

バイオサンプル研究センター

使命および具体的な目標

バイオサンプル研究センター（BRC）の使命は、原爆被爆者およびその子から提供されたバイオサンプルを放影研において一元管理することであり、その主な目的は以下の5つである。

1. 広島・長崎臨床研究部が新たに収集した血液・尿試料を調製・保存すること。
2. 新たに収集されたバイオサンプル、および凍結血液・尿試料や病理標本など他の研究部が過去に収集し保存（アーカイブ）した試料の両方を至適条件下で保存すること。
3. 包括的なバイオサンプルデータベースを構築し更新することにより、新たに収集されたバイオサンプルおよびアーカイブバイオサンプルの両方の在庫管理をすること。
4. 所内外の共同研究を促進するために研究員がバイオサンプルデータベースを利用できるようにし、要求があればタイムリーかつ効率的にバイオサンプルを提供すること。
5. 最先端の解析技術および専門知識を駆使してバイオサンプルの品質評価と品質管理を行い、「21世紀の科学」のためにそのような技術を用いて所内外の共同研究を実施・促進すること。

BRCが実施または支援する調査研究プロジェクトは、放影研のヒトバイオサンプルを効率的かつ生産的に使用するために優先順位が付けられ、その目的は、原爆被爆者およびその子における電離放射線の医学的な後影響を特定し、その影響の分子機序を解明して、過去の放射線被ばくおよび関連する疾患リスクのバイオマーカーを開発することである。これらはすべてが放影研の使命を推進する。

BRCの資源

2023年11月30日時点で、BRCは合計約2,225,000本のバイオサンプル（1,442,000本を広島で、783,000本を長崎で保存）を保管しており、その内訳は、アーカイブ試料とBRCが調製・保存した試料の両方を含む約1,918,000本の血液試料と約298,000本の尿試料、および8,149本のDNA試料である。これらは、16,812人のAHS対象者（広島：11,266人、長崎：5,546人）より、1969年以来合計約151,000回（広島：94,000回、長崎：56,000回）の健診により提供された試料や、12,787人のFOCS対象者（広島：8,522人、長崎：4,265人）より、2002年以来合計約43,000回（広島：29,000回、長崎：14,000回）の健診により提供された試料、および1985年以来4,140人のトリオ研究対象者（広島：2,224人、長崎：1,916人）より提供された試料である。BRCが管理する全試料およびこの1年間（2022年12月1日－2023年11月30日）にBRCが調製・保存した試料については要約表を参照のこと。

BRCの重要な機器資源は、標的・非標的プロテオミクスに用いられており、メタボロミクスにも使用可能な四重極飛行時間型質量分析計（QTOF-MS）であるTripleTOF 6600+® (SCIEX) およびDNAやRNA試料の定量やサイズ分析に使用する自動ハイスループット電気泳動プラットフォームである4200 TapeStation System® (Agilent Technologies) などである。

所内および所外の共同研究

放影研：臨床研究部、分子生物科学部、情報技術部、疫学部

所外：バイオサンプルを使う放影研のプロジェクトは、外部機関との共同で実施されることが多い。当該プロジェクトは各部の報告に記述されている。

2023年度業績

1) バイオサンプルの保存と在庫管理

- この1年間（2022年12月1日－2023年11月30日）にBRCは、841人のAHS対象者（広島：547人、長崎：294人）および2,532人のFOCS対象者（広島：1,807人、長崎：725人）から新たに収集した血液・尿試料を調製し保存した。合計69,287本の血液試料を調製・保存した。広島BRCが49,009本を調製し、その内、14,340本を遠隔バックアップ保存のために長崎に送った。また、長崎BRCが20,278本の血液試料を調製し、その内、6,051本を広島に送った。BRCは、26,480本（広島：18,526本、長崎：7,954本）の尿試料も調製・保存した。この一年間（2022年12月1日－2023年11月30日）にBRCが調製・保存した試料およびBRCが管理する全試料については要約表を参照のこと。
- 2023年11月30日時点で、BRCは合計約2,225,000本の試料（1,442,000本を広島で、783,000本を長崎で保存）を保管しており、その内訳は、アーカイブ試料とBRCが調製した試料の両方を含む約1,918,000本の血液試料（1,240,000本を広島で、678,000本を長崎で保存）と約298,000本の尿試料（194,000本を広島で、104,000本を長崎で保存）、および8,149本のDNA試料（広島で保存）である。これら試料は、16,812人のAHS対象者（広島：11,266人、長崎：5,546人）より1969年以来合計約151,000回（広島：94,000回、長崎：56,000回）の健診により提供された試料や、12,787人のFOCS対象者（広島：8,522人、長崎：4,265人）より2002年以来合計約43,000回（広島：29,000回、長崎：14,000回）の健診により提供された試料、および1985年以降4,140人のトリオ研究対象者（広島：2,224人、長崎：1,916人）より提供された試料である。
- 2015年7月から2023年11月までにBRCは、約550,000本の血液試料（広島：361,000本、長崎：189,000本）を調製・保存した。これら血液試料の内、約254,000本（広島：155,000本、長崎：99,000本）が3,609人のAHS対象者（広島：2,211人、長崎：1,398人）より延べ9,944回の健診（広島：6,057回、長崎：3,887回）により提供され、約297,000本の血液試料（広島：206,000本、長崎：90,000本）が9,952人のFOCS対象者（広島：6,836人、長崎：3,116人）より延べ19,026回の健診（広島：13,064回、長崎：5,962回）により提供された。またBRCは、同期間中にAHS対象者およびFOCS対象者から提供された約141,000本の尿試料（広島：93,000本、長崎：47,000本）も調製・保存した。
- 放影研は来るべき広島研究所の移転後はロボット式超低温試料保管庫BioStore II®（Azenta）を使用しないことを決定したため、BRCは移転を見据えてBioStore IIからの試料チューブの出庫を開始した。これら試料チューブは、23台の従来型の縦型冷凍庫に移動される。過去、2017年から2021年にかけて、広島のBRCは、約592,000本の血液と尿のアーカイブ試料の在庫確認後、それら試料チューブを従来型の縦型冷凍庫からBioStore IIへ移動した。アーカイブ試料チューブは現在、BioStore IIの保管容量の55%を占める。さらに、2015年以来BRCが調製・保存してきた約322,000本の血液・尿試料もBioStore IIに収納されており、2023年3月までに最大8%の容量を占めることになる。
- BRCは2020年に、ラボラトリ情報管理システム（LIMS）であるLabVantage®（LabVantage Solutions）を設計、最適化して導入した。その目的は、バイオサンプルの受領・調製・保存・移送などのバイオサンプルの作業工程の管理、バイオサンプルの在庫と品質情報の管理、試薬と消耗品の在庫管理、および包括的なバイオサンプルデータベースの構築である。2021年以降さらにBRCは、研究利用のためのバイオサンプルの提供に関連した作業の流れや情報を管理するためにLIMSをさらに改修した（下記参照）。さらにBRCは、現在BioStore IIに保存されており、広島研究所の移転前に23台の従来型の縦型冷凍庫に移動する予定であるすべての試料の在庫管理のために、LIMSのカスタマイズを進めているところである。

バイオサンプル研究センター

またBRCに移管された、または今後移管予定の以下のアーカイブ試料の維持管理もBRCが担当する。

- 親の放射線被ばくによる継世代的影響に関する遺伝学的研究のためにトリオ研究対象者から提供された血球は、一元管理および効率的な研究使用のためにBRCに移管され、2024年からトリオ研究に利用される予定である。歴史的には、これらの試料は1985年から分子生物科学部（分生部）によって液体窒素タンクや冷凍庫内で保存されてきた。2020年、BRCと分生部は共同して、AHS対象者とその配偶者およびF1調査の対象者である1,653人の子から成る1,004組の家族を含む4,140人から提供された約59,000本の血液試料（約11,100本の新鮮な凍結単核球、約41,400本のEBV形質転換リンパ球、約6,400本の顆粒球）の在庫を確認した。
- BRCは2014年から、臨床研究部と分生部が収集し保存していたAHSとFOCSの対象者の血液と尿のアーカイブ試料の在庫を確認し取得してきた。現在BRCでは、約1,368,000本のアーカイブ血液試料（広島で933,000本、長崎で435,000本を保存）および約157,000本のアーカイブ尿試料（広島で100,000本、長崎で57,000本を保存）を保管している。これら試料は、16,809人のAHS対象者（広島：11,264人、長崎：5,545人）より1969年以来合計約141,000回（広島：88,000回、長崎：52,000回）の健診により提供され、12,748人のFOCS対象者（広島：8,517人、長崎：4,231人）より2002年以来合計約23,700回（広島：16,000回、長崎：7,700回）の健診により提供されたものである。
- またBRCは、自動DNA抽出装置であるMagCore®（RBC Bioscience）を用いて6,127人のAHS対象者（広島：3,800人、長崎：2,327人）から提供された8,149個のアーカイブ血餅試料から、2003年から2013年にかけて抽出したDNA試料を保管している。
- 効果的な研究利用を可能にするために、BRCはアーカイブ病理組織標本であるホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）試料とスライド試料の在庫確認について広島研究所の病理学研究室を支援している。広島・長崎の疫学部病理学研究室は、約8,400人のLSS対象者の剖検、および約12,000人のLSS対象者の手術により得られた病理組織試料を保存している。FFPEブロックについては、在庫確認はほぼ完了しており、スライド試料については現在実施中である。在庫確認のためにFFPE試料の索引を作成し、整理し、袋詰めし、利用可能な試料数および由来臓器をデータベースに記録している。同様に、スライド試料を識別、計数し、FFPE試料とのリンクを作成し、データベースに記録している。

バイオサンプル研究センター

要約表

表1. この一年間（2022年12月1日から2023年11月30日）にBRCが調製・保存した試料

調査 集団	研究所	対象者	本数					
			血液				尿	総計
			血清	血漿	血餅・血球	計		
AHS	広島	547	4,414	5,496	5,733	15,643	4,267	19,910
	長崎	294	2,132	3,145	2,861	8,138	2,240	10,378
	計	841	6,546	8,641	8,594	23,781	6,507	30,288
FOCS	広島	1,807	14,117	7,039	12,210	33,366	14,259	47,625
	長崎	725	5,033	2,856	4,251	12,140	5,714	17,854
	計	2,532	19,150	9,895	16,461	45,506	19,973	65,479
総計		3,373	25,696	18,536	25,055	69,287	26,480	95,767

表2. BRCが管理する全試料（2023年11月30日現在）

調査集団 (開始 年)	研究所	対象者	健診 回数	本数			
				血液	DNA	尿	計
AHS (1969)	広島	11,266	94,461	780,912	5,822	85,400	872,134
	長崎	5,546	56,211	410,325	2,327	54,528	467,180
	計	16,812	150,672	1,191,237	8,149	139,928	1,339,314
FOCS (2002)	広島	8,522	28,989	461,311	-	108,513	569,824
	長崎	4,265	13,692	206,793	-	49,856	256,649
	計	12,787	42,681	668,104	-	158,369	826,473
トリオ 研究 (1985)	広島	2,224	2,706	31,602	-	-	31,602
	長崎	1,916	2,335	27,377	-	-	27,377
	計	4,140	5,041	58,979	-	-	58,979
総計				1,918,320	8,149	298,297	2,224,766

2) 研究利用のためのバイオサンプルの提供

- BRCは2022年に、下記の手順および書式により、研究計画書（RP-P2-22）「過去に保存されたDNA抽出可能な血液塗抹標本と血液浸潤ペーパーディスクのGWASへの適用性を検討するための予備的調査」（放影研 林ら）のために、AHS対象者の血液試料を提供した。当該試料は、本研究のために再同意した12人のAHS対象者から提供され、約20年間-80℃で保存されている血液浸潤ペーパーディスクであり、アレイを用いた一塩基多型（SNP）タイピングへの適用性について調べる予定である。
- BRCは2021年に、試料提供に関わる詳細な手順および試料提供依頼書式を完成して運用を開始した。それ以降BRCは、当該手順および書式に基づき、研究利用のためのバイオサンプル提供に関する作業の流れや情報を管理するために、LIMSを適応させカスタマイズしてきた。
- BRCは初めて2019年に、研究計画書（RP01-17）「原爆被爆者における造血器悪性腫瘍発症時の同定に関する研究」（長崎大学 宮崎、放影研 今泉ら）のために、血液試料を提供した。当該試料は、4人のAHS対象者から提供され調製されてBRCにより液体窒素

中に保管されていた血液単核球であった。これらは現在、血液試料の経時的ゲノム解析によって骨髄異形成症候群診断前後のクローン動態を解明し、クローン動態が放射線量によっていかに異なるかを調べるために使われている。

3) 品質管理および将来の調査研究のためのバイオサンプル解析

保存バイオサンプルの品質は、DNAシーケンシング（全ゲノム・エクソーム・標的シーケンシング）、RNA発現・シーケンシング解析、プロテオミクス、メタボロミクスなどの「オミクス」解析など、あらゆる解析法から得られた結果の正確性や妥当性を担保する上で非常に重要である。保存血液試料を高い精度でそのような解析に使用するためには、試料の品質評価のための標準作業手順書を作成し、試料の調製や保存に伴う、様々な細胞種や様々な生体分子（DNA、RNA、タンパク質、代謝物など）の定性的・定量的変化を体系的に検証する必要がある。そのような品質評価のための標準作業手順書に基づき、至適条件下で試料を調製・保存するための品質管理基準を作成し、試料調製・保存のための標準作業手順書を改善することが必要である。

- BRCは2020年以降、四重極飛行時間型質量分析計（QTOF-MS）であるTripleTOF 6600+を用いて血漿および血清の品質評価方法の開発に取り組んできた。2022年に、血漿タンパク質の酵素分解ペプチドのQTOF-MSによる包括的な非標的定量により、過去の凍結・融解を示す品質マーカーとして役立つ可能性のある複数の候補ペプチドを同定した。また、2023年にはQTOF-MSを用いて、血漿・血清の品質マーカーとしてアルブミンの酸化性を示す Δ S-Cys-Alb値を測定するために、還元型アルブミン（SH-Alb）と酸化型アルブミン（S-Cys-Alb）を特異的に定量化する手順を確立した。
- 2023年に、蛍光活性化セルソーター（FACS）を用いて、凍結保存末梢血単核球（PBMC）からヒト造血幹/前駆細胞（HSPC）を同定・分離する手順を確立した。コロニー形成法により、分離したHSPCには赤血球および骨髄系分化能があることが分かった。この所見は、放影研の液体窒素タンクに保存されている多数のPBMCチューブの有用性をヒトHSPCの機能・分子解析へと広げるかもしれない。

放影研の戦略目標との関連性

BRCは、調査集団の貴重なデータや試料を用いて最先端技術により重要な科学的問題の解を得るという目的において、放影研の戦略目標の中核を成す。

- BRCは、原爆被爆者およびその子の生物医学的状態および健康状態に対する放射線影響を解明することを目的として、調査対象者から提供された血液・尿試料の調製・保存を行っており、AHSおよびFOCSという放影研の二つの主要な臨床調査研究に寄与している。
- BRCは、最先端の解析ツールを貴重な試料に適用できるようにするための試料品質評価に基づき、至適条件下での試料保存に取り組んでいる。そのためにBRCは、血液などのバイオサンプルにおける、放射線被ばくに起因するゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、メタボロームにおける特徴や、免疫学的な特徴を特定できる機器を装備するか、日常的に利用可能でなければならない。そのような機器を使用するためのBRCの専門技術・知識を拡大して、より多くの放影研研究員にも利用できるようにすることにより、放影研の調査研究能力を強化する共同研究体制を形成する。
- BRCは、作業工程やバイオサンプルの在庫をLIMSによって管理することにより、包括的バイオサンプルデータベースを構築し更新している。当該データベースは研究資源課において、放影研の研究用統合データベースを構築するために、臨床・疫学情報とリンクされる予定である。このようなデータベースがあれば、研究員は各自の調査に利用で

バイオサンプル研究センター

きるバイオサンプルを容易に探し出すことができ、放射線量、健康影響、およびバイオサンプルの分子・細胞測定値を含むすべての関連データを解析できるようになる。