

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・バイオバンク長

2012年、NCGG は小規模ではあるが機能性の高いバイオバンクを整備した。現在は、診療情報・試料解析情報などの情報リソースの蓄積などのソフト面の整備を行っている。試料解析情報については、バイオバンクが実施する遺伝子解析情報のほか、研究者によって解析された分譲検体のデータについても可能な範囲で収集している（データ・シェアリング）。本研究課題では、診療情報とともに種々の解析情報（主にオミックス情報）をどのような形で整理・統合・保存すべきか検討を行った。データベース（DB）を活用した取り組みとして、血中 miRNA 情報を用いたバイオマーカー探索、体組成測定情報を用いたサルコペニアと加齢の関係を解析した。また、公共 DB 情報を用いた認知症脳の分子ネットワーク解析、同定されたバイオマーカー分子の検出小型デバイスの開発などを行った。また、海外バイオバンクの現状についても調査を行った。

【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・バイオバンク長
分担研究者	滝川 修	同センター・部長
	荒井秀典	同センター・副院長
	佐藤準一	明治薬科大学・教授
	茅野光範	帯広畜産大学・講師
	浦上克哉	鳥取大学・教授
	澤田和明	豊橋技術科学大学・教授
	増井 徹	慶応義塾大学・教授

A. 研究目的

NCGG バイオバンクは設備面の整備がほぼ整い、もの忘れセンター、整形外科を中心に生体試料（バイオリソース）の収集が順調に進んでいる。次の目標は、収集した生体試料の利活用の促進である。近年の疾患研究においては、生体試料のオミックス情報に診療記録の付加情報（診療情報）を加えたビックデータ解析が研究の基盤に据えられている。ゆえに近代バイオバンクにおいては生体試料に付随する質の高い診療情報の集積が求められている。NCGG バイオバンクでは、研究者がよりバイオバンク

の活用に前向きになるように、診療情報に加え、ゲノム情報や分譲されたバイオバンク検体のオミックス情報等を可能な範囲で収集し、情報リソースとして再活用可能にする試みを行っている(データ・シェアリング)。本研究では、①診療情報・試料解析情報のイン・ハウス・データベース(DB)の構築について検討を行った(新飯田・浦上)。イン・ハウス DB の利活用の実践例として、②DB 搭載予定の実データを用いた認知症等の核酸バイオマーカー探索(茅野)、加齢と筋肉量の相関性の検討(荒井)のほか、公共 DB を用いた認知症脳内 miRNA ネットワーク解析(佐藤)を実施した。また、③解析で得られた核酸バイオマーカー検出のための半導体デバイス開発(澤田・滝川)、④イギリス UK-バイオバンクの現状視察を行った(増井)。

## B. 研究方法

- ①現時点で構築可能な情報ストレージシステム構築の参考にするため、専門誌やインターネットによる検索、専門家へのインタビュー等を行った(新飯田・浦上)。
- ②軽度認知障害(MCI)の患者血漿の micrRNA の網羅的解析情報(miRNome)を用いた相関解析から MCI の診断バイオマーカーの同定を試みた(茅野)。1884 人(18~90 歳)の四肢筋肉量を 2 種類の体組成計で測定し、機種間の相関を体組成計搭載の計測式(SMI)と Kyle および Janssen の推定式を用いて比較検討した(荒井)。既存の NCBI の DB である Gene Expression Omnibus (GEO)に登録されている AD 脳の miRNome データセット(GSE48552)を用い、クラスタ解析、ネットワーク解析を行った(佐藤)。
- ③研究班の解析②から得られた MCI のバイオマーカー候補 miRNA の相補的 cDNA を作成してビーズに固定。この cDNA と miRNA が結合した時の微小な電荷変化を測定する半導体デバイスの試作を行い、試作器による miRNA-DNA 結合時の電位の変化を測定した(澤田・滝川)。
- ④バイオバンクの呼称の発端となったイギリスの UK Biobank のシンポジウムに参加し、バイオバンクとその方針に関する情報収集と最近動向を調査した(増井)。

### 【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、個人情報に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. 結果と考察

- ① 試料のオミックス解析情報は膨大な容量となる。今回の検討では、ゲノムシーケンス情報を含めたオミックス情報のストレージには、少なくとも 4 TB ハードディスクを RAID 5構成で4基搭載したサーバー3台を、ストレージ仮想化ソフト VVAULT により統合し、総容量 32 TB の容量が必要であると結論した。加えて、安全な情報管理のためにセンター内のネットワーク（情報系、電カル系）から独立した LAN を構築して運用するべきと結論した。実際バイオバンクではこれらの提案を採用するに至った。一方、診療情報については、例えば認知症では、「性別」「年齢」「診断日」「診断名」「MMSE スコア」「HDS-R スコア」「ADAS-cog スコア」「SPECT 所見」「MRI 所見」「処方薬」「髄液検査（リン酸化タウ、Amyloid  $\beta$  1-42）測定値」を準備した。しかし緩やかな進行を特徴とする認知症では患者一人一人において複数回の同じ検査情報が必要ではないかと考えられた。脊柱管狭窄症では、専門医がもつ個別データは200項目以上あり、利用者側の意見も必要と思われた。
- ② 日本人 AD 患者、MCI 患者および健常人の血漿 miRNome 情報の相関解析を行い、健常群と疾患群で差のある miRNA の組み合わせ 20 組を同定した。これらの組み合わせの AUC (Area Under the Curve)は平均  $0.800 \pm 0.051$  と高い値を示した。さらに 20 組から適切な 2 組を選ぶことで、さらに良好な MCI マーカーの可能性が示された(茅野)。NCBI の GEO に登録されている GSE48522 を活用したインフォマティクスを実施した。このデータは早期 AD と進行期 AD それぞれ 6 症例ずつの剖検脳前頭前皮質(PFC)の miRNome raw data である。進行期と早期を比較して fold change  $> 3$  を満たす miRNA が 49 抽出された。これらの miRNA の標的遺伝子ネットワーク解析を行った結果、AD のでは、神経細胞の生存分化を制御している PI3K-Akt, MAPK などのシグナル伝達系遺伝子群の発現低下および神経突起伸長系・ユビキチンタンパク分解系の遺伝子群の発現上昇が示された(佐藤)。体組成計が搭載する筋肉量パラメーター(SMI)を用いると 2 つの機種を用いて得られた四肢筋肉量の相関は低かったが、Kyle/Janssen の推定式を用いると高い相関が得られることが示された(荒井)。このことから筋肉量の推定にはメーカーの採用する式をそのまま一般化するのではなく、バイオインピーダンスを考慮した推定式による再計算が必要と考えられた。
- ③ 上記解析で得られた miRNA マーカーを高感度・高速に測定する半導体バイオセンサ装置の試作では、miRNA に相補的な合成 DNA を磁気ビーズ(粒径 200nm)に固定し、目的 miRNA を添加。各素子内で DNA-miRNA ハイブリダイゼーションを行わせることで、強い電気シグナルを検出することに成功した。また、 $20 \mu\text{L}$  程度の微量試料が添加可能なフローセルを使用し、 $14 \sim 1,100 \mu\text{L}/\text{min}$  の範囲で 3 種類の溶液が選択的に送液可能なプロトタイプフロー型計測装置を試作した(滝川・澤田)。
- ④ 「バイオバンク」という言葉が世にひろまったのはイギリスの UK バイオバンク事業が契機と思われる。この UK バイオバンクのガバナンスは、EGC (Ethics and Governance

Committee、倫理とガバナンス委員会)という独立した委員会によって支えられている。このEGCは、バイオバンクに対して支配権は持たないが意見をいうという立場のようである。はたしてこのような立場でバイオバンクの倫理性が保たれるのかという疑問があったが、EGCは問題点があればPress Conferenceを通して社会に訴える、という手段をとることで、バイオバンクの浄化作用を促すというものであった。日本の現状を鑑みると、そもそも予算処置も含めてこのような独立性の高いバイオバンク監視機関というものの設置・維持ができる環境にあるとは思えない。しかしながら日本のバイオバンクとその活動の健全なる醸成には、EGCのような独立性・間接性が担保された機関が必要になってくると思われた(増井)。

#### D. 結論

- 1) 診療情報・解析情報をストレージするため、4TBハードディスクをRAID 5構成で4基搭載したサーバー3台を、ストレージ仮想化ソフトVVAULTで統合し、総容量32TBのストレージサーバーを構築した。
- 2) 血漿miRNome情報を用い、軽度認知障害を高い確率で判別するmiRNAマーカーを同定した。また、マーカーmiRNAを検出する半導体デバイスのプロトタイプを作成した。
- 3) 体組成計の筋肉量データを用いた解析により筋肉量の推定にはバイオインピーダンスを考慮した推定式が重要と考えられた。
- 4) NCBIのGEOに登録されているデータを活用した解析から、AD脳ではPI3K-Akt、MAPKなどのシグナル伝達系遺伝子群の発現低下、神経突起伸長系ならびにユビキチンタンパク分解系の遺伝子群の発現上昇が示された。
- 5) バイオバンクがその使命と健全な活動を支えるには、倫理面を支える第三者機関が必要と考えられる。

#### E. 健康危険情報

特になし

#### F. 研究発表

論文発表

(新飯田)

- 1) Moriwaki S, Suzuki K, Muramatsu M, Nomura A, Inoue F, Into T, Yoshiko Y, Niida S: Delphinidin, one of the major anthocyanidins, prevents bone loss through the inhibition of excessive osteoclastogenesis in osteoporosis model mice. PLoS One 9(5): e97177, 2014
- 2) Kaneko N, Nakamura A, Washimi Y, Kato T, Sakurai T, Arahata Y, Bundo M, Takeda A, Niida S, Ito K, Toba K, Tanaka K, Yanagisawa K: Novel plasma biomarker surrogating

cerebral amyloid deposition. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2014;90(9):353-64.

