることから、人に投与または暴露される前にその薬物が免疫系を作用させ、アレルギー性を獲得するか否かを判定することは、国民の保健衛生にとって大変重要である。現在、アレルギー性試験法として動物を用いる方法が用いられている。しかし、多数の動物を必要とし、週から月単位と判定に時間を要すること、また反応性が低く、必ずしも動物における結果が人に外挿できない問題がある。このため、簡便で客観的評価を可能にする試験法の開発が行政的にも医療の現場からも望まれている。一方、最近数年間の免疫学の発展により、生体内在性蛋白質の分解物と考えられるペプチドと薬物の結合体が抗原提示蛋白質という特殊な蛋白質と結合することが、薬物アレルギーの初期過程に必須であることが明らかとなってきた。 本研究は、この薬物-ペプチド結合体の抗原提示蛋白質に対する結合過程に着目するという新たな発想に基づくアレルギー性試験法の開発を目的とする。本アレルギー性試験法の開発において最も重要な点はペプチドの標識法である。既存の標識法には様々な問題があり、例えば、蛍光物質による標識は、それ自身が薬物として免疫系に認識されるため用いることはできない。また、従来より用いられている放射性標識法は、薬物や抗原提示蛋白質の結合部位を標識してふさいでしまったり、酸化等の化学修飾により抗原提示蛋白質結合能を損なうため本研究目的に用いることはできない。そこで、第1段階として、ペプチドの薬物結合能および抗原提示蛋白質への結合能に影響を与えない緩和な条件による放射性標識法を新たに開発し、薬物アレルギー性試験法の候補となる数種の高比放射能標識ペプチドを調製する。本研究は、ペプチドの新規放射線標識法を開発することによりRIの利用拡大に貢献すると共に、これを利用することにより汎用性の高い簡便で迅速なアレルギー性試験法をヒトの系として開発し、この成果を医薬品や環境化学物質等の安全性試験のガイドラインに役立て、医療および国民生活の安全性確保に寄与することを通して原子力の平和利用の拡大に貢献することを目指す。	
2. 研究計画・内容		本研究課題は薬物アレルギーの初期過程として必須である薬物結合ペプチドの抗原提示蛋白質への結合過程に着目しアレルギー性試験法に応用する。 平成11年度はまず薬物結合部位を含む抗原提示蛋白質結合性ペプチドを設計する。次に本研究で重要なポイントとなるペプチドの薬物結合能および抗原提示蛋白質結合能に影響を与えない緩和な新規RI標識法を開発して標識ペプチドの合成を行う。標識法としては、新規標識アミノ酸を合成して利用する方法、酵素的に標識を導入する方法、in vitro転写系を利用する方法等を計画している。さらにペプチドをより高放射能に標識する方法を検討する。次にこれらRI標識および薬物結合ペプチドを用いて、ヒト抗原提示蛋白質への結合能を検討する。 平成12年度はまずRI標識および薬物結合ペプチドのT細胞活性化能を検討する。そして前年度の抗原提示蛋白質への結合能の結果とあわせ、アレルギー反応を実際に起こしうる薬物結合ペプチドのしぼり込みを行う。さらにこれらのペプチド中の薬物結合部位を認識するモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を調製する。 平成13年度は前年度調製した抗体を用いて、薬物が結合することによるペプチドへの抗体の反応性の喪失を指標として評価を行い、客観性の高いアレルギー性試験法を開発する。種々の薬物（ペニシリン、サルファ剤等）につき本試験法と従来の動物を用いた試験法を比較検討し、本試験法の感度および信頼性を評価する。 平成14年度はペプチドへの結合に体内の代謝酵素による活性化が必要な薬物につき、本試験法の適用を検討する。アレルギーを引き起こす薬物の大半は生体内の代謝酵素により活性化されて初めてペプチドに結合できるようになる。局所麻酔剤等、この種の薬物をチトクロームP-450等を用いて活性化し、さらに高比放射性標識ペプチドを用いて本試験法を行いアレルギー性を評価する。	

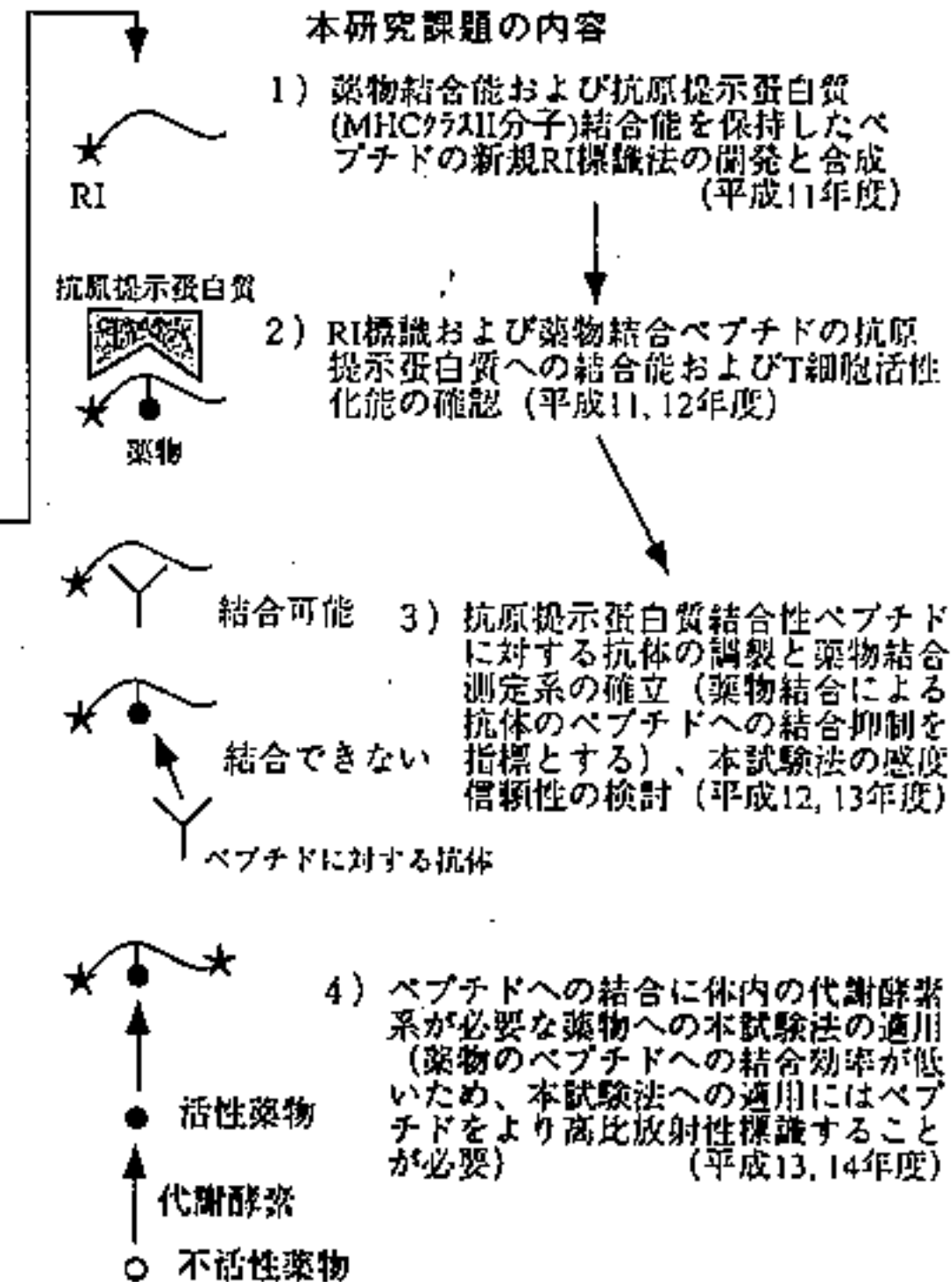
3. 事前評価

評価項目	自己評価欄	評価者チェック欄
1. 研究開発の目的・目標は適切に設定されているか。	開発されるアレルギー性試験法は、従来の動物を用いた方法にはない簡便性、迅速性およびデータの客観性を有しており、医療現場からも望まれていることから、目的等は適切に設定されている。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
2. 研究計画 (1) 原子力試験研究として適切であるか。	新しいペプチドのRI標識法を開発すると共に、開発された試験法は医療の現場等で用いられることから、RIの利用拡大に大いに貢献すると期待されるため原子力試験研究として適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(2) 研究開発の進め方（手順・手法）は適切であるか。	本課題の遂行に必須である新規ペプチド標識法の開発を初年度に重点的に行う等、研究開発の進め方は着実かつポイントを押さえており適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(3) 研究開発日程は適切であるか。	各々の研究手順および研究遂行に必要とされる時間を考慮して研究開発日程が組まれており適切である。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
(4) 研究成果、波及効果は期待できるか。	新規ペプチド標識法は医学及び理学分野で広く利用されると共に、開発されるアレルギー性試験法はガイドライン等を通じ医療および国民生活の安全を確保する上で大いに貢献すると期待される。	☒ 期待できる ☐ ☐ ☐ 期待できない
3. 国内外の研究状況から見て、独創性、新規性は十分か。	本課題の研究内容は、世界のどの研究室からも報告のない全く独創的なものであり、新規性は十分である。	☒ 十分 ☐ ☐ ☐ 不十分
4. 研究者の研究能力は十分か。	課題責任者を含め、本研究課題の遂行に必要とされる生化学、合成化学および免疫学の知識と経験を持つ研究者が担当するため、研究能力は十分である。	☒ 十分 ☐ ☐ ☐ 不十分
5. 研究推進上の問題点	初年度に行う新規ペプチド標識法が開発できるか否かが問題と思われるが、課題責任者および担当者はペプチドの合成に関して長年にわたる知識と経験があり、その遂行は容易に期待できる。	
6. 総合評価（研究実施の是非）	本課題は独創性および新規性に大変優れており、その成果はRIの利用拡大に容易につながると共に医療および国民生活の安全性の確保に大いに貢献することが期待される。研究実施を是とする。	☒ 適切 ☐ ☐ ☐ 不適切
	(補足説明)	
評価者氏名	国立医薬品食品衛生研究所副所長 斎藤 行生	

薬物による即時型アレルギー発症機構



本研究で着目する過程



原子力基礎技術開発
事前評価調査表

1. 研究開発課題名 ヒト/マウス放射線キメラを用いた感染症予防、治療薬のヒト型反応評価系の開発
 [注1] [注2]
 (技術領域:) (□クロスオーバー研究 ☒ その他の研究)

2. 研究担当者 (注3)
 主担当者氏名: 内田 哲也 所属: 安全性研究部 担当: 免疫不全マウスの作製
 担当者氏名: 岡田 豊昭 所属: 細菌・血液製剤部 担当: ウイルス感染系の作製
 氏名: 内藤 誠之郎 所属: 安全性研究部 担当: ヒト型体質性免疫反応系
 氏名: 加藤 博史 所属: 安全性研究部 担当: SCID-hu マウスの作製
 氏名: 堀野 敦子 所属: 安全性研究部 担当: ヒト型細胞性免疫反応系

3. 研究期間
 11 年 4 月 ~ 14 年 3 月 (3 年計画)

4. 研究予算および研究者数

		研究予算		研究者	
平成 11 年度		8,000 千円		5 人年	
平成 12 年度	(予定)	8,000 千円	(予定)	5 人年	
平成 13 年度	(予定)	8,000 千円	(予定)	5 人年	
平成 14 年度	(予定)	千円	(予定)	人年	
平成 15 年度	(予定)	千円	(予定)	人年	
平成 16 年度	(予定)	千円	(予定)	人年	
平成 17 年度	(予定)	千円	(予定)	人年	
合計	(予定)	24,000 千円	(予定)	15 人年	

5. 研究目的
 放射線を利用してヒト/マウスキメラを作製し、ヒトウイルス感染症の病態、予防・治療薬の有効性、安全性評価、臨床試験の代替、補助として使用することを目指す。

6. 研究年次計画 (年度別に、研究内容、成果目標を記入。また、中間評価の時期について特段の留意があれば記入。)

(平成 11 年度)

- ・ヒト/マウス放射線キメラに用いる免疫不全マウスを作製するための、放射線照射法、特に照射回数、線量、照射間隔等の基礎条件の検討。
- ・ヒト血液幹細胞、末梢血移植方法、生着状況の検討(SCID-hu マウス)。

(平成 12 年度)

- ・ポリオウイルス、HBV、HCV感染可能な、またはウイルス抗原の一部を発現する Tg マウスでのキメラマウス作製条件の検討(Tg-SCID マウス)。
- ・SCID-hu マウスを用いて、ヒト末梢血に感染するウイルスの感染系の作製、予防、治療薬の評価への応用。

(平成 13 年度)

- ・ヒトHLA系を導入した Tg マウスを使用したウイルスに対する細胞性免疫反応系の開発。
- ・生物学的製剤の有効性、安全性に関する前臨床試験への応用と臨床試験の代替または補助への応用。

7. 予定している研究交流体制（研究者交流、設備や成果の相互利用、成果報告会の開催等）〔注4〕

ヒト末梢血移植にあたっては、日本赤十字社の協力により健康人ドナーの末梢血の供給を受ける。

8. 予想される問題

研究体制に関しては、差配の研究担当者による研究グループが現在順調に機能しているので問題はない。

記載者氏名： 内田 智也 所属： 国立感染症研究所・安全性研究部
(TEL) 0425-61-0771 (ex. 554)

〔注1〕原子力用材料、原子力用人工知能、原子力用レーザー、放射線リスク評価・低減化のいずれかを記入する。

〔注2〕該当する方にチェックする。

〔注3〕本テーマで担当している研究内容（役割分擔）を記入する。

〔注4〕クロスオーバー研究の場合、クロスオーバー研究技術課としての交流（交流委員会内の交流）とそれ以外の交流が区別して採み取れるように記入する。

表-1

原子力基盤技術開発

事前評価調査票

1. 研究開発課題名 放射性同位元素を用いた抗酸菌感染における宿主細胞の菌の認識、食菌（貪食）並びに殺菌機構に関わる因子の解析		
〔注1〕 (技術領域：原子力用材料)		〔注2〕 (☐ クロスオーバー研究 ☒ その他の研究)
2. 研究担当者		
主担当者氏名：堀富康夫	所属：ハンセン病研究センター	〔注3〕 担当：課題全般
担当者氏名：甲斐雅規	所属：ハンセン病研究センター	担当：DD法の確立
氏名：中田登	所属：ハンセン病研究センター	担当：菌側因子の検索
氏名：前田伸司	所属：ハンセン病研究センター	担当：同上
氏名：虎谷聡	所属：ハンセン病研究センター	担当：細胞培養、代謝系の解析
3. 研究期間 平成11年4月～平成14年3月（3年計画）		
4. 研究予算および研究者数		
	研究予算	研究者
平成11年度	7,000千円	5人年
平成12年度	(予定) 6,000千円	(予定) 6人年
平成13年度	(予定) 6,000千円	(予定) 6人年
平成 年度		(予定) 人年
平成 年度		(予定) 人年
合計	(予定) 19,000千円	(予定) 22人年
5. 研究目的 放射性同位元素を用いてらい菌など病原性抗酸菌が宿主細胞により取り込まれる機構や殺菌機構を調べ、細胞内における菌の増殖を支える要因、あるいはそれに抵抗する宿主細胞の因子を見出し宿主細胞と寄生体との相互作用を解明する。		
6. 研究年次計画（年度毎に、研究内容、成果目標を記入。また、中間評価の時期について特段の希望があれば記入。）		
平成11年度 菌を放射性同位元素にて標識する新しい方法を開発し、細胞内に取り込まれる割合を短時間で定量する方法を確立する。そして、これらの系を用いて貪食に関与する細胞上レセプターや貪食を促進または抑制する生体側もしくは菌側因子を見出す。		
平成12年度 殺菌効果分子を生じさせるマクロファージ細胞内酵素の発現を放射性同位元素を用いて遺伝子、タンパク、活性レベルにて解析する。特に、タンパクの活性発現には同タンパクのプロセッシング、修飾が関与しており、放射性同位元素を用いることによりこれらプロセスの詳細な解析が可能となる。また、同上酵素の発現にはマクロファージの活性化が必要となるが、活性化は生体側因子であるサイトカインにより誘導される。各種サイトカインを放射性同位元素で標識し、いかなるサイトカインがマクロファージ上に結合し、シグナルトランスダクションを誘導し、殺菌効果分子を生じさせるのかを検討する。また、それらに対する菌側因子の関与を検討する。		
平成13年度 抗酸菌感染に抵抗する宿主細胞因子の同定のために differential display(DD)法を用いる。DD法とは、状態の異なる細胞で発現している mRNA の違いを arbitrary プライマーというランダムに mRNA に結合する数種類のオリゴヌクレオチドプライマーを用いた cDNA 合成および RNA arbitrary primed PCR (RAP-PCR)により増幅し電気泳動上でバンドの違いとして確認する方法である。まず、放射性同位元素を利用し最適な高感度 DD 法を確立し、次に抗酸菌感染の系に用いる。すなわち、生菌と死菌、強毒菌と弱毒菌の感染した細胞で発現の違いを示す遺伝子の解析から感染時に機能する宿主細胞の因子を探索する。		

7. 予定している研究交流体制（研究者交流、設備や成果の相互利用、成果報告会の開催等）〔注4〕
研究成果は学会および論文発表にて行う。

8. 予想される困難

抗酸菌の放射性同位元素による標識は、菌の代謝系を利用した標識基質の取り込みで行う予定である。培養可能な抗酸菌については標識は比較的たやすいかもしれないが、らい菌は培養系が確立されておらず、抗酸菌培養系を利用した疑似培養系では標識物の取り込みが行われにくい可能性がある。

殺菌効果分子を生じさせるマクロファージ細胞内酵素の発現検索については、現在種々の殺菌因子の関与が指摘されており、さらに細胞内の代謝系が複雑に絡み合っている可能性もあって、それぞれの系を独立して同定することに困難が伴う可能性がある。

記載者氏名：福富康夫

所属：国立感染症研究所ハンセン病研究センター

(TEL) 0423-91-8211

〔注1〕原子力用材料、原子力用人工知能、原子力用レーザー、放射線リスク評価・低減化のいずれかを記入する。

〔注2〕該当する方にチェックする。

〔注3〕本テーマで掲出している研究内容（役割分担）を記入する。

〔注4〕クロスオーバー研究の場合、クロスオーバー研究技術課としての交流（交流委員会内の交流）とそれ以外が区別して読み取れるように記入する。

表-1

原子力基盤技術開発
事前評価調査票

1. 研究開発課題名 輸血を目的とした血液への放射線照射の有効性評価法の開発に関する研究			
[注1] (技術領域 放射線リスク評価)		[注2] (☐ クロスオーバー研究 ☒ その他の研究)	
2. 研究担当者 [注3]			
主担当者氏名：藤本純一郎		所属：病理病態研究部	
担当者氏名：清河 信敬		所属：同 上	
氏名：田口 智子		所属：同 上	
氏名：森 鉄也		所属：同 上	
氏名：板垣 光子		所属：同 上	
		担当：総合評価、GVHD マウス病態解析	
		担当：細胞分取、アポトーシス検出	
		担当：アポトーシス検出	
		担当：動物維持、GVHD 病態解析	
		担当：細胞調整、マウス移植	
3. 研究期間			
平成 11 年 4 月 ~ 平成 14 年 3 月 (3 年計画)			
4. 研究予算および研究者数			
平成11年度	6,782千円	6 人年	
平成12年度 (予定)	6,782千円	(予定) 6 人年	
平成13年度 (予定)	7,000千円	(予定) 6 人年	
合 計 (予定)	20,564千円	(予定) 17 人年	
5. 研究目的			
移植片対宿主病 (GVHD) の予防を目的として輸血に用いる血液には放射線照射が行われている。しかし、実際に有効に照射が行われ、GVHD を引き起こすリンパ球が死滅しているか否かの判定は行われていない。本研究の目的は、放射線照射によってリンパ球が死滅しているか否かをアポトーシスの有無を指標として鋭敏かつ簡便に検出できる方法を確立することである。			
6. 研究年次計画 (年度毎に、研究内容、成果目標を記入。また、中間評価の時期について特段の希望があれば記入。)			
平成11年度			
1. 血液への放射線照射効果の有効性評価法の開発			
ヒト血液およびマウス血液を用い、一定量の放射線照射を行った場合の血球のアポトーシスを経時的に解析する。アポトーシス検出法としてDNA電気泳動、DNA断片化の生化学的検出、DNA断片化のフローサイトメーター検出およびアポトーシス関連分子出現などを用いる。			
2. GVHD モデル動物の作製と有効性評価法の応用			
初年度は、同種異系マウス間での全血輸血あるいは成分血球輸血を行い GVHD モデルを作製し病態解析法を整備する。			
平成12年度			
1. 血液への放射線照射効果の有効性評価法の開発			
初年度の研究を続行し、放射線照射量と死滅細胞数およびアポトーシス頻度の経時的変化を明らかにする。			
2. GVHD モデル動物の作製と有効性評価法の応用			
GVHD モデルマウス系で放射線照射を行った血液あるいは血球を移植する。放射線照射量と宿主マウスの病態の比較、免疫反応測定を行う。			

平成13年度

1. 血液への放射線照射効果の有効性評価法の開発

放射線照射後に短期、中期、長期保存した血液での血球生存率を求め、照射直後のアポトーシスの結果が最終的な細胞死とどの程度相関するかを検定する。

2. GVHD モデル動物の作製と有効性評価法の応用

GVHD モデル系で上記のアポトーシス評価法を併用し、生体モデルに応用できるか否かを判定する。

3. 総合評価

3年間の成果を踏まえて評価を行い、臨床応用の可能性の有無につき判定を行う。

7. 予定している研究交流体制（研究者交流、設備や成果の相互利用、成果報告会の開催等） [注4]

国立小児病院では輸血用血液はすべて施設内で放射線照射を行っている。すなわち、本研究は常に検査科輸血部の医師・技師、臨床医と連携をとりながら行う予定である。

外部との交流としては、日本輸血学会会員のうち血液への放射線照射を専門とする研究者と意見交換を行うとともに、成果への提言を期待している。

5. 予想される困難

評価法をマウスを用いた生体系で検定する予定であるが、その結果をどのようにヒトに還元できるかという点が最も困難な点と考える。臨床サイドからの意見を積極的に取り入れて検討を重ねてゆく必要がある。

記載者氏名： 藤本 純一郎 所属： 国立小児医療研究センター 病理病態研究部
(TEL) 03-3414-8121、内線 2713

平成 10 年 5 月 29 日

[注1] 原子力用材料、原子力用人工知能、原子力用レーザー、放射線リスク評価・低減化のいずれかを記入する。

[注2] 該当する方にチェックする。

[注3] 本テーマで担当している研究内容（役割分担）を記入する。

[注4] クロスオーバー研究の場合、クロスオーバー研究技術課としての交流（交流委員会内の交流）とそれ以外の交流が区別して読み取れるように記入する。

表-4

原子力基盤技術開発

事前評価用チェックシート

研究開発課題名 輸血を目的とした血液への放射線照射の有効性評価法の開発に関する研究		
評価項目	チェック欄	不足点についての補足説明欄
1. 研究開発の目標は適切に設定されているか。	適切である。	
2. 研究開発の進め方（手順、手法）は適切であるか。	進め方は適切であるが、実際の医療現場への応用の際には慎重に審議を行う必要がある。	
3. 研究開発資源の配分及び研究開発日程は適切であるか。	適切である。	
4. 研究交流等の原子力基盤技術開発推進関連 (1) 他機関の参加があるか。	来年度以降に予定されている。	
(2) 設備・施設及び研究成果を相互に有効利用する予定か。	研究成果は多数の病院で利用できる可能性を含んでいる。	
(3) 研究成果の報告会・シンポジウムは適切に開催される予定か。	開催予定に関する記載はない。	単一の施設からの申請であるので学会発表、誌上発表が適切と思われる。
5. その他研究開発推進上の問題点	特になし	
評価者氏名： 研究企画調整委員会 委員長 谷村雅子 平成 10 年 6 月 1 日		

表-7

原子力基盤技術開発

事前評価用総合所見フォーマット

研究開発課題名 輸血を目的とした血液への放射線照射の有効性評価法の開発に関する研究	
項 目	要 約
1. 目標	GVHD 予防を目指した輸血用血液への放射線照射の効果を輸血前に迅速に測定する方法の開発を目標としている。
2. 事前評価	血液への放射線照射によって致死的な輸血後 GVHD は激減したものの、放射線照射の効果判定は確かに確立されていない。その点からは本研究の目的および目標は適切であり緊急性がある。
3. 研究開発を進めるに当たり、留意すべき点	患者検体を用いる内容が予定されており、インフォームドコンセントの問題も含めて倫理委員会での審議が必要である。
4. その他	特になし。
評価責任者氏名： 小児医療研究センター長 雨宮 浩 平成 10 年 6 月 2 日	

1. 研究開発課題名 神経難病関連MBPのRIを用いた高感度微量定量法の開発研究

2. 研究担当者

主担当者氏名：太田光熙

所属：国立療養所宇多野病院 臨床研究部 担当：RIA法の開発

担当者氏名：太田潔江

所属：同上 担当：RIAの測定

氏名：西村公考

所属：国立療養所宇多野病院 神経内科 担当：検査検体の採取と結果の評価

氏名：松井 真

所属：同上 担当：同上

3. 研究期間

11年 4月 ～ 13年 3月（3年計画）

4. 研究の有用性に対する評価・意義について

この申請課題の中心的対象疾患は、多発性硬化症である。多発性硬化症は特定疾患（難病）事業発足時より対象となった疾患で、日本では患者数 5000～6000人と推定されている。欧米では日本に比して10倍以上の患者がいるとされ、研究面でも欧米がその中心となっている。しかしながら、現在でも病因を巡る諸説があり、不明な点が多い。また、確固たる治療法もなく、様々な新薬が臨床治療されているのが現状である。

多発性硬化症の臨床診断としては、MRIを中心とした画像診断が現在は中心である。臨床診断を補助できるin vitroの検査としてはなく、一般ルーチン検査として脳脊髄液中の細胞数、タンパク量、IgG量の測定が行われているが、有用性は低い。欧米の多発性硬化症では高率に脳脊髄液中にオリゴクローナル抗体が検出され、有用な検査とされているが、日本人多発性硬化症ではほとんどの症例では検出されないことから、検査としての有用性に欠けている。

一方、米国を中心に世界の数カ所の研究室では本症脳脊髄液中のMBPレベルが測定されており、多くの論文で臨床的有用性が示されている。MBPは神経系、中でも中枢神経に多く存在し、中枢神経の脱髄像を特徴とする多発性硬化症の発症時、または再発、増悪時期に一致して髄液中に漏出してくることから、MBPの測定は多発性硬化症の臨床診断を補助する面で有用性が高いとえるが、血液を検体とした測定が現状では不可能な点や、MRI解析で明らかな病巣があり、多発性硬化症発症が確認されている症例でもMBPが脳脊髄液中に検出されない症例があることから、感度面で不十分であるといえる。

MBPは特異な神経タンパクで、MBPまたはそのペプチド断片を動物に投与すると、ヒト多発性硬化症と類似した症状が引き起こされ、やがて死亡することから、特異性にすぐれた抗体を作製することは難しい。したがって、抗MBP抗体を活用するMBP測定用免疫学的方法の開発には、早くても3年の期間とMBPの精製や抗体の作製、RI標識法の確立など数多くの技術革新など多くの困難が予想される。太田らは、以前より本分野の基礎的研究に精通しており、多くの実績をあげている。RIを有効に活用した高感度MBPRIA法が開発されれば、診断用キットとして他施設に供給できる可能性もあり、国際的にも大きなインパクトを与え、臨床診断学上多大の貢献をするものと思われる。