

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

小児先天性疾患および難治性疾患における  
臨床的遺伝子診断の基盤整備

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成22(2010)年 3月

厚生労働科学研究費補助金  
子ども家庭総合研究事業

小児先天性疾患および難治性疾患における  
臨床的遺伝子診断の基盤整備

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成22(2010)年 3月

# 目 次

## I 総括研究報告

小児先天性疾患および難治性疾患における臨床的遺伝子診断の基盤整備 .....	1
研究代表者 国立成育医療センター研究所 緒方 勤	

## II 分担研究報告

1 腫瘍性疾患の臨床的遺伝子診断 .....	7
国立成育医療センター研究所 大喜多肇	
2 倫理基盤の確立 .....	11
信州大学遺伝医学・予防医学講座 福島義光	
3 小児先天性疾患および難治性疾患の遺伝カウンセリング体制の実態調査 .....	25
東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 斎藤加代子	
4 小児先天性疾患および難治性疾患の遺伝子診断における経済的基盤の整備に関する研究 .....	28
東北大学大学院医学系研究科 松原洋一	
5 先天性疾患の臨床的遺伝子診断と拠点施設の機能拡充 .....	34
国立成育医療センター研究所 緒方 勤	

## III 研究成果の刊行一覧表

..... 39

## IV 研究成果の刊行物・別刷り

..... 45

總 括 研 究 報 告

## 小児先天性疾患および難治性疾患における臨床的遺伝子診断の基盤整備

研究代表者 緒方 勤 国立成育医療センター研究所

研究要旨：小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断の継続的实施を可能とする基盤を整備に向けて、以下を行った。遺伝子診断法の開発としてインプリンティング疾患解析、欠失解析、腫瘍発症原因の網羅的解析法を構築した。倫理的基盤整備のために全国共通で使用できる倫理書式の雛形を作成し、また、現在の問題点を明らかにした。遺伝カウンセリングの体制整備のために全国実態調査を行い、現状把握と今後の課題を明確とした。経済的基盤の確立のために、NPO法人を設立・稼働させ、円滑な運営を行っている。これらの成果は、次年度からの研究遂行の基礎となると考えられる。

### 研究分担者

大喜多肇	国立成育医療センター研究所 発生・分化研究部、機能分化研究室 室長
福嶋義光	信州大学医学部、遺伝医学・予防医学講座、遺伝医学 教授
斎藤加代子	京女子医科大学・遺伝子医療センター、遺伝医学 教授、所長
松原洋一	東北大学医学部、遺伝病学分野、臨床分子遺伝学 教授

### A. 研究目的

本研究の目的は、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断の継続的实施を可能とする基盤を整備することである。本邦における遺伝子解析研究は、新規あるいは同定直後の既知遺伝子を対象とし、患者検体は通常研究者の個人的ネットワークを介して集積されている。一方、臨床応用としての遺伝子診断は、その情報が公開され一般医師に広く認知されることで需要が高まるが、この段階では研究メリットに乏しく、遺伝子診断の継続が困難となっている。本研究の必要性は、この乖離を埋めることにある。

### B. 研究方法

本研究の遂行にあたっては本研究で実施した遺伝子検査については、10学会が2003年に制定した「遺伝学的検査に関するガイドライン」およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成17年6月文部科学省厚生労働省経済産業省告示第1号）に従っている。また、国立成育医療センターおよび各検体の収集施設において予め倫理委員会の承認を得た後、書面によるインフォームド・コンセントを取得している。

### C. 研究結果

#### 1. 診断法の開発

1) インプリンティング疾患迅速診断法の開発：現在判明しているインプリンティング領域から、メチル化可変領域(DMR)を同定し、27のDMRにお

いてBio-COBRAという方法を用いて迅速診断法を開発した。そして、様々な疾患を解析する過程で、世界初の全染色体母親性ダイソミー患者と、世界で6例目となる全染色体父親性ダイソミー患者を同定した。

さらに、既に第14染色体インプリンティング領域において本年度、世界で初めて、各々のDMRのみを欠失した症例を世界で初めて同定し、非メチル化IG-DMRが胎盤のインプリンティングセンターとして作用すること、非メチル化MEG3-DMRが個体のインプリンティングセンターとして作用すること、個体におけるMEG3-DMRのメチル化状態がIG-DMRのメチル化状態により支配されることを見いだした。

2) MLPAプローブの作成：近年、ある遺伝子のみあるいはその一部のみの欠失が多数の疾患で見いだされている。これらは、原理的にはオリゴレイCGHなどで解析しうるが、そのコストは高額であり、研究利用はできても臨床応用には困難を伴う。そのため、われわれは、廉価なMLPAプローブの作成を、まず、成長発達に密接に関連する既知下垂体機能関連遺伝子6個（PROP1, POU1F1, LHX3, LHX4, HESX1, SOX3）について開発した。

そして、71例の下垂体機能障害患者において、PROP1, POU1F1, LHX3, LHX4, HESX1, SOX3の変異および欠失解析を行った。変異は全く検出されず、1例においてのみLHX4の微小欠失が同定された。なお、一般集団100例において存座

しないミスセンス置換において機能解析を行い、正常であることを見いだした。

3) 小児がん診断全国基盤整備：現在、主要ながん種に対しては多施設共同で臨床研究グループが形成されており、その中で遺伝子診断が行われている。一方、臨床試験非登録症例や希少症例に対しては、小児腫瘍の登録と中央病理診断実施の体制整備が小児腫瘍中央病理診断委員会を中心にすすめられており、それと連携して、遺伝子診断の体制整備を進めている。具体的には、参加施設より腫瘍病理標本と凍結組織検体の送付を受け、病理学的に鑑別診断に挙げられる腫瘍の遺伝子診断を行い、病理レビュー担当医に報告、結果を参照することにより最終的な診断を下す体制とする予定である。解析可能な対象疾患と遺伝子は、Ewing肉腫ファミリー腫瘍(EWS-FLI1、EWS-ERG、EWS-ETV1、EWS-E1AF、EWS-FEV、FUS-ERG)、胞巣型横紋筋肉腫(PAX3-FKHR、PAX7-FKHR)、線維形成性小細胞腫瘍(EWS-WT1)、先天性線維肉腫/先天性間葉芽腎腫(ETV6-NTRK3)、滑膜肉腫(SYT-SSX1、SYT-SSX2)、Xp11.2転座を伴う腎癌

(ASPL-TFE3、PRCC-TFE3、PSF-TFE3、NonO-TFE3)、胞巣状軟部肉腫(ASPL-TFE3)である。上記に対して凍結検体を用いたRT-PCR法にて遺伝子診断が可能である。また、凍結検体の得られない症例のために、EWS遺伝子

(Ewing肉腫ファミリー腫瘍、線維形成性小細胞腫瘍)、FUS遺伝子(Ewing肉腫ファミリー腫瘍、粘液状脂肪肉腫)、FKHR遺伝子(胞巣型横紋筋肉腫)、SYT遺伝子(滑膜肉腫)、ETV6遺伝子(乳児線維肉腫、先天性間葉芽腎腫)に対して、腫瘍捺印標本やパラフィン切片を用いたfluorescence in situ hybridization

(FISH)法を行う体制を整えており、本法では、融合遺伝子の種類まで同定することはできないが、病理診断と組み合わせることにより、腫瘍診断を確定することが可能となる。

4) 小児がん診断法の構築：遺伝子診断拠点施設の機能拡充の一環として、腎芽腫における11p13領域欠失解析体制を整備した。腎芽腫の一部では、11p13に存在するWT1遺伝子の異常(点変異、挿入や欠失)が腫瘍の発生に関与することが知られている。現在までは本遺伝子の解析はシーケンス解析、サザンブロット解析で行ってきた。しかしながら、サザンブロット法では、感度が不十分と考えられ

るため、MLPA(multiplex ligation-dependent probe amplification)法を導入し、その有効性を検討した。108例の腎芽腫の腫瘍検体を用い、MLPA法とサザンブロット法の両方でWT1構造異常を検討した。MLPA法では全ての検体で判定可能であったが、サザンブロット法では、11例でDNA分解などの理由で判定が困難であった。サザンブロット法では、108例のうち4例で、WT1遺伝子の一部のホモ欠失が同定された。2例では、バンドの濃度がコントロールと比較して低下しているため、ヘミ欠失が疑われた。MLPA法では2例でWT1遺伝子の一部のホモ欠失が同定された。2例ではWT1遺伝子の単一エクソンの欠失が疑われたが、単一プローブに由来するピークの減弱であったため、欠失と断定することは困難であった。MLPA法にて単一プローブに由来するピークが減弱する場合は、サザンブロット法がより有効であった。一方、MLPA法では、8例の腫瘍でWT1遺伝子あるいは11p13領域のヘミ欠失が同定され、サザンブロット法よりも確実にヘミ欠失を判定できると考えられた。

#### 5) 細胞遺伝学的診断の精度向上

ゲノムコピー数異常をスクリーニングする解析法としてマイクロアレイ法やMLPA法といったゲノムコピー数解析法が諸外国で日常診療に利用されつつある。ゲノムコピー数解析法はゲノムの量的変化を伴う染色体異常を高精度に診断できる染色体検査といえる。しかしながら医療として実施する染色体異常の診断としてはゲノムの量的変化を捉えるだけでは不十分で、量的変化を生み出した染色体構成を確認のうえ総合的に解釈することが必須である。染色体量的変化を伴う構造異常の確認のためには、異常領域を含むあるいはその近傍に座位するDNAクローンをFISH用プローブとして、患者のmetaphase標本にてFISH解析することが必要である。ゲノムコピー数解析法で見いだされるあらゆる染色体領域に対する染色体構成の確認にも対応できるように、全ゲノムをほぼカバーするcontig cloneをBACPAC Resources Center in Children's Hospital Oaklandより入手、将来のFISH解析に備え準備した。座位の確認されているDNAクローンをを用いたFISH解析は、染色体構造異常の確認のみならず、ゲノムコピー数解析法の発展で認識されるようになったCopy Number Variationの確認や、検出されたコピー数異常がpathogenicな変化なのかbenignな

変化なのかの判断基準のひとつとしても利用できる。

## 2. 倫理的基盤の確立

1) 臨床的遺伝子診断のための同意文書の作成と臨床的遺伝子診断と遺伝子解析研究との連携についての検討：現在、わが国では、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断のために行われる遺伝学的検査の多くが、研究の一環として行われていることを考慮し、以下の「遺伝学的検査の実施」と「試料の保存および研究使用」についての同意書・説明書の試案を作成した（別添資料参照）。これらの文書は、遺伝学的検査が有用であると考えた主治医が、その疾患の遺伝子解析を行っている国内の施設に患者検体を送付し、検査を依頼する際に用いられることを想定している。

- ・「遺伝学的検査の実施」と「保存/研究使用」に関する同意書（案，100103YF）
- ・「遺伝学的検査の実施」と「保存/研究使用」に関する同意書の変更願（案，100103YF）
- ・医師用説明資料（案，100103YF）
- ・患者・家族への説明文書（案，100103YF）

2) 遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」（10学会指針）の問題点の抽出：以下の項目が問題点として抽出された。

- ・遺伝学的検査の範囲，定義
- ・遺伝学的検査が行われる場面についての記載
- ・患者の確定診断を目的として行われる場合の要件
- ・薬理遺伝学的検査の扱い方
- ・遺伝カウンセリング担当者の要件
- ・遺伝カウンセリング体制の記載
- ・検査精度についての記載
- ・検体試料のバンキングについての記載
- ・電子カルテへの対応
- ・出生前診断の記載
- ・その他

## 3. 遺伝子カウンセリングの体制整備

実態調査：アンケート調査は500通投函し、201通を回収、1通は白紙にて200通が有効であり、回収率40%であった。

### 1) 臨床遺伝部門について

独立した臨床遺伝部門がありは38%、なしは59%であった。

### 2) 遺伝カウンセリングの実施

小児先天性疾患・難治性疾患の遺伝カウンセリングは49%で実施、47%では実施していなかった。実施している施設では、週に1回が最も多く(20%)、週に3回以上は5%のみであった。

### 3) 遺伝カウンセリング担当者

遺伝カウンセリング担当者は独立した臨床遺伝部門で実施は52%、担当診療科内の臨床遺伝部門16%、担当診療科内の非臨床遺伝部門18%、院外の臨床遺伝部門1%であった。遺伝カウンセリング専任のスタッフがいる施設は35%、専任・兼任のスタッフが常時いる施設は70%であった。担当者の内訳で看護師が常時関わる施設は24施設、非定期に関わっている施設は13施設、臨床心理士が常時7施設、非定期7施設、認定遺伝カウンセラーが常時10施設、非定期4施設、臨床検査技師が常時11施設、非定期5施設であった。

### 4) 臨床遺伝専門医

臨床遺伝専門医の人数については、2名(29施設)が最も多く、1名(25施設)、3名(8施設)、4名(7施設)であった。臨床遺伝専門医がいない施設は19であった。臨床遺伝専門医の資格がない場合に、資格取得の意志がある53%、意志がない16%、無回答31%であった。

### 5) 遺伝カウンセリングの部屋

専用の部屋がある43%、ない54%であった。壁で完全に仕切られている61%、入口や後方通路が他の部屋とつながっている25%、カーテンなどで仕切られている7%、仕切りなし2%であった。

### 6) 遺伝カウンセリングにかかる時間

初診45-60分35%、60-90分28%、30-45分14%、90-120分6%、再診は30-45分34%、45-60分27%、15-30分20%であった。

### 7) 遺伝カウンセリングの費用

自費診療として有料42%、保険診療の初診・再診料22%、無料11%であり、自費診療の場合に初診料は4,200から10,000円、再診料は2,100円から10,000円であった。

### 8) 遺伝カウンセリングの診療録

診療録の電子化は28%で実施され、68%は実施されていなかった。専用の診療録は54%で作成され、診療録の閲覧制限は46%で実施されていた。

### 9) スタッフカンファレンス

59%で実施、37%で非実施であった。

### 10) 遺伝学的検査

検査は87%で実施されていた。遺伝学的検査の費用は、研究費などで負担50%、自費でク

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
総括研究報告書

クライアントが負担18%であった。遺伝学的検査の実施前に必ず遺伝カウンセリングを実施53%、実施せず34%であった。

#### 4: 経済的基盤の確立

##### 1) 遺伝子検査ネットワーク「オーファンネットジャパン」の構築

まず、全国の大学研究室7施設を遺伝学的検査提供施設として、稀少遺伝性疾患の遺伝子検査ネットワークを構築した。そして、遺伝子検査提供施設と遺伝子検査を希望する医療機関との間に介在してコーディネートをを行うセンターを設けた。このネットワークをオーファンネットジャパンと名付けた。その概要を図1に示す。実際の遺伝子検査提供のフローチャートを図2に示した。遺伝子検査の費用については、受益者負担とし、医療機関が患者さんと協議の上何らかの形で負担していただくことにした(図3)。

この遺伝子検査ネットワークによって36種類の遺伝子検査提供体制を整えた。このうち、30種類が遺伝性疾患、6種類が薬剤反応性遺伝子多型であった。30種類の遺伝性疾患の中で、先天代謝異常症は15疾患(タンデムマスによる新生児マススクリーニング対象疾患を含む)、先天奇形症候群は5疾患、先天性難聴関連遺伝子は10疾患であった。さらに、これ以外の遺伝子検査を提供するためにベルギーに本拠を置く遺伝子検査ネットワークGENDIAと連携し、国内の病院からの希望があればGENDIAに検査依頼できる体制を整えた。オーファンネットジャパンのホームページを開設するとともに、関連学会での広報活動を行った。

##### 2) オーファンネットジャパンによる遺伝子検査の提供

実際にこのネットワークを試行し、全国の医療機関を対象としてこれまでに30件の遺伝子検査を提供した(現在進行中のものを含む)。その内訳は、メチルマロン酸血症(mut型)(4件)、メチルマロン酸血症(cblA型)(3件)、プロピオン酸血症(1件)、カルニチンパルミトイル基転移酵素II(CPT2)欠損症(2件)、ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症(4件)、糖原病Ia型(3件)、糖原病Ib型(1件)、Barth症候群(1件)、CHARGE症候群(3件)、de Lange症候群(1件)、Alagille症候群(4件)、神経線維腫症1型(3件～GENDIA社に依頼)であった。

##### 3) 遺伝子検査費用について

検査費用の価格設定は、遺伝子検査提供施設

設がそれぞれの施設におけるコストを勘案して独自に設定する方式をとった。ほとんどの検査は、1件当たり5～10万円の価格設定となった。

##### 4) 遺伝子検査費用の国際比較

オーファンネットジャパンで設定した検査価格を、海外でのものと比較した。比較したのは実際にオーファンネットジャパンで提供した11種類の遺伝子検査で、比較対象は米国のGeneDX社およびベルギーのGENDIA社である。ひとつの例外(GENDIAによるメチルマロン酸血症cblA型の遺伝子検査)を除き、オーファンネットジャパンのほうが安い価格で提供できていることが明らかになった。約半数の検査項目では、米国や欧州よりも1/2～1/3の低価格であった。

#### D. 考察

##### 1. 診断法の開発

インプリンティング疾患の迅速診断法の開発は、包括的遺伝子解析を可能とすると共に、新規インプリンティング遺伝子やインプリンティング疾患の同定に貢献すると共に、生殖補助医療出生児においてインプリンティング疾患の増加が危惧されていることからなど、生殖補助医療出生児における遺伝的安全性の検討にも応用できるものである。厚生労働行政のみならず医学的にも大きな発展が期待できるものである。また、第14染色体のインプリンティング疾患発症機序の解明は、1つのインプリンティング領域において異なるDMRの機能分担およびメチル化パターンの上下位性を世界で初めて示すデータであり、これは、様々なインプリンティング領域の研究を進める上で重要な指標となる。

MLPA法による微小欠失診断法の開発は、臨床的遺伝子診断に使用できる欠失解析ツールとして応用価値が高いと期待される。また、下垂体機能障害患者における成績は、変異解析のみならず欠失解析の重要性を示すものである。また、遺伝子異常が稀であることは、従来の報告と一致するデータであり、このような疾患の遺伝子診断では、変異が検出されない可能性が高いことを事前に説明する必要があると考えられる。

小児腫瘍性疾患については、臨床試験に参加しない症例も含めた病理診断システムが計画されており、これと連携し、融合遺伝子解析を、国立成育医療センターを拠点として実施することを目指し、体制を整備しつつある。この体制が整備された場合、専門的な病理医による病理診断と連携して、遺伝子診断を行うため、精度の高い診断が可能となることが

期待される。Ewing肉腫ファミリー腫瘍、胞巣型横紋筋肉腫、線維形成性小細胞腫瘍、乳児線維肉腫・先天性間葉芽腎腫では、遺伝子異常と腫瘍の診断名がほぼ1：1で対応し、高い感度と特異度を示すが、TFE3関連腎癌と胞巣状軟部肉腫のように、必ずしも特異度が100%でないケースがあり、病理診断と遺伝子診断を相補的に用いることが必要と考えられる。また、診断拠点をつくることにより、希少な腫瘍性疾患の遺伝子診断のデータが将来的に蓄積されることも期待される。

11p13領域のコピー数解析を行うために、MLPA法を導入し従来のサザンプロット法と比較したところ、両方法ともに一部の腎芽腫においてWT1遺伝子全体、WT1遺伝子の一部など、様々なサイズの欠失が同定可能であったが、従来の方法と比較すると、MLPA法ではより精度の高い解析が可能であった。また、WT1遺伝子のみならず周辺の遺伝子領域も含めて欠失領域を同定することが可能であった。一方で、単一のプローブのみを含む欠失の場合、プローブを含む領域の微小な変異の可能性もあるため、欠失を確定することは困難であり、このような場合、サザンプロット法を併用すると有用と考えられた。コスト、RIを使用しなくてもすむ点、解析にかかる時間を考慮するとまずMLPA法で解析し、次に必要な検体のみサザンプロット法で解析することが、現実的と考えられた。今後、塩基配列異常のデータと合わせて腫瘍における遺伝子変異と臨床病理学的特徴を解析することにより、本方法の診断上の意義を更に検討する。

臨床的遺伝子診断においては、検査精度の向上についても検討しておく必要がある。本研究においては、細胞遺伝学的診断精度の向上を目的とした取組みを開始した。マイクロアレイ法やMLPA法の開発により、染色体異常はゲノムコピー数の異常であると概念が変わりつつあるが、Copy Number Variationなど、正常多型なのか病的な変化なのかの判定が困難な問題があり、座位の確認されているDNAクローンをを用いたFISH解析は、検査精度の向上のために、欠かすことはできない。今後も細胞遺伝学的診断法の精度向上のための具体的取組みを継続していきたい。

## 2. 倫理的基盤の確立

小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断を目的とした遺伝学的検査は、欧米先進諸国においては、1600種類以上の疾患

について臨床検査としての実施が可能である。しかし、わが国においては、現在、染色体検査を除けば、13疾患の遺伝病的検査が保険診療として認められているのみである。遺伝学的検査により確定診断がなされることは、適切な医療提供のために極めて有用であり、患者・家族の受けるメリットは計り知れないが、わが国においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究の成果が十分活かすことのできる社会環境が整っているとはいえない。

この閉塞的な状況を改善するための取組みの一つとして、小児先天性疾患および難治性疾患の遺伝子解析研究を行っている施設に、確定診断を必要としている患者の主治医が遺伝学的検査を依頼する際に用いることのできる同意文書・説明文書（案）を作成した。現在、わが国では、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断のために行われる遺伝学的検査の多くが、研究の一環として行われていることを考慮し、「遺伝学的検査の実施」についてだけでなく、研究推進のための「試料の保存および研究使用」についての同意書・説明書の試案も作成した。今後、関係者の意見を聴取し、最終案をまとめる予定である。

これらの文書の作成・公表により、主治医と遺伝子解析担当者との交流が円滑に進み、多くの患者・家族に有用な情報を提供することができるようになるとともに、研究推進に役立つことを期待している。

2003年に公表された遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」（10学会指針）の問題点の抽出を共同研究者とともに行った。遺伝学的検査は急速に普及・拡大し、一般診療の中で、遺伝学的検査の実施が必要となる場面が急増しているため、今回明らかにされた問題点について、早急に見直しを行う必要がある。遺伝学的検査の提供に関係する学術団体等に本ガイドラインの見直し、または新ガイドラインの作成を呼びかけていきたいと考えている。

## 3. 遺伝子カウンセリングの体制整備

本研究では、小児先天性疾患および難治性疾患を扱う可能性がある施設を抽出してアンケート調査を実施した。遺伝カウンセリングは49%で実施されていたが、非実施も同程度であった。独立した臨床遺伝部門は38%に存在していたが59%では独立した部門ではなかった。遺伝カウンセリング専任のスタッフがいる施

設は35%、兼任も入れると70%となった。スタッフの内訳としては、臨床遺伝専門医、看護師、心理士、臨床検査技師とともに、新たな制度の認定遺伝カウンセラーがスタッフとして加わるようになってきていることが分かった。臨床遺伝専門医がいない施設は19あったが、臨床遺伝専門医の資格取得の意志は53%で認められた。遺伝カウンセリングの専用の部屋を有する施設は43%であり、個室として仕切られているが61%とプライバシーに配慮する傾向が見られた。時間は初診45-60分、再診30-45分が最も多かった。費用には幅があったが、自費診療として根付き始めていることが分かった。先天性疾患・難治性疾患の遺伝子診断の実施の際の十分なインフォームドコンセント、結果が出てからの治療方針の決定、療育方針や社会支援を含めた情報提供、家族における遺伝子診断結果の影響の解析とその説明など、主治医と遺伝カウンセリングの担当者が協力して患児・家族を支援する体制の構築が重要であり、十分な時間をかけて患者家族に理解できるように話し合っていくことが必要である。それらの医療行為は自費診療で実施されているが、無料の施設もあった。遺伝子検査が診断としてなされ、広がっている現状から、小児の先天性疾患・難治性疾患の医療において遺伝カウンセリングは重要な位置づけであり、医師および資格を有する非医師が連携して十分な時間をかけて担当している現状を考えると、保険診療として充実させていく事が、わが国の医療の質の向上につながることであろう。診療録の電子化については、今後の拡がりの可能性のあるテーマである。多くの施設で診断のための遺伝子検査がなされてきている。遺伝子検査結果および遺伝カウンセリングの内容は適切に判断して情報の階層化を行い、診療録の電子化に対応できる遺伝子情報の管理体制が必要になると考える。

#### 4: 経済的基盤の確立

このネットワークでは、センターであるオーファンネットジャパン自体が遺伝子検査を実施するのではなく、遺伝子検査を希望する医療機関と、その遺伝子検査を提供している研究室の間をコーディネートする役割を担う。医療機関は、従来のように遺伝子検査実施施設を自ら探し出して交渉する必要はなく、オーファンネットジャパンに連絡するだけでよい。一方、検査を受諾する研究室は煩雑な連絡事務作業をオーファンネットジャパンに委ねることができる。遺伝子検査結果は、オーファンネットジャパンを通じて医療機関側に

伝えられ、このプロセスを通じて報告書書式の標準化を実施した。血液検体の輸送やDNA抽出に関しては、商業的検査会社(エスアールエル)の既存のネットワークを活用することで迅速かつ安全な全国サービス提供が可能となった。

実際にこのシステムを通じて30件の遺伝子検査を提供したが、いずれもスムーズに実施することができ問題点は認められなかった。費用負担は、病院もしくは患者家族がおこなっていると考えられたが、その詳細は不明である。

遺伝子検査費用の国際比較では、ひとつの例外を除き、オーファンネットジャパンのほうが安い価格で提供できていることが明らかになった。とくに約半数の検査項目では、米国や欧州よりも1/2～1/3の低価格で提供できおり、欧米の商業的遺伝子検査に比べて低いコストで実施可能であることが実証された。実際の医療現場では、これら海外の遺伝子検査会社に依頼することも稀ではない。その際には、検査費用そのものに加えて国内でのDNA抽出料金や輸送費などが加算されるため、オーファンネットジャパンでの提供価格をはるかに超過することになる。今後、臨床的に遺伝子検査が必要となるケースはますます増加すると考えられ、海外への過剰な医療費流出を防ぐためにも国内での遺伝子検査ネットワークを整備することが重要と考えられる。今後、ネットワークへの参加施設を増やし、遺伝子検査項目を追加していくことで、わが国における遺伝子検査提供体制を充実させていくことが可能であろう。

#### E. 結論

小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断の継続的実施を可能とする基盤を整備に向けて、以下を行った。遺伝子診断法の開発としてインプリンティング疾患解析、欠失解析、腫瘍発症原因の網羅的解析法を構築した。倫理的基盤整備のために全国共通で使用できる倫理書式の雛形を作成し、また、現在の問題点を明らかとした。遺伝カウンセリングの体制整備のために全国実態調査を行い、現状把握と今後の課題を明確とした。経済的基盤の確立のために、NPO法人を設立・稼働させ、円滑な運営を行っている。これらの成果は、次年度からの研究遂行の基礎となると考えられる。

分 担 研 究 報 告

## 腫瘍性疾患の臨床的遺伝子診断

研究分担者 国立成育医療センター研究所 発生・分化研究部 室長 大喜多 肇

### 研究要旨

稀な小児固形腫瘍に対して国立成育医療センター研究所を拠点として遺伝子診断を行うために、小児腫瘍中央診断委員会事務局と連携して体制整備を進めた。また、遺伝子診断拠点施設の機能拡充の一環として、腎芽腫における 11p13 領域欠失解析のため MLPA 法を導入し、サザンブロット法と比較・検討した。一般的に MLPA 法の精度が優れていたが、サザンブロットでないと確定できない欠失も存在した。費用、時間、労力を考慮すると MLPA 法が優位であると考えられた。

### 共同研究者

該当なし。

### A. 研究目的

本研究の目的は、小児の難治性疾患の一つである腫瘍性疾患の臨床的遺伝子診断の継続的实施を可能とする基盤を整備することである。腫瘍性疾患の確定診断は、病理学的な組織診断によってなされることが基本であるが、しばしば、腫瘍に特異的な遺伝子異常が同定されており、組織学的診断に加えて遺伝子解析を行うことにより、より精度の高い診断が可能となると考えられる。特に特徴の乏しい小円形細胞腫瘍や紡錘形細胞肉腫は、しばしば病理組織学的に鑑別診断が困難で、小児や肉腫を専門とする病理医であっても、確定診断することが困難なこともある。これらの腫瘍は頻度が低いために、検査会社で行われる項目はほとんどなく、個人的なネットワークで関係する研究者に依頼することが一般的と考えられるが、既知の遺伝子診断を研究者の負担で行うことには限界がある。

研究分担者らは、固形腫瘍の遺伝子診断として、Ewing 肉腫ファミリー腫瘍、胞巣型横紋筋肉腫、滑膜肉腫、乳児線維肉腫、先天性間葉芽腎腫、線維形成性小細胞腫瘍、TFE3 転座を伴う腎細胞癌等に対する RT-PCR 法による融合遺伝子発現解析を行ってきた。また、研究分担者は、横紋筋肉腫、Ewing 肉腫ファミリー腫瘍の多施設共同臨床研究グループの中で、横紋筋肉腫、Ewing 肉腫の遺伝子診断を担当している。こ

れらは、臨床試験参加症例の診断のセントラル・レビューとしての遺伝子解析であり、臨床試験参加症例に対しては、既に質の高い遺伝子診断が施行されている。しかしながら治療研究グループに参加している施設であっても、臨床試験に登録されない症例や、症例数が少ないために治療研究グループが存在しない希少な腫瘍症例が存在しており、これらの症例については、検査法自体は確立しているものであっても、実施する体制は整っていない。本研究では、遺伝子診断機能の拡充を図るとともに、非登録症例や、希少な腫瘍症例の遺伝子中央診断を実施するための体制整備を行うことを目的とする。

### B. 研究方法

小児腎腫瘍 108 例の腫瘍組織から、SDS-proteinase K 法でゲノム DNA を抽出した。MLPA 解析用のゲノム DNA は illustra tissue and cells genomicPrep Mini Spin Kit (GE healthcare) を用いて抽出した。抽出したゲノム DNA を用いてサザンブロット法、MLPA 法で WT1 遺伝子の欠失の有無を比較・検討した。サザンブロット法は、以下のように行った。5  $\mu$ g のゲノム DNA を制限酵素 EcoRI で消化し、1% アガロースゲルで電気泳動、ナイロンメンブレン (GE, Hybond XL) に転写した。 $\alpha^{32}$ dCTP で標識した WT1 cDNA プローブにてハイブリダイズした。メンブレンをイメージングプレートに露光し、LFA7000 (Fuji film) で解析した。欠失が疑われた場合は、Hind III あるいは BglIII を用いたサザン

プロットにて確認した。MLPA 解析は、SALSA MLPA Kit P118WT1(MRC)を用いて以下のようにを行った。ゲノム DNA100ng を 98°C で変性後、プローブと混合し、60°C で一晚、ハイブリッドを形成させ、更に Ligase を添加し、54°C で 15min 間、プローブ同士を連結させた。プローブに対するプライマーを用いて PCR を行い、ABI3100Genetyc Analyzer にて PCR 産物のサイズと量を定量し、GeneMapper で解析した。各プローブに由来する PCR 産物のピーク面積を算出し、エクセル上のスプレッドシートで、各プローブのピーク面積とレファレンスのピーク面積の比を計算することにより、各プローブのゲノム領域を算出した。サザンプロット法、MLPA 法における結果を比較した。

#### （倫理面への配慮）

本研究では腫瘍細胞における遺伝子異常を対象として解析しており、臨床研究の指針に準拠して研究を行った。また、当該研究機関の倫理委員会の承認を得た上で研究を行った。遺伝子解析にあたっては、インフォームド・コンセントを得た腫瘍検体を匿名化して用いた。

#### C. 研究結果

現在、主要ながん種に対しては多施設共同で臨床研究グループが形成されており、その中で遺伝子診断が行われている。一方、臨床試験非登録症例や希少症例に対しては、小児腫瘍の登録と中央病理診断実施の体制整備が小児腫瘍中央病理診断委員会を中心にすすめられており、それと連携して、遺伝子診断の体制整備を進めている。具体的には、参加施設より腫瘍病理標本と凍結組織検体の送付をうけ、病理学的に鑑別診断に挙げられる腫瘍の遺伝子診断を行い、病理レビュー担当医に報告、結果を参照することにより最終的な診断を下す体制とする予定である。解析可能な対象疾患と遺伝子は、Ewing 肉腫ファミリー腫瘍（EWS-FLI1、EWS-ERG、EWS-ETV1、EWS-E1AF、EWS-FEV、FUS-ERG）、胞巣型横紋筋肉腫（PAX3-FKHR、PAX7-FKHR）、線維形成性小細胞腫瘍（EWS-WT1）、先天性線維肉腫/先天性間葉芽腎腫（ETV6-NTRK3）、滑膜肉腫（SYT-SSX1、SYT-SSX2）、Xp11.2 転座を伴う腎癌（ASPL-TFE3、PRCC-TFE3、PSF-TFE3、NonO

-TFE3）、胞巣状軟部肉腫（ASPL -TFE3）である。上記に対して凍結検体を用いた RT-PCR 法にて遺伝子診断が可能である。また、凍結検体の得られない症例のために、EWS 遺伝子（Ewing 肉腫ファミリー腫瘍、線維形成性小細胞腫瘍）、FUS 遺伝子（Ewing 肉腫ファミリー腫瘍、粘液状脂肪肉腫）、FKHR 遺伝子（胞巣型横紋筋肉腫）、SYT 遺伝子（滑膜肉腫）、ETV6 遺伝子（乳児線維肉腫、先天性間葉芽腎腫）に対して、腫瘍捺印標本やパラフィン切片を用いた fluorescence in situ hybridization (FISH) 法を行う体制を整えており、本法では、融合遺伝子の種類まで同定することはできないが、病理診断と組み合わせることにより、腫瘍診断を確定することが可能となる。

遺伝子診断拠点施設の機能拡充の一環として、腎芽腫における 11p13 領域欠失解析体制を整備した。腎芽腫の一部では、11p13 に存在する WT1 遺伝子の異常（点変異、挿入や欠失）が腫瘍の発生に関与することが知られている。現在までは本遺伝子の解析はシーケンス解析、サザンプロット解析で行ってきた。しかしながら、サザンプロット法では、感度が不十分と考えられるため、MLPA(multiplex ligation-dependent probe amplification)法を導入し、その有効性を検討した。

108 例の腎芽腫の腫瘍検体を用い、MLPA 法とサザンプロット法の両者で WT1 構造異常を検討した。MLPA 法では全ての検体で判定可能であったが、サザンプロット法では、11 例で DNA 分解などの理由で判定が困難であった。サザンプロット法では、108 例のうち 4 例で、WT1 遺伝子の一部のホモ欠失が同定された。2 例では、バンドの濃度がコントロールと比較して低下しているため、ヘミ欠失が疑われた。MLPA 法では 2 例で WT1 遺伝子の一部のホモ欠失が同定された。2 例では WT1 遺伝子の単一エクソンの欠失が疑われたが、単一プローブに由来するピークの減弱であったため、欠失と断定することは困難であった。MLPA 法にて単一プローブに由来するピークが減弱する場合は、サザンプロット法がより有効であった。一方、MLPA 法では、8 例の腫瘍で WT1 遺伝子あるいは 11p13 領域のヘミ欠失が同定され、サザンプロット法よりも確実にヘミ欠失を判定できると考えられた。

#### D. 考察

現在、臨床試験に参加しない症例も含めた病理診断システムが計画されており、これと連携し、融合遺伝子解析を、国立成育医療センターを拠点として実施することを目指し、体制を整備しつつある。この体制が整備された場合、専門的な病理医による病理診断と連携して、遺伝子診断を行うため、精度の高い診断が可能となることが期待される。Ewing 肉腫ファミリー腫瘍、胞巣型横紋筋肉腫、線維形成性小細胞腫瘍、乳児線維肉腫・先天性間葉芽腎腫では、遺伝子異常と腫瘍の診断名がほぼ 1 : 1 で対応し、高い感度と特異度を示すが、TFE3 関連腎癌と胞巣状軟部肉腫のように、必ずしも特異度が 100% でないケースがあり、病理診断と遺伝子診断を相補的に用いることが必要と考えられる。また、診断拠点をつくることにより、希少な腫瘍性疾患の遺伝子診断のデータが将来的に蓄積されることも期待される。

11p13 領域のコピー数解析を行うために、MLPA 法を導入し従来のサザンプロット法と比較したところ、両方法ともに一部の腎芽腫において WT1 遺伝子全体、WT1 遺伝子の一部など、様々なサイズの欠失が同定可能であったが、従来の方法と比較すると、MLPA 法ではより精度の高い解析が可能であった。また、WT1 遺伝子のみならず周辺の遺伝子領域も含めて欠失領域を同定することが可能であった。一方で、単一のプローブのみを含む欠失の場合、プローブを含む領域の微小な変異の可能性もあるため、欠失を確定することは困難であり、このような場合、サザンプロット法を併用すると有用と考えられた。コスト、RI を使用しなくてもすむ点、解析にかかる時間を考慮するとまず MLPA 法で解析し、次に必要な検体のみサザンプロット法で解析することが、現実的と考えられた。今後、塩基配列異常のデータと合わせて腫瘍における遺伝子変異と臨床病理学的特徴を解析することにより、本方法の診断上の意義を更に検討する。

#### E. 結論

小児固形腫瘍の中央病理診断と連携する形で、希少な腫瘍性疾患に対する遺伝子診断を実施するための

体制整備を進めている。また、腎芽腫における 11p13 領域の異常の解析法として MLPA 法の有効性を検討したところ、本方法は従来法と比較し、精度が高く、有用であった。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Oue T, Fukuzawa M, Okita H, Mugishima H, Horie H, Hata JI, Saito M, Nozaki M, Chin M, Nakadate H, Hinotsu S, Koshinaga T, Kaneko Y, Kitano Y, Tanaka Y; Japan Wilms Tumor Study (JWiTS) Group. Outcome of pediatric renal tumor treated using the Japan Wilms Tumor Study-1 (JWiTS-1) protocol: a report from the JWiTS Group. *Pediatr Surg Int.* 2009 25:923-9.

2) Ohshima J, Haruta M, Arai Y, Kasai F, Fujiwara Y, Ariga T, Okita H, Fukuzawa M, Hata J, Horie H, Kaneko Y. Two candidate tumor suppressor genes, MEOX2 and SOSTDC1, identified in a 7p21 homozygous deletion region in a Wilms tumor. *Genes Chromosomes Cancer.* 2009 48(12):1037-50.

3) ウイルムス腫瘍(特集:小児疾患における臨床遺伝学の進歩). 大喜多 肇, 秦 順一, *小児科*, 50(7)1115-20

##### 2. 学会発表

1) 大喜多肇, 宮川世志幸, 佐藤伴, 中島英規, 片桐洋子, 梅澤明弘, 秦順一, 藤本純一郎, 清河信敬, Ewing family tumor 特異的融合遺伝子 EWS/ETS による Dickkopf1/2 の発現制御. 第 68 回日本癌学会学術総会, 横浜, 10月1日~3日, 横浜. p348, 2009.

2) 滝田順子, 大木健太郎, 西村力, 加藤元博, 陳玉彦, 真田昌, 金兼弘和, 大喜多肇, 藤本純一郎, 菊地陽, 五十嵐隆, 林泰秀, 小川誠司, 小児固形腫瘍における ALK 遺伝子の増幅と変異, 第 68 回日本癌学会学術総会, 横浜, 10月1日~3日, 横浜. p416, 2009.

3) 北條洋, 堀江弘, 藤本純一郎, 浜崎豊, 秦順一, 石田剛, 小林庸次, 宮内潤, 森川征彦, 中川温子, 中山雅弘, 田中祐吉, 恒吉正澄, 横山繁昭, 大喜多肇, 井上健, 平

戸純子. 小児期固形腫瘍 2052 例における種類別頻度の  
解析, 第 25 回日本小児がん学会, 千葉, 11 月 27 日～  
29 日, 小児がん, プログラム・総会号, p225, 2009.

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

該当なし。

##### 2. 実用新案登録

該当なし。

##### 3. その他

該当なし。

## 小児先天性疾患および難治性疾患における臨床的遺伝子診断の基盤整備 倫理基盤の確立

研究分担者 福嶋義光 信州大学遺伝医学・予防医学講座 教授

### 研究要旨

小児先天性疾患および難治性疾患における臨床的遺伝子診断の基盤整備の一環として、1) 臨床的遺伝子診断のための同意文書（案）の作成、2) 遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」（10学会指針）の問題点の抽出、3) 細胞遺伝学的診断の精度向上、など、倫理基盤の確立に向けた取組みを行った。

### A. 研究目的

ヒトゲノム解析研究の爆発的進展により、数多くの疾患の発症に関連する遺伝子が単離され、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断を含む種々の遺伝学的検査が可能になった。これらの遺伝学的検査は、難治疾患の確定診断、予後予測、早期発見と早期対応等に極めて有用な検査であるが、一方では、この遺伝学的検査により明らかにされる遺伝情報は、1) 生涯変化しない情報（不変性）、2) 将来を予測し得る情報（予測性）、3) 血縁者も関与し得る情報（共有性）、であるため、新たな倫理的問題が提起され、通常の臨床情報とは異なる慎重な対応が求められている。本研究の目的は、倫理的な問題を解決しつつ、遺伝学的検査が医療の場で広く用いられるようにするための具体的な方法を明らかにすることである。

### B. 研究方法

(1) 臨床的遺伝子診断のための同意文書の作成と臨床的遺伝子診断と遺伝子解析研究との連携についての検討

遺伝子診断のための既知遺伝子の解析、試料の保存、および将来必要になった場合のリコンタクトの可能性等についての同意文書・説明文書を、欧米の施設および国内他施設等で用いられている同意文書（特に国立精神・神経センターのHP <<http://www.ncnp.go.jp/nin/guide/r1/ICF.html>> 上で公表されている文書）を参考に、同意文書・説明文書（案）

を作成した。また、臨床的遺伝子診断を行う際に得られた試料を遺伝子解析研究に用いるために必要なプロセスおよび倫理基盤構築についての検討を行い、同意書・説明文書（案）に反映させた。

(2) 遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」（10学会指針）の問題点の抽出

個人遺伝情報を明らかにする遺伝学的検査は、通常の臨床検査とは異なる視点からの留意が必要であることから、遺伝医学関連10学会（人類遺伝、遺伝子診療、遺伝カウンセリング、先天異常、先天代謝異常、マススクリーニング、小児遺伝、産科婦人科、臨床検査医学、家族性腫瘍）は、2003年に「遺伝学的検査に関するガイドライン」（2003年）を公表致した。その後、このガイドラインは厚労省の「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取扱いのためのガイドライン」に引用され、また2005年には日本医学会から各分科会に通知されたことにより、現在わが国の遺伝学的検査のあり方のスタンダードとして認知されている。その後、遺伝学的検査は急速に普及・拡大し、一般診療の中で、遺伝学的検査の実施が必要となる場面が急増しているが、現行の遺伝医学関連10学会のガイドラインでは、対応しきれない問題が生じていると考えられることから、本指針の改正に向けて、その問題点の抽出を行った。

### (3) 細胞遺伝学的診断の精度向上

臨床的遺伝子診断法の一つである細胞遺伝学的検査の精度を向上させるために、BAC ライブラリーを用意し、ゲノムコピー数異常が疑われる症例に対して当該染色体領域のBACクローンを用いたFISH解析を開始した。

#### （倫理面への配慮）

本研究は主に遺伝学的検査に関係する倫理的問題を解決するために行われるものであり、種々の検討が直接倫理問題を生ずることはないと考えられる。検査精度の向上のために行われる取組みの中で、患者検体を用いる場合は、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に則り、倫理委員会の承認を得た上で、匿名化するなど個人情報保護に十分留意して実施する。

## C. 研究結果

### (1) 臨床的遺伝子診断のための同意文書の作成と臨床的遺伝子診断と遺伝子解析研究との連携についての検討

現在、わが国では、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断のために行われる遺伝学的検査の多くが、研究の一環として行われていることを考慮し、以下の「遺伝学的検査の実施」と「試料の保存および研究使用」についての同意書・説明書の試案を作成した（別添資料参照）。これらの文書は、遺伝学的検査が有用であると考えた主治医が、その疾患の遺伝子解析を行っている国内の施設に患者検体を送付し、検査を依頼する際に用いられることを想定している。

- ・「遺伝学的検査の実施」と「保存/研究使用」に関する同意書（案，100103YF）
- ・「遺伝学的検査の実施」と「保存/研究使用」に関する同意書の変更願（案，100103YF）
- ・医師用説明資料（案，100103YF）
- ・患者・家族への説明文書（案，100103YF）

### (2) 遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」（10学会指針）の問題点の抽出

以下の項目が問題点として抽出された。

- ・遺伝学的検査の範囲，定義
- ・遺伝学的検査が行われる場面についての記載
- ・患者の確定診断を目的として行われる場合の要件
- ・薬理遺伝学的検査の扱い方
- ・遺伝カウンセリング担当者の要件
- ・遺伝カウンセリング体制の記載
- ・検査精度についての記載
- ・検体試料のバンキングについての記載
- ・電子カルテへの対応
- ・出生前診断の記載
- ・その他

### (3) 細胞遺伝学的診断の精度向上

ゲノムコピー数異常をスクリーニングする解析法としてマイクロアレイ法やMLPA法といったゲノムコピー数解析法が諸外国で日常診療に利用されつつある。ゲノムコピー数解析法はゲノムの量的変化を伴う染色体異常症を高精度に診断できる染色体検査といえる。しかしながら医療として実施する染色体異常の診断としてはゲノムの量的変化を捉えるだけでは不十分で、量的変化を生み出した染色体構成を確認のうえ総合的に解釈することが必須である。染色体量的変化を伴う構造異常の確認のためには、異常領域を含むあるいはその近傍に座位するDNAクローンをFISH用プローブとして、患者のmetaphase 標本にてFISH解析することが必要である。ゲノムコピー数解析法で見いだされるあらゆる染色体領域に対する染色体構成の確認にも対応できるように、全ゲノムをほぼカバーするcontig cloneをBACPAC Resources Center in Children's Hospital Oaklandより入手、将来のFISH解析に備え準備した。座位の確認されているDNAクローンをを用いたFISH解析は、染色体構造異常の確認のみならず、ゲノムコピー数解析法の発展で認識されるようになったCopy Number Variation の確認や、検出されたコピー数異常がpathogenicな変化なのかbenignな変化なのかの判断基準のひとつとしても利用できる。

## D. 考察

小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子

診断を目的とした遺伝学的検査は、欧米先進諸国においては、1600種類以上の疾患について臨床検査としての実施が可能である。しかし、わが国においては、現在、染色体検査を除けば、13疾患の遺伝病的検査が保険診療として認められているのみである。遺伝学的検査により確定診断がなされることは、適切な医療提供のために極めて有用であり、患者・家族の受けるメリットは計り知れないが、わが国においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究の成果が十分活かすことのできる社会環境が整っているとはいえない。

この閉塞的な状況を改善するための取組みの一つとして、小児先天性疾患および難治性疾患の遺伝子解析研究を行っている施設に、確定診断を必要としている患者の主治医が遺伝学的検査を依頼する際に用いることのできる同意文書・説明文書(案)を作成した。現在、わが国では、小児先天性疾患および難治性疾患の臨床的遺伝子診断のために行われる遺伝学的検査の多くが、研究の一環として行われていることを考慮し、「遺伝学的検査の実施」についてだけでなく、研究推進のための「試料の保存および研究使用」についての同意書・説明書の試案も作成した。今後、関係者の意見を聴取し、最終案をまとめる予定である。

これらの文書の作成・公表により、主治医と遺伝子解析担当者との交流が円滑に進み、多くの患者・家族に有用な情報を提供することができるようになるとともに、研究推進に役立つことを期待している。

2003年に公表された遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」(10学会指針)の問題点の抽出を共同研究者とともにに行った。遺伝学的検査は急速に普及・拡大し、一般診療の中で、遺伝学的検査の実施が必要となる場面が急増しているため、今回明らかにされた問題点について、早急に見直しを行う必要がある。遺伝学的検査の提供に関係する学術団体等に本ガイドラインの見直し、または新ガイドラインの作成を呼びかけていきたいと考えている。

臨床的遺伝子診断においては、インフォームドコンセントや遺伝カウンセリングのあり方などの倫理的な問題の解決とともに、検査精度の向上についても検討しておく必要がある。本研究においては、細胞遺伝学的診断精度の向上を目的とした取組みを開始した。

マイクロアレイ法や MLPA 法の開発により、染色体異常はゲノムコピー数の異常であると概念が変わりつつあるが、Copy Number Variation など、正常多型なのか病的な変化なのかの判定が困難な問題があり、座位の確認されている DNA クローンを用いた FISH 解析は、検査精度の向上のために、欠かすことはできない。今後も細胞遺伝学的診断法の精度向上のための具体的取組みを継続していきたい。

## E. 結論

小児先天性疾患および難治性疾患における臨床的遺伝子診断の基盤整備の一環として、1) 臨床的遺伝子診断のための同意文書(案)の作成、2) 遺伝医学関連10学会「遺伝学的検査に関するガイドライン」(10学会指針)の問題点の抽出、3) 細胞遺伝学的診断の精度向上、など、倫理基盤の確立に向けた取組みを行った。

F. 健康危険情報 なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

福嶋義光：遺伝子診断と生命倫理．小児科 50:813-817, 2009

福嶋義光：遺伝子診療と倫理．糖尿病学の進歩 2009 (日本糖尿病学会編)．診断と治療社 pp. 86-89, 2009

「遺伝学的検査の実施」と「保存/研究使用」に関する同意書（案，100103YF）

遺伝学的検査 解析実施責任者 殿

患者氏名 \_\_\_\_\_ 生年月日（西暦） \_\_\_\_\_ 年 月 日 記入日 \_\_\_\_\_ 年 月 日

患者住所 〒 \_\_\_\_\_

患者本人が判断できず、代理人が承諾する場合は、次の欄も記入してください。

代理人氏名 （患者との関係） \_\_\_\_\_

代理人住所 〒 \_\_\_\_\_

検体の種類（○で囲む）： 血液 ・ その他（ \_\_\_\_\_ ）

培養の有無（○で囲む）： あり ・ なし

遺伝学的検査に関すること

私は、担当医師（ \_\_\_\_\_ ）から説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、上記検体を用いて、次の遺伝学的検査を下記の遺伝子解析実施者に依頼することを承諾いたします。

（いずれかの番号を○で囲む）

1. 可能性のある全ての遺伝子を対象とした遺伝学的検査
2. 疾患名（ \_\_\_\_\_ ）においてすでに関連が知られている遺伝子のみを対象とした遺伝学的検査
3. その他（ \_\_\_\_\_ ）

署名（患者または代諾者） \_\_\_\_\_ 印 （印鑑のないときは、自署のみでも可）

保存/研究使用に関すること

私は、疾患名（ \_\_\_\_\_ ）の病因・病態解明と治療法開発のために、上記検体の一部が保存され、下記遺伝子解析実施者の所属施設または共同研究者の施設において、遺伝子解析を含む研究に使用されることについて、担当医師から必要かつ適切な説明を受け、その趣旨を十分理解しましたので、承諾いたします。

署名（患者または代諾者） \_\_\_\_\_ 印 （印鑑のないときは、自署のみでも可）

公共バンクへの検体の供与： 1. 認める 2. 認めない

将来の研究で本疾患に関する情報が判明した場合に、その結果を： 1. 知りたい、2. 知りたくない

#### 説明を行った医師の署名

私は、上記患者（または代諾者）に、説明文書の内容も含めて、十分な説明を行い、承諾を得ました。

( ) 上記の遺伝学的検査の実施を依頼します。

( ) 検体の保存、および研究使用についての承諾も得られています。

また、遺伝学的検査の特殊性については、遺伝カウンセリングの必要性を含めて説明し、遺伝子解析実施者より遺伝学的検査の結果の通知を受けた際には、責任を持って上記患者（または代諾者）にその内容を説明するとともに、遺伝医療（遺伝子医療）部門や臨床遺伝専門医等と連携し、適切な遺伝カウンセリングを実施します。

医師署名 \_\_\_\_\_ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

病 院 名 \_\_\_\_\_ 科 名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

#### 遺伝子検査実施者および検体・試料管理担当者

氏 名 \_\_\_\_\_

住 所 〒 \_\_\_\_\_

所属機関 \_\_\_\_\_

電 話 \_\_\_\_\_