

201018014A

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成23(2011)年 3月

厚生労働科学研究費補助金
成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業

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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 緒方 勤

平成23(2011)年 3月

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 (独)国立成育医療研究センター研究所

研究要旨：

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実施を可能とする基盤を整備することである。当該年度においては、遺伝子診断の限界と留意点の明確化、パラフィン切片を用いた腫瘍性疾患の遺伝子診断、倫理的基盤の確立（「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・説明書案の全国遺伝子医療部門連絡会議による承認、ならびに、新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に記載する内容の提唱）、遺伝カウンセリング体制の実態調査のまとめ、遺伝子診断の臨床提供における経済的基盤整備の研究（かずさ研究所との協力体制の確立と遺伝子診断コストの低下）、遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learningシステムの構築（遺伝医学講義全18項目のDVD作成と全国遺伝子医療部門連絡会議ホームページからの視聴）、ホームページの設置を行った。これらの成果は、本邦における臨床的遺伝子診断の推進に大きく貢献すると期待される。

研究分担者

大喜多肇	国立成育医療研究センター研究所 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実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

- 遺伝子診断の限界と留意点の明確化：遺伝子診断では、何をどこまで解析したのか、ということが問題となる。通常、ある遺伝子のタンパクコード領域のシーケンスが解析されるが、この場合、変異が認められたとき、特にミスセンス置換において、病的変異であるか否かが問題となる。通常、多数の健常者に見いだされた置換が存在しないとき病的置換とみなされるが、これはrare variantの可能性を否定するものではない。また、変異が見いだされないとき、遺伝的異質性（他の遺伝子異常の可能性など）が推測されるが、タンパクコード領域のシーケンスでは見いだされない異常（ヘテロの微小欠失、プロモーター異常、エンハンサー異常など）の存在が否定できない。本年度は、このような遺伝子診断にまつわる項目について検討した。その結果、(1) ミスセンス置換が、たとえ多数の健常者に見いだされなくとも、病的とは断定できないこと、(2) 現在なしうるすべての解析を行っても、原因が特定できないことがあること、(3) インプリンティング疾患においても、その発症機序が多岐にわたることが示された。これは、遺伝子診断が

有用であると共に、限界と留意点を伴うことを明確に示すものであり、このようなデータの蓄積は、遺伝子解析結果の正しい解釈の重要性を喚起するものと考えられる。今後、ホームページから発信する予定である。

- パラフィン切片を用いた腫瘍性疾患の遺伝子診断：主要性疾患では、しばしばパラフィン包埋組織のみしか得られない場合がある、したがって、このような試料からも正確な遺伝子診断を可能とすることは極めて重要である。そこで、Ewing肉腫に特異的なEWS exon 7 - ERG exon 9融合遺伝子に対するRT-PCR解析をモデルとしてパラフィン包埋組織からのRT-PCRの条件検討を行ったところ複数の条件でパラフィン包埋組織からも融合遺伝子の検出が可能であった。
- 倫理的基盤の確立：昨年度「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（案）を作成した。この同意文書（案）について、全国遺伝子医療部門連絡会議に所属する臨床遺伝専門医などの有識者から意見聴取を行ったところ、全く異論はなく、適切なものと判断された。また、「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）に記載すべき内容の検討を行い、新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に記載する内容を提唱した。
- 遺伝カウンセリング体制の実態調査：我が国における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の実態を調査する目的で、遺伝子診療実施施設、小児先天性疾患および難治性疾患の関連学会の役員を対象としてアンケート調査を行い、40%の回収率で回答を得た。半数で遺伝カウンセリングが実施されており、遺伝カウンセリング専任スタッフは35%にとどまった。医師と非医師の連携で遺伝カウンセリングがなされるようになり、臨床遺伝専門医の資格取得の意志も過半数で見られた。
- 遺伝子診断の臨床提供における経済的基盤整備の研究：遺伝子検査を希望する医療機関、遺伝子解析実施施設、そして遺伝子解析結果を判定する専門家の3者の間に介在してコーディネートをを行うオープンネットジャパンが中心的機能を担う体制を確立した。特に遺伝子解析施設として、かずさDNA研究所が加わったことが特筆される。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いている。検査の価格は、DNA抽出と運搬費用（エスアールエル）、シーケンス解析費用（かずさ）、遺伝子解析結果判定費用（専門家）、そしてオープンネット事務局手数料を合計したものである。後3者はいずれも非営利であるため、検査会社では実現不可能な各設定で遺伝子検査を提供することが可能となった。具体的には、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの全エクソンシーケンス（79エクソン）は10万5千円で、ベルギーに本拠を置くGENDIA社で提供されている価格（22万2千円）の半額である。また、乳児重症ミオクロニーてんかん(SCN1A)は5万5千円で、GENDIA社の価格（21万円）のほぼ1/4である。このほか、多くの検査項目はいずれも5万5千円で提供する予定である。
- 遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learningシステムの構築：倫理、カウンセリングを含む基本的な遺伝学の教育を目的として、日本人類遺伝学会および全国遺伝子医療部門連絡会議の協力を得て、以下の遺伝医学系統講義のDVD収録すると共に、全国遺伝子医療部門連絡会議のホームページからの研修を可能とした。
 1. 遺伝医学の過去・現在・未来、鎌谷直之；
 2. 遺伝医学総論、福岡義光；
 3. ヒトゲノム・遺伝子の構造と機能、松本直通；
 4. 染色体異常症と細胞遺伝学、玉置知子；
 5. 単一遺伝子疾患とメンデル遺伝学、小杉真司；
 6. 多因子疾患の遺伝学、羽田明；
 7. 個別化遺伝医療と薬理遺伝学、鎌谷直之；
 8. エピジェネティクス、久保田健夫；
 9. 生化学遺伝学、松原洋一；
 10. 集団遺伝学、徳永勝士；
 11. 遺伝性疾患の分子遺伝学的理解、高田史男；
 12. 遺伝学的検査、野村文夫；
 13. ミトコンドリア遺伝、後藤雄一；
 14. 発生遺伝学と先天異常、小崎健次郎；
 15. 出生前診断、平原史樹；
 16. 腫瘍遺伝学、稲澤譲治；
 17. 遺伝性疾患の治療、櫻井晃洋；
 18. 遺伝カウンセリング、斎藤加代子。

- 研究班ホームページの設置：上記のような様々な情報を研究班から発信するために、ホームページを設置した
(<http://www.nch.go.jp/endocrinology/gene/>)。

D. 考察

- 遺伝子診断の限界と留意点の明確化：遺伝子診断の有用性と共に、限界と留意点が明確となってきた。このようなデータの蓄積は、遺伝子解析結果の正しい解釈の重要性を喚起するものであり、今後、ホームページから発信したいと考えている。
- パラフィン切片を用いた腫瘍性疾患の遺伝子診断：パラフィン包埋組織からのRT-PCRによる遺伝子診断がなされたことは、現実的に入手可能な検体を用いた診断方法の確立に繋がるものである。今後、新鮮検体が入手できなかった症例においても、遺伝子診断が進展することが期待される。
- 倫理的基盤の確立：昨年度作成した「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（案）が、全国遺伝子医療部門連絡会議に所属する臨床遺伝専門医などの有識者から適切なものと判断されたことは、今後、全国の統一した倫理書式の確立に大きく寄与すると期待される。また、「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）に記載すべき内容の検討を行い、新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に記載する内容を提唱したことは、新しい技術の進歩にも対応できる倫理的基盤の確立に貢献するものである。
- 遺伝カウンセリング体制の実態調査：約半数で遺伝カウンセリングが実施されていたが、遺伝カウンセリング専任のスタッフは35%にとどまった。医師と非医師の連携で遺伝カウンセリングに当たり、臨床遺伝専門医の資格取得の意志も過半数で見られた。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ると考えられた。
- 遺伝子診断の臨床提供における経済的基盤整備の研究：遺伝子解析施設として、

かずさDNA研究所が加わったことは、強力な解析センターを得ることとなり、今後一層の進展が期待される。また、コストも年と共に低下しており、現実的に多くの患者・家族にとって受け入れられる範囲の金額になってきていると考えられる。

- 遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learningシステムの構築：これは疑いなく、遺伝学教育の普及に繋がるものである。遺伝子診断の成果を正しく応用する大前提は、正しい遺伝学の知識を習得することであり、そのような観点からも、極めて有意義である。さらに、全国遺伝子医療部門連絡会議のホームページからの研修を可能としたことで、多くの研修を受けるものに利便性が図られていることは特筆に値する。
- 研究班ホームページの設置：今後の情報発信に有用と期待される。相互リンクも進めている。

E. 結論

当該年度においては、遺伝子診断の限界と留意点の明確化、パラフィン切片を用いた腫瘍性疾患の遺伝子診断、倫理的基盤の確立（「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・説明書案の全国遺伝子医療部門連絡会議による承認、ならびに、新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」に記載する内容の提唱）、遺伝カウンセリング体制の実態調査のまとめ、遺伝子診断の臨床提供における経済的基盤整備の研究（かずさ研究所との協力体制の確立と遺伝子診断コストの低下）、遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learningシステムの構築（遺伝医学講義全18項目のDVD作成と全国遺伝子医療部門連絡会議ホームページからの視聴）、ホームページの設置を行った。これらの成果は、本邦における臨床的遺伝子診断の推進に大きく貢献すると期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. Dateki S, Kosaka K, Hasegawa K, Tanaka H, Azuma N, Yokoya S, Muroya K, Adachi M, Tajima T, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Sato N, Fukami M, Ogata T*.

- Heterozygous *OTX2* mutations are associated with variable pituitary phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (2): 756–764, 2010. (IF = 6.202)
- Fukami M, Maruyama T, Dateki S, Sato N, Yoshimura Y, Ogata T*. Hypothalamic dysfunction in a female with isolated hypogonadotropic hypogonadism and compound heterozygous TACR3 mutations and clinical manifestation in her heterozygous mother. *Horm Res Paediatr* 73 (6): 477–481, 2010. (IF = 1.730)
 - Muroya K, Mochizuki T, Fukami M, Iso M, Fujita K, Ogata T*. Diabetes mellitus in a Japanese girl with HDR syndrome and *GATA3* mutation. *Endocr J* 157 (2): 171–174, 2010. (IF = 1.806)
 - Fukami M*, Nagai T, Mochizuki H, Muroya K, Yamada G, Takitani K, Ogata T. Anorectal and urinary anomalies and aberrant retinoic acid metabolism in cytochrome P450 oxidoreductase deficiency. *Mol Genet Metab* 100 (3): 269–273, 2010. (IF = 2.897)
 - Ashkenazi-Hoffnung L, Leberthal Y, Wyatt AW, Ragge NK, Dateki S, Fukami M, Ogata T, Phillip M*, Gat-Yablonski G. A novel loss of function mutation in *OTX2* is associated with phenotypically variable anophthalmia and isolated growth hormone deficiency. *Hum Genet* 127 (6): 721–729, 2010. (IF = 4.523)
 - Iijima K*, Nozu K, Kamei K, Nakayama M, Ito S, Matsuoka K, Ogata T, Kaito H, Nakanishi K, Mastuo M. Severe Alport syndrome in a young woman caused by a t(X;1)(q22.3;p36.32) balanced translocation. *Pediatr Nephrol* 25 (10): 2165–2170, 2010. (IF = 2.425)
 - Dateki S, Fukami M, Uematsu A, Kaji M, Iso M, Ono M, Mizota M, Yokoya S, Motomura K, Kinoshita E, Moriuchi H, Ogata T*. Mutation and gene copy number analyses of six pituitary transcription factor genes in 71 patients with combined pituitary hormone deficiency: identification of a single patient with *LHX4* deletion. *J Clin Endocrinol Metab* 95 (8): 4043–4047, 2010. (IF = 6.202)
 - Kagami M, O'Sullivan MJ, Green AJ, Watabe Y, Arisaka O, Masawa N, Matsuoka K, Fukami M, Matsubara K, Kato F, Ferguson-Smith AC, Ogata T*. The IG-DMR and the *MEG3*-DMR at human chromosome 14q32.2: hierarchical interaction and distinct functional properties as imprinting control centers. *PLoS Genet* 6 (6): e1000992, 2010. (IF = 9.532)
 - Yamazawa K, Nakabayashi K, Kagami M, Sato T, Saitoh S, Horikawa R, Hizuka N, Ogata T*. Parthenogenetic chimaerism/mosaicism with a Silver-Russell Syndrome-like Phenotype. *J Med Genet* 47 (11): 782–785, 2010. (IF = 5.751)
 - Kato H, Yoshida R, Tsukamoto K, Suga H, Eto H, Higashino T, Araki J, Ogata T, Yoshimura K*. Familial cases of atypical clinical features genetically diagnosed as LEOPARD syndrome (multiple lentiginos syndrome). *Int J Dermatol* 49 (10): 1146–1151, 2010. (IF = 1.177)
 - Hiraoka M*, Takahashi H, Orimo H, Hiraoka M, Ogata T, Azuma N: Genetic screening of Wnt signaling factors in advanced retinopathy of prematurity. *Mol Vis* 16 (12): 2572–2577, 2010. (IF = 2.541)
 - Matsubara K, Iwamoto H, Yoshida A, Ogata T*: Semen analysis and successful paternity by intracytoplasmic sperm injection in a man with steroid 5 α -reductase-2 deficiency. *Fertil Steril* 94 (7): 2770.e7–2770.e10, 2010: (IF = 3.970)
 - Suzumori N*, Ogata T, Mizutani E, Hattori Y, Matsubara K, Kagami M, Suguhara-Ogasawara M: Prenatal diagnosis of paternal uniparental disomy 14: delineation of further patient. *Am J Med Genet A* 152A (12): 3189–3192, 2010. (IF = 2.404)
 - Inoue H*, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K: Identification and functional analysis of novel human growth hormone-releasing hormone receptor (*GHRHR*) gene mutations in Japanese subjects with short stature. *Clin Endocrinol* [Epub ahead of print] 2010 Nov 2 doi: 10.1111/j.1365-2265.2010.03911.x.. (IF = 3.201)
 - Yamazawa K, Nakabayashi K, Matsuoka K, Matsubara K, Hata K, Horikawa R, Ogata T*: Androgenetic/biparental mosaicism in a girl with Beckwith-Wiedemann syndrome-like and upd(14)pat-like phenotypes. *J Hum Genet* 56 (1): 91–93, 2011. (IF = 2.547)
 - Inoue H*, Kangawa N, Kinouchi A, Sakamoto Y, Kimura C, Horikawa R, Shigematsu Y, Itakura M, Ogata T, Fujieda K: Identification and functional analysis of novel human growth hormone secretagogue receptor (*GHSR*) gene mutations in

- Japanese subjects with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 Nov 17. [Epub ahead of print]. (IF = 6.202)
17. Dateki S, Fukami M, Tanaka Y, Sasaki G, Moriuchi H, Ogata T*: Identification of chromosome 15q terminal deletion with telomere sequences and its bearing on genotype-phenotype analysis. *Endocr J* (accepted).
 18. Fukami M, Muroya K, Miyake T, Iso M, Yokoi H, Suzuki Y, Tsubouchi K, Nakagomi Y, Kikuchi N, Horikawa R, Ogata T*: *GATA3* abnormalities in six patients with HDR syndrome. *Endocr J* (accepted).
 19. Miyazaki O*, Nishimura G, Kagami M, Ogata T: Radiological evaluation of dysmorphic thorax in paternal uniparental disomy for chromosome 14. *Ped Radiol* (accepted).
 20. Kalfa N, Cassorla F, Abdennabi IO, Audran F, Philibert P, Daures JP, Baskin L, Fukami M, Ogata T, C Sultan C*: Exonic polymorphisms of MAMLD1 (CXorf6) are associated with hypospadias. *J Urol* (accepted).
 21. Fukami, Shozu M, Soneda S, Kato F, Inagaki A, Takagi H, Hanaki K, Kanzaki S, Ohyama K, Sano T, Nishigaki T, Yokoya S, Binder G, Horikawa R, Ogata T*: Aromatase excess syndrome: identification of cryptic duplications and deletions leading to gain-of-function of *CYP19A1* and assessment of phenotypic determinants. (accepted).
 22. Stoppa-Vaucher S, Ayabe T, Paquette J, Patey N, Francoeur D, Vuissoz J-M, Deladoëy J, Ogata T, Deal CL: 46, XY gonadal dysgenesis: new point mutation in two sibs and a germ line mosaicism in their father. *J Clin Endocrinol Metab* (submitted).
 23. Kalfa N, Fukami M, Audran F, Philibert P, Pienkowski C, Weill G, Pinto C, Manouvrier S, Ogata T, C Sultan C*: Screening of MAMLD1 mutations in 70 children with 46,XY DSD: Identification and functional analysis of 2 new mutations. (submitted).
 24. Matsubara K, Murakami N, Nagai T, Ogata T*: Maternal age effect on the development of Prader-Willi syndrome resulting from upd(15)mat through meiosis 1 errors. *J Hum Genet* (submitted).
 25. Ishikawa S, Umeda T, Tatsuno K, Isagawa T, Nagae G, Komura D, Yamamoto S, Matsubara K, Iwamoto Y, Stark M, Nemoto Y, Suemori H, Nakatsuji N, Jones KW, Ogata T, Soejima H, Fukayama M, Aburatani H*. Hidden extra-embryonic imprinting profile revealed by systematic transcriptome typing. (submitted).
 26. Brandão MP, Fukami M, Mendonca BB, Gerdulo M, Domenice S, Arnhold IJP, Ogata T, Costa EMF*. A MAMLD1 gain-of-function mutation causing 46,XY disorders of sex development.
 27. Mochizuki M*, Kojika S, Hosaka H, Ishihara T, Kobayashi K, Yoshida R, Ogata T, Ohyama K. Low sensitivity to estradiol causes labial adhesion in young infants. *J Pediatr*
 28. Ayabe T, Ishizuka B, Maruyama T, Uchida H, Yoshimura Y, Yoshida R, Fukami M, Nagai T, Ogata T*. Association of primary ovarian insufficiency with a specific HLA haplotype (A*24:02-C*03:03-B*35:01) in Japanese patients. *Fertil Steril* (submitted).
 29. Nakamura M, Fukami M, Sugawa F, Miyado M, Nonomura K, Ogata T*: *Mamld1* knockdown reduces testosterone production and *Cyp17a1* expression in mouse Leydig tumor cells. *PLoS ONE* (submitted).
 30. Yamazawa K, Ogata T, Ferguson-Smith AC*: Uniparental disomy and human disease: an overview. *Am J Med Genet C (Seminars in Medical Genetics)* 154C (3): 329–334, 2010. (IF = 2.404)
 31. Kaneko T, Okita H, Nakajima H, Iijima K, Ogasawara N, Miyagawa Y, Katagiri YU, Nakagawa A, Kiyokawa N, Sato T, Fujimoto J. Neuroblastoma cells can be classified according to distinctive glycosphingolipid expression profiles identified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Int J Oncol*. 2010; 37(5):1279-88.
 32. Watanabe Y, Sasaki M, Nishimura A, Takeshita-Yanagisawa A, Tajima G, Ozawa H, Kubota M, Tohyama J, Sasaki M, Oka A, Saito K, Osawa M, Yamamoto T. Comprehensive genetic analyses of PLP1 in patients with Pelizaeus-Merzbacher disease applied by array-CGH and fiber-FISH analyses identified new mutations and variable sizes of duplications. *Brain Dev* 2010;32(3):171-179.
 33. Kondo H, Saito K, Urano M, Sagara Y, Uchio E, Kondo M. A case of Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy Associated with Negative Electroretinograms. *Jpn J Ophthalmol*. 2010; 54(6):622-624.

34. Nagao K, Fujii K, Saito K, Sugita K, Endo M, Motojima T, Hatsuse H, Miyashita T. Entire PTCH1 deletion is a common event in point mutation-negative cases with nevoid basal cell carcinoma syndrome in Japan. *Clin Genet* 2011; 79:196-198.
 35. Kobayashi T, et al. Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. *Human Mutat* 31:284-294. 2010
 36. Ohtake A, et al. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. *J Pediatr Hematol Oncol* 2010 Online
 37. Komatsuzaki S, et al. *SHOC2* mutation analysis in Noonan-like syndrome and
 38. Aizaki K, et al. Cardio-facio-cutaneous syndrome with infantile spasms and delayed myelination. *Brain & Development* 33:166-169, 2011
 39. Kamada F, et al. A genome-wide association study identifies *RNF213* as the first Moyamoya disease gene. *J Hum Genet* 56:34-40, 2011
 40. Ohashi H, et al. Implications of prenatal diagnosis of the fetus with both interstitial deletion and a small marker ring originating from Chromosome 5. *Am J Med Genet* (in press)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

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 国立成育医療研究センター 小児血液・腫瘍研究部 室長 大喜多 肇

研究要旨

パラフィン包埋組織からの RT-PCR 法による腫瘍診断について検討した。Ewing 肉腫に特異的な EWS exon 7 - ERG exon 9 融合遺伝子に対する RT-PCR 解析をモデルとしてパラフィン包埋組織からの RT-PCR の条件検討を行った。複数の条件でパラフィン包埋組織からも融合遺伝子の検出が可能であった。腫瘍性疾患の遺伝子診断を行うにあたり凍結組織を用いた解析が標準であるが、現実的にはパラフィン包埋組織のみしか得られない場合もあり、パラフィン包埋組織を用いたより感度の良い RT-PCR 解析系を検討していく必要がある。

共同研究者

清河 信敬(国立成育医療研究センター小児血液・腫瘍研究部)

A. 研究目的

本研究は、小児の難治性疾患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を目標とする。腫瘍性疾患は、病理組織学的な診断によって確定診断されるが、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。特に特徴的形質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検査項目はほとんどなく、個人的に研究者に検査を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、臨床試験の品質担保の一環として、既に質の高い遺伝子診断が行われている。一方で、治療研究グループに参加している施設であっても、臨床試験参加しない症例や、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場合でも、必ずしも実施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した。

本年度は遺伝子解析施設の機能拡充の一環としてパラフィン包埋材料からの RT-PCR 法による腫瘍診断について検討した。これまでに凍結組織からの RT-PCR 法により、小児固形腫瘍等に特異的な融合遺伝子の検出を行ってきた。しかしながら、凍結検体が保存されていない症例が少なからず存在し、パラフィン切片を用いた FISH 法を行ってきたが、融合遺伝子の詳細な情報が得られず、感度も 100%ではない。そこでパラフィン包埋組織からの RT-PCR 法による融合遺伝子解析システムを確立できるかどうか検討した。

B. 研究方法

パラフィン包埋組織から 10 μ m 厚の切片を作製し、1~4 枚の切片から RNA を抽出した。ISOGEN PB kit(Nippon Gene)あるいは High Pure FFPE RNA micro kit(Roche)を用いて RNA を抽出した。cDNA 合成は random hexamer

と Transcriptor Fisrt Strand cDNA synthesis kit を用いて行った。また、One step PCR は、Prime Script One-Step RT-PCR Kit Ver.2、Transcriptor One Step RT-PCR Kit を用いて行った。Realtime PCR は、Fast SYBR Green RT-PCR kit、Power SYBR Green RNA to Ct One step kit を用いて行った。使用したプライマーの塩基配列は以下の通りである。

EWSex7-1 : GTTACCCACCCCAAAGCTGGATC,
ERGe7-1: CTGTGGAAGGAGATGGTTGAGC,
ERGe9-1: AGGAGGAAGCTGCCAAAGCTG,
EWSex7-2: GTTACCCACCCCAAAGCTGGAT,
FLI1ex5-1: CCCAAGCTCCTCTTCTGACTGA,
FLI1ex6-1: ATTGCCCAAGCTCCTCTTCT

（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。

C. 研究結果

ホルマリン固定パラフィン包埋切片から抽出した RNA は分解しているため、短い DNA 断片を増幅するプライマーセットが必要である。Ewing 肉腫ファミリー腫瘍では同一の遺伝子の組み合わせからなる融合遺伝子であっても融合する exon の組み合わせが複数あるため、主要な 4 タイプ (EWS ex7 - FLI1 ex 6、EWS ex7 - FLI1 ex 5、EWS ex 7 - ERG ex7、EWS ex 7 - ERG ex 9) を選択し、それらに対応するプライマーを設計し (EWSex7-1、ERGe7-1、ERGe9-1、EWSex7-2、FLI1ex5-1、FLI1ex6-1)、これらのプライマーが機能することを確認した。

次に EWS ex 7 - ERG ex 9 の融合遺伝子を発現する Ewing 肉腫細胞の異種移植組織 (20%ホルマリンあるいは 20%中性緩衝ホルマリンにて固定) のパラフィン切片 (10 μm 厚 1 枚ないし 4 枚) を ISOGEN PB kit あるいは High Pure FFPE RNA micro kit を用いて RNA を抽出したところ数十 ng/μl 程度の RNA が抽出可能であった。まず 100ng の RNA と random primer を用い Transcriptor Fisrt Strand cDNA synthesis kit を用いて cDNA を合成した。コントロールとして β アクチンに特異的なプライマーを用い

て PCR を行ったところ 35 サイクルの PCR で十分な増幅を得た。次に One step RT-PCR 法にて EWS ex7-ERG ex9 の融合遺伝子を検討したところ 35 サイクルないし 40 サイクルにて検出可能であった。二社の反応試薬を用いて検討したがいずれも検出可能で、感度の高い試薬のほうが特異度は低い傾向があり優劣はつけ難かった。

さらに Fast SYBR Green RT-PCR kit と ABI7900HT を用いた Realtime PCR 法にて解析したところ 34 サイクル程度で増幅が見られた。cDNA から random primer で合成した場合も条件が良ければ検出が可能と考えられた。SYBR Green を用いた One step PCR 法を Power SYBR Green RNA to Ct One step kit にて行った場合も 34~35 サイクル程度で増幅が見られ、One step 法を用いたときと大きな差は見られなかった。ホルマリン固定パラフィン切片を用いた RT-PCR 法が腫瘍診断に応用可能であると考えられた。

Ewing 肉腫では、上述したように同一の遺伝子からなる融合遺伝子でも複数の exon の組み合わせが存在する。そこで、複数の exon の組み合わせの融合遺伝子の検出を同時に検出可能か検討し、EWS ex 7 - FLI1 ex 6 と EWS ex 7 - FLI1 ex 5 の組み合わせの場合、両者の解析を同一の反応系で実行可能であった。

D. 考察

融合遺伝子検出をパラフィン包埋組織で検出する条件を検討した。複数の条件でホルマリン固定パラフィン包埋切片か RNA を抽出し、One step 法、SYBR Green を用いた One step あるいは Two step の realtime PCR 法によって検討した。One step PCR、Realtime PCR 法 (One step、Two step) の全てで、融合遺伝子を検出することが可能であった。One step PCR 法を用いずとも、random primer を用いた Two step PCR 法でも cDNA 合成、PCR の系を選べば融合遺伝子検出は可能であり、同一検体に対して複数の融合を解析する必要があることを考えると Two step PCR の系がより効率が良いと考えられた。一方でどの実験系を用いた場合、最良かは、様々な条件に影響されるため一概に決定することは困難であった。しかしながらパラフィン切片では RNA が分解しているため、今後、十分に感度の良い方法をさらに追求していく必要がある。また、解析可能な腫瘍タイプを増やすとともに、臨

床サンプルを用いた validation、感度と特異度の確認・検討が必要と考えられた。

E. 結論

小児固形腫瘍の分子診断としてパラフィン包埋切片から RT-PCR 法によって腫瘍特異的融合遺伝子を検出する方法を検討した。パラフィン包埋切片から抽出された RNA は高度に分解しているものの、適した cDNA 合成、PCR 条件下では、融合遺伝子を検出することが可能であった。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kaneko T, Okita H, Nakajima H, Iijima K, Ogasawara N, Miyagawa Y, Katagiri YU, Nakagawa A, Kiyokawa N, Sato T, Fujimoto J. Neuroblastoma cells can be classified according to distinctive glycosphingolipid expression profiles identified by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Int J Oncol.* 2010; 37(5):1279–88.

2) 石田剛, 大喜多肇, 長谷川匡, 秦順一 Ewing肉腫の病理診断上の問題点 *日本整形外科学会雑誌* 84: 1126-1131 2010.

2. 学会発表

1) Nakazawa A, Okita H, Sagai S. Central Pathology Review System in Pediatric Cancer in Japan. 9th International Conference of The Asian Clinical Oncology Society, Gifu, August 25–27, 2010.

2) Okita H, Haruta M, Kaneko Y, Koshinaga T, Hinotsu S, Fukuzawa M, Horie H, Hata J, Kiyokawa N. WT1 alterations in nephroblastoma and the genotype–phenotype correlation in Japan. 9th International Conference of The Asian Clinical Oncology Society, Gifu, August 25–27, 2010.

(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

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) 昨年度作成した「臨床的遺伝子診断のための同意文書（案）」の評価、2) 「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）に記載すべき内容の検討、3) 倫理基盤の基礎となる教育ツールの作成と公表、4) 細胞遺伝学的診断の精度向上などの取組みを行った。

共同研究者

涌井 敬子(信州大学遺伝医学・予防医学講座)

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

昨年度作成した臨床的遺伝子診断のための同意文書（案）について、全国遺伝子医療部門連絡会議に所属する臨床遺伝専門医を中心とする有識者から意見聴取を行った。

(2) 「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）に記載すべき項目の検討

2003年に作成・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）の問題点を考慮し、より一般的な診療の場で用いるのにふさわしいガイドライン（案）に記載すべき内容を検討した。

(3) 倫理基盤の基礎となる遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learning システムの構築

遺伝子診断を臨床の場で適切に行っていくためには、これに関与する者が急速に進展している遺伝医学を系統的に学ぶ必要がある。日本人類遺伝学会および全国遺伝子医療部門連絡会議の協力を得て、18項目にわたる遺伝医学系統講義の教育ツールを作成するとともに、広く利用できるような e-learning システムを構築した。

(4) 細胞遺伝学的診断の精度向上

染色体異常症の診断を目的に開発されたマイクロアレイ法(Cytogenetic Array法)は、G分染法の約100倍の精度で微細なゲノムコピー数異常を検出できる新たな細胞遺伝学的解析法であるが、copy number variation(CNV)という新たなヒトの多型の存在が明らかとなり、それが臨床的な影響を伴わない場合があること(benign CNV)が臨床的遺伝子診断法として応用する際の課題となっている。Cytogenetic Array法で検出されたゲノムコピー数異常が臨床的に意味があるかどうかを評価するため、日本人一

般成人（おもに患者の両親）のCNVについて、データを蓄積した。また、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クローンをを用いたFISH解析を行い、染色体再構成を細胞遺伝学的に確認した。

（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。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検査を依頼する際に用いられることを想定し、昨年度「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（案）を作成した。この同意文書（案）について、全国遺伝子医療部門連絡会議に所属する臨床遺伝専門医などの有識者から意見聴取を行ったところ、全く異論はなく、適切なものと判断された。

(2) 「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）に記載すべき内容の検討

遺伝医学関連10学会のみならず、遺伝学的検査・診断はあらゆる医療の場で行われると考えられることから、新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」には、以下の内容を記載することを提案した。

・ 遺伝学的検査・診断に関与する医師・医療者は、遺伝医学の系統的知識をもち、遺伝情報の特性に配慮した対応が求められる。

・ 遺伝学的検査・診断が行われる場面を 1)すでに発症している患者の診断を目的とする場合と 2)患者ではない者を対象とした保因者診断・発症前診断・出生前診断を目的とする場合とに明確に分類した。1)の場合には、主治医が診療の流れの中で、臨床的有用性がある場合には、積極的に遺伝学的検査・診断の意義を説明し、患者からインフォームドコンセントを得た上で実施すべきである。一方、2)の場合には、事前に適切な遺伝カウンセリングを行い、遺伝的問題の解決のための選択肢の一つとして実施する。

・ 薬理遺伝学検査は生殖細胞系列の遺伝情報ではあるが、診療には必須の情報でもあるので、通常の診療情報と同様に扱う。

・ 多因子疾患を対象とした易罹患性診断については、分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性などの科学的根拠を明確にした上で実施する。

・ 患者の診断を目的として行われた遺伝学的検査の結果は、原則として、他の臨床検査の結果と同様に、患者の診療に関係する医療者が共有する情報として診療録に記載する。

・ 遺伝カウンセリングは、情報提供だけではなく、患者・被検者等の自律的選択が可能となるような心理的社会的支援が重要であることから、当該疾患の診療経験が豊富な医師と遺伝カウンセリングに習熟した者が協力し、チーム医療として実施する。

(3) 倫理基盤の基礎となる遺伝医学系統講義の教育ツールの作成とe-learning システムの構築

日本人類遺伝学会および全国遺伝子医療部門連絡会議の協力を得て作成した遺伝医学系統講義の項目は下記の通りである。1項目45分間の講義を日本人類遺伝学会第55回大会（2010年10月28日～30日）において行い、これをDVD収録した。

- | | |
|--------------------|------|
| 1. 遺伝医学の過去・現在・未来 | 鎌谷直之 |
| 2. 遺伝医学総論 | 福嶋義光 |
| 3. ヒトゲノム・遺伝子の構造と機能 | 松本直通 |
| 4. 染色体異常症と細胞遺伝学 | 玉置知子 |
| 5. 単一遺伝子疾患とメンデル遺伝学 | 小杉眞司 |
| 6. 多因子疾患の遺伝学 | 羽田明 |
| 7. 個別化遺伝医療と薬理遺伝学 | 鎌谷直之 |

8. エピジェネティクス	久保田健夫
9. 生化学遺伝学	松原洋一
10. 集団遺伝学	徳永勝士
11. 遺伝性疾患の分子遺伝学的理解	高田史男
12. 遺伝学的検査	野村文夫
13. ミトコンドリア遺伝	後藤雄一
14. 発生遺伝学と先天異常	小崎健次郎
15. 出生前診断	平原史樹
16. 腫瘍遺伝学	稲澤譲治
17. 遺伝性疾患の治療	櫻井晃洋
18. 遺伝カウンセリング	斎藤加代子

(4) 細胞遺伝学的診断の精度向上

染色体異常症の診断を目的に開発されたマイクロアレイ法(Cytogenetic Array 法)を用いて、日本人一般成人の CNV のデータを蓄積し、現在までに、1q44, 3p21.31, 6p25.3, 7q36.2, 8p11.23, 12p13.31, 16p12.1, 19p12, Xp22.33, Xq28 に座位する特定のゲノム領域に benign CNVと考えられるコピー数異常を高頻度に検出した。さらに、明らかに臨床症状と関連するあるいは関連する可能性のあるゲノムコピー数異常を検出した患者とその両親について、BAC ライブラリーから当該領域の DNA クローンをプローブとして metaphase FISH 法を実施し染色体再構成について解析した。一部ではあるが、患者に非常に複雑な再構成や、親に分染法で検出できなかった微細な均衡型構造異常などが確認され、ゲノムコピー数異常検出後の染色体分裂像における染色体再構成の確認が、遺伝カウンセリングとしても非常に重要な情報となることを再認識できた。

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、2000 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、15 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」についてだけではなく、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。これらの文書(案)について、全国遺伝子医療部門連絡会議に所属する臨床遺伝専門医などの有識者から意見聴取を行ったところ、全く異論はなく、適切なものと判断されたので、次年度以降、研究班HPに掲載するなど公表に努め、広く利用を促したい。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)の問題点を解決し、広く一般の診療において、遺伝学的検査が有効に利用されるようにするためには新ガイドライン「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」(案)の作成が望まれる。新ガイドラインに記載すべき内容を検討した。遺伝学的検査が行われる疾患(群)、領域、診療科は多様であり、それぞれに固有の留意点が存在するが、さまざまな領域における遺伝学的検査においても遵守すべき基本的事項と原則として新ガイドラインが広く利用されることを願っている。

遺伝情報を適切に扱うためには、遺伝医学(病気に関係する遺伝継承と多様性の科学)を系統的に学ぶ必要があるが、わが国の医学教育において、遺伝医学を系統的に教育している大学は極めて少ないのが現状である。今回作成した遺伝医学系統講義 e-learning システムは、インターネットを介して、登録した者はだれでもどこでも学習を進めることができるので、遺伝子診断の倫理基盤の確立だけではなく、今後、わが国の遺伝医療の発展の基

礎となるものと確信している。

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。今回、一部ではあるが、患者に非常に複雑な再構成や、親に分染法で検出できなかった微細な均衡型構造異常などが確認され、ゲノムコピー数異常検出後の染色体分裂像における染色体再構成の確認が、遺伝カウンセリングとしても非常に重要な情報となることが再認識できた。

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）の評価、2) 「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」（案）の作成、3) 倫理基盤の基礎となる教育ツールの作成と公表、4) 細胞遺伝学的診断の精度向上などの取組みを行った。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

福嶋義光：遺伝子診療と倫理（特集：遺伝性消化管疾患の特徴と長期経過）。胃と腸 45:2101-2103,2010

福嶋義光：遺伝子診療学とは。遺伝子診療学（第2版）遺伝子診断の進歩とゲノム治療の展望。日本臨床 68:1-3, 2010

2. 学会発表

福嶋義光：臨床遺伝医療（大会長講演）。日本人類遺伝学会第 55 回大会。2010 年 10 月 28 日（さいたま市）

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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

研究分担者 斎藤加代子 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 所長・教授

研究要旨

我が国における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の実態を調査する目的で、遺伝子診療実施施設、小児先天性疾患および難治性疾患の関連学会の役員を対象としてアンケート調査を行い、40%の回収率で回答を得た。半数で遺伝カウンセリングが実施されており、遺伝カウンセリング専任スタッフは35%にとどまった。医師と非医師の連携で遺伝カウンセリングがなされるようになり、臨床遺伝専門医の資格取得の意志も過半数で見られた。遺伝子検査が診療において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ると考えられた。

共同研究者

松尾真理、浦野真理

東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

A. 研究目的

我が国における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の実態を調査する目的で、遺伝子診療実施施設、小児先天性疾患および難治性疾患の関連学会の役員を対象としてアンケート調査を行った。調査結果を詳細に検討し、現状での問題点を抽出する。

B. 研究方法

全国から500名の小児先天性疾患・難治性疾患の診療に当たる医師を抽出して、遺伝カウンセリングに関するアンケートによる実態調査を実施し、40%の回収率で回答を得て分析した。調査結果を詳細に検討し、現状での問題点を抽出した。

（倫理面への配慮）

本研究におけるアンケート調査では、先天性疾患・難治性疾患の小児の個人情報には扱わず、倫理的に特に問題はないと判断した。アンケート調査は記名式にて回答を得た。

C. 研究結果

本アンケート調査は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。

独立した臨床遺伝部門があるのは38%、なしは59%であった。遺伝カウンセリングを実施しているのは49%で、47%では実施していなかった。遺伝学的検査は87%で実施されていた。

遺伝カウンセリング担当者は、独立した臨床遺伝部門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担当部門の専任スタッフがいる施設は35%であった。遺伝カウンセリングに常時関わっているスタッフとして、1人以上の臨床遺伝専門医がいる施設が75施設、臨床遺伝専門医がいない施設は19であった。臨床遺伝カウンセラーがいる施設は11施設であった。医師以外のスタッフのみでの診療の対応を行っているのは5%、行っていないのは91%、無効回答が5%であった。

遺伝カウンセリングの費用については、自費診療として有料42%、保険診療の初診・再診料32%、無料11%であった。

遺伝カウンセリング診療録の電子化は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。

D. 考察

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、調査結果の分析をした。独立した臨床遺伝部門があるのは49%、遺伝カウンセリングを実施しているのは49%にとどまっているのに対して、遺伝学的検査は87%で実施されていた。適切な遺伝カウンセリング体制の下に遺伝学的検査を実施できる施設は、ごく一部に過ぎない現状がうかがえた。遺伝カウンセリング担当部門に専任のスタッフがいる施設は35%に過ぎず、多くの施設では他診療部門と兼務での活動を強いられていることが判明した。また、スタッフとしては、臨床遺伝専門医、看護師、心理士、臨床検査技師とともに、新たな制度である認定遺伝カウンセラーが協働していることが分かった。しかし、いまだ遺伝カウンセリングを非医師のみが担当している施設はごく一部に限られていた。臨床遺伝専門医がいない施設もあったが、臨床遺伝専門医の資格取得の意志は半数で認められており、臨床遺伝専門医資格取得への更なる支援が望ましいと考えられる。遺伝カウンセリングの費用としては、有効回答の約半数の施設は自費診療としているものの、無料もしくはエフォートよりも不当に安い費用で対応している施設がほぼ同数あることが分かった。この費用面での問題が、臨床遺伝部門の不足や、専任スタッフの不足の一因となっていることは想像に難くないと考えられる。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。このためには遺伝カウンセリングの内容に関して、精度管理が必要になると考える。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。

E. 結論

約半数で遺伝カウンセリングが実施されていたが、遺

伝カウンセリング専任のスタッフは35%にとどまった。医師と非医師の連携で遺伝カウンセリングに当たり、臨床遺伝専門医の資格取得の意志も過半数で見られた。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ると考えられた。

F. 健康危険情報

特に問題なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 斎藤加代子. 日常診療に必要な臨床遺伝学と遺伝カウンセリング. 日本医師会雑誌 2010; 139(3):573-576.
2. 斎藤加代子. 保因者診断と遺伝カウンセリング. 日本臨床 遺伝子診療学 第2版 2010;68(増刊号8):183-188.
3. Shimojima K, Inoue T, Hoshino A, Kakiuchi S, Watanabe Y, Sasaki M, Nishimura A, Takeshita-Yanagisawa A, Tajima G, Ozawa H, Kubota M, Tohyama J, Sasaki M, Oka A, Saito K, Osawa M, Yamamoto T. Comprehensive genetic analyses of PLP1 in patients with Pelizaeus-Merzbacher disease applied by array-CGH and fiber-FISH analyses identified new mutations and variable sizes of duplications. Brain Dev 2010;32(3):171-179.
4. Kondo H, Saito K, Urano M, Sagara Y, Uchio E, Kondo M. A case of Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy Associated with Negative Electroretinograms. Jpn J Ophthalmol. 2010; 54(6):622-624.
5. 福島武春, 斎藤加代子, 菅野仁, 川島眞, 肝付浩一郎. 遺伝子検査結果の電子化. 日本遺伝カウンセリング学会誌 2011;31(2):131-135.
6. Nagao K, Fujii K, Saito K, Sugita K, Endo M, Motojima T, Hatsuse H, Miyashita T. Entire PTCH1 deletion is a common event in point mutation-negative cases with nevoid basal cell

carcinoma syndrome in Japan. Clin Genet 2011;
79:196-198.

2. 学会発表

1. 斎藤加代子. 個別化医療の実現:電子カルテにおける遺伝子情報の取り扱い. 第17回日本遺伝子診療学会大会 2010:50.
2. 斎藤加代子. 小児神経疾患と遺伝子診断. 大阪小児科学会 2010;27(3):14

H. 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