

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や配偶者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と、凍結血液・尿試料や病理組織試料など他部が過去に収集し保存（アーカイブ）した試料と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とアーカイブバイオサンプルとの両方の在庫管理を行うこと。
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、申請があれば迅速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、そのような技術を用いて、「21世紀の科学」のための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ものが優先され、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、疾患リスク、および疾患の進行のバイオマーカーを開発することである。これらすべてが放影研の使命を推進する上で不可欠である。以下に示すとおり、BRCは放影研の戦略目標の達成において中心的な役割を担っている。

Continue（継続）：原爆被爆者およびその子の生物医学的状态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参加者から提供された血液・尿試料の調製・保存を行うことにより、AHSおよびFOCSという放影研の二つの主要な臨床コホート調査に寄与している。

Create（創造）：最先端の解析ツールを貴重な試料に適用できるように、試料品質評価に基づき、至適条件下で試料を保存するべく努力している。そのためにBRCは、血液などのバイオサンプルの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、および免疫学関連の特徴を同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。

Collaborate（共同連携）：そのような機器を使用するためのBRCの専門的技術を、より多くの放影研研究員が利用できるように広めることにより、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。

Collate（照合）：BRCはラボラトリ情報管理システム（LIMS）によって作業工程やバイオサンプルの在庫を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臨床・疫学情報と紐付けられることにより、放影研の研究用統合データベースが構築される予定である。このようなデータベースが整備されることで、研究員は各自の調査に利用可能なバイオサンプルを容易に同定でき、被ばく放射線量、健康影響、およびバイオサンプルの分子・細胞レベルの測定値を含むすべての関連データを用いた解析が実行できるようになる。

BRCの資源

2024年11月30日時点で、BRCは合計約231万本のバイオサンプル（広島研究所：149.3万本、長崎研究所：81.7万本）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197.9万本の血液試料と約32.2万本の尿試料、および8,149本のDNA試料である。これらは、16,812人のAHS参加者（広島：11,266人、長崎：5,546人）より、1969年以来合計約15.1万回（広島：9.5万回、長崎：5.6万回）の健診により提供された試料や、12,634人のFOCS参加者（広島：8,522人、長崎：4,112人）より、2002年以来合計約4.5万回（広島：3.0万回、長崎：1.4万回）の健診により提供された試料、および1985年以来4,140人のトリオ調査参加者（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（2023年12月1日－2024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の主要な機器資源の一つは、標的・非標的プロテオミクスに用いられ、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機（QTOF-MS）のTripleTOF 6600+[®]（SCIEX）である。また、DNAやRNAの定量やサイズ分析には、自動多検体電気泳動装置である4200 TapeStation System[®]（Agilent Technologies）が使用されている。

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、統計部

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。当該プロジェクトの詳細は各部の報告に記述されている。

2024年科学諮問委員会（SAC）の勧告への対応の要約

勧告：広島と長崎の二つの研究所で試料の重複保管はされているのか。これらは貴重な試料であるが、バックアップ計画はどのようなものか。

対応：2015年以降、新たに採取された全ての血清および血漿の分注試料の半分が、バックアップ用の重複保管のためにもう一方の都市（すなわち広島から長崎へ、またはその逆）に送られている。2015年以前にも、AHSおよびFOCSの受診者の血清（1987年以降）および血漿（1990年以降）の一部は、バックアップのためにもう一方の都市にも保管されていた。全体では、血清試料の33%、血漿試料の22%、およびAHSの血球試料の5%が、バックアップとしてもう一方の都市に保管されている。

勧告：miRNAはホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織においても損なわれないことが知られているため、miRNA研究を検討した方がよいと考える。

対応：FFPE試料中のmiRNAの長期安定性から、miRNAを、病理組織試料を始めとする様々なバイオサンプルの品質評価の対象分子として検討し、将来的な放射線影響に関するメカニズム研究やバイオマーカー研究に役立てるべきとの意見に同意する。血中および尿中の細胞外miRNAは、生理状態の評価や、がんや循環器疾患など様々な疾患の発症前および発症後の検出や追跡に有用なバイオマーカーであることが、これまでの多くの研究により示されている。したがって、BRCが研究員を増員できるのであれば、現在行っているタンパク質、DNA、血球の分析に加え、このような試料の品質評価のためにmiRNA分析も行いたい。

バイオサンプル研究センター

勧告：過去に試料の品質評価はどのように行われていたのか。過去の情報に基づいて標準作業手順書（SOP）を作成することは可能か。誰がSOPを作成し、BRCはどのようにその正確性を精査するのか。SOPの更新計画も必要である。

対応：BRCの研究者および技術員は、試料品質評価に関するSOPを作成してきた。これらのSOPは、確立されたガイドライン、学術論文、試料品質評価の結果、研究者からの意見や要望に基づいて、的確性を担保するために定期的に見直しおよび更新を行う予定である。過去の情報に基づいてSOPを作成するという提案に感謝する。従来、研究者は本格的な研究に先立ち、試料のごく一部を用いて品質を評価するパイロット研究を実施することが多かった。例えば、古い血液塗抹標本を用いたSNPアレイ解析に備え、血液塗抹標本から抽出し、試験管内で増幅したDNA試料の品質を評価するパイロット研究（RP-P2-22, 林奉権）が現在進行中である。SACの提案にあるように、今後このような過去の研究に基づき、試料品質評価に関するSOPの作成を計画している。

勧告：研究資源センター（RRC）の設立に備えて試料をカタログ化することが述べられている。試料は現在どのようにカタログ化されているのか。なぜRRCへの移行はその作業と進展にとって重要なのか。

対応：AHS、FOCSおよびトリオ研究参加者の血液および尿試料は現在、放影研の情報技術部が開発したバイオサンプルデータベースおよびBRCが最適化し、運用しているLIMSを用いてカタログ化されている。今後は、LIMSにより包括的なバイオサンプルデータベースが構築され、RRCに提供される予定である。当該データベースは、将来的に被ばく放射線量、臨床および疫学情報と統合し、バイオサンプル研究の推進に活用される。

勧告：資料には、財政的な理由から広島大学への移転後はロボットフリーザーを使用しないと書かれている。現行のトリオ調査および将来的なGWAS調査では、人的エラーのリスクを最大限減らすことが非常に重要である。この観点から、放影研においては分子生物学のための効率的な自動化システムを構築することが推奨される。また、ロボットフリーザーは、全体の自動化の一部として維持されるべきである。

対応：人的エラーのリスクを最小限に抑えるため、放影研ではロボットフリーザーの設置を含む、効率的で自動化されたシステムの構築に取り組んでいる。広島研究所の新棟建設費用の増大により、財政状況は依然として不透明であるが、新棟はロボットフリーザー設置に対応できる設計になっている。現在、ロボットフリーザーを設置できるよう追加予算を求めている。

勧告：放影研で「得られた教訓」を広く科学コミュニティと共有することは有益であると考えられる。特に、パラフィン包埋試料の品質を見極めるための情報は、ヒト試料に限らず広く応用可能であるため、科学コミュニティにとって非常に有用である。

対応：経験を共有するために、放影研で「得られた教訓」を公表すべきという提案に同意する。実際、BRCの使命と活動に関する詳細な学会記録が今年「広島医学」に掲載された。病理組織試料の品質評価については、在庫確認完了後に試料が疫学部からBRCに移管された後に開始する予定である。

2024年度業績

1) バイオサンプルの保存と在庫管理

血液および尿試料の調製と保存

- 今年：この1年間（2023年12月1日－2024年11月30日）に、BRCは772人のAHS参加者（広島：524人、長崎：248人）および2,299人のFOCS参加者（広島：1,511人、長崎：788人）から新たに収集した血液・尿試料を調製・保存した。合計61,219本の血液試料を調製・保存した。広島BRCが41,070本を調製し、その内、11,909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20,149本の血液試料を調製し、その内、5,988本を広島に送った。BRCは、24,025本（広島：15,953本、長崎：8,072本）の尿試料も調製・保存した。本年度にBRCが調製・保存した試料および維持管理する全試料の詳細については要約表を参照のこと。
- 累計：2024年11月30日時点で、BRCは合計約231万本の試料（広島：149.3万本、長崎：81.7万本）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197.9万本の血液試料（広島：127.5万本、長崎：70.4万本）と約32.2万本の尿試料（広島：21.0万本、長崎：11.2万本）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参加者（広島：11,266人、長崎：5,546人）から1969年以来合計約15.1万回（広島：9.5万回、長崎：5.6万回）の健診により提供された試料や、12,634人のFOCS参加者（広島：8,522人、長崎：4,112人）から2002年以来合計約4.5万回（広島：3.0万回、長崎：1.4万回）の健診により提供された試料、および1985年以降4,140人のトリオ調査参加者（広島：2,224人、長崎：1,916人）から提供された試料である。これらの試料の内訳は以下のとおりである。

(1) 2015年以降BRCで調整された試料

2015年7月から2024年11月までにBRCは、約61.2万本の血液試料（広島：40.2万本、長崎：20.9万本）を調製・保存した。これら血液試料の内、約27.5万本（広島：16.9万本、長崎：10.6万本）が3,615人のAHS参加者（広島：2,215人、長崎：1,400人）から延べ10,716回の健診（広島：6,581回、長崎：4,135回）により提供され、約33.7万本の血液試料（広島：23.3万本、長崎：10.4万本）が9,999人のFOCS参加者（広島：6,856人、長崎：3,143人）から延べ21,325回の健診（広島：14,575回、長崎：6,750回）により提供された。またBRCは、同期間中にAHSおよびFOCS参加者から提供された約16.5万本の尿試料（広島：10.9万本、長崎：5.6万本）も調製・保存した。

(2) 他部から移管されたアーカイブ試料

臨床研究部および分子生物学部（分生部）により収集・保存されたAHSおよびFOCS参加者の血液および尿のアーカイブ試料は、2014年より在庫確認後にBRCに移管されてきた。現在、BRCが保有するアーカイブ血液試料は約136.8万本（広島：93.3万本、長崎：43.5万本）、アーカイブ尿試料は約15.7万本（広島：10.0万本、長崎：5.7万本）である。これらの試料は、16,809人のAHS参加者（広島：11,264人、長崎：5,545人）から、1969年以降に実施された約14.1万回の健診（広島：8.8万回、長崎：5.2万回）で提供されたものや、12,595人のFOCS参加者（広島：8,517人、長崎：4,078人）から、2002年以降に実施された約23,500回の健診（広島：16,000回、長崎：7,600回）で提供されたものである。BRCは、2003年から2013年の期間に6,127人のAHS参加者（広島：3,800人、長崎：2,327人）から提供された8,149本のアーカイブ血餅試料から、自動DNA抽出装置MagCore®（RBC Bioscience）を用いてDNAを抽出して保管している。

(3) トリオ調査の試料

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調査のためにトリオ調査参加者から提供された血液細胞は、一元管理および効率的な研究利用のためにBRCに移管され、2024年からトリオゲノム調査に使用される予定である。歴史的には、これらの試料は1985年から分生部によって収集され、液体窒素タンクや冷凍庫内で保存されてきた。2020年にBRCと分生部は共同して、AHS参加者とその配偶者およびF1調査の対象者である1,653人の子から成る家族1,004組を含む4,140人から提供された約5.9万本の血液試料（約11,100本の新鮮凍結単核球、約41,400本のEBV形質転換リンパ球、約6,400本の顆粒球）の在庫確認作業を行なった。

血液および尿試料の維持と管理

- 広島研究所の移転を見据え、BRCはロボット式超低温試料保管庫BioStore II® (Azenta) からの試料チューブの出庫を開始した。2015年以降にBRCで調製・保存された血液および尿の試料チューブは全て、2025年3月までにBioStore IIから取り出され、6台の従来型直立式冷凍庫に移される。一方、2017年から2021年にかけて従来型直立式冷凍庫からBioStore IIへ移された血液と尿のアーカイブ試料チューブ59.2万本は現在、BioStore IIの保管容量の55%を占めている。現在、新施設でのロボット式フリーザーの導入に向けた資金申請を行っており、可能な限り多くの試料を新設のフリーザーに直接移転することを目指している。
- 2020年にBRCは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。さらに2021年以降、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工程や情報を管理するためにLIMSを改修した。また、BioStore IIに現在保存されているが、広島研究所の移転前に従来型直立式冷凍庫に移す必要があるかもしれない試料の在庫管理のために、LIMSの改修を進めているところである。

病理組織試料の維持と管理

- 効果的な研究利用を可能にするために、広島研究所の病理学研究室によるFFPEブロックとスライド試料からなるアーカイブ病理組織試料の在庫確認をBRCは支援している。広島・長崎の疫学部病理学研究室には、剖検組織試料として、約5,600人の寿命調査 (LSS) 対象者から得られたFFPEブロックと約6,100人のLSS対象者のスライド試料のほか、外科病理組織試料として、約6,100人のLSS対象者のFFPEブロックと約10,900人のLSS対象者のスライド試料が保存されている。
- 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約80%が完了している。在庫確認のためにFFPEブロックを索引化し、整理して袋詰めし、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試料と紐づけて、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（2023年12月1日から2024年11月30日）にBRCが調製・保存した試料

調査 集団	研究所	参加者	本数					尿	総計
			血液				計		
			血清	血漿	血餅・血球				
AHS	広島	524	3,849	5,328	5,360	14,537	4,083	18,620	
	長崎	248	1,738	2,691	2,412	6,841	1,880	8,721	
	計	772	5,587	8,019	7,772	21,378	5,963	27,341	
FOCS	広島	1,511	10,652	6,162	9,719	26,533	11,870	38,403	
	長崎	788	5,363	3,267	4,678	13,308	6,192	19,500	
	計	2,299	16,015	9,429	14,397	39,841	18,062	57,903	
総計		3,071	21,602	17,448	22,169	61,219	24,025	85,244	

表2. BRCが管理する全試料（2024年11月30日現在）

調査集団 (開始年)	研究所	参加者	健診 回数	本数			
				血液	DNA	尿	計
AHS (1969)	広島	11,266	94,973	795,418	5,822	89,483	890,723
	長崎	5,546	56,441	417,129	2,327	56,408	475,864
	計	16,812	151,414	1,212,547	8,149	145,891	1,366,587
FOCS (2002)	広島	8,522	30,498	487,843	-	120,381	608,224
	長崎	4,112	14,327	219,949	-	56,048	275,997
	計	12,634	44,825	707,792	-	176,429	884,221
トリオ調査 (1985)	広島	2,224	2,706	31,585	-	-	31,585
	長崎	1,916	2,335	27,359	-	-	27,359
	計	4,140	5,041	58,944	-	-	58,944
総計				1,979,283	8,149	322,320	2,309,752

調査参加者一人あたりの血液試料チューブの平均数は、AHSで72.1本、FOCSで56.0本、トリオ調査で14.2本である。同様に、尿試料チューブの平均数は、AHSで20.6本、FOCSで14.1本である。また、AHS参加者一人あたりのDNA試料チューブの平均数は1.3本である。

2) 研究利用のためのバイオサンプルの提供

- 2024年にBRCはトリオゲノム調査（RP3-23）「親の放射線被曝とその子どものde novo（新規）生殖系列変異発生との関連に関する研究」（放影研 内村ら）への血液試料の提供を開始した。調査には、19名の調査参加者から提供された合計35本の血液試料チューブ（単核球19本、顆粒球画分16本）が提供された。
- 2022年、BRCは下記の手順および書式により、研究計画（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参加者の血液試料を提供した。当該試料は、本調査のために再同意した12人のAHS参加者から提供され、約20年間-80°Cで保存されていた血液浸潤ペーパーディスクであり、一塩基多型（SNP）アレイタイピングへの適用性について調査される予定である。

- 2021年にBRCは試料提供に関わる詳細な手順および試料利用申請書式を完成して運用を開始した。それ以降、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工程や情報を管理するために、BRCはLIMSを改修してカスタマイズしてきた。
- 2019年にBRCは研究計画（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、初めて血液試料を提供した。当該試料は、4人のAHS参加者から提供され、BRCが調製し液体窒素中に保管していた血液単核球であった。これらは現在、経時的な血液試料の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、クローン動態が被ばく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シーケンシンス解析（全ゲノム、エクソームまたは標的シーケンス）、RNA発現およびシーケンシンス解析（バルクまたはシングルセル解析）、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SOPを作成し、試料の調製や保存に伴う様々な細胞種や生体分子種（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。こうした品質評価のためのSOP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設定して、試料調製・保存のSOPを改善していくことが必要である。

- BRCは2020年以降、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年から2024年にかけて、血漿および血清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解析により、過去の凍結・融解を示す品質マーカーになり得る複数の候補ペプチドを同定した。さらに2023年には同じくQTOF-MSを用いて、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ことにより、血漿・血清の品質マーカーであり、アルブミンの酸化されやすさを示す Δ S-Cys-Alb値を測定するための手順を確立した。
- 2023年から2024年にかけては、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には赤血球系と骨髄系との両方の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試料の有用性を、ヒトHSPCの機能・分子解析へと広げる可能性がある。