- 3) Into T, Takigawa T, Niida S, Shibata K. MyD88 deficiency alters expression of antimicrobial factors in mouse salivary glands. *PLoS One* 2014; 9(11): e113333.
- 4) 茅野光範, 新飯田俊平: インフォマティクス解析によるバイオマーカーの検出. *Anti-Aging Medicine* 10(1):51-55, 2014

(浦上)

- 5) 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, Nishio 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 <sup>123</sup>I-meta-iodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in dementia with Lewy bodies: a multicenter study. *PLoS One* 20; 10(3), 2015 Mar
- 6) Ewers M, Mattsson N, Minthon L, Molinuevo JL, Antonell A, Popp J, Jessen F, Herukka SK, Soininen H, Maetzler W, Leyhe T, Bürger K, Taniguchi M, Urakami K, Lista 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.* 2015.
- 7) 浦上克哉: 「認知症の診断と治療」 診断と治療 102:193-205, 2014
- 8) 浦上克哉: 川畑信也編著・認知症でお困りですか? 【診断・検査】 2-6, 2014
- 9) 谷口美也子, 浦上克哉: 「CSF タウの臨床的有用性」 老年精神医学雑誌 25, 2014
- 10) 浦上克哉: 「認知症の病因仮説再考」 *Dementia Japan* 28:1-2, 2014
- 11) 浦上克哉: 「認知症の早期診断と早期治療」 全人力・科学力・透析力・for the people 透析医学 (監修:平方秀樹) 医薬ジャーナル社 2014
- 12) 浦上克哉: 「認知症の診断 病型診断」 臨床と研究 91:17-24, 2014
- 13) 浦上克哉: 「認知症予防とは」 老年精神医学雑誌 25:1315-1319, 2014
- 14) 浦上克哉 (編集): 内科医のための認知症診療はじめの一步 羊土社 2014
- 15) 浦上克哉: アロマで予防! 認知症 主婦の友社 2014
- 16) 浦上克哉: 今からできる! 認知症をふせぐ五感トレーニング PHP 研究所 2014
- 17) 浦上克哉: アロマの香りが認知症を予防・改善する 宝島社 2014

(茅野)

- 18) Okumura K., Kato M., Kirikae T., Kayano M. and Miyoshi-Akiyama T.: Construction of a virtual *Mycobacterium tuberculosis* consensus genome and its application to data from a next generation sequencer, *BMC Genomics*, 16:218, 2015.
- 19) 茅野光範, 新飯田俊平: インフォマティクス解析によるバイオマーカーの検出. *Anti-Aging Medicine* 10(1):51-55, 2014

(佐藤)

- 20) Choi SS, Lee HJ, Lim I, Satoh J, Kim SU: Human astrocytes: Secretome profiles of cytokines and chemokines. *PLoS One* 9(4): e92325, 2014
- 21) Satoh J, Kino Y, Kawana N, Yamamoto Y, Ishida T, Saito Y, Arima K: TMEM106B expression is reduced in Alzheimer's disease brains. *Alzheimer's Research and Therapy* 6(2): e17, 2014
- 22) Satoh J, Motohashi N, Kino Y, Ishida T, Yagishita S, Jinnai K, Arai N, Nakamagoe K,

- Tamaoka A, Saito Y, Arima K : LC3, an autophagosome marker, is expressed on oligodendrocytes in Nasu-Hakola disease brains. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 9: e68, 2014
- 23) Ohtani R, Shibuya K, Satoh J, Kuwabara S: A piece of X-ray revealed Nasu-Hakola disease. *Internal Medicine* 53(20): 2407, 2014
- 24) Satoh J: Molecular network of ChIP-Seq-based NF- $\kappa$ B p65 target genes involves diverse immune functions relevant to the immunopathogenesis of multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis and Related Disorders* 3(1): 94-106, 2014
- 25) Satoh J, Yamamoto Y, Kitano S, Takitani M, Asahina N, Kino Y. Molecular network analysis suggests a logical hypothesis for the pathological role of C9orf72 in amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal dementia. *Journal of Central Nervous System Disease* 6: 69-78, 2014
- 26) Satoh J, Kino Y, Yamamoto Y, Kawana N, Ishida T, Saito Y, Arima K. PLD3 is accumulated on neuritic plaques in Alzheimer's disease brains. *Alzheimer's Research and Therapy* 6: e70, 2014
- 27) Satoh J, Asahina N, Kitano S, Kino Y: A comprehensive profile of ChIP-Seq-based PU.1/Spi1 target genes in microglia. *Gene Regulation and Systems Biology* 8: 127-139, 2014
- 28) Satoh J, Yamamoto Y, Asahina N, Kitano S, Kino Y: RNA-Seq data mining: Downregulation of NeuroD6 serves as a possible biomarker for Alzheimer's disease brains. *Disease Markers* 2014: ID123156, 2014
- 29) 佐藤準一: 神経症候群(第 2 版) III. 那須ハコラ病. *日本臨牀 新領域別症候群シリーズ* 28: 694-697, 2014
- (荒井)
- 30) Sanford AM, Orrell M, Tolson D, Abbatecola AM, Arai H, Bauer JM, Cruz-Jentoft AJ, Dong B, Ga H, Goel A, Hajjar R, Holmerova I, Katz PR, Koopmans RT, Rolland Y, Visvanathan R, Woo J, Morley JE, Vellas B: An international definition for "nursing home". *J Am Med Dir Assoc* 16:181-4, 2015
- 31) Arai H, Satake S: English translation of the Kihon Checklist. *Geriatr Gerontol Int.* 15:518-9, 2015.
- 32) Woo J, Arai H, Ng TP, Sayer AA, Wonga M, Syddall H, Yamada M, Zeng P, Wu S, Zhang TM: Ethnic and geographic variations in muscle mass, muscle strength and physical performance measures. *Eur Geriatr Med* 5:155-164, 2014
- 33) Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Schneider SM, Zúñiga C, Arai H, Boirie Y, Chen LK, Fielding RA, Martin FC, Michel JP, Sieber C, Stout JR, Studenski SA, Vellas B, Woo J, Zamboni M, Cederholm T: Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing.* 43:748-59, 2014
- 34) Sampaio PYS, Sampaio RAC, Yamada M, Arai H: Comparison of frailty between users and nonusers of a day care center using the Kihon Checklist in Brazil. *J Clin Gerontol Geriatr.* 5:82-85, 2014
- (滝川)
- 35) Tanizaki Y, Kobayashi A, Toujima S, Shiro M, Mizoguchi M, Mabuchi Y, Yagi S, Minami S, Takikawa O, Ino K: Indoleamine 2,3-dioxygenase promotes peritoneal metastasis of ovarian cancer via inducing immunosuppressive environment. *Cancer Sci.* 105:966-973, 2014

- 36) 滝川 修: トリプトファン代謝異常の病態生理学的意義: がんとアルツハイマー病を中心として、アミノ酸研究8(1):25-34, 2014.

(澤田)

- 37) Kumada Y, Ootsuka T, Asada M, Yoshizuka S, Chiyama M, Sakane M, Fida HM, Sawada K, Okumura K, Kishimoto M: Identification and characterization of peptide fragments for the direct and site-specific immobilization of functional proteins onto the surface of silicon nitride J Biotechnol.2014, doi:10.1016/j.jbiotec.2014.04.013. Epub 2014 May 23.
- 38) 服部敏明, 櫻井孝司, 加藤絢巳, 加藤亮, 平田幸夫, 澤田和明: バイオイメージングにおける 2 種類の可塑化ポリ塩化ビニル Ca<sup>2+</sup>感応膜の特性及び安全性の評価 分析化学 Vol.63, No.2 pp.119-125
- 39) Hirokazu Nakazawa, Ryota Otake, Masato Futagawa, Fumihiko Dasai, Makoto Ishida, and Kazuaki Sawada: High-Sensitivity Charge-Transfer-Type pH Sensor With Quasi-Signal Removal Structure IEEE TRANSACTIONS ON ELECTRONIC DEVICES

(増井)

- 40) 増井徹, 齋藤加代子, 菅野純夫 (編): 「遺伝子診断の未来と畏 こころの科学増刊」2014 日本評論社 東京
- 41) 古川洋一, 白井泰子, 齋藤加代子, 増井徹: 座談会 1 「遺伝子診断を超えて—新しい医療の先駆け」 (編) 増井徹・齋藤加代子・菅野純夫: 遺伝子診断の未来と畏 こころの科学増刊、p. 2-15, 2014 日本評論社 東京
- 42) 増井徹「まとめ: 自分のもので、自分のものでないもの」 (編) 増井徹・齋藤加代子・菅野純夫 編集: 遺伝子診断の未来と畏 こころの科学増刊 p50-153, 2014 日本評論社 東京

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

発明の名称: アルツハイマー病の発症を予測する方法

発明者: 前川京子, 田島陽子, 石川将己, 齋藤嘉朗, 奥野海良人, 新飯田俊平, 滝川修

出願人: 国立医薬品食品衛生研究所長, (独) 国立長寿医療研究センター

出願日: 平成 24 年 7 月 5 日

出願番号: 特願 2012-151620

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし