

課題番号 : 27指1401

研究課題名 : NCGMにおける戦略的なバイオリソース収集と、多層적オミックス解析及びメタゲノム解析での活用を目指した病院コホート研究

主任研究者名 : 中村利孝

分担研究者名 : 加藤規弘、瀧永博之、考藤達哉、狩野繁之、植木浩二郎、日ノ下文彦、廣井透雄、秋山 徹、美代賢吾、大河内仁志、安田和基

キーワード : バイオリソース、バイオバンク、ゲノム医療

研究成果 : 近年、バイオバンク事業を取り巻く環境は国際的に急速に変動し、そのゲノム医学研究における重要性は年々増大しつつある。ナショナルセンター (NC) のバイオバンクは、①各々が担当する疾患に係るバイオリソースの収集を行うこと〔疾患バイオバンクの構築〕、②その利用により疾患の解明・克服に貢献すること〔研究活用〕、③共同研究以外でも外部機関へ提供 (分譲) できる仕組みを構築すること〔産学官連携の推進〕が求められている。

したがって、NCGM バイオバンクの構築においては、感染症と糖尿病等の生活習慣病などを共に担当する当センターの特長を十分に生かした戦略的なバイオリソース収集と、病態・経過に応じた付随医療情報のデータベース化が必要である。そして、多層적オミックス解析のための、DNA・RNA・タンパク等の検体収集及び腸内細菌叢も対象としたメタゲノム解析のための検体収集を、イベントの発症前後などのマルチポイントで行うべく、本研究で「病院コホート体制・システム」の整備を目標とする。

そのために (I) バイオバンク推進体制を部局横断的なものに再編し、個別診療科等の要望とセンター事業との融合を図ること、及び (II) 戦略的に検体・医療情報を収集するシステムの2つを研究計画の柱とする。以下、各々について、本年度の研究成果の概要を述べる。

1. バイオバンク推進体制の再編

初年度には、バイオバンク推進体制を部局横断的なものに再編したうえで、下記の4つの機能に対応するワーキンググループ (WG) を設置して、タイムテーブルに従い、各々必要な課題に取り組むこととした。

- i) バイオバンク協力推進 WG: 7つの診療科群 (後述) 別に、検体・情報収集体制の基盤を整備した。
- ii) 試料管理・分譲・解析 WG: これまでは、血液を遠心分離し血漿と Buffy コートのみを分注・保管していたが、初年度、Buffy コートだけでなく DNA も抽出することと、RNA 用採血管を用いて末梢血単核球の total RNA、microRNA も全例より採取することとした。
- iii) In house データベース開発 WG: ベースラインの医療情報等 (既存試料の付随医療情報を含む) の、in house DB への移行・集約に際して、SS-MIX 経由での電子カルテからの持続的抽出の可否を選別するとともに、手作業/自動更新すべき DB 化項目を整理した。
- iv) 倫理手続き・広報 WG: 診療科個別研究を基盤として行われるバイオリソースの収集と、センター事業としてのバイオバンク整備とを効果的に連携させるべく、倫理審査手続きを整備した。検体利用審査会議を立ち上げて、収集した検体・情報の利用等に関する手続きも整備した。

2. 戦略的な検体・医療情報の収集

大きく、感染症と糖尿病等の生活習慣病の、2つの疾患分野が NCGM バイオバンクの主な対象である。さらに、前者は、①エイズ治療・研究開発センター (ACC)、②肝炎免疫研究センター、及び③国際感染症センター (DCC) + 研究所感染症グループの3つ、後者は、④糖尿病患者全般、⑤大血管合併症診療科群、⑥細小血管合併症診療科群の3つに分けられる。⑦マイクロバイーム等、その他の疾患も合わせて、計7つの診療科群に分け、疾患分野・診療科群毎に検体収集と病名登録について一定の自律性、責任を持つ体制とすることにより、NCGM バイオバンク事業の機動性を高めることとした。

各疾患分野・診療科群で、既存試料の利用手続き (再同意取得など)、新規試料の収集、個別研究で収集した検体のバイオバンクへの寄託等を進めた。平成27年度末時点で、ACC は >980 人、大血管合併症診療科群は >400 人、マイクロバイーム研究は ~400 人 (糞便は 1600 人)、肝炎免疫研究センターは >800 人の収集を行っている。

Subject No. : 27S1401

Title : Strategic collection of bio-resource at NCGM and hospital-based cohort study aiming at multi-omics and meta-genomic analyses

Researchers : Toshitaka Nakamura, Norihiro Kato, Hiroyuki Gatanaga, Tatsuya Kanto, Shigeyuki Kano, Kojiro Ueki, Fumihiko Hinoshita, Yukio Hiroi, Toru Akiyama, Kengo Miyo, Hitoshi Okochi, Kazuki Yasuda

Key word : bio-resource, biobank, genomic medicine

Abstract : The biobank is becoming a more and more important tool in the study of genomic medicine, while its surrounding environments have globally changed in these years. Biobanks in the National Research Centers for Advanced and Specialized Medical Care (National Center: NC) are expected to construct disease-oriented bio-resources, to contribute to the elucidation of target diseases, and to prepare a collaborative system with academia and industry research institutes. Accordingly, in the establishment of the NCGM biobank, we should keep in mind two points, i.e., the strategic collection of bio-resource to appeal the strength and characteristics of NCGM and the construction of database for clinical information that is longitudinally collected. Also, we aim at establishing a hospital-based cohort study by collecting samples used for multi-omics and metagenomics analyses at multiple time points before and after the disease-associated events. For these purposes, we set two principal themes: (I) to reorganize the biobank system cross-divisionally such that the motivation of individual clinical divisions and the overall goal of the institution are integrated complementarily and (II) to develop the institutional system for strategic collection of bio-resources and the associated clinical information. The study achievements in this year can be summarized as below.

1. Reorganization of the biobank system

A total of 4 working groups (WGs) have been set up to facilitate the reorganization, including the WG for cooperative promotion of biobank, the WG for the control, distribution and analysis of biobank samples, the WG for development of in-house databases, and the WG for ethical procedures and public relations. Each of the WGs set their quarterly objectives and made steady achievements during the first fiscal year of the study.

2. Strategic collection of bio-resources and the associated clinical information

A total of 7 groups (or domains) of clinical divisions, which are largely categorized into infectious disease and lifestyle disease such as diabetes, as two principal disease areas at NCGM; the 7 groups (or domains) are consisted of AIDS Clinical Center (ACC), Center for Hepatitis and Immunology Department of Liver Disease, Disease Control and Prevention Center (DCC), Division of diabetes, endocrinology and metabolism, a group studying macrovascular complications of diabetes, a group studying microvascular complications of diabetes, and a group studying microbiome and other disorders with each being in charge of nominating accurate disease names and longitudinally collecting clinical information associated with the sample.

(27指1401)「NCGMにおける戦略的なバイオリソース収集と、多層的オミックス解析及びメタゲノム解析での活用を目指した病院コホート研究」

【研究目的】感染症と糖尿病等の生活習慣病などを共に担当する当センターの特長を十分に生かした戦略を立案し、ナショナルセンター・バイオバンクに対する、①「疾患バイオバンク」の構築、②バイオリソースの「研究活用」、③「産学官連携の推進」の社会的要請に対応すべく、バイオバンク戦略を見直して、その基盤整備を加速・強化する。

【計画年度】3年研究の1年目

【実施体制】
 主任研究者：中村利孝
 分担研究者：加藤規弘、湯永博之、考藤達哉、狩野繁之、植木浩二郎、日ノ下文彦、廣井透雄、秋山徹、美代賢吾、大河内仁志、安田和基

【研究成果】

1. バイオバンク推進体制の再編
 - 初年度には、バイオバンク推進体制を部局横断的なものに再編したうえで、個別診療科等の要望とセンター事業との融合を図り、診療科群／グループ毎に検体・医療情報の収集戦略を立てて、重点的な取り組みに着手した。
 - バイオバンク協力推進WG、試料管理・分譲・解析WG、In houseデータベース開発WG、倫理手続き・広報WGの4つのworking groupを設置し、各々の課題に取り組んだ。
2. 戦略的な検体・医療情報の収集
 - DNAのみならず、多層的オミックス解析のためのRNA・タンパク等の検体収集、及び腸内細菌叢を対象としたメタゲノム解析のための検体収集も開始した。
 - 感染症と糖尿病等の生活習慣病を主軸疾患としつつも、高度総合診療を担う医療機関という特長を生かした、多面的な個別研究の推進に伴うバイオリソース収集を開始した。

【今後の計画】イベントの発症前後など、時系列に沿ってマルチポイントで行えるような病院コホート研究体制を整備し、広く検体の研究活用、産学官連携を進める。

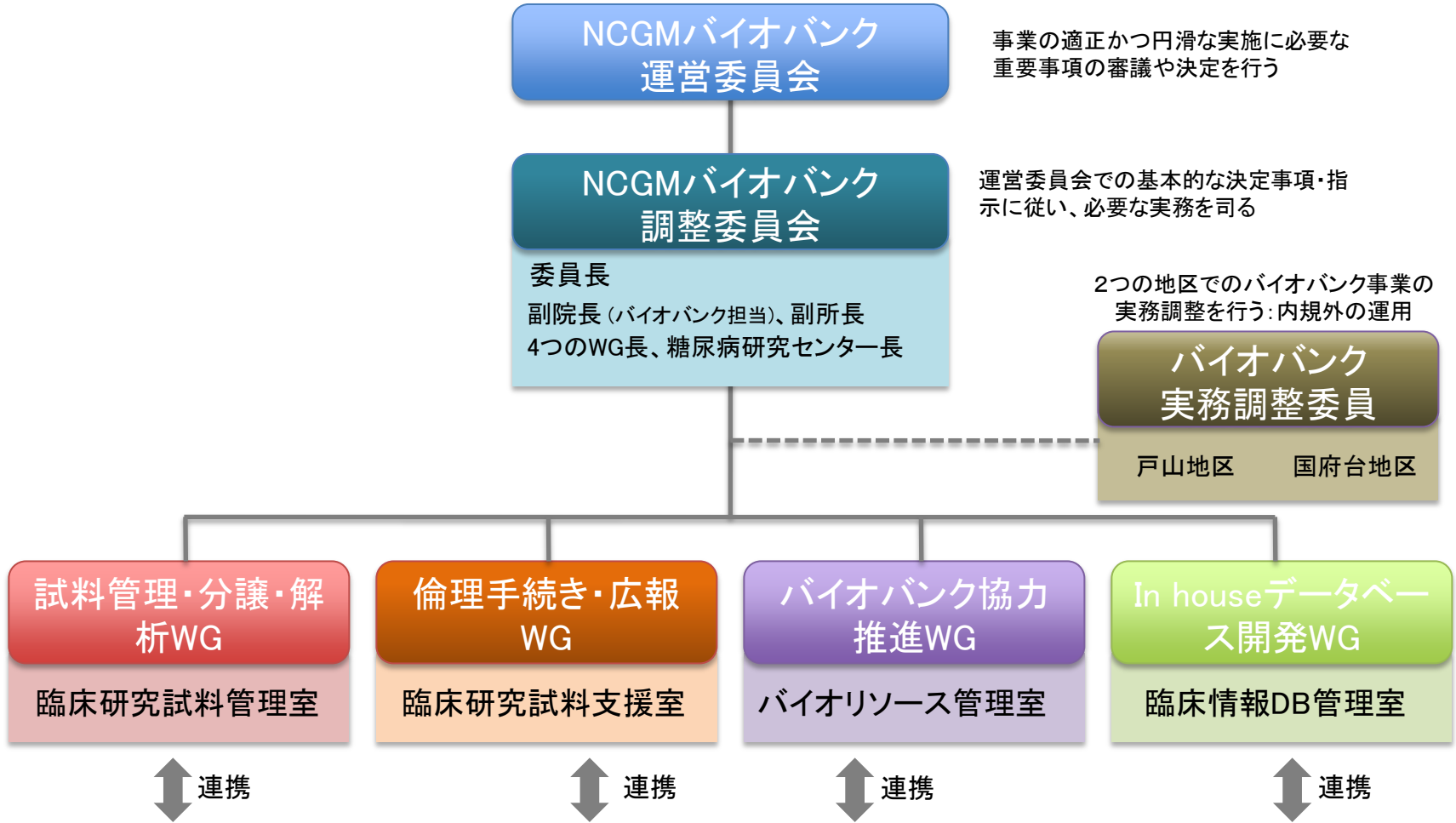
NCGMバイオバンク検討課題の概要：2015年度

	2015 0Q	2015 1Q	2015 2Q	2015 3Q	2015 4Q
運営委員会 調整委員会 開催：各四半期1回	<ul style="list-style-type: none"> ● 新体制の承認✓ ● 各WGの業務確認✓ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 新規収集体制の整備、コーディネータ増員配置※ ● 既存試料の組み入れ推進△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● メディカルゲノムセンター事業との連携※ 	<ul style="list-style-type: none"> ● WG間の進捗状況調整△ ● 臨床ゲノム情報統合DB整備事業との連携△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 試料活用戦略(分譲含む)の確認・推進△ ● 医療実装型疾患統合バンクの準備△
協力推進WG 開催：月1回	<ul style="list-style-type: none"> ● 6診療科群の計画策定・実務担当者選定✓ ● 収集データ案作成△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 重点疾患群の被験者リクルート強化、microbiome△ ● バイオバンク・ファンド募集採択✓ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 病名登録、診療科情報収集体制(電子化)の確立△ ● Microbiome含む収集目標の設定※ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 病名登録、診療科情報収集(電子化)の推進△ ● 重点診療科群での収集ペースの確立※ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 病名登録、診療科情報収集(電子化)の推進△ ● 重点診療科群等での収集ペースの確立△
データベース 開発WG 開催：適宜、実務者で相談	<ul style="list-style-type: none"> ● 当該WGのメンバー選定✓ 	<ul style="list-style-type: none"> ● BIOPRISMを活用した基本データ格納△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 診療科毎、横断的DBの設計△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 電子カルテからのBIOPRISMへのデータ移行の試行→新システムを検討△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 電子カルテから“新システム”へのデータ移行の試行△
試料WG 開催：適宜、実務者で相談		<ul style="list-style-type: none"> ● バフィーコートからのDNA抽出△ ● 検体の管理フロー(ID管理等)修正△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 既存試料のID統合化の準備△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 既存試料のID統合化の着手△ ● 試料の利活用・配布(分譲)体制の整備△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 既存試料のID統合化の検討△ ● 試料の利活用・配布(分譲)体制の検討△
倫理・広報 WG 開催：適宜、実務者で相談	<ul style="list-style-type: none"> ● 倫理審査：組織体制変更等✓ ● 個別研究との関係の整理△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 倫理審査：個別研究からBBへの委託に係るルール、考え方整理✓ ● Homepageの改修△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 個別研究(既存試料)との連携促進△ ● Homepageを通じた(進行中)個別研究の情報公開△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 検体利用審査会議の立ち上げ△ ● Homepageを通じたバイオバンク事業の広報推進△ 	<ul style="list-style-type: none"> ● 検体利用審査会議の準備✓ ● Homepageを通じたバイオバンク事業の広報推進△

✓ほぼ終了、△現在進行中、※要努力

NCGMにおけるバイオバンク推進体制の再編に係る研究
分担研究者: 中村利孝

NCGMバイオバンクの組織 新体制



ナショナルセンターバイオバンクネットワーク(NCBN)の検討部会

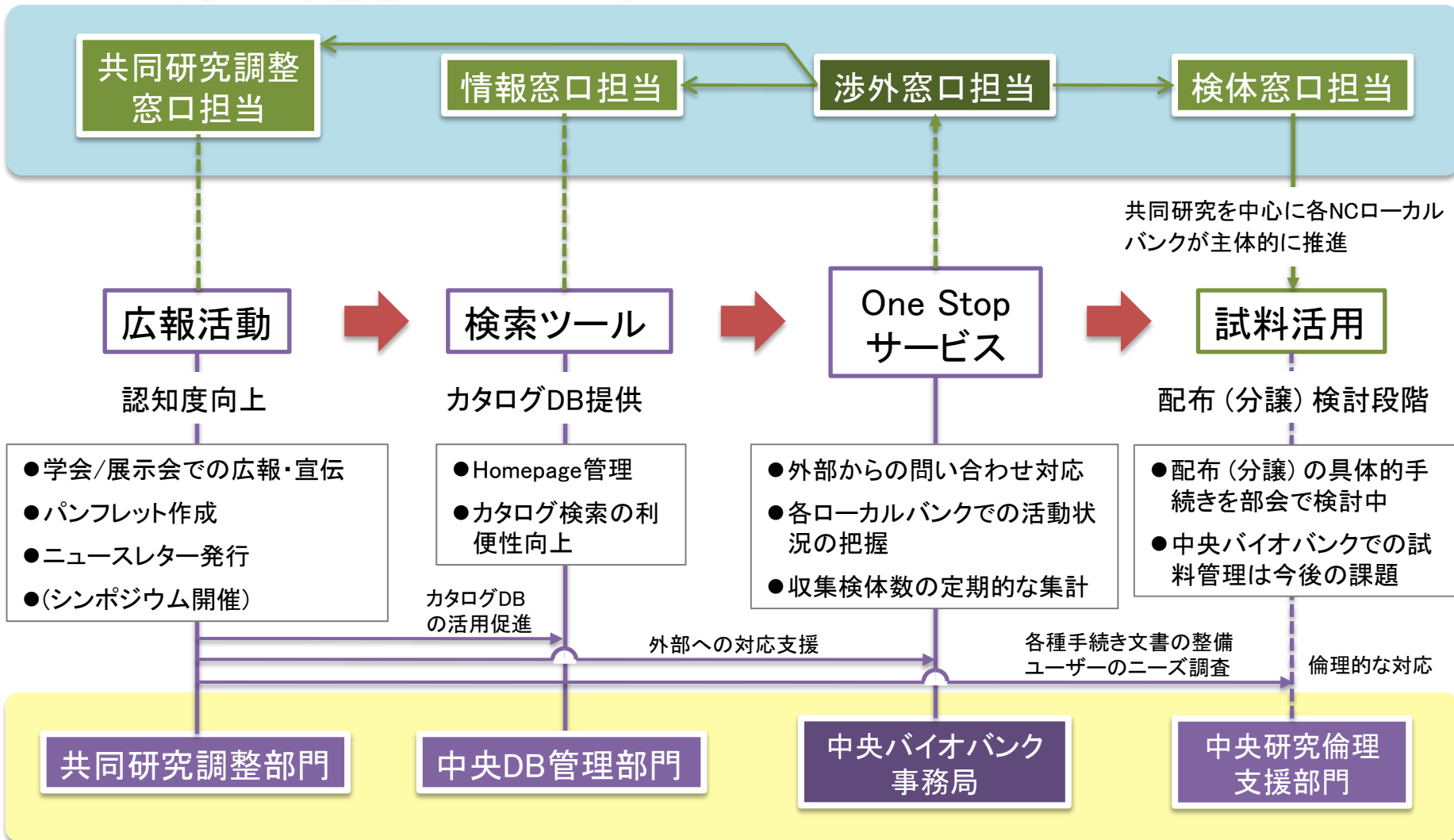
検体システム検討部会

試料等利活用検討部会

情報システム検討部会

NCGMバイオバンクでの、NCBNおよびメディカルゲノムセンターとの連携に係る研究
 分担研究者: 加藤規弘

NCGMバイオバンク含むローカルバンク



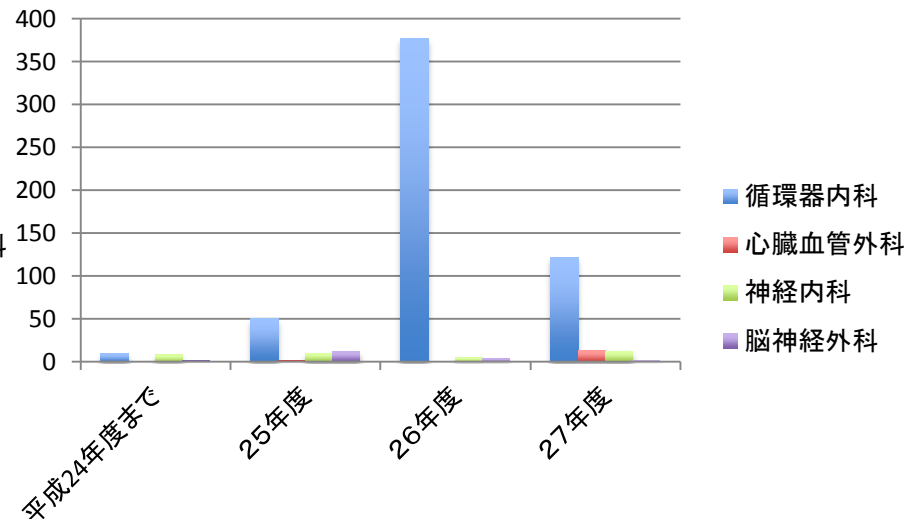
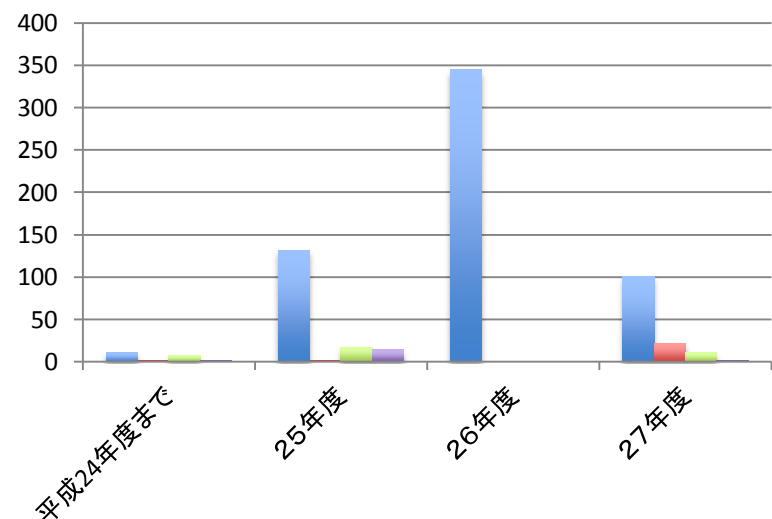
NCBN 中央バイオバンク

NCGMバイオバンクでの、糖尿病大血管合併症の戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究
分担研究者：廣井透雄

大血管グループ

同意数

採血数



- 循環器内科
 - 入院患者は診療科としてサンプル収集中(DNA 390, RNA 370)、バイオバンクに寄託予定
 - 外来患者は26年度までにある程度集まり、27年度からは新患にも対象を拡げている
 - 28年度からは複数回採血も依頼予定
- 心臓血管外科
 - 大血管手術例などの収集を個別依頼することにより件数がほぼゼロから増加
- 神経内科
 - 脳梗塞などの大血管疾患症例の収集を個別依頼し、件数がやや回復
- 脳神経外科
 - 脳梗塞などの大血管疾患症例の収集を依頼しているものの、今のところ効果目立たず

研究所のマイクロバイオーム解析体制

目的: 消化器内科において**消化器疾患と紐付けられた患者のマイクロバイオームを解析し、疾患とマイクロバイオームの関係を明らかにする。**

手法:

- 1) 研究所に搬送いただいた便、および内視鏡検査時に採取する腸液からキットを使用してDNAを精製
- 2) MiSeqにてlow coverage ショットガンシーケンスで配列情報を取得。
- 3) 専用的高速コンピュータで、マイクロバイオームを解析(現在はMEGAN6を使用)

便汁

受領済み: 151

DNA抽出済み: 151

シーケンスデータ取得済み: 151

マイクロバイオーム

1次解析完了済み: 151

便

受領済み: 1681

DNA抽出済み: 1611

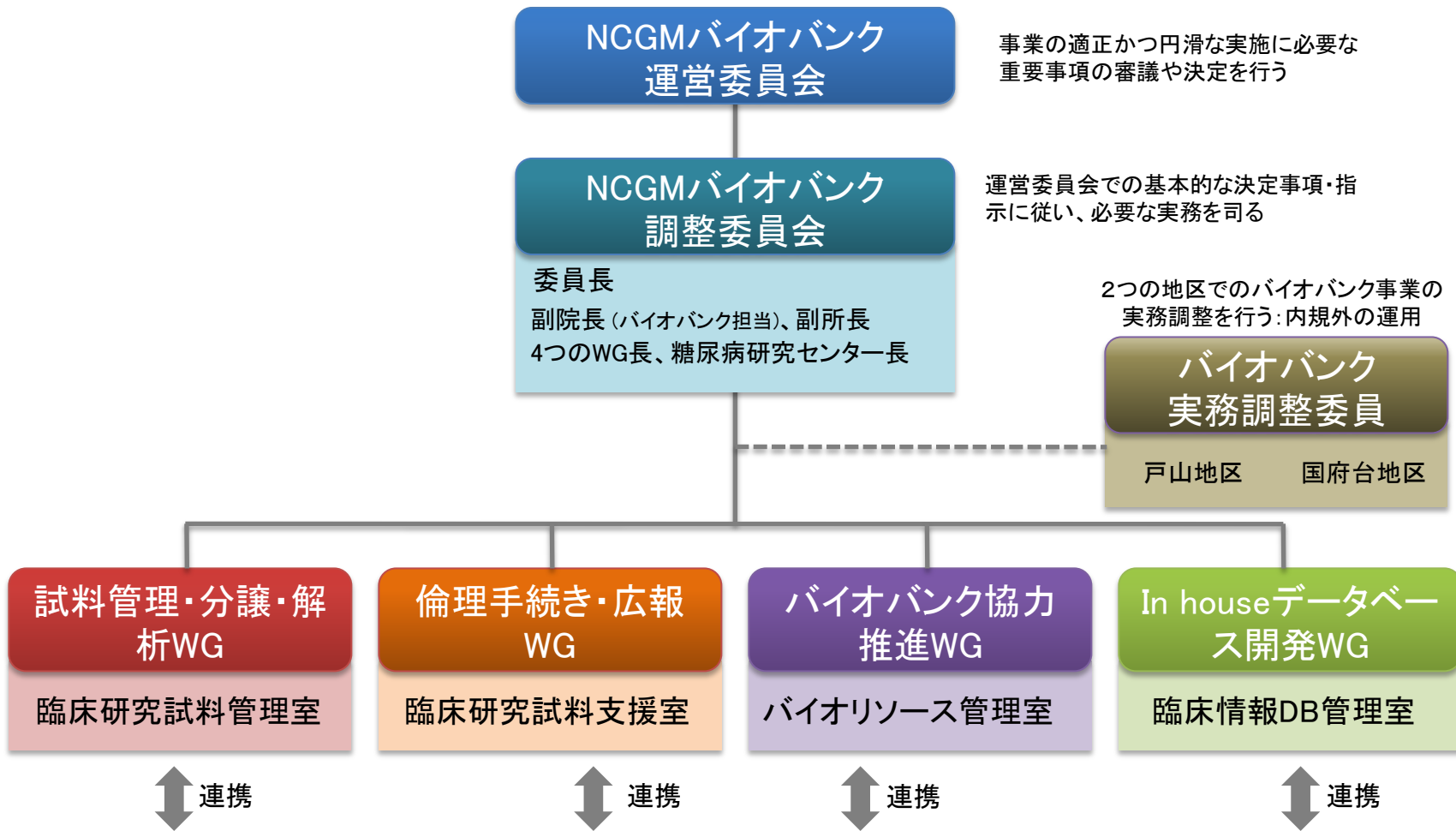
シーケンスデータ取得済み: 690

マイクロバイオーム

1次解析完了済み: 690

NCGMにおけるバイオバンク推進体制の再編に係る研究
分担研究者: 中村利孝

NCGMバイオバンクの組織体制





ナショナルセンターバイオバンクネットワーク(NCBN)の検討部会

検体システム検討部会

試料等利活用検討部会

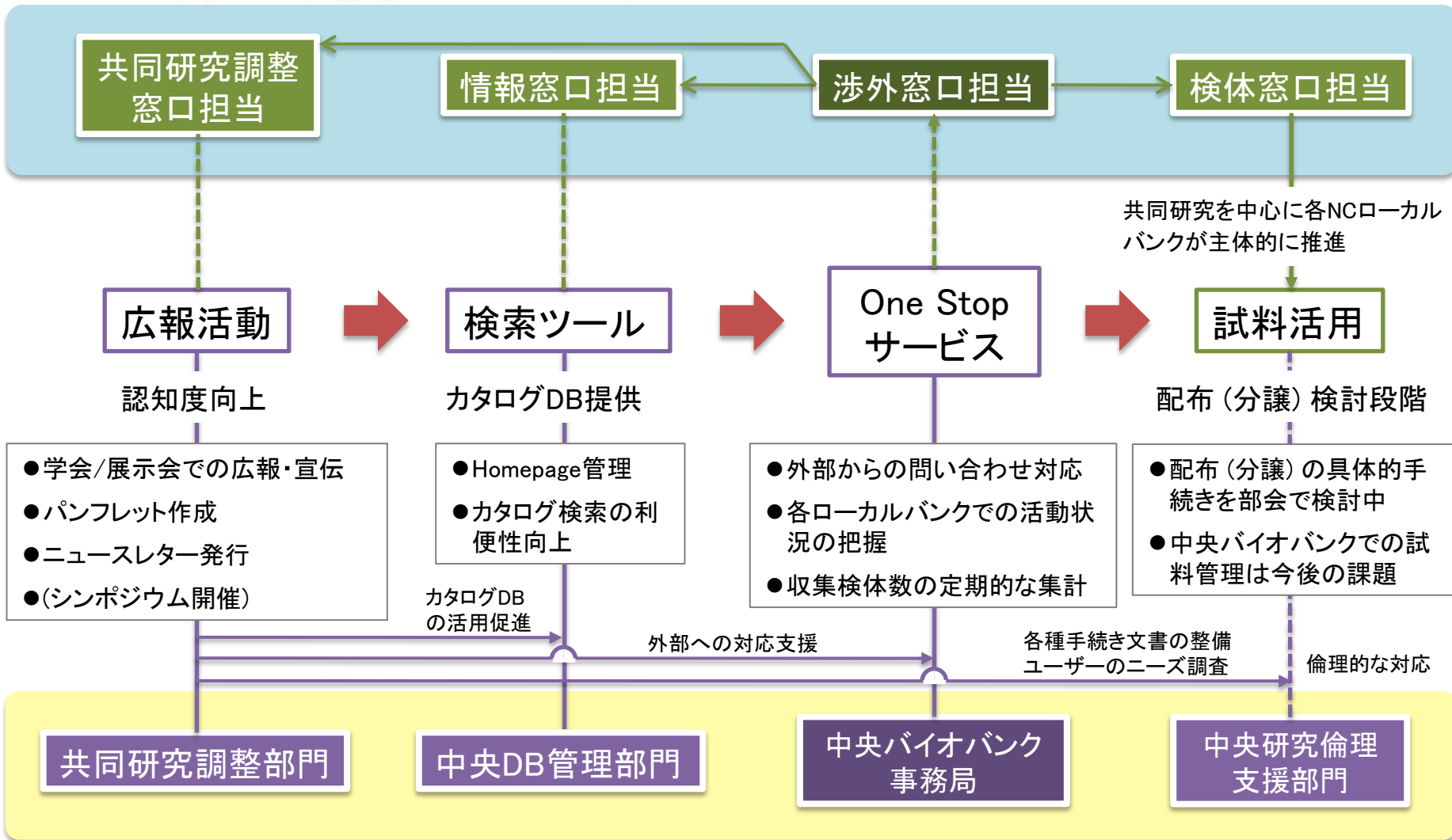
情報システム検討部会

本研究におけるNCGMバイオバンクの目指すもの

目的	ナショナルセンター・バイオバンクに対する、①「疾患バイオバンク」の構築、②バイオリソースの「研究活用」、③「産学官連携の推進」という社会的要請に応えるべく、バイオバンク戦略を見直し、その基盤整備を加速・強化する
方法	 <ul style="list-style-type: none">・感染症と糖尿病等の生活習慣病の重点的な試料収集と活用に向けて、関連診療科のグループ化を推進する・多層的オミックス解析とメタゲノム解析のための検体を収集する・バイオバンク推進体制を部局横断的なものに再編し、個別診療科等の要望とセンター事業との融合を図る
期待される効果	 <p>病院コホート研究体制が整備されて、大規模な疾患バイオバンクへと発展し、その研究活用や産学官連携が進むと期待される</p>

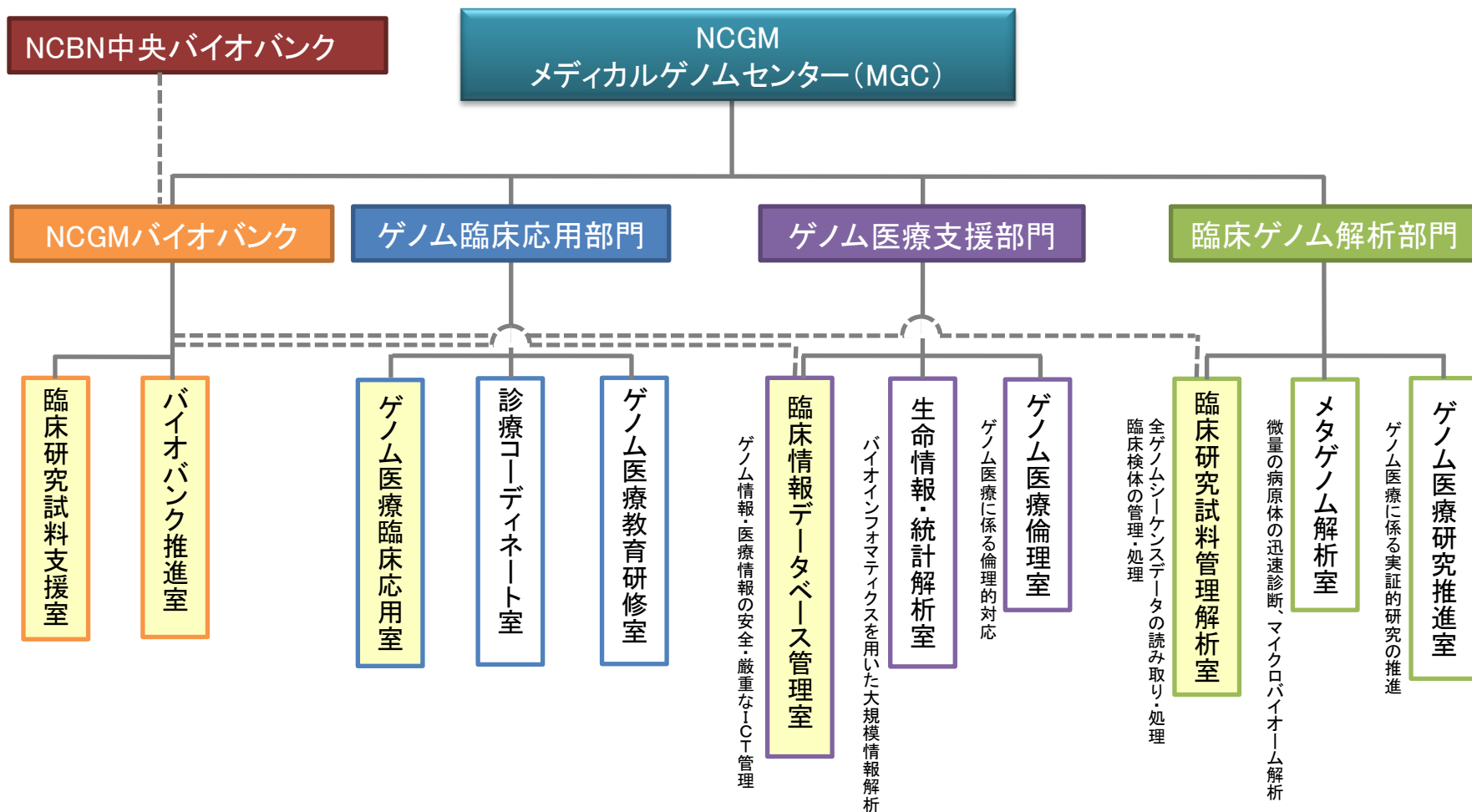
NCGMバイオバンクでの、NCBNおよびメディカルゲノムセンターとの連携に係る研究
 分担研究者: 加藤規弘

NCGMバイオバンク含むローカルバンク



NCBN中央バイオバンク

NCGMメディカルゲノムセンターとバイオバンクの連携



(27指1401)「NCGMバイオバンクでの、HIVの戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究」 分担研究者：湯永博之

1997年以来、HIV受診患者全員レジストリ登録。診療目的で検体保存。

バイオバンクへの参加同意取得

2000人以上のHIV感染者の経時的な血液検体
+新患約150人/年

plasma
viable PBMC
臨床情報

「HIV疾患バイオバンク」へ

H26年度実績 623人

H27年度実績 318人

合計 941人

H28年度 250人見込み

目標：当院通院HIV患者全員
(現在2000人弱＝全国の約17%)

HIV疾患バイオバンクの検体・医療情報を用いた研究成果

●消化器内科等(膠原病科・病理検査室)との共同研究

「HIV患者の肛門コンジロームスクリーニング」

「HIV患者の肛門パピローマ感染の頻度」

「食道カンジダ症頻度の推移」

Nishijima, et al. *Int J Infect Dis.*

Nagata, et al. *PLoS One.*

Takahashi, et al. *PLoS One.*

●眼科との共同研究

「進行したHIV患者における眼科スクリーニングの重要性」

Nishijima, et al. *PLoS One.*

●熊本大学との共同研究

「HIVに対するCTLの研究」

「HIVに対するCTLの研究」

Maribe, et al. *Arch Virol.*

Kuse, et al. *J Virol.*

●ACC独自の臨床研究

「ニューモシステイス肺炎におけるステロイド併用の意義」

「経口ペニシリンによる梅毒治療」

「抗HIV薬の腎障害とトランスポーター-SNPの臨床的意義」

Shibata, et al. *PLoS One.*

Tanizaki, et al. *Clin Infect Dis.*

Nishijima, et al. *PLoS One.*

*黒字: 医療情報のみ使用。 *赤字: HIV検体＋医療情報使用。

課題番号 : 27指1401
研究課題名 : NCGMバイオバンクでの、肝炎・免疫疾患の戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究
主任研究者名 : 中村利孝
分担研究者名 : 考藤 達哉
キーワード : バイオバンク、ゲノムDNA、血液検体、臨床データ、肝疾患
研究成果 : 当初の計画に沿って、国府台病院において、バイオバンク検体の収集と体制整備を進めた。

● バイオバンク協力推進

肝臓内科に加えて、当該年度の7月から消化器内科でのバイオバンク事業を開始した。消化器内科でのリクルートには、外来医師の協力を得ることが出来たため、医師からの紹介という形を取ることで、約90%の患者で同意を得るという高い水準を保つことが出来た。また、医師からのバイオバンク対象患者の紹介が毎日行われ、同診療科内ではバイオバンクの認知を得ることができた（平成27年度同意数267件）。

肝臓内科においては、2014年11月から進めている再同意の取得が概ね完了した。新規患者についても平行して包括的同意の取得が出来ており、同意数は、順調に増加推移した（平成27年度同意数473件）。

● 試料管理・分譲・解析

検体保管については、採血から保管までの一連の流れで、データ入力をスキャナで実施するためのシステムを構築した。これによって、人為的ミス等による誤入力を減少させることが出来た。特に、採血管ラベルを読み取るスキャナについては、独自に開発と調整を行い、狭いラベル領域に記載されている文字と数字を区別し、日付、患者ID、採血管番号をスキャンによって読み取ることに成功した。

血清、ゲノムDNAといった保管検体の精度管理を行い、質と量において問題のないことを確認した。

● In house データベース開発

臨床データの取得とデータベース化については、電子カルテの改修と臨床データをサーバーへ転送するシステムの準備を進めた。前者については、電子カルテ内にバイオバンク専用のページを構築し、包括的同意の有無をマークする形とした。それによって、そのマークを持っている患者に限って、臨床データをバイオバンクサーバーにコピー出来る様式へと設計した。

後者については、臨床データの取得先として、D☆Dを予定していたが、データ構造の問題があることが疑われたため、SS-MIX2かMegaOrkから臨床データを取得することに変更した。データ受け入れ先のサーバーについては、従来の肝炎研究で使用したデータベースを元にバイオバンク用に再構成したものを準備した。

これらについては、予算の関係で、入札を次年度に行なうこととした。

● 倫理手続き・広報

NCBNとNCGMバイオバンクの方針にそって、国府台病院バイオバンクの倫理規定を変更し、承認を得た。当センターで収集された試料等の共同研究／分譲のための手続きを整備し、検体利用審査会議の運用方針を策定した。

また、バイオバンクに関するアウトリーチ活動を強化し、NCGMバイオバンク全体でのホームページ等の充実を図った。

● 中央バイオバンクとの連携

中央バイオバンクのカatalogデータベースへのデータ提供については、国府台病院バイオバンクデータベースから、指定の様式でアウトプットできる仕組みを構築した。これにおいても、包括的同意の有無に関する情報をベースにデータ抽出がなされ、包括的同意のある患者に限って、同意日、検体の種類と数、疾患ID等の情報を出力できる形とした。

課題番号 : 27指1401

研究課題名 : NCGMバイオバンクでの、国際感染症の戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究

主任研究者名 : 中村利孝

分担研究者名 : 狩野繁之

キーワード : バイオリソース、感染症、臨床開発研究

研究成果 : 平成28年度には、メディカルゲノムセンター (MGC) が4月1日付けで発足したこともあり、本研究事業における感染症関連研究も本格的に進められることが期待される。本年度は、

1) バイオバンク協力推進

初年度に当該国際感染症研究分担研究班として検討された検体・情報収集体制に基づき、更に検体・情報の収集を進めた。施設内及び外部機関との共同研究に繋げるべく、各部署で、より包括的な Clinical question の解決を目指して、バイオリソースの収集を拡充した。更に MGC 事業での被検者 (遺伝子検査の対象者など) の検体・情報収集体制へも必要に応じて展開していく計画をたてた。

2) 試料管理・分譲・解析

特殊検体の処理・管理や、外部機関の要望 (分譲の希望を含む) への対応など、様々な検体・収集状況に不都合なく応じられるよう、国際感染症患者検体の品質管理システムを適宜強化・改良した。分析・解析のための共通プラットフォームのなかでも、特に全ゲノムシーケンシングへの対応を進めた。

3) In house データベース開発

収集した国際感染症患者検体の付随医療情報のうち、電子カルテから取り出せるものについては、SS-MIX 標準化ストレージの活用を進める準備を行った。

4) 倫理手続き・広報 WG

初年度に検討した共同研究/分譲のための手続きにより、国際感染症検体の共同研究/分譲を進めた。偶発的所見への対応や、協力者・被験者への情報提供などには、MGC 事業と連携して取り組むことも確認された。即ち、

① [バイオバンクの構築] 特に NCGM が所掌するところの国際感染症に係るバイオリソースの収集へ貢献するにはどのような倫理委員会への申請書を作ったらよいか?

② [研究活用] その利用により国際感染症の病態の解明と克服に貢献すること

③ [産学官連携の推進] 共同研究以外でも外部機関へ提供 (分譲) できる仕組みを構築することに対応するべく研究を進めた。

具体的には、以下の作業に掛かる倫理委員会への申請 (平成27年8月27日)、承認 (9月3日)、検体利用委員会での承認 (9月14日)、バイオリソースの採取、外部企業への委託、共同研究の展開を、最初のモデルケースとして展開し、機能的な研究推進に繋げることが出来た。

研究計画

1) 提供を受けた血液からの末梢血単核球の調整

患者への書面による説明と同意が得られ、採取された血液 (10ml EDTA 真空採血管) は、NCGM 研究所熱帯医学・マラリア研究部において末梢血単核球 (PBMC) を密度勾配遠心分離法 (Lymphoprep、Ficoll 等) で調製した。単離した PBMC は、細胞保存液 (セルバンカー等) に懸濁後、 -80°C で凍結保存を行った。

2) 患者から取得された試料 (血液及びこれらから抽出した DNA) の保管方法、保管場所、保管期限及び廃棄方法

●本研究に供された検体試料は、本研究部で末梢血単核球 (PBMC) の単離後、不要な血液成分 (赤血球や血小板、多核球など) はすべて、高圧蒸気滅菌器で不活化後廃棄した。

●調整した末梢血単核球 (PBMC) は凍結保存後、株式会社〇〇〇 (現在特許申請中に付き会社名は伏せる) に送り、完全ヒト抗体薬を作製を介した。なお株式会社〇〇〇研究所のスクリーニング過程で除外された PBMC 及び選抜され抗体遺伝子のクローニング後の PBMC はすべて廃棄した。

3) PBMC のスクリーニング、抗体遺伝子のクローニング、CHO 細胞での抗体発現

凍結細胞は、株式会社〇〇〇に於いて EB ウイルスに感染させ B 細胞を増殖させた。次に〇〇〇抗原 (対象疾病への特異的名称蛋白の名称も、特許取得以前なので伏せる) に対する抗体産生 B 細胞を ELISA 法、セルソーティング法でスクリーニングを行った。選抜された抗体産生細胞は、RT-PCR 法により抗〇〇〇抗体遺伝子のクローニングを行った。さらに抗体産生用の CHO 細胞へ抗体遺伝子を導入・発現させることで完全ヒトモノクローナル抗体を作製する準備が整った。作製した抗体は、NCGM 研究所熱帯医学・マラリア研究部において、抗マラリア活性等の評価試験を行う予定である。

課題番号 : 27指1401

研究課題名 : NCGMバイオバンクでの、糖尿病等代謝性疾患の戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究

主任研究者名 : 中村利孝

分担研究者名 : 植木浩二郎

キーワード : 糖尿病、代謝状態、ゲノム、バイオマーカー

研究成果 : 糖尿病内分泌代謝科では、従来から入院患者を対象に入院当初と退院直前に血液採取を行って、糖尿病の病態・代謝状態・合併症の進行などを反映するバイオマーカーの探索を試みてきた。通常、入院によって、急速に代謝状態が改善するが、病歴・インスリン分泌能やインスリン抵抗性などの病態さらには薬物療法等の情報と、採取した血液サンプルのプロテオーム解析などにより、短期的な代謝状態を反映するバイオマーカーを同定できる可能性がある。さらには、疾患の性質上、糖尿病内分泌代謝科では同一患者が繰り返し入院することが多いため、プロスペクティブおよびレトロスペクティブな解析により、長期的な糖尿病やその合併症の進展を予知するバイオマーカーの探索も可能と考えている。平成27年度からは、血液サンプルからゲノム、エピゲノム、RNA等の解析を行うことを可能にする、MISSION-DM-ENDO (Management of Integrated bioSourceS and InformatiON of Diabetes Mellitus and ENDOcrine disorders) 研究を倫理審査をへて新たにスタートした。このことにより、ゲノム情報、エピゲノム情報、トランスクリプトーム情報、マイクロRNAなどの情報が加わり、また過去の血液データとの関連性も担保できるため、多層的オミックス解析により、糖尿病や合併症の増悪因子・防御因子の解析が進むものと考えられる。さらに、入院時には、詳細な臨床情報が集積できることもこの研究の利点であるが、平成28年より日本糖尿病学会とNCGMの共同事業であるSS-MIX2を活用した診療録直結型全国糖尿病データベース事業(Japan Diabetes compREhensive database project based on an Advanced electronic Medical record System: J-DREAMS)をスタートさせ、診療録の記載内容を直接データベース化できるようになったため、より詳細な臨床情報が付帯することとなった。上記個別研究の同意取得時にNCGMバイオバンクへの同意取得も同時に行い、サンプル採取の導線整備なども行って、MISSION-DM-ENDOで採取するサンプルと基本的に同じサンプルがNCGMバイオバンクに格納される体制を構築した。MISSION-DM-ENDOでは、年間200例程度の登録を想定しており、NCGMバイオバンクへも同程度貢献できるものと考えている。今後は、J-DREAMSに格納されている情報を、どのようにNCGMバイオバンクに統合していくかを検討していく。

課題番号 : 27指1401
研究課題名 : 十分な水分摂取による体内水バランスへの影響と CKD 進行抑制の検討
—保存期 CKD 糖尿病・非糖尿病患者において—
主任研究者名 : 中村 利孝
分担研究者名 : 日ノ下 文彦
キーワード : 保存期 CKD、水分管理、CKD 進行抑制、バイオインピーダンス法、
糖尿病

研究成果 :

- ① 研究計画書を作成し倫理委員会に提出（現在審査中）
- ② 使用する患者説明文書、同意書の作成
- ③ 実診療の中で同意の取得、検査が行えるようマニュアル作成、スタッフの役割分担決定
- ④ 外来ブース、透析室における検査施行場所の確保
- ⑤ バイオインピーダンス検査機器（BCM®）の設置と操作手技の修練
- ⑥ データ入力用の PC 設置とデータ管理ファイルの作成
- ⑦ 倫理委員会通過後に協力を依頼できるよう、入院および外来における対象となりうる患者の情報収集
- ⑧ データ収集後の統計処理方法の検討

目的: 消化器内科において**消化器疾患と紐付けられた患者のマイクロバイオームを解析し、疾患とマイクロバイオームの関係を明らかにする。**

手法:

- 1) 研究所に搬送いただいた便および、内視鏡検査時に採取する腸液からキットを使用してDNAを精製(QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit - Qiagen使用)
- 2) MiSeqにてlow coverage ショットガンシーケンス(1サンプルあたり最低200M塩基)で配列情報を取得していた(**今後は費用面から16S rRNA解析に移行**)。
- 3) 専用の高速コンピュータで、マイクロバイオームを解析(現在はMEGAN6を使用中、16S rRNA解析時にはQIIMEを使用予定)

これまでの解析状況

便汁

受領済み: 151

DNA抽出済み: 151

シーケンスデータ取得済み: 151

マイクロバイーム1次解析完了済み: 151

便

受領済み: 1681

DNA抽出済み: 1611

シーケンスデータ取得済み: 690

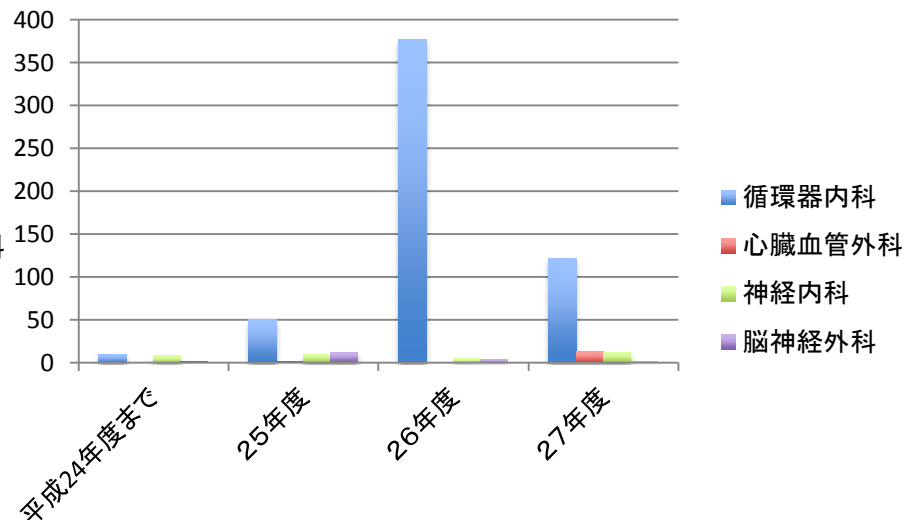
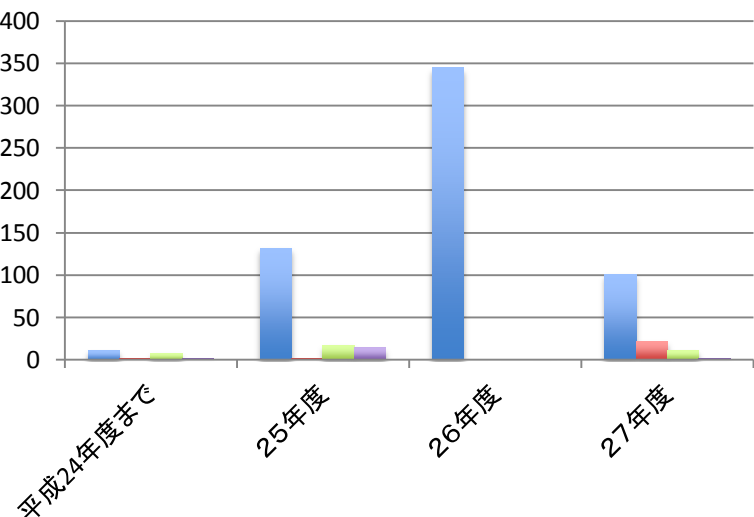
マイクロバイーム1次解析完了済み: 690

NCGMバイオバンクでの、糖尿病大血管合併症の戦略的な検体・医療情報の収集に係る研究
分担研究者：廣井透雄

大血管グループ

同意数

採血数



- 循環器内科
 - 入院患者は診療科としてサンプル収集中(DNA 390, RNA 370)、バイオバンクに寄託予定
 - 外来患者は26年度までにある程度集まり、27年度からは新患にも対象を拡げている
 - 28年度からは複数回採血も依頼予定
- 心臓血管外科
 - 大血管手術例などの収集を個別依頼することにより件数がほぼゼロから増加
- 神経内科
 - 脳梗塞などの大血管疾患症例の収集を個別依頼し、件数がやや回復
- 脳神経外科
 - 脳梗塞などの大血管疾患症例の収集を依頼しているものの、今のところ効果目立たず

大血管グループ

- H28年度のグループ全体としての目標数
 - 入院患者の約10%をバイオバンク全体の目標として、部門長より提示があった
 - 循環器内科(H27年度入院患者数1242名 → 目標124名)
 - 心臓血管外科(242名 → 目標24名)
 - 神経内科(367名 → 目標36名)
 - 脳神経外科(520名 → 目標52名)
- 月に換算し、登録が達していない場合は、毎月、診療科長、医長にバイオバンク登録促進の依頼をすることとした
 - 循環器内科(月目標10名)
 - 心臓血管外科(月目標2名)
 - 神経内科(月目標3名)
 - 脳神経外科(月目標4名)

課題番号 : 27指1401

研究課題名 : NCGMにおける戦略的なバイオリソース収集と、多層オミックス解析及びメタゲノム解析での活用を目指した病院コホート研究

主任研究者名 : 中村利孝

分担研究者名 : 美代賢吾

キーワード : 症例データベース、SS-MIX2

研究成果 :

(1) 既存資料の付随医療情報のデータベース化の検討

付随医療情報のデータベース化にあたり、糖尿病、循環器、腎臓内科、ACC、DCC、肝炎免疫研究センターの対象領域で必要とされる医療情報の特定を行った。特定された項目数は、合計200項目になった。次に、これら特定された医療情報項目について、電子カルテ上での保存状況の調査をおこなった。具体的には、従来のバイオリソース管理システムで利用していたSS-MIXストレージ、および今後利用を想定しているSS-MIX2ストレージの二つの標準化ストレージでの格納状況について調査をおこなった。さらに、それらの医療情報が、SS-MIX2ストレージを構成するHL7フォーマットの、どのセグメントのどのフィールドに格納されているのかという詳細な調査をおこなっている。その結果、病名、処方、検査を中心に165項目については、電子カルテのSS-MIX2ストレージ上に、構造化された形で保存されていることが分かった。

(2) バイオリソース収集事業を行っている機関からの情報収集

バイオリソース収集事業を組織的にやっている機関として、東北メディカル・メガバンク機構、岡山大学、長寿医療研究センターの研究者と現地にて意見交換を行った。バイオリソースの管理体制と情報システムとの関連、情報システム運用体制や課題、広報を含む効果的な資料収集の手法などについて、各医療機関の具体的事例をもとに検討をおこない、次の電子カルテの改造及びin-houseデータベースの設計の参考とした。

(3) 効果的な資料収集のための電子カルテの改造

バイオバンクの同意取得状況を電子カルテ上から登録する機能および、現在の同意状況を簡易的に電子カルテ上に表示する機能(図1)を開発した。これにより、バイオバンクについて説明済みなのか、すでに同意済みなのかといった患者の状況が、診療医側でも容易に把握できるようになり、より積極的なリクルートを可能にした。また、この機能により同意済みの患者の診療情報のみを、次にあげるin-houseデータベースに取り込むような設計が可能になった。

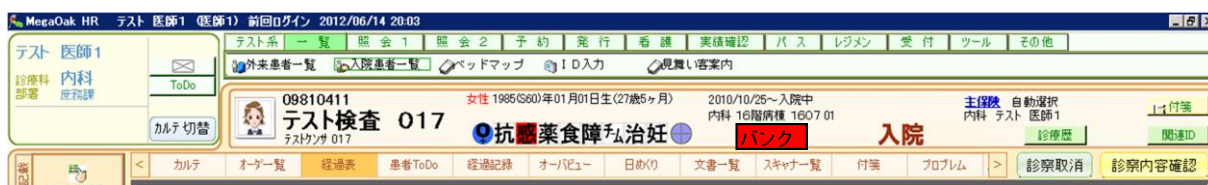


図1 電子カルテ上のバイオバンク同意ステータス表示画面

バンクと書かれ赤枠で囲まれたものが同意ステータス情報。背景色により、依頼済、説明済、同意済、採血完了などのステータスが把握できる

(5) 既存資料の付随医療情報のための in-house データベースの設計

同意済み患者の診療情報を、バイオリソースの付随医療情報として蓄積するための in-house データベースの設計をおこなった。まず、付随医療情報収集のタイミングは、前述の電子カルテ上での同意済情報の入力をトリガーとすることとし、患者IDを一方向のハッシュで匿名化する処理を行った上で、(1)で検討したSS-MIX2格納医療情報については、自動的にin-houseDBへ送信することとした。SS-MIX2に格納されていない情報については、手入力することとした。また、検索式の記述機能やその保存機能など、研究者からの依頼による検索、抽出に柔軟に対応できる機能の検討をおこなった。

以上

課題番号 : 27指1401
研究課題名 : NCGMバイオバンクでの、試料管理・分譲・解析に係る研究
主任研究者名 : 中村 利孝
分担研究者名 : 大河内仁志
キーワード : バイオバンク、DNA、RNA

研究成果

1 DNA と RNA 検体の抽出

これまで当センターでは、バイオバンクに提供された血液を遠心分離し、血漿と Buffy コートを分注・保管していたが、平成 27 年度より Buffy コートから DNA を抽出することとし、RNA 用採血管を用いて末梢血単核球の total RNA も全例より採取することにした。

平成 28 年 3 月末時点の DNA と RNA 検体数

DNA 2256

RNA 194

凍結保存していた 2 本の Buffy コートのうち 1 本を用いて、キアゲン社のシンフォニーという DNA 抽出機を使用し、全検体から DNA を抽出して 4 本のチューブに分注した。得られた DNA 量を測定したところ、検体間でかなり濃度にばらつきがあることが判明した。平成 27 年 4 月に特任研究員が赴任した後に採取した Buffy コートから抽出した DNA 量はかなり安定していることから、検体間でのばらつきの原因は平成 27 年以前の Buffy コートの採取法に問題があった可能性が示唆される。RNA 用の血液の採取は平成 27 年 9 月から開始した。RNA の抽出に関しては、量だけでなく RNA の品質も重要視されているので、無作為に 10 検体を選んで、外部機関に品質評価を依頼した。その結果、バイオアナライザーによる品質評価の目安とされている RIN (RNA Integrity Number) という指標がすべて 7.5 以上 (最高 10) であったため、RNA の品質は確保されていると考えられた。今後、他施設への RNA の分譲を考慮すると、すべての検体で品質管理データを付ける必要があるのではないかと考えている。

2 BBID の見直し

当初はバイオバンクの検体は 1 回だけの採血を想定して、管理システムを構築していた。しかし個別研究に用いた残余検体の受け入れも可能になり、また同一患者から複数回の採血がなされることにも対応する必要が生じた。従来の 12 桁の BBID の付け方では同一患者かどうかの判定がすぐにできないため、BBID の付け方を根本的に見直し、複数回の採血に対応できるように 12 桁の配置を改善した。それに伴い検体管理ソフト (ダイナコム) にも適宜修正を加えた。

3 手術検体の受け入れについて

血液だけでなく手術検体の登録に向けて、外科や病理の先生方と動線の確認を含めて、受け入れ態勢の準備をはじめた。血液由来のサンプルは -80 度のフリーザーに保管されるが、組織検体は病変部と正常部に分けてそれぞれ液体窒素中に保管することになるため、今後さらなる検体管理ソフトの修正が必要となる見込みである。

課題番号 : 27指1401
研究課題名 : NCGMバイオバンクでの、倫理課題・情報発信等に係る研究
主任研究者名 : 中村 利孝
分担研究者名 : 安田 和基

キーワード : 個別研究、共同研究、分譲、検体利用審査会議、ホームページ
研究成果 : 本研究では、当センターの特質を活かしたバイオバンク構築、及びその利活用において、倫理手続き、及び広報（アウトリーチを含む）について、「倫理手続き・広報WG（ワーキンググループ）」として、他のWGや調整委員会とも連携しながら、課題を整理し事業を推進しつつ、最適のシステムを探索する。倫理的課題については、NCBN（ナショナルセンターバイオバンクネットワーク）全体での討議事項も踏まえながら、当センターにおける全体的な枠組・ルール作りと、個別の案件への対応を並行してすすめてゆく。広報については、一方向的な情報発信だけでなく、双方向的な広報体制により、センター内に対しては、職員への情報共有と議論の活性化を行い、センター外に対しては、アカデミア、企業、及び患者さんを含む一般社会への情報発信によりバイオバンクへの理解を深め、利活用推進を目指す。

初年度の成果を以下に記す。

1) 倫理関連について

1. バイオバンクへの受け入れ可能試料の拡充：従来のバイオバンクは、ゲノム解析を重視していたため、単回採血が原則であり、またゲノム DNA 以外の試料については十分整備されていなかった。しかし利活用の点からは、むしろ DNA 以外の組織や体液、あるいは経時的サンプリングにおけるニーズも大きい。そのため、臨床由来試料の種類や回数などについて、より広くバイオバンクへ受け容れられる可能性を含め、説明同意文書の整備を行った。
2. 個別研究試料との有機的連関：Clinical question の解決を目指し診療科個別研究を基盤としたバイオリソースの収集は、専門的な臨床情報、特定の臨床像の症例、通常診療で得られない貴重な試料、などの特徴があり、総合医療機関としての当センターの特性が反映されていて、センター全体事業としてのバイオバンクと相補的な関係にある。そこで、当センター固有の特性を十分踏まえた上で、個別研究由来の試料をバイオバンクと効果的に連携可能とするべく、倫理審査の必要要件や、インフォームドコンセントの内容に応じた試料の取扱区分を整備し、個別の案件ごとに倫理審査申請のサポートも行った。具体的には、改めてバイオバンクの説明同意が得られれば分譲も含めた配布が可能であり、そうでなくても一定の条件を満たせば、バイオバンクが窓口となって共同研究の推進に活用できるようになった。一方で、試料の SOP や質の担保、バイオバンクでの管理体制などが課題と考えられた。
3. 試料配布体制の整備：NCBN の試料等利活用検討部会での議論も踏まえつつ、当センターで収集された試料等配布手続きを整備した。具体的には、a) 試料等配布を「分譲（有償）」と「共同研究」に区分し、それぞれの考え方や手続きを明確化した。b) 個別研究に利活用の際して、主に科学的観点から妥当性を審議する「バイオバンク検体利用会議」の規程を整備し、倫理的問題を含めて最終的な判断を行う倫理委員会との役割分担も整理した。c) これらの体制整備について、倫理委員会（遺伝子解析研究対応）の審議をうけ、平成 28 年 3 月に承認を得た。以上により、バイオバンク試料等について、分譲（有償）も含めた配布を行うことがシステムとしては可能になった。

2) 広報関連について

バイオバンクに関する広報活動として、職員に対しては院内ホームページ（HP）などで、上記倫理関連のシステム変更などを速やかに周知した。またアカデミア、企業、一般社会に対するアウトリーチ活動を強化する手段の一つとして、外部向け HP の大幅な改定を行い、レイアウトを一新して見やすくするとともに、内容を充実させた。また、NCBN ニュースにて現状の公開に務めた。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 27指1401

研究課題名： NCGMにおける戦略的なバイオリソース収集と、多層的オミックス解析及びメタゲノム解析での活用を目指した病院コホート研究

主任研究者名： 中村利孝

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Drug transporter genetic variants are not associated with TDF-related renal dysfunction in patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetics study.	Nishijima T, Gatanaga H, et al.	PLoS One	10	2015
Hepatocyte factor JMJD5 regulates HBV replication through interaction with HBx.	Kouwaki T, Kanto T, et al.	J Virol.	Epub ahead of print	2016
CASTB (the comprehensive analysis server for the Mycobacterium tuberculosis complex): A publicly accessible web server for epidemiological analyses, drug-resistance prediction and phylogenetic comparison of clinical isolates.	Iwai H, Kato-Miyazawa M, Kirikae T, Miyoshi-Akiyama T.	Tuberculosis (Edinb)	95(6)	2015
Paternal allelic mutation at the Kcnq1 locus reduces pancreatic β -cell mass by epigenetic modification of Cdkn1c.	Asahara S, Yasuda K, et al.	Proc Natl Acad Sci U S A.	112(27)	2015
Mapping the genetic diversity of HLA haplotypes in the Japanese populations.	Saw WY, Kato N, et al.	Sci Rep.	5	2015
A 21-day of adjunctive corticosteroid use may not be necessary for HIV-1-infected pneumocystis pneumonia with moderate and severe diseases	Shibata S, Nishijima T, et al.	PLoS One	10	2015
Routine eye screening by an ophthalmologist is clinically useful for HIV-1-infected patients with CD4 count less than 200/ μ mol	Nishijima T, Yashiro S, et al.	PLoS One	10	2015
Prevalence of anal human papillomavirus infection and risk factors among HIV-positive patients in Tokyo, Japan.	Nagata N, Watanabe K, et al.	PLoS One	10	2015
Long-term trends in esophageal candidiasis prevalence and associated risk factors with or without HIV infection: lessons from an endoscopic study of 80,219 patients.	Takahashi Y, Nagata N, et al.	PLoS One	10	2015
Association between a naturally arising polymorphism within a functional region of HIV-1 nef and diseases progression in chronic HIV-1 infection	Meribe SC, Hasan Z, et al.	Arch Virol	160	2015
Different effects of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance mutations on cytotoxic Y lymphocyte recognition between HIV-1 subtype B and subtype A/E infections	Kuse N, Rahman MA, et al.	J Virol.	89	2015
High-dose oral amoxicillin plus probenecid is highly effective for syphilis in patients with HIV infection	Tanizaki R, Nishijima T, et al.	Clin Infect Dis	61	2015

研究発表及び特許取得報告について

HIV-1 infection, but not syphilis or HBV infection, is a strong risk factor for anorectal condyloma in Asian population: a prospective colonoscopy screening study	Nishijima T, Nagata T, et al.	Int J Infect Dis	37	2015
--	-------------------------------	------------------	----	------

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
HIV感染症患者における血漿中サイトメガロウイルス定量PCR法とアンチゲネミア法の相関性に関する研究	水島大輔、瀧永博之ら	第89回日本感染症学会学術集会	京都	2015年4月
C型慢性肝炎患者における血清IFNλ3測定とその臨床的意義についての検討	青木孝彦、考藤達哉ら	第51回日本肝臓学会総会	熊本	2015年5月
日本人の精密な遺伝的構造の検討：アジア人の中での遺伝的由来及び遺伝的差異の起源の推定	竹内史比古、加藤規弘ら	第60回日本人類遺伝学会	東京	2015年10月
First year report of Kohnodai Hospital Biobank: Construction of Biobank-coordinator workflow	Kumiko Suekuni, Masaya Sugiyama, Tatsuya Kanto, and Masashi	The 13th International Congress of Human Genetics	Kyoto	2016年4月

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。