

バイオバンクに提供された検体のオミックス解析情報のデータベース化と
インフォマティクスによる疾患関連分子の同定
(課題番号 26-20)

主任研究者 新飯田俊平

国立長寿医療研究センター・メディカルゲノムセンター (MGC)・センター長

疾患研究、創薬研究において生体分子(オミックス)情報のデータベース(DB)は重要な研究基盤となっている。近年、オープンサイエンスの概念を通して種々データの共有化(Data sharing)が進んでいるが、国内ではまだその認識は薄い。国立長寿医療研究センター(NCGG)のメディカルゲノムセンター(MGC)では、センター内の公費助成による研究等で実施されたオミックス解析情報の共有化を図ることを目的に、試行的オミックス情報 DB の開発を行った。また、これらのデータを実際に活用して疾患関連分子の探索を行った。また近年、疾患・老化などとの関連が注目されている腸内細菌叢のメタゲノム情報の DB 搭載を行うため、検体収集に着手した。

【研究班】

主任研究者

新飯田俊平 国立長寿医療研究センター MGC・センター長

分担研究者

渡辺 浩 国立長寿医療研究センター MGC・臨床ゲノム情報管理室長

浦上 克哉 鳥取大学 医学部・教授

茅野 光範 帯広畜産大学 グローバルアグロメディシン研究センター 講師

佐藤 準一 明治薬科大学 生命創薬科学科・教授

佐治 直樹 国立長寿医療研究センター 病院 もの忘れ外来部・医長

A. 研究目的

疾患研究においては、生体試料のオミックス情報と診療情報を統合したビックデータ解析が研究開発の基盤となっている。MGC では、バイオバンクが老年医学研究の促進に資する有益な施設とするため、診療情報に加え、バイオバンク検体と紐づけられるゲノム情報や他のオミックス情報を可能な範囲で収集・保存し、二次利用可能な仕組み(データシェアリング)の構築について検討を行っている。本開発研究では、①アルツハイマー病・脊柱管狭窄症のオミックス情報管理システムの開発・実装(新飯田・渡辺・浦上)、②シェアデータを用いた認知症のメタボロームバイオマーカー探索(茅野)、③公共 DB を用いた認

知症脳内 miRNA ネットワーク解析を実施した（佐藤）。また新たに、④腸内フローラの情報 DB 化する目的で、患者検体の収集を開始した（佐治）。

B. 研究方法

①これまでに蓄積されたオミックス情報をセンター内の研究者が活用できるようなフローチャート作成を行い、それをもとに専門業社によるインターフェイス等の開発を進めた。②軽度認知障害（MCI）およびアルツハイマー病（AD）患者、健常者の血漿からキャピラリー電気泳動質量分析法により 579 種のメタボロームプロファイルを取得し、t 検定によるバイオマーカー検出を行った。③多量のデータを迅速かつ効率的に処理できるパイプラインを構築し、既存の DB 情報を用いクラスター解析、ネットワーク解析を行った。④腸内フローラの解析に向けて研究計画書の策定し倫理審査を経て、健常者・MCI・認知症患者からの検体収集を開始した。

【倫理面への配慮】

臨床試料の使用に当たっては、国立長寿医療研究センター倫理利益相反委員会の承認を得て実施した。試料は、提供者本人の自由な意思（インフォームドコンセント）によって提供されるもので、個人情報 は 厳重に保護されるため、倫理的問題は生じないと考えられた。本研究は多施設共同研究であり、各研究協力機関・施設においても当該研究計画が倫理委員会等の承認された上で実施された。検体試料の移送は、当該施設間で Material transfer agreement を交わし、試料管理の責任の所在を明確化した上で行った。

C. 研究結果

①アルツハイマー病および脊柱管狭窄症の臨床情報、miRNA、proteome、metabolome のデータを用いて情報表示、検索機能、t 検定計算、ダウンロード、パスデータ生成、ユーザ管理、エクスポートなどの機能を踏査した DB が構築された。このソフトウェアの利用を希望する研究者には、当面は CD で提供することとした。②統計的に有意な 5 つの MCI マーカーと 6 つの AD マーカー代謝物が検出された。これらのマーカーを全て組み合わせると、MCI を AUC=0.923 で、AD を AUC=0.917 で識別可能であった。③AD の既存の分子データセットを用いた解析の結果、AD 特異的な 27 個の miRNA を検出できた。④平成 28 年 2 月に倫理審査の承認を受け、患者からの同意取得、検体回収、保存を進めた。

D. 考察と結論

①本システムの導入により、施設内の研究者が安全かつ簡便にデータを利用できる仕組みができた。しかしまだセキュリティの問題で、オンライン利用できていない。今後はこの点について開発を進める予定である。②検出された MCI/AD に特異的なメタボロームマーカーのうち 2 つは認知症の初期マーカーと考えられ、5 つは認知機能低下に伴い発現変

動するマーカーである可能性が示唆された。また、③本研究にて構築したパイプラインを用いた既存データの再解析では AD 特異的な新規の miRNA が検出された。これらにバイオマーカーの特性があるかは検証の必要がある。④認知症と腸内フローラの関係は、次年度から始まる解析の成果を見てからの判断になるが、引き続き検体の収集を続ける予定である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

(新飯田)

- 1) Ogama N, Saji N, Niida S, Toba K, Sakurai T. Validation of a simple and reliable visual rating scale of white matter hyperintensity comparable with computer-based volumetric analysis. *Geriatr Gerontol Int* 15:83-85, 2015.
- 2) Satoh J, Kino Y, Niida S. MicroRNA-Seq data analysis pipeline to identify blood biomarkers for Alzheimer's disease from public data. *Biomarker Insights* 10:21-31, 2015.
- 3) Kamita M, Mori T, Sakai Y, Ito S, Gomi M, Miyamoto Y, Harada A, Niida S, Yamada T, Watanabe K, Ono M: Proteomic analysis of ligamentum flavum from patients with lumbar spinal stenosis. *Proteomics* 15:1622-30, 2015
- 4) Yamamoto S, Niida S, Azuma E, Yanagibashi T, Muramatsu M, Ting Ting H, Sagara H, Higaki S, Ikutani M, Nagai Y, Takatsu K, Miyazaki K, Hamashima T, Hisashi Mori H, Matsuda N, Ishii Y, Sasahara M: Inflammation-induced endothelial cell-derived extracellular vesicles modulate the cellular status of pericytes. *Scientific Reports* 17:8505, 2015

(浦上)

- 5) Furukawa K, Tomita N, Uematsu D, Okahara K, Shimada H, Ikeda M, Matsui T, Kozaki K, Fujii M, Ogawa T, Umegaki H, Urakami K, Nomura H, Kobayashi N, Nakanishi A, Washimi Y, Yonezawa H, Takahashi S, Kubota M, Wakutani Y, Ito D, Sasaki T, Matsubara E, Une K, Ishiki A, Yahagi Y, Shoji M, Sato H, Terayama Y, Kuzuya M, Araki N, Kodama M, Yamaguchi T, Arai H. Randomized double-blind placebo-controlled multicenter trial of Yokukansan for neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int*. doi: 10.1111/ggi.12696, 2015.
- 6) Yoshita M, Arai H, Arai H, Arai T, Asada T, Fujishiro H, Hanyu H, Iizuka O, Iseki E, Kashihara K, Kosaka K, Maruno H, Mizukami K, Mizuno Y, Mori E, Nakajima K, Nakamura H, Nakano S, Nakashima K, Nishino Y, Orimo S, Samuraki M, Takahashi A, Taki J, Tokuda T, Urakami K, Utsumi K, Wada K, Washimi Y, Yamasaki J, Yamashina S, Yamada M. Diagnostic Accuracy of ¹²³I-Meta-Iodobenzylguanidine Myocardial Scintigraphy in Dementia with Lewy Bodies: A Multicenter Study. *PLoS One* 10: e0120540, 2015.
- 7) Ewers M, Mattsson N, Minthod L, Molinuevo JL, Antonell A, Popp J, Jessen F,

Herukka SK, Soininen H, Maetzlerj W, Leyhe T, Burger K, Taniguchi M, Urakami K, Listan S, Dubois B, Blennow K, Hampel H. CSF biomarkers for the differential diagnosis of Alzheimer's disease: A large-scale international multicenter study. *Alzheimers Dement* 11: 1306-1315, 2015.

(茅野)

- 8) Kayano M, Matsui H, Yamaguchi R, Imoto S, Miyano S: Gene set differential analysis of time course expression profiles vis sparse estimation in functional logistic model with application to time-dependent biomarker detection. *Biostatistics* 17:235-248, 2016.

(佐藤)

- 9) Satoh J, Asahina N, Kitano S, Kino Y: Bioinformatics data mining approach indicates the expression of ChIP-Seq-based HIF-1 α target genes in periplaque lesions of multiple sclerosis. *Clin Exp Neuroimmunol* 6: 159-169, 2015.
- 10) Nojima Y, Ito K, Ono H, Nakazato T, Bono H, Yokoyama T, Sato R, Suetsugu Y, Nakamura Y, Yamamoto K, Satoh J, Tabunoki H, Fugo H: Superoxide dismutases, SOD1 and SOD2, play a distinct role in the fat body during pupation in silkworm *Bombyx mori*. *PLoS One* 10: e0116007, 2015.
- 11) Satoh J, Asahina N, Kitano S, Kino Y. Legumain is expressed on macrophages in active demyelinating lesions of multiple sclerosis. *Clin Exp Neuroimmunol* 6:304-305, 2015.
- 12) Satoh J, Asahina N, Kitano S, Kino Y: A comprehensive profile of ChIP-Seq-based Olig2 target genes in motor neuron progenitor cells suggests the possible involvement of Olig2 in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *J Cent Nerv Syst Dis* 7:1-14, 2015.
- 13) Kitano S, Kino Y, Yamamoto Y, Takitani M, Miyoshi J, Ishida T, Saito Y, Arima K, Satoh J. Bioinformatics data mining approach suggests coexpression of AGTPBP1 with an ALS-linked gene C9orf72. *J Cent Nerv Syst Dis* 7:15-26, 2015.
- 14) Satoh J, Kino Y, Motohashi N, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Arai N, Nakamagoe K, Tamaoka A, Saito Y, Arima K. Immunohistochemical characterization of CD33 expression on microglia in Nasu-Hakola disease brains. *Neuropathol* 2015.
- 15) Satoh J, Kino Y, Niida S. MicroRNA-Seq data analysis pipeline to identify blood biomarkers for Alzheimer's disease from public data. *Biomarker Insights* 10:21-31, 2015.
- 16) Satoh J, Kino Y. Expression profiles of RNA-Seq-based grey matter-specific genes versus white matter-specific genes in grey matter lesions of multiple sclerosis. *Clin Exp Neuroimmunol* 6: 289-298, 2015.
- 17) Satoh J, Kino Y, Asahina N, Takitani M, Miyoshi J, Ishida T, Saito Y. TMEM119 marks a subset of microglia in the human brain. *Neuropathol* 2015.
- 18) Satoh J, Takitani M, Miyoshi J, Kino Y. RNA-Seq data mining approach identifies opalin as a reliable marker for myelinating oligodendrocytes. *Clin Exp Neuroimmunol* 2015.
- 19) Satoh J, Takitani M, Miyoshi J, Kino Y. RNA-Seq data analysis identifies the comprehensive profile of *in vivo* interferon- β -stimulated genes (ISGs) in multiple

sclerosis. Clin Exp Neuroimmunol 2015.

(佐治)

- 20) Saji N, Toba K, Sakurai T. Cerebral small vessel disease and arterial stiffness: Tsunami effect in the brain? Pulse 3:182-189, 2015.
- 21) Saji N, Ogama N, Toba K, Sakurai T. White matter hyperintensities and the geriatric syndrome: an important role of arterial stiffness. Geriatr Gerontol Int. 15:17-25, 2015.
- 22) Ogama N, Saji N, Niida S, Toba K, Sakurai T. Validation of a simple and reliable visual rating scale of white matter hyperintensity comparable with computer-based volumetric analysis. Geriatr Gerontol Int. 15:83-85, 2015.
- 23) Saji N, Kimura K, Yagita Y, Uemura J, Aoki J, Sato T, Sakurai T. Deep cerebral microbleeds and renal dysfunction in patients with acute lacunar infarcts. J Stroke Cerebrovasc Dis. 24:2572-2579, 2015.
- 24) Saji N, Kawarai T, Miyamoto R, Sato T, Morino H, Orlicchio A, Oki R, Kimura K, Kaji R. Exome sequencing identifies a novel intronic mutation in ENG that cause recurrence of pulmonary arteriovenous malformations. J Neurol Sci. 352:29-33, 2015.
- 25) Saji N, Kimura K, Aoki J, Uemura J, Sakamoto Y. Intracranial hemorrhage caused by non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOACs): a multicenter retrospective cohort study in Japan. Circ J. 79:1018-1023, 2015.
- 26) Saji N, Kimura K, Yagita Y, Kawarai T, Shimizu H, Kita Y. Comparison of arteriosclerotic indicators in patients with ischemic stroke: ankle-brachial index, brachial-ankle pulse wave velocity, and cardio-ankle vascular index. Hypertens Res. 38:323-328, 2015.
- 27) Aoki J, Shibasaki K, Ito M, Saji N, Uemura J, Houkin K, Kimura K. Unilateral moyamoya phenomenon with a string-of-beads appearance in an elderly patient with the c.14576G>A heterozygous variant of RNF213. Intern Med. 54:971-974, 2015.
- 28) Aoki J, Kimura K, Shibasaki K, Saji N, Uemura J, Sakamoto Y, Nagai K. The susceptibility vessel sign at the proximal M1: A strong predictor for poor outcome after intravenous thrombolysis. J Neurol Sci. 348:195-200, 2015.

2. 学会発表

(新飯田)

- 1) Bundo M, Nakamura A, Kato T, Niida S, Iwata K, Sawado C, Ito K. Amyloid deposition and ApoE4 carriers in idiopathic normal pressure hydrocephalus. Hydrocephalus 2015, Canada, 2015. 9.
- 2) 森大気、酒井義人、村澤裕介、新飯田俊平、原田敦、松田明生、大保木啓介、松本健治、渡辺研、腰部脊柱管狭窄症由来の黄色靭帯細胞を用いたヒト黄色靭帯における PAX9 の機能解析. 東京、2015. 5.
- 3) Satoh J, Kino Y, Niida S. MicroRNA-Seq data analysis pipeline to identify blood biomarkers for Alzheimer's disease from public data. 2015 生命医薬情報学連合大会. 京都、2015.10.29.
- 4) Satoh J, Kino Y, Niida S. MicroRNA-Seq data analysis pipeline to identify blood biomarkers for Alzheimer's disease from public data. 2015 生命医薬情報学連合大

会. 京都、2015.10.29.

(浦上)

- 5) Urakami K.: Screening of cognitive impairment and diagnosis of dementia. Workshop 16, 12th World Congress of Biological Psychiatry Athens, Greece. 2015. 6.14-18
- 6) Urakami K. Early detection and dementia prevention classes for community dwelling older adults with MCI. Debate session, 7th world congress of the international society for vascular behavioral and cognitive disorders, Tokyo, 2015. 9.
- 7) 浦上克哉 認知症研究・臨床で歩んだ 30 年 大会長講演、第 5 回日本認知症予防学会学術集会. 神戸、2015. 9.

(茅野)

- 8) Suzuki H., Hayashi M., Hariya M., Kayano M.: Distribution of follicles in canine ovaries, 48th Annual Meeting of the Society for the study of Reproduction, Puerto Rico, United States, 2015. 6.
- 9) 松井秀俊、茅野光範、山口類、井元清哉、宮野悟、刑事測定データに対する数理統計的アプローチと医療における遺伝子データ解析、岡山大+九州大+理研連携シンポジウム. 横浜、2016. 2.

(佐藤)

- 10) Satoh J, Kino Y. Molecular network analysis suggests a crucial role of C9orf72 in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia. 67th Annual Meeting of American Academy of Neurology. P2.165. Washington, D.C, 2015. 4.21.
- 11) Satoh J, Kino Y. Grey matter lesion signature of multiple sclerosis. The Inaugural Asia-Pacific School of Neuroimmunology Meeting. P-1. Tokyo, 2015. 8.30.
- 12) 佐藤準一. MS 活動性脳病巣における NLRP3 inflammasome の発現意義. 平成 26 年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業・多発性硬化症の新規免疫修飾薬を検証する医師主導治験. 平成 26 年度班会議. 東京 2015. 2.25.
- 13) 朝比奈直弘、山本洋司、滝谷美香、三好潤子、北野翔大、紀嘉浩、佐藤準一. アルツハイマー病リスク遺伝子 TREM2(R47H)を発現するヒトミクログリア細胞株の樹立. 日本薬学会第 135 年会. 神戸、2015.3.27.
- 14) 北野翔大、山本洋司、滝谷美香、三好潤子、朝比奈直弘、紀嘉浩、佐藤準一. NNA1 と筋萎縮性側索硬化症責任遺伝子 C9orf72 の共発現. 日本薬学会第 135 年会. 神戸、2015.3.27.
- 15) 山本洋司、北野翔大、滝谷美香、紀嘉浩、佐藤準一. 筋萎縮性側索硬化症責任遺伝子 C9orf72 結合タンパク質 SMCR8. 日本薬学会第 135 年会. 神戸、2015.3.28.
- 16) 佐藤準一、朝比奈直弘、北野翔大、紀嘉浩. ミクログリアのマスター転写因子 PU.1 標的遺伝子群の網羅的解析. 日本薬学会第 135 年会. 神戸、2015.3.28.
- 17) Satoh J, Yamamoto Y, Kitano S, Asahina N, Kino Y. Molecular network analysis suggests a pathological role of C9orf72 in ALS/FTD. 第 56 回日本神経学会総会 新潟、2015. 5.21.
- 18) 佐藤準一、紀嘉浩、石田剛、齊藤祐子、有馬邦正. Alzheimer 病脳 of neuritic plaque における PLD3 の集積. 第 56 回日本神経病理学会総会. 福岡、2014. 6.4.
- 19) 佐藤準一、北野翔大、朝比奈直弘、紀嘉浩. RNA-Seq データ解析で発見したアルツハイマー病脳バイオマーカー NeuroD6. NGS 現場の会. 第 3 回研究会. 筑波、

2015.7.2.

- 20) 紀嘉浩、滝谷美香、山本洋司、木村美咲、三好潤子、佐藤準一. C9orf72 のリピート伸長に由来するタンパク質凝集体の解析. 第 38 回日本神経科学大会. Neuro2015. 神戸、2015.7.28.
- 21) Satoh J. Remarkable differences in NRSF/REST target genes between human ESC and ESC-derived neurons. 第 58 回日本神経化学大会. シンポジウム. Sound of Silence: Neural restrictive silencer (NRSF/REST) Revisited. 大宮、2015.9.11.
- 22) Takitani M, Kino Y, Yamamoto Y, Kimura M, Miyoshi J, Satoh J. Cellular analysis of aberrant proteins derived from expanded GGGGCC repeat associated with ALS. 第 58 回日本神経化学大会. 大宮、2015.9.13.
- 23) 佐藤準一、滝谷美香、三好潤子、紀嘉浩. SPMS の periplaque 病巣形成における HIF-1 α の役割. 第 27 回日本神経免疫学会学術集会. 岐阜、2015.9.15.
- 24) 紀嘉浩、滝谷美香、山本洋司、木村美咲、三好潤子、佐藤準一. GGGGCC リピート伸長に由来するタンパク質凝集体の解析. 第 38 回日本分子生物学年会・第 88 回日本生化学会大会合同大会. BMB2015. 神戸、2015.12.3.

(佐治)

- 25) Saji N, Kimura K, Aoki J, Uemura J. Intracranial Hemorrhage Caused by Non-Vitamin K Antagonist Oral Anticoagulants (NOACs)- Multicenter Retrospective Cohort Study in Japan. European Stroke Organisation Conference 2015 (Glasgow), 2015.4.18.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(茅野)

1. 特許取得

軽度認知症を検査する方法 (特願 2015-173901)

出願人: 長寿医療研究センター、成育医療研究センター、帯広畜産大学

発明者: 新飯田俊平、滝川修、檜垣小百合、松本健治、茅野光範

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし