

## 長寿医療研究開発費 平成24年度 総括研究報告

### 長寿医療研究のためのバイオリソースに関する研究（23-11）

主任研究者 矢澤 生 国立長寿医療研究センター バイオリソース研究室長

#### 研究要旨

国立長寿医療研究センター（以下、センターという）で実施されている長期縦断疫学研究等の研究及び診療活動等により集積されるヒト生体・死体試料と診療情報を臨床研究に活用するために、本研究は包括的なバイオリソースを構築し研究成果を国民に提供することを目的とする。平成23年度末までに包括的インフォームドコンセントの基にセンターの生体試料バイオリソースを集約し保存するシステムを確立した。生体試料の保存数は約3,000になり、すべての生体試料は6ナショナルセンター(NC)バイオバンク事業へと引き継がれた。病理解剖組織については死体解剖保存法を遵守しセンター独自のバイオリソースを構築することをめざした。病理組織バイオリソースは我が国における長寿医療研究のために病理解剖から得られる病理組織を活用し、認知症などの原因となる神経変性の機序を解明し新しい治療法開発に役立てることを目的とする。センター病院解剖症例を収集するだけでなく、東海地域の他施設との共同研究により病理解剖組織の診断や病理組織の有効活用の方法を検討した。病理解剖組織の活用には、第一に正確な病理診断を実施すること、第二に組織を適正な方法により保存すること、第三に病理組織バイオリソースから得られる情報を活用した疾患モデルを使って、治療法開発まで研究を進展させ国民・患者に利益を還元することが重要である。組織活用研究は認知症等の老年病に対する根本的治療法の確立などの研究により研究成果を国民に還元し、病理解剖や病理組織研究の重要性をわかりやすく発信した。

#### 主任研究者

矢澤 生 国立長寿医療研究センター バイオリソース研究室長

#### A. 研究目的

高齢者が健やかな加齢(Aging Well)を享受するために、国立長寿医療研究センターは加齢に伴う疾患を克服するための研究の実施を使命とする。国立長寿医療研究センターはナショナルセンター(NC)として、加齢に伴う疾患の克服に関する研究のためのバイオリソースを整備し集積した資源を有効に活用することが重要な研究課題である。本研究では国立長寿医療研究センターの診療活動で生じる診療情報を連結するバイオリソース（病理解剖組織を含む）、及び長期縦断疫学研究により集積される生体試料を包括的インフォームドコンセントにより長寿バイオリソースとして収集保存し研究成果を国民に提供することを目的

とする。長寿バイオリソースを活用する研究は臨床診断やヒト固有の病態を分類するだけでなく、認知症等の発病機序の解明や治療法開発にとっても大きな成果をもたらす。諸外国ではバイオリソース研究は積極的に展開され成果を上げているのに対して、日本ではバイオリソースに関する基盤整備は充分ではなく、研究者は研究試料を外国のバイオリソースや脳バンクに依存している。日本のバイオリソース研究は患者等の試料を収集する病院を併設する NC である国立長寿医療研究センターが長寿医療におけるバイオリソースを整備することが重要である。既にもの忘れセンター患者に関するバイオリソース等の試料の収集が効率的に実施できたことから、認知症の病理診断や遺伝子診断により価値あるバイオリソースに発展させる。さらに、長期縦断疫学研究との共同研究を通じて得られた生体試料は連結不可能匿名化されたバイオリソースとし、正常対照群の生体試料として活用する。有限な資源の効果的な活用研究の実施のために我が国における長寿医療研究のためのバイオリソースの在り方を示す。本研究は2つの特色がある。第1は適切なインフォームドコンセントに基づいた研究試料を収集することである。本研究では情報連結型研究と非連結型の長寿バイオリソースの2つを明確に区別して行う。第2は収集した研究試料を有効に活用し国民に分かりやすい研究成果をあげることの特徴とする。具体的には、加齢性疾患の神経変性に対する根本的な治療法開発により明快に研究成果を国民に還元する。

バイオリソースの活用研究はヒト生体試料や病理組織バイオリソースを単にタンパク質定量などを行う研究を示すのではなく、生体試料や病理組織などのバイオリソースから得られた遺伝子や関連する情報を用いて行う研究であり、広い範囲のバイオリソース活用を含む。このような研究では生きたモデル細胞や動物を解析することにより、ヒト試料活用研究を疾患モデル研究と並行して行い効率的な治療法開発研究を実施することができる。さらに、疾患モデル研究は病理組織バイオリソースにおけるヒト病態と比較検討することにより効果的な治療研究へと展開することを可能にする。本研究では病理解剖組織に関しては病理解剖の減少や病理医の不足などに対応する、地域性を生かした新しい病理解剖及び病理組織リソースの在り方を検討した。

## B. 研究方法

国立長寿医療研究センターにおいて臨床情報が連結する（連結可能匿名化）生体試料と病理解剖組織、及び連結不可能匿名化の生体試料に関する研究を実施した。連結可能匿名化により収集する生体試料に関連する診療情報として病理解剖や遺伝子診断等により精度の高い臨床情報を付加し効果的なバイオリソースとした。合わせて、病理解剖から生じる脳等のヒト病理組織の収集も行い、認知症等の神経変性に対する根本的な治療法開発研究の研究基盤を整備した。センターでは病理解剖症例数が限定されるために、連結可能匿名化の生体試料バイオリソースに関する症例の蓄積を重点的に行った。基盤整備と活用研究のためのセンター共通のルールを検討し、バイオリソースの活用研究を推進し研究成果を国民に還元する。22年度に開始した生体試料収集に関する実績は23年度までに総計約

3,000例を収集した。24年度においてはバイオリソースの価値を高め有効性を示す研究に重点を置いた。加齢性疾患の治療法開発研究などのバイオリソース活用研究を推進し、研究成果はホームページ等で公開した。

以下の方法で研究を進めた。

#### 1) 連結可能匿名化による生体試料の収集

主にもの忘れセンターに関する症例の血液および髄液と電子カルテに連結する患者情報を収集する（研究活用等の倫理審査は承認済）。もの忘れセンター臨床部門で患者からインフォームドコンセントを得た症例について試料の保存管理を行った。

#### 2) 連結不可能匿名化による生体試料収集

22年度に策定した包括的インフォームドコンセントにより、センターで実施している長期縦断疫学研究から生体試料を収集しバイオリソース研究室で連結不可能匿名化を行った。

#### 3) 収集した生体試料の活用

インフォームドコンセントに明示された研究者、及び長寿バイオリソースの活用を行う不特定の研究者のすべてに対して、有限の生体試料を永続的に提供できない。科学的妥当性や具体的な試料提供（使用量の決定等）により活用研究を効率的に実施する体制とした。

#### 4) 病理解剖に由来する病理組織バイオリソースの構築

センターで実施する病理解剖症例の脳組織に関して病理組織バイオリソースに登録した。病理組織バイオリソースを効果的に構築するために、東海地域における病院間で病理解剖に関する情報を共有化するネットワークを形成した。情報ネットワークには病理解剖実施件数の多い病院などの参加により効果的なバイオリソースの構築をめざした。

#### 5) 病理組織の活用に関する研究

病理解剖組織の活用には、第一に正確な病理診断を実施すること、第二に組織を適正な方法により保存すること、第三に病理組織だけの研究にとどまらずに疾患モデル等を使って治療法開発まで研究を進展させ国民・患者に利益を還元することが重要である。活用研究は病理組織バイオリソースの試料から遺伝子等の情報を用いて行い、認知症等の老年病に対する根本的治療法の確立などの研究により研究成果を国民に還元し、病理解剖や病理組織研究の重要性をわかりやすく発信した。

#### （倫理面への配慮）

本研究では連結不可能匿名化によるバイオリソースについて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受けた。また、もの忘れセンターに関する生体試料による連結可能匿名化研究についても同委員会の承認を得た。本研究では人権保護の立場からセンターで収集されたヒト試料に関してはセンター内で研究を行うことを原則とする。遺伝子研究に関してはヒトゲノム遺伝子解析に関する倫理指針を遵守し、長寿バイオリソースへの登録の際には連結不可能な匿名化を行い患者等の同意を受ける。

病理解剖由来のヒト死体組織に関するバイオリソース研究では、病理解剖を受ける患者

遺族から病理解剖と病理組織の活用研究を明示したインフォームドコンセントを受け長寿バイオリソースに登録する。病理解剖の承諾に加え中枢神経組織等の保存及び疾病研究についての説明を十分に行う。組織バンクでは連結可能匿名化を行い個人情報の保護を行う。組織バンクの活用研究では死体解剖保存法を遵守し、18条「遺族の返却要求」に対してすみやかに対応する体制を構築する。病理組織の活用研究についてはセンター倫理・利益相反委員会の承認を受けた。

## C. 研究結果

### 1. 包括的インフォームドコンセントによる生体試料収集（平成23年度で終了）

22年度に策定した包括的インフォームドコンセント(IFC)をもとに、センター病院もの忘れセンター、長期縦断疫学研究及び長寿ドックの試料について収集保存を行い、以下の生体試料の収集を実施した。この研究成果はすべての生体試料について6NCバイオバンク事業に移管し、継続的にセンター事業として運営されることになった。

- 1) 生体試料（連結不可能匿名化）：試料に付帯する個人情報を制限する一方で、IFCに指定しない研究者も活用できる方法を行った。包括的IFCにより、長期縦断疫学研究や長寿ドックの生体試料を連結不可能匿名化により、1,848件を登録した。
- 2) 生体試料（連結可能匿名化）：IFCにより指定された研究者が個人情報（例：患者診療情報）をフル活用して研究を進める方法で、「もの忘れセンター」の外来受診者の生体試料を対象として1,115件を登録し、患者情報の連結可能匿名化によりバイオリソースを効率的に活用できる体制を構築した。

### 2. 病理解剖における死体組織保存の方法の確立と組織活用の在り方の検討

認知症等の神経変性疾患においては、病理解剖による組織診断が発病機構や治療法開発の第一の重要なステップになる。病理診断による正確な確定診断により疾患分類を明確にした組織試料はより効果的な有効活用を期待できる。正確な認知症診断のためにセンター病院にて臨床病理検討会(CPC)やブレインカッティング(肉眼組織診断検討会)を実施した。病理組織研究に関して病理解剖の在り方を検討し、愛知医科大学と共同で実施するセンター病理解剖のシステムを確立した。また、もの忘れセンターで実施される診断カンファレンスにも積極的に参加し、認知症患者に関する病理所見の情報を臨床医にフィードバックした。次に、地域における病理解剖の促進や病理組織の活用を効率的に実施するために、病理解剖に関する情報ネットワークの構築を行った。病理解剖組織の活用研究についてはセンター内の病理組織試料の解析にとどまらず、地域連携型の研究として発展させセンター外の医療機関と連携して病理組織の有効活用を進めた。

#### 2-1. 神経病理ネットワークの構築

愛知医科大学加齢医科学研究所は東海地域の病理解剖における神経病理診断を担当して

いる。本研究では愛知医科大学と協力し、病理解剖を確実に実施する地域中核病院との連携を行った。近年、病理解剖症例数は減少し、認知症の診断は困難な状況にある。しかし、一方では病理解剖を確実に実施し年間解剖例数が増加している病院・施設が存在し、神経病理診断の重要な研究拠点となっている。特に福祉村病院や名古屋市厚生院は病理解剖症例が増加している病院として全国的にも知られている。本研究では、福祉村病院、名古屋市厚生院、さらに東京都ブレインバンクと連携し、臨床病理症例検討会(CPC)などを通じ正確な神経病理診断を実施した。さらに、遺伝子診断等の新しい診断方法による認知症診断に応用する研究を行った。

## 2-2. 神経病理診断と組織活用

アルツハイマー病などの認知症の診断では異常タンパク質の蓄積や神経細胞脱落等の形態学的特徴が重要である。一方、遺伝性の認知症では遺伝子診断が重要な役割を果たす。具体的には、形態学的特徴から大脳白質に起こる認知症であることが診断されたセンター病院症例について CPC や神経病理学会専門医の意見をふまえ正確な病理診断を行い学会報告した。さらに、常染色体劣性遺伝の遺伝性疾患を疑い患者脳組織を活用し遺伝子診断を行い、遺伝性白質ジストロフィー症 *hereditary leukoencephalopathy with spheroids* と診断し、新しい *CSF1R* 遺伝子変異を有することを診断した（センター神経内科及び信州大学との共同研究）。組織形態学的特徴や画像診断の特徴などを多面的に解析し2論文を投稿中である。遺伝子診断による確定診断は病気の種類を明確にするだけでなく、発病機構の解明にも役立つことが分かり、病理組織の新しい活用方法として国民や患者家族に向けて発信することにより病理解剖及び病理組織に関する研究の重要性を発信した。

## 3. 病理組織バイオリソースの活用研究

バイオリソースが収集された後に「どのように活用されたか」は、提供者にとって最大の関心事である。老年病の治療研究などにより国民に成果を届けることは我々の使命であり、インターネットや研究論文などを通じて国民に広く情報発信した。認知症を伴う神経変性疾患の神経変性機序に関する病理解剖の脳組織活用研究を実施し、バイオリソースの重要性を示した。アルツハイマー病に次いで、認知症におこす神経変性疾患であるレビー小体型認知症(DLB)や関連疾患であるサイヌクレノパシーの発病機構に関する研究を行った。病理組織活用研究に関する審査をセンター倫理・利益相反委員会に申請し承認された。

### 3-1. 病理組織を活用した形態学的検討

認知症などの神経変性疾患において *synuclein* が神経変性の発病に関与することは多い。*Synuclein* が蓄積する神経変性には、形態学的にレビー小体を形成する型（DLB やパーキンソン病）と、レビー小体を形成しない型（パーキンソン症候群、多系統萎縮症）が存在し、各々の神経変性の機序が異なる。本研究では、ヒト脳組織において神経変性を引き起

こす **synuclein** は特異的に不溶化していることを示し、**synuclein** が蓄積する細胞・動物モデルにおいても不溶化を報告した。不溶化したタンパク質は神経細胞内の異なる局在で蓄積することを示し、**synuclein** を強制発現する動物モデルを作製し、発病機構の解明や治療法開発へと展開した。

### 3-2. 病理解剖所見からモデル動物の作製、さらに治療法開発へ展開

バイオリソース研究の最終的な目標は疾患治療に関する研究を行うことにより、バイオリソース提供者に成果を還元することである。しかし、病理組織や生体試料だけでは病態機序の解明や治療法開発研究は行えない。そこで、認知症を伴うパーキンソン症候群の病理解剖組織から得られた知見をもとに疾患モデルを開発し発病機構を解明した。電気生理学的な手法などを用いてパーキンソン症候群モデルの病態を解析し、神経終末であるシナプスの障害が神経変性に関与することを明らかにした。さらに、特定の神経伝達物質の作動性ニューロンの機能低下を報告した。成果について病理解剖組織により再度検討を加え、疾患モデルで明らかにした知見が患者脳病理組織についても同様に起こる事実を検証した。以上の研究方法は、病理解剖組織に関する研究が治療法開発に向かうバイオリソース研究の実例を示し、さらに神経変性疾患の脳病理組織を有効に活用し、他の研究方法による知見を病理組織で検証するという方法を具体的に示した。研究成果の一部は論文として公表し、国際会議においても招待講演として報告した。成果の一部は米国で実施されている臨床治験にも活用された。

#### D. 考察と結論

国立長寿医療研究センターにおいて生体試料等のバイオリソースを保存し、高齢者の疾患研究の研究基盤を構築した。研究成果を国民に提供するためには、さらに、臨床情報等を有効に活用し、効果的な研究成果が得られるようにする必要がある。病理解剖による診断情報を有効に活用し、認知症や神経変性疾患の治療法開発の研究に活用することをめざした。第一に、東海地域における神経病理ネットワークを定着させ、認知症の病理診断の標準化に貢献した。第二に、病理組織バイオリソースの活用研究としてバイオリソースから得た物質や情報をもとに、疾患モデルを作製し神経疾患の発病機構から治療法開発研究まで展開した。認知症を起こす神経変性の原因タンパクの一つである **synuclein** は、レビー小体形成又は軸索・シナプス蓄積により神経細胞の機能を低下させ神経変性を誘導する。解明した神経変性抑制方法から患者への応用をめざし、**synuclein** 蓄積抑制による新しい治療法開発とその臨床応用に取り組んだ。病理組織バイオリソースの構築においては、患者遺族、臨床医、病理解剖医、そして研究者、関連するすべての人々の理解と協力が必要である。特に、提供する側の人々に対する配慮を忘れてはならない。

#### E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

原著論文

- 1) Suzuki, Y. and Yazawa, I. Pathological accumulation of atrophin-1 in dentatorubral-pallidoluysian atrophy. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology** 2011; 4, 378-384.
- 2) Nakayama, K., Suzuki, Y., and Yazawa, I. Binding of neuronal  $\alpha$ -synuclein to  $\beta$ -III tubulin and accumulation in a model of multiple system atrophy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**; 2012, 417, 1170-1175.
- 3) Ito, H. Nakayama, K., Jin, C., Suzuki, Y., and Yazawa, I.  $\alpha$ -Synuclein accumulation reduces GABAergic inhibitory transmission in a model of multiple system atrophy. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 2012, 428, 348-353

総説

- 1) Yazawa, I. Perspectives on therapeutic target for multiple system atrophy. **Recent Patents on Regenerative Medicine** 2012; 2, 30-36.
- 2) 矢澤生. MSA の病理と発症機序 動物モデルからのアプローチ, *Clinical Neuroscience* 2013 年, 31 巻, 290-291

著書

- 1) Yazawa, I. Tubulin: Structure, Function, and Role in Disease. (Yamauchi, W. and Sokic, A., eds.) Nova Science Publishers, Hauppauge, NY, USA, 2012, pp.85-100

2. 学会発表

国際学会招待講演

- 1) Yazawa, I. 4<sup>th</sup> International Congress on multiple system atrophy. Effect of microtubule depolymerization on alpha-synuclein accumulation. March 19, 2012. Toulouse, France (招待講演)

国際学会一般演題

- 2) Suzuki, Y., Nakayama, K. and Yazawa, I. 4<sup>th</sup> International Congress on multiple system atrophy. Neuronal  $\alpha$ -synuclein binds to  $\beta$ -III tubulin to accumulate in an MSA model. March 19, 2012. Toulouse, France (一般演題)

国内学会一般演題

- 3) 金成花, 矢澤生, 武田章敬, 坂田慶太. 顕著な脳萎縮を示した全経過23年のレビー小体型認知症の一例. 第52回日本神経病理学会総会 2011年6月3日(京都府)
- 4) 金成花, 矢澤生, 鷺見幸彦, 橋詰良夫. 遺伝性白質ジストロフィーの一例. 第3回日本神経病理学会東海北陸地方会 2011年9月10日(愛知県)
- 5) 鈴木康予, 中山貴美子, 矢澤生. 多系統萎縮症における alpha-synuclein と beta-III tubulin の相互作用の分子機構. 第34回日本神経科学大会, 2011年9月15日, パシフィコ横浜(神奈川県)
- 6) 伊藤浩志, 金成花, 鈴木康予, 矢澤生. 多系統萎縮症モデルマウスではオリゴドンドロサイトの alpha-synuclein 蓄積によりシナプス機能低下が起こる. 第34回日本神経科学大会, 2011年9月16日, パシフィコ横浜(神奈川県)
- 7) 金成花, 矢澤生, 鷺見幸彦, 橋詰良夫. 遺伝性白質ジストロフィーの一例. 第52回日本神経病理学会総会 2012年5月30日(新潟市)
- 8) 鈴木康予, 都竹佳子, 矢澤生. 多系統萎縮症における alpha-synuclein と beta-III tubulin の相互作用の分子機構. 第35回日本神経科学大会, 2012年9月20日, 名古屋国際会議場(愛知県)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし