

心筋症、心筋炎及び心臓移植後患者を対象とした 多層オミックス解析を用いた病態解明と 予防・治療法開発に関する研究

研究総括責任者：塚本 泰正

国立循環器病研究センター病院移植医療部 医長

臨床研究責任者：瀬口 理

国立循環器病研究センター病院移植医療部 医長

： 渡邊 琢也

国立循環器病研究センター病院移植医療部 医師

オミックス解析研究責任者：蒔田 直昌

国立循環器病研究センター研究所 副所長

創薬オミックス解析センター センター長

第 1.0.0 版 2020 年 6 月 11 日

第 1.1.0 版 2020 年 7 月 18 日

第 1.2.0 版 2021 年 3 月 4 日

第 1.3.0 版 2021 年 6 月 3 日

第 2.0.0 版 2022 年 2 月 7 日

倫理審査を受けた研究計画書の遵守

本研究は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理原則及び人を対象とする医学系研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、研究対象者の基本的人権を尊重し、倫理審査委員会の審査及び研究機関の長の許可を受けた研究計画書を遵守して実施される。

機密保持に関する事項

本研究計画書の開示は、本研究の関係者に限定する。倫理審査委員会への提出、研究対象者への開示等の場合を除き、研究代表者の合意なしに第三者へ開示することを禁止する。

目次

1.	研究の背景	1
1.1.	現状	1
1.2.	現時点での課題	2
1.3.	本研究に至った経緯	3
1.4.	本研究の意義	4
1.5.	研究実施の妥当性	4
2.	研究の目的	5
3.	研究デザイン	6
4.	研究対象	6
4.1.	選択基準	7
4.2.	除外基準	8
4.3.	研究対象者の抽出方法	8
5.	目標症例数およびその設定根拠	8
6.	アウトカム	9
6.1.	主要アウトカム	9
6.2.	副次アウトカム	10
7.	研究の実施手順	10
7.1.	研究対象者からの同意の取得	10
7.2.	組織や血液試料の収集	11
7.3.	ゲノム解析の実施手順	15
7.4.	ゲノム以外のオミックス解析等の実施手順	15
7.5.	iPS 心筋細胞の作成・解析実施手順	17
7.6.	公的データベース (MGeND ヒトゲノムデータベース) への登録の手順	17
7.7.	心臓移植後の予後や合併症の発症に関する予後予測モデルの構築	17
8.	観察項目	17
9.	主な解析方法	19
10.	研究期間	19
11.	同意を受ける手続等	20
11.1.	研究参加の任意性	20
11.2.	同意取得に関する手続	20
11.3.	同意を受けるための説明事項	23
11.4.	同意撤回または参加拒否を申し出た場合	25
12.	個人情報の保護	26

13. 試料・情報の保管	27
13.1. 試料・情報の管理方法.....	27
13.2. 外部の機関との試料・情報の授受.....	29
13.3. 試料・情報の保存期間.....	30
13.4. 試料・情報の二次利用.....	31
14. 研究対象者の負担とリスク、利益の総合評価	31
14.1. 研究対象者の負担とリスク、およびそれらを最小化する方策.....	31
14.2. 研究対象者の利益および研究がもたらす利益	31
14.3. 負担とリスク、利益の総合評価	32
15. 研究対象者の費用負担および謝礼.....	32
16. 研究対象者等からの相談等への対応	32
17. 研究資金.....	32
18. 利益相反.....	32
19. 知的財産権	33
20. 研究成果の公表.....	33
21. 研究計画の変更.....	33
22. 研究機関の長への報告	33
23. 研究の実施体制.....	34
24. 業務委託.....	35
25. 参考文献.....	38

1. 研究の背景

1.1. 現状

近年、 β ブロッカー、アンジオテンシン受容体ブロッカー (ARB) などの薬物療法、心臓再同期療法、左室形成術、冠動脈再建術などの非薬物療法、さらには機械的循環補助 (補助人工心臓 (Ventricular assist device; 以降 VAD) や補助循環用ポンプカテーテルなど)、そして最終的治療としての心臓移植などの集学的治療の発展により、重症心不全に対する治療戦略が大きく変貌している。^{1,2,3}

INTERMACS profile I (心原性ショック) や profile II (強心剤投与下で進行する心不全) まで心不全が重症化すると、救命のために VAD が必要となる。^{2,3} VAD で左室脱血すると左室径が短縮し左室仕事効率が改善し、拡張末期圧が低下するので冠血流も増加するため、心筋組織の変性が止まり、reverse remodeling (以後 RR: 健常者に近い心筋状態であるが、一度変性を受けて回復するために健常者とも異なる心筋状態) に進むことが期待できる。⁴ また、VAD で循環補助をすることで、心不全時には使用しにくい、 β ブロッカー、ARB などの薬物を安全に使用し、十分な薬物治療を行えるので、Profile I・II でも RR が起こり、心機能が改善する可能性がある。⁴ しかし、特発性心筋症や二次性心筋症の場合、そのような治療を行っても心筋障害が進行し、VAD から離脱できず、心臓移植への橋渡しのための VAD (Bridge to transplant; 以後 BTT) や永久使用の VAD (Destination therapy; 以後 DT) の適応となる症例の方が、離脱できる症例 (Bridge to recovery; 以後 BTR) より多いのが、国内外の現状である。⁵

また、劇症型心筋炎、急性心筋梗塞、開心術後心不全による急性の心原性ショックには、補助循環用ポンプカテーテル (Impella) や体外設置型 VAD を使用するが、VAD 装着後も RR が起こらず、心筋障害が進行し、VAD に依存した状態に移行する症例も少なくない。⁶ 我々の経験でも、42 例の劇症型心筋炎に機械的循環補助 (VAD 35 例、Impella 7 例) を設置し、27 例 (VAD 23 例、Impella 5 例) で離脱可能であったが、10 例 (23.8%) (VAD 8 例、Impella 2 例) で BTT に移行しており、その BTR の可否を予測する方法はいまだにない。また、劇症型心筋炎の回復後に心筋症に進行して再度 VAD の装着を必要としたり、死亡したりする症例も存在し、劇症型心筋炎後に心筋障害の進行を防止するような薬物療法のガイドラインは存在しない。

以上のように、特発性や二次性心筋症 (薬剤性、代謝性、神経筋疾患性など) による慢性心不全の急性増悪、心筋炎、心筋梗塞、開心術後などの急性心不全にかかわらず、VAD 装着後の積極的な集学的治療を行っても、心筋障害が進行する患者は少なくないが、その病態や発症機序は依然として明確ではない。⁴ 重症心不全からの回復や進行・悪化を規定する要因には、様々な環境要因や液性因子、細胞・遺伝子・転写・蛋白など多階層の生体分子が関与していると考えられるが、その詳細な分子機序は明らかではない。⁴

一方、免疫抑制療法や感染症予防・治療の進歩にともなって、心臓移植は成績が向上し、末期的心不全の最終的治療として確立している。⁷ 一般に、免疫抑制療法の中心は免疫抑制

剤の投与であり、その管理には免疫抑制剤の血中濃度モニタリングが必須である。しかしながら、免疫抑制剤の血中濃度と免疫抑制の効果の相関においては、個体間のばらつきが大きく、投与量の調節が難しいことが知られている。免疫抑制剤の投与量によって、免疫抑制能が亢進すると感染症や薬剤毒性が認められ、免疫抑制能が減弱すると自己免疫疾患の進行（移植では拒絶反応）のリスクが高まる。したがって、免疫抑制の管理には個々の患者に合わせた免疫能の評価系が求められている。^{2, 8} 心臓移植の拒絶反応の診断法は、いまだに心筋生検が golden standard であり、移植後 1 か月は毎週、3 か月までは 2 週ごと、6 か月までは毎月、2 年は 6 か月ごと、その後は 1-2 年ごとというプロトコルで行われており、心臓穿孔、三尖弁閉鎖不全、不整脈などの合併症もさることながら、精神的負担も大きく、心筋生検に代わる非侵襲的な拒絶反応の診断法の開発が期待されている。また、長期間にわたり免疫抑制薬を投与すると、感染症、腎機能障害、悪性腫瘍、特に移植後リンパ球増殖症 (PTLD) のリスクが増大するため、経時的に目標血中濃度を減少していくプロトコルで免疫抑制薬の減量をするのが、一般的である^{2, 8}しかし、実際には、減量の仕方には個人的ばらつきが多く、個別の適正目標血中濃度を設定できるような指標の開発が期待されている。よって、心臓移植後の個別化治療を行うために、原疾患、基礎疾患、心臓移植前の治療法や様々な遺伝子情報などを考慮した、拒絶反応、感染症などの移植後合併症の予測、予防、治療法を開発する必要がある。^{2, 8}

1.2. 現時点での課題

重症心不全は、心筋炎、心筋梗塞、開心術後などから急性心不全として発症することも、特発性や二次性心筋症にともなう慢性心不全の急性増悪として発症することもあるが、心不全の進行や増悪を規定する分子機序や診断マーカーは知られていない。また拒絶反応を非侵襲的に見出す方法として、単核球中の RNA や血漿中のドナー由来 DNA を検出する検査法が研究されているが、感度・特異度の問題から国内では実用化に至っていない。

重症心不全の増悪の発生機序や拒絶反応の非侵襲的診断法を確立するための一つの手段は、重症心不全患者の心筋組織を病理組織的に解析するとともに、ゲノム・RNA・タンパク・エピゲノム・ミトコンドリアなどの各階層レベルで網羅的解析（多層オミックス解析）を行い、心不全の増悪と一致して特異的に変動する生体分子を同定することである。これらの解析から得られる分子病態情報と患者の臨床情報を詳細に分析することによって、重症心不全増悪の機序や診断マーカーが同定され、新たな予防法や治療法の開発につながる事が期待される。

これまで世界的には、臓器移植後の免疫抑制療法・感染症予防における遺伝子情報を用いた拒絶反応診断法として、血液中の 20 種類の RNA の検出を行って、国際心肺移植学会 (ISHT) grade 2R 以上の細胞性拒絶反応を予測する AlloMap[®]検査や、血漿中のドナー由来の DNA を検出する AlloSure[®]検査があるが、拒絶群と非拒絶群でオーバーラップが大きいこと、移植直後は虚血の変化が識別できないので AlloMap[®]検査は移植直後の有効性が低いなどの問題

があり、国内では保険収載に至っていない。また、CD4 陽性細胞の ATP を測定して細胞性免疫全体の応答能を予測する新しい検査法である ImmuKnow®検査は、拒絶と感染症を鑑別するのに有効であるが、これもオーバーラップが多く、国内では実用化に至っていない。

従って、心臓移植後の、拒絶反応等の合併症の検出や評価においても、同様に多層オミックス解析情報と病理組織学的解析に基づき、拒絶反応等の合併症を的確に反映する生体分子を心筋組織内で見出し、さらに血漿や血球由来の生体分子でそれらと相関するものを見出すことにより、血液で評価可能な拒絶反応マーカーが同定され、非侵襲的に患者の免疫応答を評価あるいは予測する拒絶反応の診断法の開発や治療法の改善などに用いることが可能となると推定される。

また、心臓移植の適応疾患には、遺伝性素因の多い特発性心筋症や、薬剤誘発性、心筋炎後、遺伝性神経筋疾患（ジストロフィなど）、ライソゾーム病（ダノン病など）、代謝性疾患などの遺伝性疾患による二次性心筋症等、患者自身の遺伝子の変異により、免疫応答が異なることも考えられ、移植患者の遺伝学的背景を調べておくことも重要である。

1.3. 本研究に至った経緯

ヒトゲノム配列の発表以来、ゲノム解析のみならず、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオームのレベルで生体分子を網羅的に検索するオミックス解析の技術が進歩を遂げ、疾患病態解明の研究においてもその重要性が認識されてきた。当該施設では長年にわたり多層的オミックス研究を行っており、2010 年からは拡張型心筋症の、2015 年から VAD を要するような重症心不全についてもオミックス研究を行ってきた。その結果、重症心不全で VAD を装着した 50 症例、その中で心臓移植を受けた 15 症例の摘出心筋組織を対象に、1.2 億リードの高密度でトランスクリプトーム (RNA-seq) 解析、85 万サイトの DNA メチル化解析を実施し、データ解析を行った。VAD 装着中に心機能と BNP が改善した症例を回復群とし、非回復群と比較して有意に変動するタンパク質を 29 個同定することができた。また、9 種類の mRNA あるいは 9 箇所のメチル化率、さらに 3 種の遺伝子由来の mRNA、メチル化サイト、タンパク質の情報を用いて、BTR の可能性 (左室径の短縮) を予測できる可能性を示唆してきた。この手法を心筋障害の進行する機序に応用することにより、心筋障害が進行する機序を解明 (心筋障害が進行するのに必要な分子経路の解明) し、心筋障害が進行するかどうかの指標となる診断バイオマーカーを開発できる可能性があると考えられ、さらには心筋障害の進行予防法または治療法を開発することができると考えられる。

一方、遺伝性的心筋症や不整脈などにおいては、遺伝子変異やリスク多型などのゲノム情報は疾患発症の病因や病態の究明に重要であることが知られているが、VAD 装着や心臓移植を受ける患者においても、心筋細胞機能異常を誘導する可能性がある遺伝子異常がかなり高い割合で存在する可能性が示されてきた。ゲノム解析では、遺伝子変異やリスク多型と臨床症状・予後の関係を解明するためには多くの症例が必要であり、そのような多数症例の解析結果が診断確率や精度を向上させる。遺伝子変異や多型には人種や地域による差がみ

られるが、我が国のゲノム医療・精密医療を実現するためには日本人の遺伝子変異・多型のデータを蓄積することが不可欠であり、将来的にはこれらのビッグデータに基づいた患者管理や新たな治療法の確立が可能になる。また、遺伝子変異に基づく新たな薬物治療のターゲット分子を解明するために、患者由来 iPS 心筋細胞や変異を正常にもどした(isogenic control) iPS 心筋細胞を用いた薬理学的研究も可能になる。

さらに、当センター独自の最先端技術として、心筋生検の切片 1 枚から RNA やたんぱく質を解析する技術も開発することに成功した。具体的には、凍結生検組織切片から抽出した total RNA を利用して mRNA-seq 解析可能である技術を開発した。切片の大きさが 1 mm 角以上であれば、切片 1 枚で十分量の total RNA を抽出可能で、遺伝子発現変動を GSEA (Gene Set Enrichment Analysis) したところ、移植片拒絶反応特異的な遺伝子発現変動が観察された。つまり、臨床上の理由で採取された心筋組織の残余組織を用いて、遺伝子情報を多相的オミックス解析できる技術が確立されているので、患者に負担をかけることなく、心筋組織中の RNA とタンパク質の情報と、血液中の遺伝子関連情報を比較することができるようになった。

以上のような本研究グループのこれまでの研究成果と最新の研究情報を踏まえて、本研究では、重症心不全と心筋症患者のゲノム解析を実施するとともに、多様な病態における心筋組織のトランスクリプトーム、プロテオーム、エピゲノム解析を推進して、病態の分子レベルで表現型を分析し、病因の究明、心不全病態や心臓移植時の拒絶反応の発症・増悪の分子機序の解明と分子情報に基づく診断法の樹立が可能になると考えられた。

1.4. 本研究の意義

多層オミックス解析情報に基づき、心筋症や心筋炎などの遺伝的要因や、心筋組織の変性や心臓移植後の拒絶反応などによる心筋障害が発症し進行する分子機序を解明し、その多様な病態を評価可能とする診断バイオマーカーを開発できれば、心筋障害の進行予防法、薬剤開発を含めた治療法の開発が期待できる。遺伝的要因が明らかになれば、発症前の診断が可能になり、患者の遺伝子情報に基づく適切な個別化治療法の実現も期待できるだけでなく、患者や家族が自らの病気を正確に認識し、早期からの予防・治療に取り組むことも可能になる。

また、非侵襲的に患者の免疫応答を評価する検査法を、多層オミックス解析を用いて開発し、その検査法を用いた、免疫抑制療法、感染症並びにその他の合併症の予防・治療法を開発することができれば、心臓移植の遠隔成績をさらに向上させると同時に、侵襲的検査である心筋生検の頻度を減少させることができる。

1.5. 研究実施の妥当性

当センターは国内トップレベルの心臓移植実施機関である。心筋症・心筋炎を含む様々な重症心不全患者が治療を受けている臨床拠点であると同時に、心筋組織の多層オミックス

解析を介して表現型の分子情報を蓄積する基礎研究にも適した研究医療機関である。心臓移植医療においては、拒絶反応に対する治療（免疫抑制）と感染症の対策を適切に診断し、実施する必要がある。一方、心臓移植医療では患者負担の大きい心内膜生検による診断に依存しているのも実情であり、患者負担を軽減する非侵襲的診断法の開発が喫緊の課題である。本研究の遂行によって、心筋組織の多層オミックス解析から新たなバイオマーカーや創薬標的が同定され、それをを用いた診断法・進行予防法・新規薬剤が開発されれば、それらの研究成果を治療にフィードバックできる環境にある。

ゲノム解析では、遺伝子変異やリスク多型と臨床症状・予後の関係を解明するためには多くの症例が必要であり、そのような多数症例の解析結果が診断確率や精度を向上させる。遺伝子変異や多型には人種や地域による差がみられるが、我が国のゲノム医療・精密医療を実現するためには日本人の遺伝子変異・多型のデータを蓄積することが不可欠であり、将来的にはこれらのビッグデータに基づいた患者管理や新たな治療法の確立が可能になる。また、遺伝子変異に基づく新たな薬物治療のターゲット分子を解明するために、患者由来 iPS 心筋細胞や変異を正常にもどした (isogenic control) iPS 心筋細胞を用いた薬理学的研究も可能になる。

一方、ゲノム解析より病因候補遺伝子や候補変異が見いだされても、ゲノム情報と病態の関連が明確でない場合もあり、エピゲノムを含めた様々な分子機序を理解する必要がある。本研究グループでは既に 100 例以上の重症心不全症例について多層オミックス解析情報を集積しており、本研究より得られる解析データとの総合的な解析によってさらに大きく進展すると推測され、将来的にはリスク層別化や先制医療・個別化医療が実現されると期待される。

2. 研究の目的

本研究は以下の 4 項目を目的とする。

- (1) 機械的循環補助、さらには心臓移植などの集学的治療を必要とする重症心不全患者の遺伝子解析を行い、心筋症・心筋炎の関連遺伝子の変異情報を集積する。変異情報と病態との関連が明確でない症例で心筋組織が入手できた場合は、多層オミックス解析を実施し発症及び病態形成機序を解明する。これらを総合して心筋障害進行の予防法と治療法の個別化治療を可能とする。
- (2) 重症心不全患者や心臓移植後に临床上の理由で採取された心筋生検で採取された心筋組織、機械的循環補助装着又は離脱時、心臓移植時および死亡例では剖検時に採取された心筋組織を病理組織学的解析、多層オミックス解析を実施することにより、心不全の増悪と RR の機序を解明し、その診断マーカーを同定し、心筋障害進行の予防法と治療法を開発する。
- (3) 心臓移植の遠隔成績をさらに向上させると同時に、侵襲的検査である心筋生検や冠動

脈造影等の検査の頻度を減少させるために、非侵襲的に患者の免疫応答を評価する検査法を、ゲノム、エピゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム解析（以後、多層オミックス解析）を用いて開発し、その検査法を用いた、免疫抑制療法並びに、感染症やその他の合併症の予防・治療法を開発することである。同時に、心臓移植患者の遺伝子情報を解析することで、患者自体の免疫応答能を予測し、原疾患に応じた、免疫抑制療法並びに、感染症やその他合併症の予防・治療法を開発することである。

- (4) 遺伝子変異が同定された患者から iPS 心筋細胞を作成し多層オミックス解析を行い、健常 iPS 心筋細胞との比較によって遺伝性心筋症の新たな治療ターゲット候補分子を同定し、将来的な薬理学的スクリーニングの基盤を構築する。

3. 研究デザイン

- ① **デザイン** 多施設、前向き/後ろ向き・観察研究、基礎研究
- ② **侵襲の有無** 有（軽微な侵襲のみ）
- ③ **介入の有無** 無
- ④ **試料の利用** 既存及び新規試料を利用
- ⑤ **情報の利用** 既存及び新規情報を利用

4. 研究対象

- (1) 新規症例の研究
 - ① 心筋症、心筋炎の患者及び補助人工心臓や心臓移植医療を要する心不全患者または心臓移植後患者
 - ② 上記患者の家族（二親等まで）

また、家族については以下の状況（i）（ii）に合致する場合に対象とする。

（i） 発端者（上記①当該患者）の遺伝子解析において、重症心不全あるいは心筋症などの発症や病態形成に関連する遺伝子変異が見いだされ、予防医学的観点から、罹患家族に対して早期に情報提供とコンサルテーションを行うことが望ましいと考えられる場合。

（ii） 発端者（上記①当該患者）の遺伝子解析で、変異の可能性が高い極めて稀なバリエーションが見つかったが、発端者（上記①当該患者）のデータだけでは臨床的な意義が明らかでなく（Variant of unknown significance; VUS）、家族の解析結果と臨床像を対比することによって変異としての意義を確認することが不可欠な場合。
 - ③ 当センターで死亡し病理解剖を受けた患者（本研究個別同意の取得の有無を問わない。心疾患以外の原因で死亡した患者を含む）で、ご遺族より国循バイオバンクの同意取得が得られている患者。

(2) 既存の研究検体を用いた研究

「多層的疾患オミックス解析に基づく拡張型心筋症の創薬標的の網羅的探索を目指した研究 (M22-037、以下、『多層疾患オミックス研究』と略す)」、「心筋組織試料の臨床オミックス検査への適用における品質標準化に関する研究 (M28-112)、以下、『臨床オミックス検査研究』と略す」、並びに「左室補助人工心臓装着を要する重症心不全患者を対象とした心不全リバーシブルモデリングの予測法の開発および診断用マーカーの探索・評価に関する研究 (M26-066、以下、『心不全 RR 研究』と略す)」において、それぞれの研究計画の個別同意が取得され、他の医学研究への参加同意が得られている患者、あるいは病理解剖時に遺族より医学研究や遺伝子研究への参加同意が得られている患者、又はそれぞれの研究計画の中でバイオバンク同意の元で研究に組み入れられた患者 (研究個別同意の取得の有無を問わない)。

なお、(1)、(2) 共に心臓移植医療の質の向上の向上を目的とした解析を行う場合には、当該心臓移植を受けた患者の当該ドナーも研究対象とする。

4.1. 選択基準

(1) 新規症例の研究

上記の研究対象者のうち、

- ① については、年齢 16 才以上 85 才以下の患者で本研究への参加に同意された患者。また、16 歳未満の患者においては、本研究で実施される検査が当該患者にとって診断・予後の明確化等の医療上の利益がある場合であって代諾者の同意が得られた患者。
- ② については、発端者 (当該①患者) 本人及びその家族が、遺伝子解析結果の開示を希望し、更に本研究に同意された家族。16 歳未満の方及び高齢者については、本人の同意に加えて代諾者の同意が取得された場合に組み入れとする。
- ③については、病理解剖を受けられた患者で、ご遺族が国循バイオバンクへの参加 (心筋組織の研究利用、遺伝子研究) について同意された方。なお、本研究の個別研究同意を拒否された方は除く。

(2) 既存の研究検体を用いた研究

多層疾患オミックス研究、臨床オミックス検査研究、あるいは心不全 RR 研究への研究協力者については、それぞれの研究計画の研究個別同意が取得され、他の医学研究への参加同意が得られている患者、あるいは病理解剖時に遺族より医学研究や遺伝子研究への参加同意が得られている患者、又はそれぞれの研究計画の中でバイオバンク同意の元で研究に組み入れられた患者 (研究個別同意の取得の有無を問わない)。

なお、心臓移植医療の質の向上の向上を目的とした解析を行う場合には、当該心臓移植を受けた患者の当該ドナーを含む。

4.2. 除外基準

- (1) 本研究への協力をしなかった方
- (2) 担当医により本研究への参入が不適切と判断された方
- (3) 本研究への参加を拒否した方

4.3. 研究対象者の抽出方法

- (1) 新規症例の研究
 - ① 当センター及び共同研究機関において外来又は入院により受診した患者から研究対象の選択基準に合致し、除外基準を満たさない患者を抽出対象とする。
 - ② ①の患者の家族から研究対象の選択基準に合致し、除外基準を満たさない方を抽出対象とする。
 - ③ 当センターで死亡し病理解剖を受けた患者（本研究個別同意の取得の有無を問わない。心疾患以外の原因で死亡した患者を含む）から研究対象の選択基準に合致し、除外基準を満たさない患者を抽出対象とする。
- (2) 既存の研究検体を用いた研究
多層疾患オミックス研究、臨床オミックス検査研究、あるいは心不全 RR 研究への研究協力者情報から研究対象の選択基準に合致し、除外基準を満たさない患者を抽出対象とする。

5. 目標症例数およびその設定根拠

目標症例数：1660 例、うち国循センター1360 例

目標症例数の設定根拠

- (1) 新規症例の研究
当センター：900 症例（5 年間）
他施設：300 症例（5 年間）
当センターにおける年間の心臓移植は約 20 例・VAD 装着は約 70 例で、遺伝子解析の対象となる家族の方が同程度（90 例）と考え、5 年間の研究期間内で約 900 症例と推定し設定した。また、当センター以外の国内の共同研究機関では、研究対象①、②に合致する研究対象者は年間 30 名、遺伝子変異が推定される患者の家族が年間 30 名、合計で 5 年間の研究期間で、300 例の症例登録を行うことを推定して算出した。
- (2) 既存の研究検体を利用した研究
これまでの多層疾患オミックス研究、臨床オミックス検査研究、及び心不全 RR 研究に

において、重症心不全患者 144 症例と対照症例 16 症例が研究に組み入れられており、同症例の研究検体を本研究に利用する。

そのうち、約 300 例についてはバイオバンクが保有する全ゲノム情報を利用する。

上記を併せて、全体で既収集済み分も含めて 1360 症例、新規登録分で 1200 例を、5 年間の研究期間で登録可能と推定した。

6. アウトカム

6.1. 主要アウトカム

(1) 心筋症、心筋炎の患者及び補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全患者を対象とした解析では、以下のアウトカムとオミックス解析結果との関連性を評価し、それぞれを予測するバイオマーカーを同定すること。

- ・心不全の予後（死亡）
- ・心不全の合併症（心不全入院、不整脈発症、右心不全、心血管合併症）
- ・心機能の改善（リバーズリモデリング）

(2) 心臓移植後患者を対象とした解析では以下のアウトカムとオミックス解析結果との関連性を評価し、それぞれを予測するバイオマーカーを同定すること。また、それらを用いた予後及び合併症発症の予測モデルを作成すること。

- ・心臓移植後予後（死亡）
- ・拒絶反応（細胞性拒絶、抗体関連拒絶）
- ・感染症発症
- ・悪性腫瘍の発症
- ・移植後の冠動脈病変

なお、本研究は上記について多層オミックス解析を用いて探索的に検討することも目的とする。本研究によって探索的に目指す成果は以下である。

- (1) 心筋症、心筋炎及びそれに伴う補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全患者又は心臓移植後患者の遺伝子解析情報が集積でき、心筋症・心筋炎関連遺伝子の変異情報により診断が可能な症例については、治療にフィードバックする。変異情報と病態との関連が明確でない症例では、発症及び病態形成機序を明らかにする。
- (2) 心臓移植後患者の免疫応答を、血液を用いて非侵襲的に評価、予想する拒絶反応や感染症及びその他の合併症の診断法を開発する。
- (3) これらの情報を総合して、重症心不全に対する個別化医療を可能とする。
- (4) 患者由来 iPS 心筋細胞を用いた遺伝性心筋症に対する新たな治療法開発の基盤を構築する。

6.2. 副次アウトカム

- (1) 心筋症、心筋炎、補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全患者及び心臓移植後患者の遺伝子解析情報に関するインハウスデータベースを構築し、遺伝子診断を国内より広く受け付けて実施可能とする。
- (2) 変異を有する方の iPS 心筋細胞と健常 iPS 心筋細胞の研究から、疾患遺伝子特異的な分子病態が解明する。
- (3) 心不全による心筋障害進行の予防法と治療法の開発に向けた有効なオミックス情報基盤が構築でき、予防法と治療法の開発に広範な研究を実施する。
- (4) 心臓移植患者の拒絶反応の制御、感染症及び合併症治療に対して診断用バイオマーカーを用いた治療ガイドラインを策定する。
- (5) 研究成果に基づき、心不全治療に関する新たな基礎研究を立案する。

7. 研究の実施手順

7.1. 研究対象者からの同意の取得

- (1) 新規症例の研究：
 - ① 当センター及び共同研究機関を受診した、心筋症、心筋炎の患者及び補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全患者、又は植込み型補助人工心臓装着後の患者及び心臓移植後の患者に対して、本研究の研究目的、内容や方法に関する説明を研究説明同意文書（別添①又は別添②）を用いて行い、同意を取得する（個別研究同意）。また、原則として同時にバイオバンク説明同意文書（別添③）を用いて、国循バイオバンクの説明をし、バイオバンクへの参加についても同意を取得する。（ドナー情報の利用については11.2【3】を参照。）
 - ② 上記の患者のうち以下の（i）または（ii）の事例で、発端者（上記①当該患者）および家族が遺伝子解析の結果開示を希望する場合には、二親等内の家族に対しても本研究の目的・内容・方法を説明し同意を取得する（個別研究同意）。また、原則として同時にバイオバンク説明同意文書を用いて、国循バイオバンクの説明をし、バイオバンクへの参加についても同意を取得する。本研究に同意した場合、発端者（上記当該患者）と同じ遺伝子異常があるかどうかの解析を行う。
 - (i) 発端者（上記①当該患者）の遺伝子解析において、心筋症、心筋炎の患者及び補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全の発症や病態形成に関連する遺伝子変異が見いだされ、予防医学的観点から、罹患の可能性のある家族に対して早期に情報提供とコンサルテーションを行うことが望ましいと考えられる場合。
 - (ii) 発端者（上記①当該患者）の遺伝子解析で、変異の可能性が高い極めて稀なバリエーションが見つかったが、発端者（上記①当該患者）のデータだけでは臨床的な意義

が明らかでなく (Variant of unknown significance; VUS)、家族の解析結果と臨床像を対比することによって変異としての意義を確認することが不可欠な場合。

なお、当センター以外の共同研究機関を受診して研究に参加する研究対象者についても、可能であれば、国循バイオバンクの同意も取得に努める。

- ③ 病理解剖を受けられた患者については、ご遺族に対して国循バイオバンクへの参加(心筋組織の研究利用、遺伝子研究)に関する説明を行い、同意を取得する。

(2) 既存の研究検体を利用する研究：

①多層疾患オミックス研究又は心不全 RR 研究においては、他の医学研究への二次利用について同意を取得している患者、②臨床オミックス検査研究においては、バイオバンクの研究同意を取得している患者、③病理解剖を受けた患者については、遺族より医学研究や遺伝子研究への参加同意を取得している患者について、11.2.の同意取得に関する手続きにしたがって研究の同意を取得する。(ドナー情報の利用については 11.2【3】を参照。)

(3) iPS 心筋細胞：

対象患者は本研究の患者ではなく、研究分担者の京都大学 iPS 細胞研究所の吉田善紀が、ラミンまたはタイチンの遺伝子変異を有する自らの遺伝性心筋症の患者から同意を得て iPS 細胞を樹立する。吉田が iPS 細胞を心筋細胞に誘導した心筋胚様体を当センターの創薬オミックス解析センター(ORC:蒔田)に輸送する。吉田は iPS 研究に関して京都大学倫理委員会の承認 (G0259-28,R0091-7 実施責任者 中畑 龍俊)を得ており、蒔田を分担研究者として追加修正申請をする予定である。同意取得、iPS の樹立、ゲノム編集による変異の導入、正常 iPS (吉田がすでに 2 系統樹立済) への変異導入、iPS の心筋への誘導すべて吉田が担当する。

7.2. 組織や血液試料の収集

(1) 新規症例の検体：

①心筋炎、心筋症の患者については、診断時(同意取得時)と必要に応じて実施した心筋生検の際に検体収集する。診断時(同意取得時)には、心筋生検で採取された病理診断後の残余心筋生検試料及び、その心筋生検時に血液検体 25mL を採取する(DNA 調整用 EDTA 採血 5mL×2 本、RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用に 5mL、血漿用に 5mL)。また、その後に临床上の必要に応じて実施した心筋生検で採取された病理診断後の残余心筋生検試料を研究に利用し、追加の心筋生検時には、診断時(同意取得時)の DNA 調整用の採血(5mL×2 本)は行わず、それ以外の 15mL を採取する(RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用に 5mL、血漿用に 5mL)。

なお、診断時(同意取得時)に、既にバイオバンク同意が得られており、バイオバンク採血が取得されている研究対象者については、ゲノム DNA 2 μ g の払い出しを受けること

として、診断時（同意取得時）の DNA 調整用の 5mL×2 本に代用する。

また、遺伝子検査のみを行う場合には、EDTA 血液検体 10mL(5mL×2 本)を採取する。

対象疾患	診断時（同意取得時）	必要に応じて実施する心筋生検時
心筋症（軽症） 心筋炎（VAD 装着を想定）	血液検体 25mL（バイオバンク登録用採血が実施される場合は 15mL）	血液検体 15mL
	心筋生検検体	心筋生検検体
心筋症（遺伝子検査のみを対象とした場合）	血液検体 10mL	—

②補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全の患者及び心臓移植を受ける患者については、診断時又は同意取得時、補助人工心臓装着時、術後 1、3、6 か月及び心臓移植時に検体を収集する。診断時又は同意取得時には、心筋生検で採取された病理診断後の残余心筋生検試料及び、その心筋生検時に血液検体 25mL を採取する(DNA 調整用 EDTA 採血 5mL×2 本、RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用に 5mL、血漿用に 5mL)。補助人工心臓装着時には、左室心尖部から採取した心筋組織のうち病理診断に用いた残余試料より 200 mg 程度を採取する。1 細胞 RNA 解析は、心筋組織をクライオチューブに保存液 (BANKER、日本ジェネティクス) 1ml に浸漬し、緩徐に凍結させる。同時に、診断時又は同意取得時の DNA 調整用の採血 (5mL×2 本) は行わず、それ以外の 15mL を採取する (RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用に 5mL、血漿用に 5mL)。その後、手術 1、3、6 カ月後に血液検体は、15mL を採取する (RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用に 5mL、血漿用に 5mL)。そして、心臓移植時には、摘出心筋組織から採取した心筋組織のうち病理診断に用いた残余試料より 200mg 程度を採取し、1 細胞 RNA 解析は、心筋組織をクライオチューブに保存液 (BANKER、日本ジェネティクス) 1ml に浸漬し、緩徐に凍結させる。同時に、血液検体は、15mL を採取する (RNA 解析用に 5mL (PAXgeneRNA 採血管)、血清用 5mL、血漿用に 5mL)。

また、同意取得時に既に植込み型補助人工心臓が装着されている患者又は既に心臓移植を受けている患者については、前向きに収集する下記の検体収集に加えて、診断時の心筋生検検体、補助人工心臓装着時の左室心尖部心筋組織及び摘出心筋組織検体の病理診断後の残余検体について、既存の試料として本研究に利用することを説明して同意を取得する。

なお、診断時又は同意取得時に、既にバイオバンク同意が得られており、バイオバンク採血が取得されている研究対象者については、ゲノム DNA $2\mu\text{g}$ の払い出しを受けることとして、診断時又は同意取得時の DNA 調整用の 5mL \times 2 本に代用する。

対象疾患	診断時（同意取得時）	補助人工心臓装着時及び離脱時	術後 1, 3, 6 か月	心臓移植時
補助人工心臓や心臓移植医療を要する重症心不全	血液検体 25mL(バイオバンク登録用採血が実施される場合は 15mL)	血液検体 15mL	血液検体 15mL	血液検体 15mL
	心筋生検検体	左室心尖部心筋組織		摘出心心筋組織

③心臓移植後の症例については、心臓移植後の定期的なフォローアップ（移植後 1, 2, 3, 5, 11 週目, 4.5, 6 か月目, 以降 6 か月毎）に収集される心筋組織検体及び血液検体 15mL を収集する（RNA 解析用に 5mL（PAXgeneRNA 採血管）及び血清用に 5mL、血漿用に 5mL）。拒絶反応等の合併症を呈した症例については、その診断の際に行った心筋生検時の残余心筋生検試料（5 ミクロン切片）を解析に利用し、生検時に 25mL の血液検体を収集する（DNA 調整用 EDTA 採血 5mL \times 2 本、RNA 解析用に 5mL、血清用に 5mL、血漿用に 5mL）。心筋生検試料については、合併症の治療後や改善後等の 2 時点以上の拒絶や合併症の程度の異なる病態時の病理診断後の残余心筋生検試料についてオミックス解析する。

なお、診断時又は同意取得時に、既にバイオバンク同意が得られており、バイオバンク採血が取得されている研究対象者については、ゲノム DNA $2\mu\text{g}$ の払い出しを受けることとして、診断時又は同意取得時の DNA 調整用の 5mL \times 2 本に代用する。

対象疾患	診断時（同意取得時）合併症検出時	心臓移植後の定期検査時（1, 2, 3, 5, 11 週目, 4.5, 6 か月目, 以降 6 か月毎）	合併症の治療後
心臓移植後患者	血液検体 25mL(バイオバンク登録用採血が実施される場合は 15mL)	血液検体 15mL	血液検体 15mL

	心筋生検検体	心筋生検検体	心筋生検検体
--	--------	--------	--------

後ろ向きの研究として、拒絶反応などの合併症が生じた心臓移植後の患者では、既にこれまでの診療で収集されている病理診断後の残余心筋生検試料も研究に用いる。病態が改善しているときの心筋生検試料を対照としてオミックス解析結果の比較を行い、合併症に関連する分子を同定する。

(2) 既存の研究検体：

3つの先行研究、多層疾患オミックス研究・臨床オミックス検査研究・心不全 RR 研究で収集され、バイオバンクに寄託又は保管された心臓移植時・補助人工心臓装着時の心筋組織または剖検時の摘出心組織の残余試料 (200mg 程度) をバイオバンクより提供を受けて使用する。バイオバンク同意が得られている症例は、ゲノム DNA 2 μ g の払い出しを受ける。

(3) 上記(1)～(2)の研究対象者で、心筋症や心筋炎の関連遺伝子の解析を行い疾患の発症や病態に関わる遺伝子の変異が見いだされ、家族がその開示を希望し、更に本研究への参加の同意を取得した場合には、血液検体を 10mL 収集する (DNA 調整用 EDTA 採血 5mL \times 2 本)。

(4) iPS 心筋細胞：分担研究者吉田善紀が京大 iPS 細胞研究所において、ラミンまたはタイチンの遺伝子変異を有する遺伝性心筋症の患者 (本研究とは関係のない患者) から iPS 心筋細胞を作成する。樹立された iPS 心筋細胞は個人情報情報を削除し、吉田から当センター ORC (蒔田) に輸送され、オミックス解析・機能解析に用いる。

(5) バイオバンク保有の既存の解析データ：これまでにバイオバンクに登録された本研究の対象となる重症心不全患者の全ゲノム解析データについて、FASTQ、CRAM、GVCF、VCF ファイルの払い出しを受けてゲノム解析に用いる。国循バイオバンクから患者カルテ番号 (ID) で払い出しを受け、研究代表者がその ID を遺伝子解析前までに匿名化する。匿名化の対応表は、当センター「研究等における個人情報管理に関する規程」に基づき、解析前までに研究等個人情報管理室へ提出する。それまでは研究解析責任者の蒔田直昌及び研究分担者新谷泰範及び渡邊琢也の責任の下、個人情報管理者として ORC と移植医療部が共有するセキュリティーの高いサーバーや PC (詳細は下記、13. 試料・情報の保管参照) に保管する。なお、患者 ID でゲノム DNA 又はゲノム解析データの払い出しを受ける理由は、ゲノム解析ではしばしば複数の候補バリエーションが出て、その中から病的変異を特定するためには、各種臨床データとの照合が必要になることが多いためである。

7.3. ゲノム解析の実施手順

- (1) バイオバンクから払い出し又は直接臨床現場の研究分担者から受けた DNA 又は DNA 調整用血液検体を用いて、174 個の遺伝性心疾患関連遺伝子パネル(TruSight Cardio; Illumina 社)を用いて、ORC にて次世代シーケンサーで解析する。変異はサンガー法で確認する。
- (2) 必要に応じて、エクソーム解析・全ゲノムシーケンス（バイオバンクより払出しを受けた全ゲノム情報を含む）で遺伝子の検索範囲を拡大する。遺伝子解析は、当センター、長崎大学、東京医科歯科大または業務委託(タカラバイオなど)で行い、情報解析は当センターと長崎大学や東京医科歯科大や阪大との共同研究で行う（研究体制参照）。
- (3) ゲノムワイド関連解析(GWAS)の対象となる疾患には GWAS を行う。ウェット実験は ORC または東京医科歯科大学で行い、情報解析は東京医科歯科大・長崎大学・阪大との共同研究で行う。個別の SNP のタイピングには TaqMan 法を用いることがある。
- (4) 遺伝情報と臨床情報を収集し(別添④登録用紙参照)、多施設間で各遺伝子型の臨床的特徴を検討する。

7.4. ゲノム以外のオミックス解析等の実施手順

- (1) RNA 解析(RNA-seq)
 - ①対象：心筋組織の解析については、十分量の心筋組織が利用可能な症例。
 - ②心筋組織より total RNA 調製しライブラリーを作成し、次世代シーケンサーで配列解析を行い、mRNA の発現量を網羅的に評価する。
 - ③超微小心筋組織の解析：心内膜生検組織のように超微小組織切片しか得られない時は 3'末端 mRNA-seq 用ライブラリーを作成し、同様に RNA-seq を行う。
 - ④RNA-seq を阪大微研に依頼する場合は、心筋組織または組織から抽出した RNA を提供して、①②の手順で解析する。
 - ⑤末梢血 RNA 解析。心筋の RNA-seq で見られる変動分子が末梢血でも反映されるか否かを解析するために、RNA 解析用に PAXgeneRNA 採血管 5mL で採血後、QIAamp RNA Blood Mini Kit で白血球 RNA を抽出し、逆転写後、TaqMan 法またはマイクロアレイを用いて RNA 発現解析行う。
 - ⑥1 細胞 RNA 解析の実施手順
1 細胞 RNA 解析は、心筋組織をクライオチューブに保存液（BAMBANKER、日本ジェネテイクス）1ml に浸漬し、Freezing Container（Thermo Scientific）に入れて-80 度デュープフリーザーで緩徐に凍結させた後に-80 度で保存する。解析時にはチューブには匿名化 ID を記載したのち、解析まで研究所 C 棟 6 階分子薬理部の鍵のかかるフリーザーにて保管。組織融解、ホモジナイズ後、核染色、フローサイトメトリー（FACS ARIA

Fusion) を用いて核を単離する。ライブラリ作成、シーケンス解析は阪大微研で行う。

(2) プロテオーム解析

①対象：十分量の心筋組織が利用可能な症例。

②凍結状態で組織を粉砕化し加熱変性後、トリプシンなどの酵素で消化、ナノ液体クロマトグラフィー(LC)および高精度の質量分析計でタンパク質を比較定量する。

③超微小心筋組織の解析：超低速ナノ LC と高感度質量分析計を組み合わせた超高感度分析システムで解析を行う。

(3) DNA メチル化解析

凍結状態で組織を粉砕化後、2 本鎖 DNA を調整し Infinium Methylationepic Beadchip (イルミナ社) と専用ソフトウェア用いて定量化し、メチル化率の変動を解析する。

(4) 心臓移植後の拒絶反応及び合併症のバイオマーカー探索

①移植後 1, 2, 3, 5, 11 週目, 4.5, 6 カ月目, 以降 6 か月毎に収集した心内膜生検組織のうち、拒絶反応及び合併症を生じた組織とその対照となる組織について、多層オミックス解析を行い、病理組織学的な拒絶反応の強度、拒絶反応や感染症及び合併症に関する評価に相関する分子を選定する。その中で血液中(血球、細胞外小胞を含む)に存在し、心筋組織の拒絶反応や感染症及び合併症の重症度に相関するバイオマーカーを見出す。
②収集した血液のマーカー分子濃度を測定し、拒絶反応や感染症及び合併症の重症度と相関する分子を見出す。他の移植症例の血液を用いて検証を行う。

(5) 心筋症、心筋炎の方の病態に関わるバイオマーカー探索

診断時に採取された心筋組織検体について多層オミックス解析を行い、心機能変化(回復又は非回復)や病態に関連する分子を選定する。

(6) 心不全の増悪や VAD 装着によるリバースリモデリング機序の解明

①VAD 装着時摘出心筋組織および心臓移植術を受けた症例の摘出心筋組織について多層オミックス解析を実施する。回復症例(リバースリモデリング)と非回復症例、重症例と軽症例などの解析データの比較より、心不全の増悪や VAD 装着による回復で誘導される分子機序を解明し、リバースリモデリングの機序を明らかにする。

②心不全の増悪やリバースリモデリングを評価可能なバイオマーカーを見出し、診断法に展開する。VAD 装着時、心臓移植時の摘出心筋組織の解析データの比較などより、VAD 装着による心機能の回復予測法を開発し、検証する。

(7) 解析担当：RNA-seq、プロテオーム、DNA メチル化解析、バイオマーカー探索は創薬オミックス解析センター、または分子薬理部で行う。RNA-seq のサンプル数が特に多い場合、解析用のサンプルを創薬オミックス解析センターで作成後、阪大微研の次世代シーケンサーを使って解析する。また 1 細胞 RNA 発現解析用サンプルは droplet への 1 細胞分取からライブラリ作成、次世代シーケンサー解析を阪大微研で行う。

7.5. iPS 心筋細胞の作成・解析実施手順

- (1) iPS 心筋細胞の作製: 分担研究者である吉田善紀が、京都大学倫理委員会の承認 (G0259-28,R0091-7 実施責任者 中畑 龍俊)のもと、ラミンまたはタイチン変異を有する自らの遺伝性不整脈患者 (本研究の登録患者以外) から同意を取得し、Hatani らの方法 (Hatani et al. Methods Mol Biol.1816:79,2018)方法で iPS 細胞を樹立する。
- (2) 分担研究者の吉田善紀がゲノム編集(CRISPR/Cas9 法)を用いて、患者の変異を正常化した isogenic control iPS を作成する。または健常人由来 iPS にラミンまたはタイチン変異をゲノム編集で導入する。これらの iPS 細胞を心筋胚様体に分化させ、匿名化後、当センターORC の蒔田に輸送する。
- (3) 多層オミックス解析研究：正常・変異 iPS 心筋細胞を用いて当センターORC で多層オミックス解析を行う。必要に応じて電気生理学的解析・薬理的解析も行う。
- (4) iPS 心筋細胞は実験を行うたびに吉田が iPS 細胞から誘導して作成する。iPS 心筋細胞には増殖性はないが、実験後に残余細胞がある場合は、オートクレーブ処理後破棄する。

7.6. 公的データベース (MGeND ヒトゲノムデータベース) への登録の手順

MGeND は、日本人の臨床・遺伝子変異データを共有することによって、疾患の発症や進展のメカニズム解明や治療の効果の判定に利用し、正確かつ高度な個別化医療の実現を目指す、我が国の公共データベースである。定型のエクセルファイル (別添⑧) に匿名化された必要事項を記入し、管理責任者 (京都大学大学院 医学研究科 ビッグデータ医科学分野 教授奥野恭史) 宛にパスワードをつけて電子メールで転送する。管理責任者がデータベースに登録する。

7.7. 心臓移植後の予後や合併症の発症に関する予後予測モデルの構築

下記「8. 観察項目」の臨床情報とゲノム、オミックス解析情報等の遺伝子関連情報を因子として機械学習を用いて予後予測モデルを構築する。統計等の手法としては、Latent Mixed model 等による数理モデルベースの予測及び変数選択後に、Random forest 等に勾配ブースティング手法 (Xgboost 等を利用)、遺伝的アルゴリズムなどのアンサンブル学習を利用するなどの機械学習を使用した手法を用いる。

8. 観察項目

本研究に組み入れられた研究対象者について以下の臨床データを収集する。

- (1) 新規症例では、①心筋炎、心筋症の患者：診断時又は同意取得時と追加の検体収集時、②補助人工心臓や心臓移植を要する重症心不全の患者、心臓移植を受ける患者並びに既に植込み型補助人工心臓を装着している患者：診断時又は同意取得時、補助人工心臓装着時、

術後 1、3、6 か月後及び心臓移植時、③心臓移植後患者：本研究の研究同意取得時及び心臓移植後の定期的なフォローアップ（移植後 1, 2, 3, 5, 11 週目, 4.5, 6 カ月目, 以降 6 か月毎）時に以下の臨床データを収集する。3 つの先行研究である多層疾患オミックス研究・臨床オミックス検査研究・心不全 RR 研究については、同意取得時、検体取得時及び病理解剖時の以下の臨床データを収集する。

- a. 患者情報：生年月日、診断時年齢、手術日、検体採取時（手術時）年齢、性別、居住国・国籍、身長、体重、心臓基礎疾患名、既往歴（高血圧、高脂血症、糖尿病、脳血管障害、腎機能障害、代謝性疾患、神経筋疾患）、心停止歴、失神歴、家族歴、NYHA 分類、生活習慣（喫煙歴、飲酒歴）、合併疾患、治療内容（ACE 阻害薬使用、 β 遮断薬使用、ミネラルコルチコイド拮抗薬使用、HMG-CoA 阻害薬、静注強心薬使用、機械的補助循環（大動脈内バルーンポンピング、経皮的心肺補助、Impella）使用とその機種・補助期間、抗凝固薬療法、ペースメーカー、心臓再同期療法（CRT-D）
- b. 検査所見：定期的検査所見（血圧、脈拍、胸部レントゲン、心電図、心臓超音波検査（左室駆出率、左室壁厚（心室中隔、後壁）、僧房弁・大動脈・三尖弁の逆流程度、大動脈弁の血流量、経三尖弁圧較差（TRPG）、心臓カテーテル検査（心拍出量、心係数、肺動脈圧、肺血管抵抗、肺動脈楔入圧）、心筋シンチ検査、病理学的所見、血液検査データ（血算、肝酵素（AST, ALT, ALP, γ -GTP）、血清ビリルビン、腎機能（BUN, Cr, eGFR）、総蛋白、アルブミン、ChE、PT-INR、BNP、CRP、CK-MB、トロポニン T）、心臓 MRI
- c. 検体情報：採取年月・日時、凍結・保存方法、摘出後凍結までの処理と時間
- d. 心臓移植後の場合には、さらに以下の情報を収集する

① レシピエントの情報

心臓移植日時、体重、身長、BMI、各種ウイルス感染症、移植前の補助人工心臓装着の既往の有無・種類、補助人工心臓に起因した感染症の有無、抗 HLA 抗体の有無・種類、心臓移植後に用いられている免疫抑制薬の種類（バキリキシマブ、シクロスポリン、タクロリムス、エベロリムス、リツキシマブ、サイモグロブリン）非抗 HLA 抗体の有無・種類

② ドナーの情報

年齢、性別、血液型、身長、体重、HLA 抗原、外傷の有無、心肺停止の有無、心肺停止の時間、既往歴（悪性腫瘍、心臓疾患、肺疾患、肝臓疾患、腎臓疾患、糖尿病、その他）、脳死の原因、服薬状況、薬物依存の有無、手術歴、喫煙歴、飲酒歴、摘出条件、承諾臓器、脈拍、体温、血圧、昇圧剤の有無、心臓移植時の心虚血時間、ドナー管理経過中の以下の検査結果：一般検血（WBC、RBC、Hb、Ht、Plt、CRP）、動脈血ガス分析（FiO₂、pH、PaCO₂、PaO₂、SaO₂、HCO₃、BE）、腎機能（入院時尿量・BUN・Cr、現在尿量・BUN・Cr）、肝機能（GOT、GPT、ALP、LDH、ChE、 γ -GTP、TP、T-Bil、D-Bil）、電解質（Na、K、Cl）、PT、APTT、FDP、CPK、CPK-MB、アミラーゼ、リパーゼ、Mg、ヘパプラスチンテスト、HbA1c、HBs 抗原、HCV 抗体、

HIV 抗体、HTLV-1、HBc 抗体、CMV、EBV、血液培養（細菌・真菌）ドナー管理経過中の以下の血行動態：血圧、心拍数、CVP、PAP、PCWP、体温、尿量、電解質、水分出納、抗菌薬、昇圧薬、胸部 12 誘導心電図、心移植前の心エコー（IVSd, LVPWD, LVDD, LVDs, %FS, EF, AoD, LADs, LAV, LAVI, RVDd, IVC, TAPSE, TMF, TDI, Act, RVET, LVOT flow, CO, CI, 弁機能評価：MR, TR, AR, PR, MS, AS grade）、胸部レントゲン検査、冠動脈造影、胸部 CT、腹部 CT、その他の臓器 DATA

③ 拒絶・感染症の治療

- 1) 心筋生検の病理組織学的検査、細胞性拒絶反応、抗体関連拒絶反応の有無
- 2) 治療法（ステロイドパルス、免疫抑制薬の増量または変更、サイモグロブリン、リツキシマブ、血漿交換）

(2) 遺伝性の発症並びに病態形成に関わる遺伝子変異が推定される患者の家族については、別添④心筋症登録用紙を使用して臨床データを収集する。

(3) 共同研究機関で遺伝子検査のみを実施する研究対象者については、別添④心筋症登録用紙を使用して臨床データを収集する。

なお、提供された診療情報はデータセットを作成した上で、個人情報管理責任者に匿名化作業を依頼し、試料・情報の匿名化を行ったうえで、国循バイオバンクに提供し、情報を研究に利用する。

9. 主な解析方法

各疾患について遺伝子型と表現型・予後との関係を単変量・多変量解析、Kaplan-Meier 生存曲線などを用いて解析する。疾患特異的な分子機序の解明には、Gene Ontology (GO)解析、Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)解析、パスウェイ解析などを行う。変動分子と各種の臨床情報の解析には、単変量・多変量解析など適切な統計解析をおこない、マーカー分子の感度、特異性、有用性等を検証する。iPS 心筋細胞については多層オミックス解析のほか、電気生理学的・薬理的検討も行う。

予後予測モデルの構築については、Latent Mixed model 等による数理モデルベースの予測及び変数選択後に、Random forest 等に勾配ブースティング手法 (Xgboost 等を利用)、遺伝的アルゴリズムなどのアンサンブル学習を利用するなどの機械学習を使用した手法を用いる。

10. 研究期間

予定研究期間：研究許可日～2027年3月31日

うち症例登録期間：研究許可日～2025年12月31日

- ①バイオバンク同意も取得している患者：国循バイオバンクの事業計画書に従い、情報公開文書(別添⑤)を、国循センター公式サイト「実施中の臨床研究」のページ及びバイオバンクのページに公開する。
- ②バイオバンク同意を取得していない患者：あらためて本研究への参加について研究説明同意文書(別添①-1 又は別添②)を用いて説明し同意を取得する。(詳細は 11.3 を参照)。

<2> 既に亡くなっている患者及び連絡が取れない患者

- ①バイオバンク同意も取得している患者：国循バイオバンクの事業計画書に従い、情報公開文書(別添⑤)を、国循センター公式サイト「実施中の臨床研究」のページ及びバイオバンクのページに公開する。
- ②バイオバンク同意を取得していない患者：ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針の 14 のウに該当するために、当該既存試料・情報を利用する。

同意取得が困難な理由：死亡及び転居 (詳細は下記記載)

同意を取得した研究の課題名：

- 1：多層的疾患オミックス解析に基づく拡張型心筋症の創薬標的の網羅的探索を目指した研究 (M22-037)
- 2：心筋組織試料の臨床オミックス検査への適用における品質標準化に関する研究 (M28-112)
- 3：左室補助人工心臓装着を要する重症心不全患者を対象とした心不全リバースリモデリングの予測法の開発および診断用マーカーの探索・評価に関する研究 (M26-066)

①同意取得が困難な理由：死亡例については遺族を探して再度の同意取得は困難と判断される。また、連絡がとれないことより再度の同意取得は困難と判断される。

②同意内容：各研究及び病理解剖時の同意説明文書(別添⑨～⑪)により、「他の医学的研究のために使用してよい」について同意を取得している。

③情報公開及び通知：本研究は上記の理由により同意の取得はしないが、以下の方法により研究に関する情報を遺族又は研究対象者に公開し、容易に知り得る状態に置くことで、研究が実施されることについて拒否できる機会を保障する。センター公式サイト「実施中の臨床研究」ページの中央部門と ORC のページに情報公開文書(別添⑥)をそれぞれ公開する。センター公式サイト：<http://www.ncvc.go.jp/research/clinical-research/>

④公開方法が妥当である根拠：当センターホームページの中で、表紙のタブの「循環器病の研究推進」をドラッグして「実施中の臨床研究」に容易に到達でき、且つ、ORC及び中央部門のボタンがあり、容易にアクセスできる。オプトアウト文書の掲載を確認後、対象者の試料・情報の取得を開始する。

(2) 高齢・小児等よりインフォームド・コンセントを得る場合

本研究において、高齢者及び家族の場合には16歳未満の小児も対象とする。将来的に研究対象者自身の疾患の発症の早期発見や早期介入につながる可能性があり、研究を実施する重要性が高いと考えられ、その人からの試料の提供を受けなければ研究が成り立たないと考えられるために、代諾者による同意及びその撤回を許容する。代諾者は、研究への参加について適切に判断・同意ができない者の場合は、配偶者及びそれに類する者、成人した子供、同居の親族、16歳未満の場合は親又は親権者とする。また、その際、16歳未満の研究対象者本人へは理解力に応じたアセント文書（インフォームド・アセント別添②）を作成することにより本研究への参加及び参加の取り止めに対する理解を得ることに努め、賛意（インフォームド・アセント）を得るようにする。

(3) 共同研究機関において患者本人及び家族より文書でインフォームド・コンセントを受け
る場合共同研究機関の研究責任者または分担者が外部医療機関用説明文書（別添①—②）
を用いて説明し、十分な時間を設け、自由意思による研究参加への同意を本人もしくは
代諾者から文書により受ける。

(4) iPS細胞の樹立とiPS細胞を用いた研究のインフォームド・コンセント

分担研究者吉田善紀が京都大学倫理委員会の承認（G0259-28, R0091-7 実施責任者
中畑 龍俊）のもとに、京都大学またはその関連病院において患者から同意を取得する
（新規に作成するものとすでに作成済のものがある）。本研究の登録患者からはiPSを
作成しない。

【3】ドナー情報の利用について

本研究で使用される心臓移植後患者に関わる診療情報には、公益社団法人日本臓器移植ネットワーク（以下、JOT）から提供されたドナー情報も含まれる。当該ドナー情報については、本研究課題の実施について当センターの研究倫理審査委員会の承認を得た後に、ドナー情報の本研究での利用についてJOTに申請し、JOTの研究倫理委員会の承認を得た後に研究利用する（参考別添①：臓器移植に関する臓器提供者（ドナー）データ利用申請書及び参考別添②：臓器提供者（ドナー）情報の研究利用に関する手続きの流れ、参照）。臓器移植に関わる法令（「臓器移植に関する法律」及びそのガイドライン）では、

移植医療の性格に合わせて臓器提供者に関する情報と移植患者に関する情報が相互に伝わることをないように注意を払うこととされている。したがって、当センターではドナーの遺族に直接、本研究への参加について同意を得ることはできず、ドナーの遺族に通知することも困難である。そこで、当センターでドナー遺族宛にドナーの診療情報を利用した本研究を行っている旨を国立循環器病研究センター公式サイト「実施中の臨床研究」のページ及び JOT のホームページ (<https://www.jotnw.or.jp/>) に公開し、オプトアウトの機会を設ける。

11.3. 同意を受けるための説明事項

【1】新規症例について

- ① 試料・情報の提供は任意であり、提供の依頼を受けた人は、提供に同意しないことにより、不利益な対応をうけないこと。
- ② 提供者又は代諾者等は、自らが与えたインフォームドコンセントについて、いつでも不利益を受けることなく文書により撤回することができること（必要に応じて撤回の求めを受け付ける方法を含む。）
- ③ 提供者として選ばれた理由
- ④ 研究責任者の氏名及び職名
- ⑤ 研究の意義、目的及び方法、期間
- ⑥ 試料・情報の提供を受ける時点では特定されない将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性がある場合にはその旨
- ⑦ 試料・情報を他の研究を行う機関に提供し、提供者から試料・情報の提供を受ける時点では特定されない将来の将来のヒトゲノム・遺伝子解析研究に試料・情報が利用される可能性がある場合にはその旨
- ⑧ 共同研究において個人情報了他機関と共同して用いる場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」第3の7(14)アからエに掲げる事項
- ⑨ 予測される研究結果及び提供者等に対して予測される危険や不利益（社会的な差別等社会生活上の不利益も含む。）
- ⑩ 提供者及び代諾者等の希望により、他の提供者等の個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障が生じない範囲内で研究計画及び研究方法についての資料を入手又は閲覧することができること
- ⑪ 試料・情報についての匿名化の具体的方法。匿名加工情報又は非識別加工情報を作成する場合にはその旨。匿名化できない場合にあっては、その旨及び理由。
- ⑫ 試料・情報を外部の機関へ提供する可能性又は研究の一部を委託する可能性がある場合にはその旨及び当該試料・情報の取り扱い等
- ⑬ 遺伝情報の開示に関する事項（非開示にする場合はその理由及び提供者又は代諾者等

が遺伝情報の全部又は一部を開示しないことについて同意した場合は、開示が行われない可能性があることを含む。)

- ⑭ 個人情報の開示に関する事項（受付先、受け付ける方法、提供者又は代諾者等であること
の確認の方法、開示に当たって手数料が発生する場合はその旨を含む。）
- ⑮ 将来、研究の成果が特許権等の知的財産権を生み出す可能性がある場合はその旨及び
想定される帰属先
- ⑯ 試料・情報の保存及び使用方法
- ⑰ 試料・情報の廃棄の方法
- ⑱ 遺伝カウンセリングの利用に係る情報（単一遺伝子疾患等の場合には、研究の必要性及
び遺伝カウンセリングが利用可能であること等）
- ⑲ 研究資金の調達方法、起こり得る利害の衝突及び研究者等の関連組織との関わり
- ⑳ 試料・情報の提供は無償であること
- ㉑ 問合せ（個人情報の訂正、同意の撤回等）、苦情等の窓口の連絡先等に関する情報
- ㉒ その他必要な事項

※原則として、国循バイオバンクの同意も取得するが、その取得手順は国循バイオバンクの
事業計画書に従う。

【2】既存の研究検体を利用する研究

<1> 生存している患者

- ①バイオバンク同意も取得している患者：国循バイオバンクの事業計画書に従い、
情報公開文書(別添⑤)を、国循センター公式サイト「実施中の臨床研究」のページ及び
バイオバンクのページに公開する。
- ②バイオバンク同意を取得していない患者：上記【1】 新規症例について、に準ず
る内容について本研究への参加について同意を受け、当該同意に関する記録を作成する。

<2> 既に亡くなられている患者及び連絡が取れない患者

- ①バイオバンクの研究同意も取得している患者：同意取得に関する手続きは、国循バイオ
バンクの事業計画書に従い、情報公開文書(別添⑤)を、国循センター公式サイト「実施
中の臨床研究」のページ及びバイオバンクのページに公開する。
- ②バイオバンク同意を取得していない患者：本研究計画の内容(別添⑥)を国循センター
公式サイト「実施中の臨床研究」のページに通知し、研究対象者及び研究対象者の遺族
に対して、研究に参加することを拒否する機会を提供する(オプトアウト)対応とする。

【3】ドナー情報の利用について

ドナー遺族に向けた公開文書(別添⑦)には、「人を対象とする医学系研究に関する倫理
指針」第12の4に定められた事項を記載する。(情報公開については11.2【3】参照)

11.4. 同意撤回または参加拒否を申し出た場合

【1】新規症例について

(1) 国循バイオバンク同意が得られている場合

バイオバンクに連絡し、バイオバンクの事業計画書に基づき同意撤回の手続を行う。

(2) 個別に同意を得たが、国循バイオバンク同意が得られなかった対象者の場合

一旦研究対象者もしくは代諾者より同意を得た場合でも、研究対象者は不利益を受けることなく、いつでも同意を撤回することができる。同意撤回以降は、その後の本研究に関する情報等の追加収集は行わない。しかし、同意撤回以前に収集した研究対象者の情報については、対象者もしくは代諾者に許可を得た上で、本研究において使用ができるものとする。同意撤回の申し出先および担当者は説明文書に記載の通りとする。研究参加に同意した研究対象者もしくは代諾者から、同意撤回の意思表示があった場合、その旨を同意撤回書若しくはカルテの記録に残し、撤回意思に従った措置を講じたことを研究対象者もしくは代諾者に説明する。

【2】既存の研究検体を利用する研究

(1) 国循バイオバンク同意が得られている場合

バイオバンクに連絡し、バイオバンクの事業計画書に基づき同意撤回の手続を行う。

(2) 国循バイオバンク同意が得られていない場合

研究対象者又は死亡例についてはその遺族が同意撤回又は参加拒否を申し出た場合、研究対象者が不利益を受けることなく、いつでも研究参加を撤回又は拒否することができる。同意撤回又は参加拒否以降は、本研究に関する情報等の追加収集は行わない。また、それ以前に収集した研究対象者の情報等も廃棄、削除する。既に解析が行われた場合や結果を公表した場合など、当該研究対象者のデータを削除できない場合がある。

なお、ドナー遺族から研究参加の拒否があった場合には、研究責任者の責任のもとで当該ドナーの診療情報等を本研究課題には用いない措置をとる。ドナーの診療情報にその旨の記録を残し、参加拒否の意思に従った措置を講じたことを当該ドナー遺族に説明する。ドナー情報の取り扱いには臓器移植に関わる法令（「臓器移植に関する法律」及びそのガイドライン）に基づき、移植実施施設における保管期間が決まっており、即座に廃棄、削除することはできない旨の説明をドナー遺族に行う。

同意撤回又は研究参加拒否の申し出先及び担当者

説明同意文書、オプトアウト文書及び通知公開文書に記載の通りとする。研究対象者又は死亡例についてはその遺族（ドナー遺族を除く）が同意撤回又は参加拒否を申し出た場合、その旨をカルテの記録に残し、その意思に従った措置を講じたことを研究対象者又は死亡

例についてはその遺族に説明する。

12. 個人情報の保護

研究対象者の個人情報を保護するため、本研究の実施にあたり下記の対応を順守する。

- ① 研究対象者に関わるデータを取り扱う際は研究対象者の秘密保護に十分配慮する。
- ② 研究で取り扱う個人情報は、当該研究固有の識別番号を付した対応表を作成することにより匿名化し、識別番号で管理する。
- ③ 匿名化は、すみやかに解析前までに行う。
- ④ 対応表は、センター「研究等における個人情報管理に関する規程」に基づき、解析前までに研究等個人情報管理室へ提出する。それまでは研究解析責任者の蒔田直昌及び研究分担者新谷泰範及び渡邊琢也の責任の下、個人情報管理者として ORC と移植医療部が共有するセキュリティーの高いサーバーや PC（詳細は下記、13. 試料・情報の保管参照）に保管する。

なお、バイオバンクより払出しを受けた情報は、バイオバンクの事業計画書に従い匿名化され管理される（管理責任者：バイオバンク個人情報管理室長）。また、国循バイオバンクから患者カルテ番号（ID）を付与してデータの払出しを受けた場合には、研究代表者の責任のもとで研究解析の前までに匿名化する。共同研究施設では、匿名化は各施設の規程に基づき、解析施設への試料・情報の提供前までに行い対応表を作成する。また、当該研究で収集されるヒトゲノム・遺伝子情報は診療の参考情報として有用となる情報も含まれる可能性があるために、研究各施設の倫理委員会の承認を受け、研究対象者又は代諾者等に、匿名化を行わずに研究に利用すること及び外部の機関に提供することについて同意が得られている研究対象者の情報については、匿名化せずに取り扱う。

通常的心臓移植におけるドナーのあっせん業務においてドナーの情報は、心臓移植の可否を判断するために JOT から匿名化され、ドナー情報転送システム（DDDS）を介して転送される。そして、その情報をダウンロードし、ドナーを特定し得る個人情報を除いて、当該心臓移植を受ける患者の電子カルテに記載し、ダウンロードした資料を施錠のできる心臓移植対策室に保管している。心臓移植実施後に臓器提供施設から持ち帰り、臓器移植に関わる法令（「臓器移植に関する法律」及びそのガイドライン）に基づき、当センターに保管されるドナーの個人情報（臓器摘出記録書、脳死判定承諾書（写）、脳死摘出承諾書（写）、脳死判定記録書（写）、脳死判定的確実施の証明書（写）、本人の生前の意思を表示した書面（写）、ドナーチャート、問診票及びその他ドナーの個人情報が記載された書類・画像等）については、心臓移植を受ける患者の電子カルテには記載せずに、施錠のできる心臓移植対策室に当該心臓移植を受けた患者と連結できないようにして保管している（参考別添③；臓器摘出記録書等の管理について、参考別添④；臓器提供者（ドナー）データの管理に関する誓約書）。

遺伝情報の開示に関する考え方

オミックス解析に関する研究責任者（蒔田直昌）が解析結果の開示を必要と判断した場合（すなわち、遺伝子解析結果について、研究の過程で病気との関係が見つかり、その結果を知ることが有益であると判断され、対象者が医師からその結果の説明を希望される場合）に以下のように開示を行う。

(1) 対象者が開示を希望している場合

研究参加の同意取得の際、重要な知見が得られた場合に遺伝情報の開示を希望するかどうか、研究対象者および代諾者に確認を行う。希望する場合は、移植医療部・ゲノム医療部および主治医と相談の上、当センター外来において口頭でまたは遺伝子解析結果を説明、または文書で通知する。また、患者の求めに応じて遺伝カウンセリングを実施し、遺伝カウンセリングが整備されていない施設においては適切な施設を紹介する。

(2) 対象者が当センター、他施設共通で開示を拒否している場合

研究責任者は、対象者が自らの遺伝情報の開示を希望していない場合であっても、その遺伝情報が対象者及び血縁者の生命に重大な影響を与えることが判明し、かつ、有効な対処方法があるときは、研究機関の長に報告する。研究機関の長は、開示の可否並びにその内容及び方法について、倫理審査委員会の意見を求め、それに基づき、研究責任者、提供者の診療を担当する医師及びその医師が所属する医療機関の長と協議する。その結果を踏まえ、研究責任者は対象者もしくは代諾者に対し、十分な説明を行った上で、当該対象者もしくは代諾者の意向を確認する。開示を希望した場合は説明を行うが、開示を希望しない場合には開示しない。

(3) 偶発的所見の開示

研究責任者は、当初想定していなかった対象者及び血縁者の生命に重大な影響を与える偶発的所見が発見された場合における遺伝子情報の開示に関する方針について検討を行い、対象者に問い合わせることがある。血縁者への開示に関しても、対象者に問い合わせる。対象者もしくは代諾者に同意取得する際は、その旨を説明する。

遺伝子解析以外の多層オミックス解析（トランスクリプトーム・プロテオーム・エピゲノムなど）の結果は研究レベルであり、原則として開示しない。

13. 試料・情報の保管

13.1. 試料・情報の管理方法

本研究の試料・情報については下記の対応を順守して管理する。

<研究情報>

- (1) 研究情報（電子データ）は、研究解析責任者である蒔田直昌、新谷泰範、渡邊琢也及び個人情報管理責任者の責任のもとで匿名化したのち、研究総括責任者の責任の下、当センターの情報セキュリティポリシーを遵守し管理する。具体的には、研究情報を保管する移植医療部・ORCのPCやサーバについては以下の措置を実施する。
 - ①ウイルス対策ソフトの導入と最新化
 - ②研究責任者が許可した研究者のみが利用可能とするための、IDとパスワードによるアクセス制限の実施
- (2) 他研究施設での情報の管理は、当該機関の情報セキュリティポリシーをはじめとする規程を遵守する。

ドナーの情報については、心臓移植の可否を判断するために JOT から匿名化され、ドナー情報転送システム（DDDS）を介して転送される情報をダウンロードし、ドナーを特定し得る個人情報を除いて、当該心臓移植を受ける患者の電子カルテに記載しているか又はダウンロードした資料を施錠のできる心臓移植対策室に保管している。また、臓移植実施後に臓器提供施設から持ち帰り、臓器移植に関わる法令（「臓器移植に関する法律」及びそのガイドライン）に基づき、当センターに保管されるドナーの個人情報（臓器摘出記録書、脳死判定承諾書（写）、脳死摘出承諾書（写）、脳死判定記録書（写）、脳死判定的確実施の証明書（写）、本人の生前の意思を表示した書面（写）、ドナーチャート、問診票及びその他ドナーの個人情報が記載された書類・画像等）については、当該心臓移植を受ける患者の電子カルテには記載せず、施錠のできる心臓移植対策室に心臓移植を受けた患者と連結できないようにして保管している（参考別添③；臓器摘出記録書等の管理について、参考別添④；臓器提供者（ドナー）データの管理に関する誓約書）。

また、外部機関やバイオバンクとの全ゲノム情報の授受については、ポータブルハードディスクを用いて行う。

<研究試料>

- (1) 国循バイオバンク検体は国循バイオバンク事業計画書に従い保管・管理される。
- (2) 国循バイオバンク同意が得られなかった研究試料と研究個別同意で取得した研究試料についても、バイオバンクで保管し、解析に必要な試料はオミックス解析研究責任者（蒔田直昌・国循研究所副所長・ORCセンター長）の責任の下、ORCの鍵のかかるフリーザー、又は、分子薬理部新谷泰範（分子薬理部部長）の責任の下、研究所C棟6階分子薬理部の鍵のかかるフリーザーで保管する。
- (3) 他医療機関、解析機関、委託機関での研究試料の管理は、当該機関の研究用試料の管理をはじめとする規程を遵守する。

13.2. 外部の機関との試料・情報の授受

- ・ 外部の機関へ試料・情報の提供を行うことの有無： 有 無
- ・ 外部の機関から試料・情報の提供を受けることの有無： 有 無

(1) 外部機関へ試料・情報の提供

①提供先機関の名称および研究責任者の氏名：一機関で責任者が複数いる場合には提供内容によってその責任者は異なる。

東京医科歯科大学 田中敏博教授（統合研究機構）

長崎大学 吉浦孝一郎教授（原爆後障害医療研究所）、前村浩二教授（循環器内科）

大阪大学 岡田随象教授（遺伝情報学）、中村昇太准教授（微生物病研究所）

澤芳樹教授（心臓血管外科学）

京都大学 吉田善紀（iPS細胞研究所）、牧山武助教（循環器内科）

滋賀医科大学 堀江稔教授（アジア疫学研究センター）

東京大学 野村征太郎講師（循環器内科学）

②提供する試料・情報の項目

試料：血液検体、心筋組織検体、DNA、RNA、iPS細胞

情報：臨床データ（上記「8. 観察項目の内容」）及び解析データ（ゲノムデータ・トランスクリプトームデータ・ゲノムワイド関連解析データ・エピゲノム解析・エクソシーケンスを含む）

③提供方法：試料は郵送または宅配、情報はパスワードをかけたメールで送信、またはパスワードをかけた暗号化したHDDで郵送。

(2) 外部機関からの試料・情報の提供

①提供元の機関及び当該提供に係る責任者：一機関で責任者が複数いる場合には提供内容によってその責任者は異なる。

東京医科歯科大学 田中敏博教授（統合研究機構）

長崎大学 吉浦孝一郎教授（原爆後障害医療研究所）、前村浩二教授（循環器内科）

大阪大学 岡田随象教授（遺伝情報学）、中村昇太准教授（微生物病研究所）

澤芳樹教授（心臓血管外科学）

京都大学 吉田善紀（iPS細胞研究所）、牧山武助教（循環器内科）

滋賀医科大学 堀江稔教授（アジア疫学研究センター）

東京大学 野村征太郎講師（循環器内科学）

UK Biobank（オープンアクセスリソース） Prof. Sir Rory Collins

(British Heart Foundation Professor of Medicine and Epidemiology at the University of Oxford)

なお、今後は共同研究機関の追加ごとに変更予定。以下はその場合に責任者の選定基準
各診療機関の担当医またはそれに準ずる医療従事者

提供元機関の名称：日本全国の診療機関

②提供を受ける試料・情報の項目

試料：血液検体、心筋組織検体、DNA、RNA、iPS 細胞

情報：臨床データ（上記「8. 観察項目の内容」）及び解析データ（ゲノムデータ・トランスクリプトームデータ・ゲノムワイド関連解析データを含む）

UK Biobank からは登録されている情報（ゲノム情報と背景情報）の提供を受ける

③提供元機関における試料・情報の取得の経緯と外部提供への同意等について確認する方法

提供元研究機関でインフォームドコンセントが適切にとられていることを確認する。提供元の責任者から口頭で申告を受ける。

④提供方法：試料は宅配、情報はパスワードをかけメールで送信、または、パスワードをかけ暗号化した HDD で郵送。

13.3. 試料・情報の保存期間

「国立循環器病研究センターにおける研究活動の不正行為への対応等に関する細則」第9条第2項に基づき、下記のとおり試料・情報を保存する。

- (1) 研究情報の保存期間は、論文発表後 10 年間。
- (2) 研究試料の保存期間は、論文発表後 5 年間。
- (3) 論文発表後、論文作成に関連した試料・情報は研究代表者が保管する。
- (4) 保管期間終了後の試料・情報の廃棄は、紙媒体の情報はシュレッダー処理、電子データ（バイオバンクより払い出しをうけた全ゲノム配列データ、又は、解析により発生した電子データを含む）は記録媒体からのデータ削除並びにデータを保存した媒体の物理的破壊により実施する。人体から取得された試料は、当センター内第三者の立会いの下「廃棄物の処理及び清掃に関する法律」を遵守し処理を行い、特定の個人を識別できないようにして廃棄する。但し、本研究計画で使用を予定している試料は二度と入手できない大変貴重なものであり、また長期間の蓄積がなければ十分な数の試料を収集することができない。したがって、本研究への同意を取得する際、バイオバンク同意を取得し、研究期間中または研究終了後の国循バイオバンクへの試料・情報の寄託に同意の得られた方の試料・情報はその後も国循バイオバンクで保管する。
- (5) 試料・情報の授受の記録に関しては、研究終了報告日から 5 年を経過した日まで、オミックス解析研究責任者の蒔田直昌・副所長／ORC センター長が ORC 内の鍵のかかる保管庫で保管する。
- (6) 共同研究機関においては、試料・情報は研究の中止あるいは終了報告日から 5 年間、もしくは当該施設の規定で定められた期間のいずれか遅い日まで、当該施設の研究責任者のもとで適切に保管する。授受の記録は提供後 3 年または施設の規定で定められた期間のいずれか遅い日まで、研究責任者のもとで適切に保管する。

13.4. 試料・情報の二次利用

バイオバンクより払い出された試料については、研究終了後、国循バイオバンクへ試料を返却する。また、研究終了時まで得られた測定結果及び解析データを国循バイオバンクへ提供するとともに研究成果を報告する。また、本研究で得られた試料・情報を将来、心不全・心筋症をはじめとする循環器疾患の研究に二次利用する可能性がある。その場合には、新たな実施計画書を作成の上、倫理委員会の承認を得た上で進める。

14. 研究対象者の負担とリスク、利益の総合評価

14.1. 研究対象者の負担とリスク、およびそれらを最小化する方策

本研究の研究対象者には、本研究用として10～25mLが採取され、必要に応じてバイオバンク登録用採血17mLが追加で実施されるため、一時点での最大採血量は42mlである。これにより貧血が進行するリスクは低いが、診療で採取する採血量と合わせて、貧血や心不全の状態などを考慮の上で一度の採血量を決定して、複数回に分けて採血することとする。また、収集する心筋組織については、診療行為で行う手術処置あるいは病理診断に伴うもので、研究のために新たに、あるいは追加して組織が収集されることはない。

本研究で主に予測されるリスクは個人情報の漏洩に伴うものである。解析に用いられるデータは匿名化され厳重に管理される。個人情報漏洩のリスクを最小化するため、13.1.に記載の管理方法により個人情報保護についての対策を行う。診療に必要と考えられるデータに限り匿名化せずに医療情報を取り扱う場合があるが、診療情報として厳格に管理する。診療に必要な情報として外部医療機関へ提供する場合には、書留で転送したり、暗号化されたファイルを電子メールなどを用いて送り、漏洩のリスクを最小化する。

また、本研究で取り扱うゲノム情報については、対象者及び血縁者に対して、将来の発病に対する不安や社会的差別などの様々な倫理的・法的・社会的問題が生じる可能性は否定できないため、情報の開示については十分に配慮する。

14.2. 研究対象者の利益および研究がもたらす利益

オミックス解析の結果、重症心不全や特発性心筋症などで変動する生体分子情報より、疾患の発症や病態形成に関わる分子機序が明らかとなれば、それを制御する分子などの医薬品、治療法や予防法の開発に貢献できる。また、心不全の重症化やリバーシリモデリング、移植後の免疫応答を評価できるバイオマーカーが見いだせれば、診断法の開発に貢献できる。また、遺伝子解析の結果、遺伝子変異やリスク多型が判明すれば、患者に対する適切な生活指導および有効な治療法の選択が可能となり、個人のリスクに応じたオーダーメイドの治療や予防の開発に貢献できる。研究対象者にとって直接的な利益はない。

14.3. 負担とリスク、利益の総合評価

本研究がもたらす総体としての利益は、本研究に伴う負担とリスクを正当化するものであると考えている。

15. 研究対象者の費用負担および謝礼

本研究は診療録に基づく観察研究であり、研究協力者の費用負担は発生しない。また研究協力者への謝礼もない。

16. 研究対象者等からの相談等への対応

必要に応じて、当センター、その他の施設において、遺伝カウンセリングを行う。本研究に関する相談に関しては、説明文書／情報公開文書に問い合わせ先を記載することにより対応する。また、本研究の研究計画書、及び、研究方法についての資料を希望に応じて提供する。外部機関からの研究対象者については、説明文書／情報公開文書に問い合わせ先を記載することにより対応する。

17. 研究資金

研究費に関しては、下記の研究費をあてる。

- ① 科学研究費 国際共同研究加速基金（国際共同研究強化（B））「人種特異性に着目したゲノム解析による原因不明の心臓突然死の病態解明」2018-2020 年度、研究代表者：蒔田直昌(18KK0245)
- ② AMED ゲノム創薬基盤推進研究事業 「致死性不整脈の原因心筋イオンチャネル遺伝子に同定される VUS のハイスループット機能評価法に関する研究開発」2019-2021 年度、研究代表者：蒔田直昌 (19kk0305011h0001)
- ③ AMED 免疫アレルギー疾患実用化研究事業「遺伝子関連情報の解析を用いた臓器移植に関わる個別化医療に関する研究」2020-2022 年度、研究代表者：福嶋偉教 (20ek0510028h0002)
- ④ AMED 難治性疾患実用化研究事業「難治性心血管疾患におけるマルチオミックス解析による病態解明と精密医療」2020-2022 年度、研究代表者：小室一成、研究分担者 蒔田直昌

18. 利益相反

なし

19. 知的財産権

本研究により生じる知的財産権は、国立循環器病研究センター職務発明等規程に基づき、原則研究機関（多施設共同研究の場合は、各機関の規程等に基づく）に帰属し、研究対象者やその家族には帰属しない。

20. 研究成果の公表

研究結果は、個人が特定されない形で学会および論文にて発表を行う。また、その際に国循バイオバンクが保有する試料等を利用した成果であることを明記する。なお、ドナー情報を利用する研究成果については発表前に JOT の確認と承認を得た後に発表を行う。

21. 研究計画の変更

本研究計画の変更、追加、削除などの必要性が生じた場合には、それらの可否について国循センター倫理委員会の承認を得る。

22. 研究機関の長への報告

研究責任者は、年に1回の頻度で研究の進捗状況を、また研究終了時に研究成果を、所属機関の長に報告する。また、研究の実施の適正性、研究結果の信頼を損なう事実もしくは情報または損なうおそれのある情報を得た場合は、速やかに長に報告し、必要に応じて、研究を停止または中止し、研究計画書等の変更を行う。その他、研究の倫理的妥当性、科学的合理性を損なう事実や情報、損なうおそれのある情報であって研究の継続に影響を与えると考えられるものを得た場合も、遅滞なく長に報告し、必要に応じて、研究を停止または中止し、研究計画書等の変更を行う。

対象者から自らの遺伝情報の開示の求めがあった場合、遺伝情報の全部又は一部を開示した場合にはその旨、遺伝情報を開示しない場合にはその旨及びその理由を実施機関の長に報告する。

定期報告の際は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、以下の報告も行う。

- ① 外部の機関への試料・情報の提供状況
- ② 遺伝子解析が実施された試料・情報の数
- ③ 問題の発生の有無

23. 研究の実施体制

① 国立循環器病研究センターの実施体制

総括研究責任者	塚本 泰正	移植医療部	医長	研究統括
研究責任者	蒔田 直昌	研究所	副所長	オミックス解析
		創薬オミックス解析センター	センター長	ゲノム解析
研究責任者	瀬口 理	移植医療部	医長	臨床情報・臨床解釈
	渡邊 琢也	移植医療部	医師	臨床情報の収集・とりまとめ
研究分担者	福鳶 教偉	移植医療部	部長	臨床情報の収集・解析
	望月 宏樹	移植医療部	医師	臨床情報の収集・解析
	下島 正也	移植医療部	医師	臨床情報の収集・解析
	羽田 佑	移植医療部	医師	臨床情報の収集・解析
	藤田 知之	心臓外科部	部門長	臨床情報の収集・解析
	福鳶 五月	心臓外科部	部長	臨床情報の収集・解析
	甲斐沼尚	心臓外科部	医長	臨床情報の収集・解析
	西村 邦弘	予防医学・疫学情報部	部長	統計解析
	岩崎 陽一	移植医療部	専門修練医	臨床情報の収集
	米山 将太郎	移植医療部	専門修練医	臨床情報の収集
	坂口 平馬	小児循環器科	医長	臨床情報の収集
	岩朝 徹	小児循環器科	医師	臨床情報の収集
	伊藤 裕貴	小児循環器科	医師	臨床情報の収集
	植田 初江	病理部	客員研究員	病理情報の収集・解析
	池田 善彦	臨床検査部	医長	病理情報の収集・解析
	大郷 恵子	病理部	医長	病理情報の収集・解析
	松本 学	病理部	医師	病理情報の収集・解析
	白井 学	創薬オミックス解析センター	室長	RNA 解析・情報解析
	若林 真樹	創薬オミックス解析センター	室長	プロテオーム解析・情報解析
	南野 直人	生化学部	客員研究員	バイオマーカー解析
	高橋 篤	病態ゲノム医学部	部長	ゲノム情報解析
	大野 聖子	分子生物学部	部長	遺伝子解析
	富田 努	バイオバンク	室長	バイオバンク検体収集・管理
	野口 倫生	バイオバンク	室長	バイオバンク検体付随情報の収集・管理
	新谷 泰範	分子薬理部	部長	検体収集、RNA 解析
	高橋 佑典	分子薬理部	上級研究員	検体収集、RNA 解析
	坂田 泰彦	臨床研究開発部	部長	遺伝子情報解析
	伊藤 慎	臨床研究開発部	室長	情報解析

② 研究代表者（統括研究責任者）

国循センター移植医療部 医長 塚本 泰正

③ 研究事務局

〒564-8565 大阪府吹田市岸部新町 6-1

国立循環器病研究センター

研究所副所長・創薬オミックス解析センター長 蒔田 直昌

電話：06-6170-1070(代表) (内線 31043) FAX: 06-6170-1602

Email: makitan@ncvc.go.jp

url: <http://www.ncvc.go.jp/omics/>

④ 共同研究機関および各機関の研究責任者、役割と責任

長崎大学 循環器内科 教授	前村浩二	検体集積・臨床解析
滋賀医科大学 アジア疫学研究センター 特任教授	堀江 稔	検体集積・臨床解析
京都大学 循環器内科 助教	牧山 武	検体集積・臨床解析
京都大学 iPS 細胞研究所	吉田善紀	検体集積・臨床解析
長崎大学 原爆後障害医療研究所 人類遺伝学 教授	吉浦孝一郎	遺伝子解析・情報解析
東京医科歯科大学 統合研究機構 教授	田中敏博	遺伝子解析・情報解析
大阪大学 遺伝情報学 教授	岡田随象	医学統計学・情報解析
大阪大学 心臓血管外科学 教授	澤 芳樹	検体集積・臨床解析
大阪大学 微生物病研究所 准教授	中村昇太	RNA 解析
東京大学 循環器内科学	野村征太郎	検体集積・臨床解析

各共同研究機関においては規定に従い、本研究の倫理審査を行う。共同研究機関以外の機関については、該当する機関に倫理委員会が設置されている場合には機関毎の規定に従い本研究の審査を行うこととする。既存の試料や情報の提供のみを行う開業医などで倫理委員会の設置がない場合は、施設代表者の判断で行う。

⑤ 試料等の提供先機関

上記の共同研究機関に同じ。

⑥ 試料等の提供元機関

上記の共同研究機関、および全国の既存試料・情報の提供のみを行う機関及び提供者。

⑦ 公的データベースの責任者

MGeND ヒトゲノムデータベース (<https://mgend.med.kyoto-u.ac.jp/>)

管理責任者：京都大学大学院 医学研究科 ビッグデータ医科学分野 教授 奥野 恭史

24. 業務委託

業務委託の有無：有 無

- ① 委託先機関名・責任者名：タカラバイオ、八洲薬品（契約済）
- ② 委託する業務内容：全エクソンシーケンス、全ゲノムシーケンス
- ③ 安全管理措置の内容：匿名化番号で記した試料リスト、分注済みのサンプルや作成したライブラリーのみを送付し、個人情報は一切提供しない。得られたデータがそのまま納付され、委託先では解析を行わない。データは収集後一定期間後に消去される。

以下の文章をひな形とした業務委託契約を締結する。

(甲；国立循環器病研究センター 乙；委託先)

第1条 甲及び乙は本契約条件、見積書、計画書、仕様書に従い、これを履行しなければならない。

(法令順守・注意義務等)

第2条 乙は本契約の履行にあたって、常に善良なる管理者の注意をもって維持、保守並びに運営をなす責を負い、かつ関係する法令のすべての規定を遵守しなければならない。

2 乙及び乙の労働者は、本契約に基づく甲の業務活動の実施、経理事務の遂行等に当たっては、法令等を遵守し、不正を行ってはならない。

3 乙及び乙の労働者は、本契約に基づく計画・立案、申請、実施、報告など甲の業務活動、経理事務の遂行等の各過程において、誠実に行動するものとし、甲の業務活動で得た診療データ等の記録保存や厳正な取扱いを徹底し、ねつ造、改ざん、盗用などの不正な行為等を行ってはならない。

(業務従事者の指揮監督)

第3条 乙は、その従業員の身元、風紀、衛生及び規律の維持に関して一切の責任を負うものとする。また労働災害時における労災保険は乙の保険を適用する。

(秘密保持)

第4条 乙は業務上知り得た甲の資料・情報、個人情報又は病院内部の情報等を第三者に漏洩してはならない。ただし、甲の書面による承諾を得た場合はこの限りでない。契約解除及び契約満了後においてもまた同様とする。

(個人情報に関する秘密保持等の義務)

第5条 乙は、この契約において処理することとされた事項に関して甲から提供された個人情報について、第三者に漏らしてはならない。

2 乙は、甲の承認を得ずに、甲から提供された個人情報を複製若しくは送信し、又は当該個人情報を記録された媒体を送信若しくは持ち出してはならない。

3 乙は、甲から提供された個人情報が漏洩し、または漏洩したおそれがあるときは、直ちにその旨を甲に通知しなければならない。

4 乙は、本契約が終了したときは、直ちに甲から提供された個人情報を消去しなければならない。

(下請の制限)

第6条 乙は、この契約において処理することとされた事項の全部又は一部について、甲の事前の書面による承認を得ずに第三者に下請させてはならない。

(権利義務の譲渡の禁止)

第7条 乙は、甲の事前の書面による承諾を得た場合を除き、この契約によって生ず

る権利又は義務の全部若しくは一部を第三者に譲渡又は委任させてはならない。ただし、売掛債権担保融資保証制度に基づく融資を受けるに当たり信用保証協会及び中小企業信用保険法施行令（昭和 25 年政令第 350 号）第 1 条の 2 に規定する金融機関に対し債権を譲渡する場合はこの限りではない。

2 乙は、前項ただし書きの規定による債権譲渡をすることとなったときは、速やかにその旨を書面により甲に届け出なければならない。

- ④ 委託先の監督方法（例：安全管理措置の内容が遵守されていない場合は法的措置を講じる可能性がある）

（検査及び監督）

第 8 条 乙は、別紙仕様書に定めた請負内容の業務を完了したときは、実施した請負業務の内容等、別途甲が指定する事項を任意様式の書面に記載して、すみやかに甲に提出するものとする。

2 甲は、前項の規定による書面の提出を受けたときは、直ちに確認検査（以下「確認検査」という。）を行わなければならない。

3 甲は、確認検査によって請負業務の完了を確認したときは、乙に通知するものとする。

4 乙は、確認検査に合格しないときは甲の指定する期限内に請負業務をやり直し、再度甲の確認検査を受けなければならない。

（履行期限の延伸）

第 9 条 乙の責に帰すべき事由により、頭書に定める履行期限までに別紙仕様書に定めた請負内容の業務を完了することができない場合において、期限後に履行完了する見込みがあるときは、甲は乙から遅滞料を徴収して履行期限を延長することができる。

2 前項の遅滞料は、履行期限の翌日から起算し、当該業務の履行が完了した日までの日数について、1 日につき遅延となった部分に相当する契約代金の額に対して、100 分の 1 の率により算出した額とする。

3 天災、その他乙の責に帰しがたい事由により、履行期限内に当該業務を完了することができないときは、乙はその事由を詳記して履行期限の延長を請求することができる。甲はその事由が正当と認めた場合は、これを許可し履行期限を延長することができる。

（契約終了後の試料・情報の廃棄・返却等）

第 10 条 本契約が終了したときは、乙は直ちに甲から提供された個人情報を消去しなければならない。

2 余剰の試料について乙は、甲が廃棄を希望する場合には廃棄、返却を希望する場合

には返却しなければならない。

25. 参考文献

1. Guidelines for Diagnosis and treatment of Acute and Chronic Heart Failure (JCS 2017/JHFS 2017)
2. Statement for heart transplantation (JCS 2016)
3. Guidelines for Device Therapy: Implantable Left Ventricular Assist Device for Patients with Severe Heart Failure (JCS 2013)
4. Myocardial Recovery and the Failing Heart J Am Coll Cardiol 2012; 60:2465-72
5. The Society of Thoracic Surgeons Intermacs 2019 Annual Report: The Changing Landscape of Devices and Indications Ann Thorac Surg. 2020;109:649-660
6. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Myocarditis (JCS 2009)
7. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-Seventh Official Adult Transplant report—2010. J Heart Lung Transplant. 2010; 29: 1089-103
8. 免疫抑制薬 TDM 標準化ガイドライン 臓器移植編 2018
JCS 2018 Guideline on Diagnosis and Treatment of Cardiomyopathies