

課題番号 : 26指115  
研究課題名 : 高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的なバイオバンクの整備とその活用  
主任研究者名 : 廣井透雄  
分担研究者名 : 加藤規弘

キーワード : バイオバンク、心血管病、データベース

研究成果 :

最終年度も、前2カ年度に引き続き、循環器内科で実施する心臓カテーテル検査症例を中心に登録を行うとともに、比較的稀な循環器疾患（肺高血圧症）、極めて稀な循環器疾患についても試料の収集を行った。

病名登録については、効率的かつ正確な病名を入力するため、退院サマリーを活用し、ICD10に即して入力できるファイルメーカーのシステムを導入し、さらに臨床データ登録に関してはiPadを利用した入力システムを完成した。

平成26年10月より試料収集を開始し、平成29年3月までの2年半で465名を収集することができた。すでに病名登録ができた438例の内訳は、1) 冠動脈疾患 264例 (60.3%)、2) 慢性心不全 101例 (23.1%)、3) 高血圧 318例 (72.6%)、4) 糖尿病 178例 (40.6%)、5) 脂質異常症 263例 (60.0%)、6) 心房細動 54例 (12.3%)、7) 末梢血管障害 45例 (10.3%)、8) 大動脈瘤 15例 (3.4%)、9) 肺高血圧 25例 (5.7%)であった。心臓カテーテル検査症例を中心に集めたことで、虚血性心疾患が6割をしめ、本研究の大きな目的である糖尿病合併例も4割とおおむね順調に収集ができたと思われる。肺高血圧も25例収集できており、稀な疾患（左室緻密化障害、不整脈源性右室心筋症など）の収集もできた。

センターのバイオバンク事業に貢献すべく、当研究からの情報、試料の寄託を検討していたが、倫理審査の申請を行った時点では、倫理委員会は、本研究で被験者に対し、センターのバイオバンク事業を説明することを許可しなかった。循環器内科では特定機能病院として病診連携を推進すべく、原則として紹介医へ返すことを積極的に推進している関係上、心臓カテーテル検査を行った後、多くの患者が当院には通院していない。それゆえ、改めてセンターのバイオバンク事業に関する再同意を得る事は困難であったが、なんとか56名の再同意を取得でき、試料の一部寄託が可能となった。その後、倫理委員会の判断に変更があり、本研究の新規試料に関しては、センターのバイオバンクへの再同意がなくても、他の研究機関からの要請に対し循環器内科が主体性を維持し、共同研究という形で改めて倫理審査を受ければ良いこととなり、センターのバイオバンクへの寄託が可能となった。

経時的なサンプル収集については、当初、半年から8ヶ月後の心臓カテーテル再検査時（2回目）の収集を計画していたが、対象とするべき患者への入院時の説明が十分に行えておらず、経時的な試料は余り集まっていない。今後は、外来通院時に2回目の試料として、センターのバイオバンクへの参加を呼びかけていきたい。

DNA、RNAを465検体抽出し、別途、遺伝子解析の同意が得られた、一部の症例ではシーケンス解析を開始した。以下、病原性の確認出来たケースを示す。

家族性コレステロール血症のケースでLDLR遺伝子にミスセンス変異p.Glu228Glyを同定し、未報告の新規の機能性変異と考えられた。

重症な左室緻密化障害のケースで、TNNT2遺伝子にミスセンス変異p.Arg144Trp、MYH7遺伝子にミスセンス変異p.Arg1344Glnの二重変異を発見し、前者はDCM、後者はHCMのlikely pathogenicと報告されていたが、二重変異により重篤な左室緻密化障害を引き起こす可能性が明らかになった。

高齢で軽度の大動脈拡張だけのMarfan症候群疑いのケースで、FBN1遺伝子にミスセンス変異p.Ser2079Cysを認めた。この変異は軽度の機能性変異が想定され、未報告であった。今後はMarfan症候群として、注意深い経過観察が必要と判断された。

心室細動で発見された不整脈源性右室心筋症のケースで、既報告のPKP2遺伝子の欠失変異PKP2rs397516997を確認した。植え込み型除細動器を患者に強く推奨する根拠となった。

循環器内科の過去のデータベースと試料を利用した冠動脈疾患と1,5-Anhydro-D-glucitol (1,5AG)の関係についての研究成果を学術誌に論文発表した。

Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y. 1,5-Anhydro-D-glucitol predicts coronary artery disease prevalence and complexity. *J Cardiol.* 2014 Oct;64(4):297-301.

《要旨》3ヶ月の平均した血糖レベルのマーカであるヘモグロビンA1c (HbA1c)が冠動脈疾患と相関することは既に確立されているが、食後高血糖など血糖変動のマーカである1,5-Anhydro-D-glucitol (1,5AG)について検討したところ、HbA1c, 1,5AGはともに冠動脈病変の重症度とは相関するが、冠動脈疾患の存在予想についてHbA1cは予想できず、1,5AGは予想可能であった。1,5AGがHbA1cより冠動脈疾患に優れたマーカである可能性が示唆された。

Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y. Ability of 1,5-Anhydro-D-glucitol values to predict coronary artery disease in a non-diabetic population. *Int Heart J.* 2015;55(6):587-91.

《要旨》非糖尿病で末期腎臓病以外の患者の心臓カテーテル検査において、冠動脈病変がある群ではHbA1cが有意に高く、1,5AGが有意に低かった。多変量解析ではHbA1cは冠動脈疾患の存在を予測できなかったが、1,5AGは冠動脈疾患の独立した予測因子であった。非糖尿病患者においても、1,5AGがHbA1cより冠動脈疾患に優れたマーカである可能性が示唆された。

Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y., Nakamura M. Impact of serum 1,5-Anhydro-D-glucitol level on prediction of major adverse cardiac and cerebrovascular events in non-diabetic patients without coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2016 Aug 20;253:1-6.

《要旨》889例の心臓カテーテル患者において、1,5AG < 10.0ug/mlと1,5AG ≥ 10.0ug/mlの2群に分けて平均757日追跡したところ、216例で重大な心脳血管事故が起こり、1,5AG < 10.0ug/mlの群では1,5AG ≥ 10.0ug/mlに対してハザード比1.63であった。非糖尿病で冠動脈疾患がない患者に限定すると、ハザード比は2.34となり、さらに全死亡で3.54、全死亡と非致死的心筋梗塞と脳卒中では4.07となった。1,5AGが心脳血管事故に優れたマーカであり、特に非糖尿病患者で冠動脈疾患がない群では特に優れている可能性が示唆された。

循環器内科の過去のデータベースと試料を利用した血圧関連形質についてのゲノム解析を行い、研究成果を学術誌に論文発表した。

**Kato N *et al.* Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nat Genet.* 2015 Nov;47(11):1282-93.**

《要旨》複数の祖先集団、すなわち東アジア系、ヨーロッパ系、南アジア系の集団、最大 320,251 人を対象に、血圧に係る形質についてのゲノムワイド関連解析および再現解析を行った。その結果、12 の新たな座位に、血圧との関連を示すバリエーションを見つけた。これら 12 領域のセンチネル SNP からは、変異が生じた遺伝子が血管平滑筋機能や腎機能に關与する遺伝子であることが判明し、また、血圧調節において DNA メチル化が役割を果たすことを示す新たな証拠を提示した。

Subject No. : 26-115  
Title : Establishment and utilization of cardiovascular biobank based on advanced comprehensive medical care system  
Researchers : Yukio Hiroi, Norihiro Kato  
Key word : Biobank, Cardiovascular disease, Database  
Abstract :

In the last year, we registered the cases undergoing cardiac catheterization in the department of Cardiovascular Medicine and rare cardiovascular diseases such as pulmonary hypertension, arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (ARVC), and left ventricular noncompaction (LVNC).

For disease name registration, in order to enter the efficient and accurate name of the disease, a file maker of systems that can be entered in line with the ICD10 was introduced. For the data registration, the input system using iPad was completed and it was more efficient than before.

We started to collect the samples from October 2014, we were able to collect 465 samples until March 2017. Already the disease names registered for 438 cases include: 1) coronary artery disease 264 cases (60.3%), 2) chronic heart failure 101 cases (23.1%), 3) hypertension 318 cases (72.6 %), 4) diabetes mellitus 178 cases (40.6%), 5) dyslipidemia 263 cases (60.0 %), 6) atrial fibrillation 54 cases (12.3 %), 7) peripheral artery disease 45 cases (10.3 %), 8) aortic aneurysm 15 cases (3.4%), 9) pulmonary hypertension 25 cases (5.7%). Because we mainly collected samples from patients undergoing coronary catheterization, coronary artery disease (ischemic heart disease) accounted for near 60%. Diabetes mellitus is a major target of the present study and its rate was 40%. Pulmonary hypertension, ARVC, and LVNC were also registered.

For deposit to the NCGM biobank of existing samples, ethical review of March 2015 finally showed basic policy. We can deposit our samples in this study to NCGM biobank and other researchers can use in the collaboration manner after ethical review of the research project by the ethical committee.

The extraction of 465 DNA and RNA from already collected sample has been completed and their analysis was started.

We found a missense mutation with p.Glu228Gly (GRCh37.Chr19: 11216265 – 11216265, A>G) in LDL receptor gene of a patient with familial hypercholesterolemia, who had consented to receive genetic diagnosis. This mutation has not been reported in ClinVar of NCBI, but it may cause 5/5 damaging resulting in function disruption according to a function prediction software.

In a patient with LVNC who had consented to receive genetic analysis we found double mutations. A missense mutation with p.Arg144Trp (rs45525839m GRCh37. Chr1: 201333485, G>A) in TNNT2 gene and a missense mutation with p.Arg1344Gln (rs797045097, GRCh37. Chr14: 23887557, C>T) in MYH7 gene were confirmed. The former mutation was known to be pathogenic/likely pathogenic in dilated cardiomyopathy (DCM) and the latter was reported to be likely pathogenic in hypertrophic cardiomyopathy (HCM). We suppose that double mutation might make severe phenotype such as LVNC.

Researchers には、分担研究者を記載する。

A 64-year female patient with slight ascending aorta and mild aortic regurgitation with a family history of Marfan syndrome wanted to receive genetic diagnosis. She is not typical for Marfan syndrome and we performed genetic analysis after getting informed consent from her. We found a missense mutation with p.Ser2079Cys (GRCh37. Chr15: 487300425, G>C) in her FBN1 gene. This mutation has not been reported in ClinVar, but it may cause 4/5 damaging resulting in moderate function disruption according to a function prediction software. A careful follow up is important for her.

A 26-year male patient who lost consciousness due to ventricular fibrillation was suspected of ARVC and Intracardiac defibrillator (ICD) was recommended for him. After informed consent genetic deletion mutation with rs397516997 (GRCh37. Chr12: 33049515 – 33049518) in his PKP2 gene was determined and it was already reported pathogenic/likely pathogenic in ClinVar. ICD implantation was inevitable.

We published four papers using formerly collected data and blood samples as follows.

1. Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y. 1,5-Anhydro-D-glucitol predicts coronary artery disease prevalence and complexity. *J Cardiol.* 2014 Oct;64(4):297-301.

Coronary artery disease (CAD) patients presented with significantly lower 1,5-AG and higher HbA1c values than patients without CAD (11.6 µg/ml [6.1, 19.1] vs. 17.6 µg/ml [11.9, 25.0],  $p < 0.001$ , and 6.0% [5.6, 7.1] vs. 5.7% [5.4, 6.2],  $p < 0.001$ , respectively) (median [25th, 75th percentiles]). According to logistic regression analysis, 1,5-AG was a predictor of CAD prevalence (odds ratio 0.94, 95% confidence interval 0.90-0.97). However, HbA1c levels did not present a predictive value for CAD. Levels of 1,5-AG and HbA1c were significantly correlated with SYNTAX scores ( $\rho = -0.27$ ,  $p < 0.001$ ; and  $\rho = 0.23$ ,  $p < 0.001$ , respectively). The use of 1,5-AG, may be superior to HbA1c in predicting CAD prevalence. Both 1,5-AG and HbA1c correlate with CAD complexity.

2. Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y. Ability of 1,5-Anhydro-D-glucitol values to predict coronary artery disease in a non-diabetic population. *Int Heart J.* 2015;55(6):587-91.

Patients with CAD demonstrated significantly lower 1,5-AG values and higher HbA1c values than did patients without CAD (18.6 µg/mL [12.0, 23.3] versus 19.2 µg/mL [14.4, 25.2],  $P = 0.036$ , and 5.7% [5.5, 5.9] versus 5.6% [5.4, 5.8],  $P = 0.016$ , respectively). In multivariable logistic regression analysis, the HbA1c values did not indicate a predictive value for the prevalence of CAD. In contrast, the 1,5-AG levels were still an independent predictor of CAD (adjusted odds ratio 0.96, 95% confidence interval 0.93-0.99,  $P = 0.0097$ ). Serum 1,5-AG is superior to HbA1c for predicting CAD prevalence in patients without diabetes mellitus.

3. Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y., Nakamura M. Impact of serum 1,5-Anhydro-D-glucitol level on prediction of major adverse cardiac and cerebrovascular events in non-diabetic patients without coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2016 Aug 20;253:1-6.

In all patients who received coronary angiography, the 1,5-AG <10.0 µg/ml -group demonstrated significantly higher risk of MACCE (adjusted hazard ratio 1.63) than the 1,5-AG

$\geq 10.0$   $\mu\text{g}/\text{ml}$  -group. Even in non-DM patients without coronary artery disease, the 1,5-AG  $< 10.0$   $\mu\text{g}/\text{m}$ -group showed significantly higher risk of MACCE (adjusted hazard ratio 2.34). Similar results were found even if the events were limited to: all cause death, non-fatal myocardial infarction and stroke (adjusted hazard ratio 4.07) or all cause death (adjusted hazard ratio 3.54).

4. Kato N *et al.* Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nat Genet.* 2015 Nov;47(11):1282-93.

## (26指115)「高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的な臨床開発研究基盤の構築とその活用」

【研究目的】複合病態/合併症として、安全かつ効率的に心血管病のケアを行うという観点からの診断・治療方法の開発を主目的とし、多段階の臨床試験を実施可能な『臨床情報データベースの整備・構築』と、科学的検証や新規診断マーカーの開発等に用いる『バイオリソースの収集』を行う。

【計画年度】3年研究の最終年度

## 【実施体制】

主任研究者: 廣井透雄

分担研究者: 加藤規弘

## 【研究成果】

1. 倫理審査委員会: 収集した医療情報と試料を当センターのバイオバンクに寄託するため、バイオバンク側の準備を整えてもらい、倫理審査委員会に改めて申請し、試料配布希望者が当科と共同研究を行うことを条件に許可され、再同意を取り直さない又は取り直せない個別研究からバイオバンクへの寄託の道筋を当センターで初めて確立した。
2. 試料として倫理審査承諾後に465例分を収集した(心臓カテーテル約2500件の約18%)。
3. 医療情報入力システムとしてiPadを利用する方法を開発し、退院サマリーから病名、検査データ、身長、体重、血圧、薬剤情報を438例分登録した。
4. DNA、RNAを465検体抽出し、一部で解析を開始した。
5. 家族性コレステロール血症のケースで、LDLR遺伝子にミスセンス変異p.Glu228Glyを同定し、未報告の新規の機能性変異と考えられた。
6. 重症な左室緻密化障害のケースで、TNNT2遺伝子にミスセンス変異p.Arg144Trp、MYH7遺伝子にミスセンス変異p.Arg1344Glnの二重変異を発見し、前者はDCM、後者はHCMのlikely pathogenicと報告されていたが、二重変異により重篤な左室緻密化障害を引き起こす可能性が明らかになった。

## (26指115)「高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的な臨床開発研究基盤の構築とその活用」

## 【研究成果】

7. 高齢で軽度の大動脈拡張だけのMarfan症候群疑いのケースで、FBN1遺伝子にミスセンス変異p.Ser2079Cysを認め、未報告であり、軽度の機能性変異が想定された。
8. 心室細動で発見された不整脈源性右室心筋症のケースで、既報告のPKP2遺伝子の欠失変異rs397516997を確認した。
9. 血糖変動と逆相関するバイオマーカー1,5 AG (1,5-Anhydro-D-glucitol)が糖尿病の有無に関わらず、虚血性心疾患の重症度、将来の心血管事故などに逆相関することを明らかにした。
10. 60歳以下で発症した虚血性心疾患の症例(疾患群:平均年齢51歳)と、40歳以上で冠動脈疾患の無い症例(対照群:平均年齢69歳)の間で、ゲノム(SNP)、トランスクリプトーム(mRNA)、DNAメチル化、microRNAに関するマルチオミックス・アレイ解析(48人ずつの二群比較)を予備的に行った。幾つかのマーカーで群間差を示す傾向が見られた。
11. データベース、過去のコホート研究の試料を利用した論文を4報発表した (Ikeda N *et al.* J Cardiol. 2014.64.297-301. Akiyama K *et al.* PLoS One. 2014.9.e101329. Ikeda N *et al.* Int Heart J. 2015.55.587-91. Kato N *et al.* Nat Genet. 2015.47.1282-93. Akiyama K. *et al.* J Atheroscler Thromb 2015.22.455-80. Saw W-Y *et al.* Sci Rep. 2015.5.17855. Ikeda N *et al.* Atherosclerosis 2016.253.1-6. Liu X Eur J Hum Genet 2017.25.499-508.)。



# 研究の概要

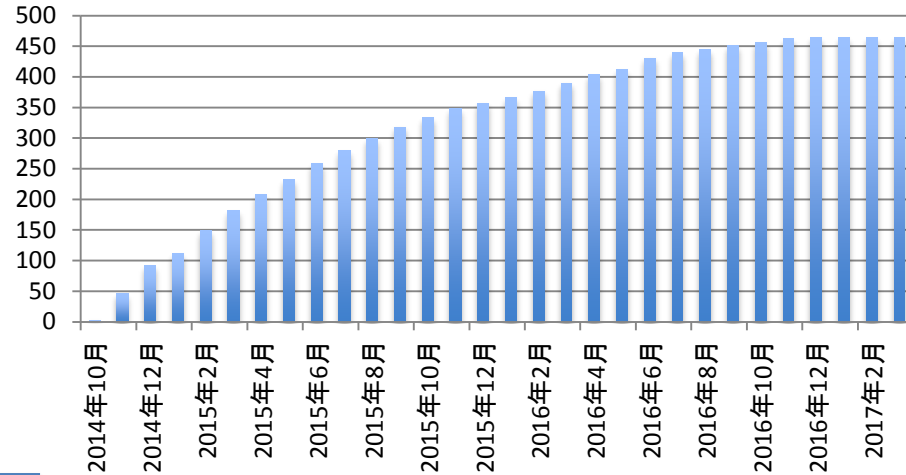
臨床情報データベースの整備・構築

バイオリソースの収集

## 正確な診療情報の集積

(問診、検査結果、既往歴、内服薬など)  
アンケートだけでは収集できないような119項目もの  
情報を収集し、411例で既に電子化登録済み

DNA、epigenome、リンパ球のmRNA  
血清中のmiRNAの収集(465例)



研究基盤の整備

開発研究

疾患関連バイオマーカーの探索

バイオマーカー1,5AG(1,5-Anhydro-D-glucitol)の数値を調べ、虚血性心疾患ハイリスク患者の同定に活用

臨床応用研究

臨床的有用性の検証

経過観察により有用であることが確定  
バイオマーカーによる大規模コホート研究の実施

# 今後の計画

- 『臨床情報データベースの整備・構築』と、科学的検証や新規診断マーカーの開発等に用いる『バイオリソースの収集』をさらに推進し、microRNAなどの一次的解析を行う。
- バイオマーカー1,5 AG(1,5-Anhydro-D-glucitol)測定を健康者にも拡大し、前向き研究を行う。
- アントラサイクリン系抗癌剤による心機能障害を予測する可能性があるTOP2 $\beta$ などの候補分子について、本研究開発基盤を利用して検討する。

課題番号 : 26指115

研究課題名 : 高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的な臨床開発研究データベース等の整備とその活用

主任研究者名 : 廣井透雄

分担研究者名 : 廣井透雄

キーワード : バイオバンク、心血管病、データベース

研究成果 :

本研究課題は、大きく『臨床情報データベースの整備・構築』と『バイオリソースの収集』の2つの柱から成る。その達成目標は、

- ① 基礎疾患横断的で精度の高い臨床情報をデータベース化すること
- ② 患者間での複合病態の違い、同一人での病期の推移を識別するための、経時的且つ大規模なバイオリソース（主に血液）を収集すること
- ③ 臨床情報と収集した血液由来試料を用いて一次的な解析を行うこと

の3つであった。当分担研究では、これら3項目中の2つ（第1、2項）に取り組んだ。

最終年度も、前2カ年度に引き続き、循環器内科で実施する心臓カテーテル検査症例を中心に登録を行うとともに、比較的稀な循環器疾患（肺高血圧症）、極めて稀な循環器疾患についても試料の収集を行った。

病名登録については、効率的かつ正確な病名を入力するため、退院サマリーを活用し、ICD10に即して入力できるファイルメーカーのシステムを導入し、さらに臨床データ登録に関してはiPadを利用した入力システムを完成した。

平成26年10月より試料収集を開始し、平成29年3月までの2年半で465名を収集することができた。すでに病名登録ができた438例の内訳は、1) 冠動脈疾患 264例 (60.3%)、2) 慢性心不全 101例 (23.1%)、3) 高血圧 318例 (72.6%)、4) 糖尿病 178例 (40.6%)、5) 脂質異常症 263例 (60.0%)、6) 心房細動 54例 (12.3%)、7) 末梢血管障害 45例 (10.3%)、8) 大動脈瘤 15例 (3.4%)、9) 肺高血圧 25例 (5.7%)であった。心臓カテーテル検査症例を中心に集めたことで、虚血性心疾患が6割をしめ、本研究の大きな目的である糖尿病合併例も4割とおおむね順調に収集ができたと思われる。肺高血圧も25例収集できており、稀な疾患（左室緻密化障害、不整脈源性右室心筋症など）の収集もできた。

センターのバイオバンク事業に貢献すべく、当研究からの情報、試料の寄託を検討していたが、倫理審査の申請を行った時点では、倫理委員会は、本研究で被験者に対し、センターのバイオバンク事業を説明することを許可しなかった。循環器内科では特定機能病院として病診連携を推進すべく、原則として紹介医へ返すことを積極的に推進している関係上、心臓カテーテル検査を行った後、多くの患者が当院には通院していない。それゆえ、改めてセンターのバイオバンク事業に関する再同意を得る事は困難であったが、なんとか56名の再同意を取得でき、試料の一部寄託が可能となった。その後、倫理委員会の判断に変更があり、本研究の新規試料に関しては、センターのバイオバンクへの再同意がなくても、他の研究機関からの要請に対し循環器内科が主体性を維持し、共同研究という形で改めて倫理審査を受ければ良いこととなり、センターのバイオバンクへの寄託が可能となった。

経時的なサンプル収集については、当初、半年から8ヶ月後の心臓カテーテル再検査時（2回目）の収集を計画していたが、対象とするべき患者への入院時の説明が十分に行えておら

ず、経時的な試料は余り集まっていない。今後は、外来通院時に2回目の試料として、センターのバイオバンクへの参加を呼びかけていきたい。

データベースを利用した冠動脈疾患と1,5-Anhydro-D-glucitol (1,5AG)の関係についての研究成果を学術誌に論文発表した。

**Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y.** 1,5-Anhydro-D-glucitol predicts coronary artery disease prevalence and complexity. *J Cardiol.* 2014 Oct;64(4):297-301.

《要旨》3ヶ月の平均した血糖レベルのマーカであるヘモグロビンA1c (HbA1c)が冠動脈疾患と相関することは既に確立されているが、食後高血糖など血糖変動のマーカである1,5-Anhydro-D-glucitol (1,5AG)について検討したところ、HbA1c, 1,5AGはともに冠動脈病変の重症度とは相関するが、冠動脈疾患の存在予想についてHbA1cは予想できず、1,5AGは予想可能であった。1,5AGがHbA1cより冠動脈疾患に優れたマーカである可能性が示唆された。

**Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y.** Ability of 1,5-Anhydro-D-glucitol values to predict coronary artery disease in a non-diabetic population. *Int Heart J.* 2015;55(6):587-91.

《要旨》非糖尿病で末期腎臓病以外の患者の心臓カテーテル検査において、冠動脈病変がある群ではHbA1cが有意に高く、1,5AGが有意に低かった。多変量解析ではHbA1cは冠動脈疾患の存在を予測できなかったが、1,5AGは冠動脈疾患の独立した予測因子であった。非糖尿病患者においても、1,5AGがHbA1cより冠動脈疾患に優れたマーカである可能性が示唆された。

**Ikeda, N., Hara, H., Hiroi, Y., Nakamura M.** Impact of serum 1,5-Anhydro-D-glucitol level on prediction of major adverse cardiac and cerebrovascular events in non-diabetic patients without coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 2016 Aug 20;253:1-6.

《要旨》889例の心臓カテーテル患者において、1,5AG < 10.0ug/mlと1,5AG ≥ 10.0ug/mlの2群に分けて平均757日追跡したところ、216例で重大な心脳血管事故が起こり、1,5AG < 10.0ug/mlの群では1,5AG ≥ 10.0ug/mlに対してハザード比1.63であった。非糖尿病で冠動脈疾患がない患者に限定すると、ハザード比は2.34となり、さらに全死亡で3.54、全死亡と非致死的心筋梗塞と脳卒中では4.07となった。1,5AGが心脳血管事故に優れたマーカであり、特に非糖尿病患者で冠動脈疾患がない群では特に優れている可能性が示唆された。

課題番号 : 26指115  
研究課題名 : 高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的なバイオバンクの整備とその活用  
主任研究者名 : 廣井透雄  
分担研究者名 : 加藤規弘

キーワード : バイオバンク、心血管病、データベース  
研究成果 :

当センターの高度総合医療体制を基にして、糖尿病、HIV感染症等の合併症対策の観点より、統合的な臨床開発研究を推進するための基盤としてバイオバンクを整備・構築する。心臓カテーテル検査等の症例を系統的且つ経時的に登録し、臨床情報と生体試料を収集する。それらを活用して、連携する医療機関と共にアウトカム研究を推進し、新規診断マーカー開発等のために血液由来試料（RNA含む）の解析を行うことを目指す。

本研究課題は、大きく『臨床情報データベースの整備・構築』と『バイオリソースの収集』の2つの柱から成る。その達成目標は、

- ① 基礎疾患横断的で精度の高い臨床情報をデータベース化すること
- ② 患者間での複合病態の違い、同一人での病期の推移を識別するための、経時的且つ大規模なバイオリソース（主に血液）を収集すること
- ③ 臨床情報と収集した血液由来試料を用いて一次的な解析を行うこと

の3つである。当分担研究では、これら3項目中の2つ（第2、3項）に取り組む。

初年度は、循環器内科で実施する心臓カテーテル検査の症例を系統的に登録すべく、倫理審査の承認手続きに取り組み、当初予想した以上の時間を要したが、平成26年8月までに審査をクリアした。そして、収集した検体の分注・管理（匿名化を含む）システム、バーコードを用いた出入庫管理システム、及びそれらに関連する機器を整備し、さらに、貴重な患者試料で実践する前段階として、モデル動物の血液を用いて、血清・血漿からのmRNA、microRNA抽出の適正化、DNAの抽出とそのメチル化分析に関する予備的検討を行った。平成26年10月に、まず1ヶ月間、パイロットフェーズの収集作業を行い、関連業務が円滑に障害なく行われることを確認した後、11月からメインフェーズの収集作業に取りかかった。月あたり平均36人の、心臓カテーテル検査を受けた患者から血液検体を収集し、すべてDNA抽出するとともに、RNA抽出も進めた。既存試料（以前の病院コホート研究での収集検体など）のバイオバンクへの寄託については、その倫理手続き、特にバイオバンク側の受け入れ体制に関する議論がなかなか定まらなかったが、平成27年3月の倫理審査にて漸く基本方針が固まり、次年度以降に適宜取り組んでいくこととなった。以前の病院コホート研究での収集検体等を活用した臨床遺伝学的研究の成果を、学術誌に論文発表した。

Takeuchi F *et al.* Heterogeneous effects of association between blood pressure loci and coronary artery disease in east Asian individuals. *Circ J.* 2015;79(4):830-8.

2年度目も、前年度に引き続き、循環器内科で実施する心臓カテーテル検査の症例登録を行った。本年度は、月あたり平均17.4人の、心臓カテーテル検査を受けた患者から血液検体を収集し、すべてDNA抽出するとともに、RNA抽出も併行して進めた。個別研究で収集した試料のバイオバンクへの寄託については、すでに多くの患者が（他院からの紹介で、紹介元

に戻し) 当院には通院していないため、改めてセンターのバイオバンクへの試料寄託の再同意を得ることが困難であったが、56名の再同意を取得でき一部寄託が可能となった。以前の病院コホート研究での収集検体等を活用した臨床遺伝学的研究の成果を、学術誌に論文発表した。

Kato N *et al.* Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation. *Nat Genet.* 2015 Nov;47(11):1282-93.

3年度目も、引き続き、循環器内科で実施する心臓カテーテル検査の症例登録を行い、3カ年度(2年半)で計465名の血液検体を収集できた。いずれも心臓カテーテル検査の症例であるため、虚血性心疾患が約6割を占め、そのうち、本研究の主目的である糖尿病合併例も4割とおおむね順調に収集できたと思われる。また37名の虚血性心疾患患者は、初回の心臓カテーテル検査時と、半年から8ヶ月後の再検査時の2回以上登録されていた。

虚血性心疾患の病態バイオマーカー候補を選出すべく、60歳以下で発症した虚血性心疾患の症例(疾患群:平均年齢51歳)と、40歳以上で冠動脈疾患の無い症例(対照群:平均年齢69歳)の間で、ゲノム(SNP)、トランスクリプトーム(mRNA)、DNAメチル化、microRNAに関するマルチオミックス・アレイ解析(48人ずつの二群比較)を予備的に行った。幾つかのマーカーで群間差を示す傾向が見られたが、サンプルサイズが小さいため、今後さらに再現性の検証を進めていく必要がある。

## 研究発表及び特許取得報告について

課題番号：26指115

研究課題名：高度総合医療体制に基づく、心血管病の統合的なバイオバンクの整備とその活用

主任研究者名：廣井透雄

### 論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
1,5-Anhydro-D-glucitol predicts coronary artery disease prevalence and complexity.	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	J Cardiol.	Vol. 64 (No. 4)	2014
Heterogeneous effects of association between blood pressure loci and coronary artery disease in east Asian individuals.	Takeuchi F, Isono M, Yamamoto K, Yokota M, Akiyama K, Katsuya T, Kim HS, Park JE, Jang Y, Lee JY; AGEN Consortium, Lee JY, Kato N.	Circ. J	Vol. 79 (No. 4)	2015
Ability of 1,5-Anhydro-D-glucitol values to predict coronary artery disease in a non-diabetic population	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	Int Heart J	Vol. 55 (No. 6)	2015
Impact of 1,5-Anhydro-D-glucitol level on prediction of major adverse cardiac and cerebrovascular events in non-diabetic patients without coronary artery disease	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi, Masato Nakamura	Atherosclerosis	Vol. 253 (No. 4)	2016

研究発表及び特許取得報告について

<p>Systematic Fine-Mapping of Association with BMI and Type 2 Diabetes at the FTO Locus by Integrating Results from Multiple Ethnic Groups.</p>	<p>Akiyama K, Takeuchi F, Isono M, Chakrawarthy S, Nguyen QN, Wen W, Yamamoto K, Katsuya T, Kasturiratne A, Pham ST, Zheng W, Matsushita Y, Kishimoto M, Do LD, Shu XO, Wickremasinghe AR, Kajio H, Kato N</p>	<p>PLoS One</p>	<p>9(6)</p>	<p>2014</p>
<p>Investigation of Functional Genes at Homologous Loci Identified Based on Genome-wide Association Studies of Blood Lipids via High-fat Diet Intervention in Rats using an in vivo Approach.</p>	<p>Akiyama K, Liang YQ, Isono M, Kato N</p>	<p>J Atheroscler Thromb</p>	<p>22(5)</p>	<p>2015</p>
<p>Trans-ancestry genome-wide association study identifies 12 genetic loci influencing blood pressure and implicates a role for DNA methylation.</p>	<p>Kato N, Loh M, Takeuchi F, et al.</p>	<p>Nat Genet</p>	<p>47(11)</p>	<p>2015</p>
<p>Mapping the genetic diversity of HLA haplotypes in the Japanese populations.</p>	<p>Saw W-Y, Liu X, Khor C-C, Takeuchi F, Katsuya T, Kimura R, Nabika T, Ohkubo T, Tabara Y, Yamamoto K, Yokota M, Japanese Genome Variation consortium, Teo Y-Y, Kato N</p>	<p>Sci Rep</p>	<p>5</p>	<p>2015</p>



研究発表及び特許取得報告について

<p>Characterising private and shared signatures of positive selection in 37 Asian populations.</p>	<p>Liu X, Lu D, Saw WY, Shaw PJ, Wangkumhang P, Ngamphiw C, Fucharoen S, Lert-Itthiporn W, Chin-Inmanu K, Chau TN, Anders K, Kasturiratne A, de Silva HJ, Katsuya T, Kimura R, Nabika T, Ohkubo T, Tabara Y, Takeuchi F, Yamamoto K, Yokota M, Mamatyusupu D, Yang W, Chung YJ, Jin L, Hoh BP, Wickremasinghe AR, Ong RH, Khor CC, Dunstan SJ, Simmons C, Tongsima S, Suriyaphol P, Kato N, Xu S, Teo YY</p>	<p>Eur J Hum Genet</p>	<p>25(4)</p>	<p>2017</p>
--	--	------------------------	--------------	-------------

## 研究発表及び特許取得報告について

学会発表				
タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Predictive value of 1,5-anhydro-d-glucitol for prevalence of coronary artery disease in non-diabetic adults	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	ヨーロッパ心臓病学会	バルセロナ	2014年8月
1,5-anhydro-d-glucitolによる非糖尿病患者における冠動脈病変予測能の検討	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	日本心臓病学会	仙台	2014年9月
Predictive values of HemoglobinA1c and 1,5-Anhydro-d-glucitol for the SYNTAX score and prevalence of coronary artery disease.	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	The 18th International Vascular Biology Meeting	京都	2014年4月
Impact of Serum 1,5-anhydro-d-glucitol Value on Prediction of Major Adverse Cardiac and Cerebrovascular Events	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	日本循環器学会	大阪	2015年4月
Impact of Serum 1,5-anhydro-d-glucitol Level on Prediction of Major Adverse Cardiac and Cerebrovascular Events	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi	ヨーロッパ心臓病学会	ロンドン	2015年9月
1,5-anhydro-d-glucitolによる非糖尿病患者における心血管イベント予測能の検討	Nobutaka Ikeda, Hisao Hara, Yukio Hiroi, Masato Nakamura	日本心臓病学会	東京	2016年9月

研究発表及び特許取得報告について

The fine-scale genetic structure of the Japanese population: estimation of genetic materials derived from Asians and the basis of genetic differentiation.	Takeuchi F, Katsuya T, Kimura R, Nabika T, Okubo T, Tabara Y, Yamamoto K, Yokota M, Saw W-Y, Teo YY, Kato N	60th annual meeting of the American Society of Human Genetics	バルチモア	2015年10月
ゲノムワイド関連解析とエピゲノム解析による高血圧の機序解明	竹内史比古、清水華、加藤規弘	日本高血圧学会総会	仙台	2016年10月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日

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。