

ミトコンドリア病遺伝子検査の特徴

1. 病理検査、生化学検査が遺伝子検査とともに重要
(検査の専門性、QTのために専門施設での検査が望ましい)
2. 検体の種類が問題になる (骨格筋など罹患臓器が有用)
3. mtDNA全周シーケンスは必須
(未知の変異の場合に、詳細な機能解析が必要になる)
(検査をやりっぱなしで評価不能の報告をもって患者が来る)
4. 病因核遺伝子の数が急激に増加しており、対応が必要。
(生化学検査→核遺伝子 or NGSによる網羅的な解析)
5. 重篤なmtDNA変異の場合に、生殖補助医療が応用可能
(着床前診断は一部の変異で可能、英国で核移植治療が始まる?)
6. ミトコンドリア病の認定基準に、遺伝子検査を含めてある

ウ) 検体の種類

通常核DNA上の遺伝子を調べる検査では、血液中の白血球由来のDNAを用いる。しかしながら、ミトコンドリアDNA検査の場合は、血液では遺伝子変異を捉えられないことがあり、罹患臓器を使用する必要がある。その点、骨格筋を用いると変異を捉えやすいことが報告されている。

エ) 生殖補助医療

ミトコンドリアDNAの一部の変異については、出生前診断、着床前診断などが主に欧州で応用されている。このような生殖補助医療を我が国でも適切に行うためには、確実なミトコンドリアDNA検査が必須になってきている。

2) 我が国におけるミトコンドリア病遺伝子検査のあり方

ミトコンドリア病遺伝子検査提供のあり方

1. 先進医療で行う
専門診断施設での検査が可能。背景に研究的な解析もできる体制を敷くべきである。
2. 保険収載にもってゆく
安易なオーダーにならないか。遺伝カウンセリングが十分できる体制にならないと問題多い。
3. 検査ネットワークを構築して行う
可能。先進医療を行う機能の集合体という形態か？
4. 従来型の遺伝子検査の提供体制
簡単にできるところだけやる中途半端な診断検査になっている。

先進医療は、平成22年度まで国立精神・神経医療研究センターで行われていた。この方法は、専門診断施設で検査が可能で有り、現状のミトコンドリア病遺伝子検査にはもっと

も適した方法にみえる。しかし実際は、診断に至る遺伝子検査のレベルが何段階もあり、既知の遺伝子変異の同定と未報告の遺伝子変異の病因性の検証とは、その煩雑さが著しく異なることになり、先進医療での診断範囲を限定する必要に迫られる。

また、先進医療制度は保険収載結びつく制度であることを踏まえて検査システムを構築する必要がある。

イ) 保険収載にもってゆく

現状の保険収載の遺伝子検査では検査内容(調べる遺伝子の大きさ、方法など)で保険点数に差を付ける方式が採られていない。これは、遺伝子検査をわが国で広めることができない最も大きな問題である。具体的には、検査に関わる個々の操作に細かく点数を付けてそれぞれの遺伝子検査の点数を算出する方法を導入することが必要であろう。

上記のようなシステムができて、一方で安易な検査オーダーが増加する可能性、検査の意味や結果の解釈などについて適切に患者に説明できる体制になっているかという点に疑問を挟まざるを得ず、遺伝子検査診断医の知識の向上、遺伝カウンセリング体制の整備が不可欠である。

ウ) 検査ネットワークを構築する

システムとしては可能であると考えられる。先進医療の行う体制の集合体のように思える。

問題はどのような費用徴収の体制を踏むかになる。患者の自己負担が増えるだけということになっては、ますます欧米の遺伝子検査の普及に遅れをとることになる。実際に、遺伝子検査の普及の遅れは、新しい診断薬や薬剤に関する臨床研究/臨床試験を行うために必須の対象者を選別することを困難にし、わが国では臨床研究、臨床試験が行われなくなる可能性も秘めている。ひいてはすべての診断薬、治療薬が海外のものになってしまう危険性もある。

エ) 従来提供体制

これは、現状の問題を悪化させるだけで、何も良い点はない。

D. 結論

ミトコンドリア病の遺伝子検査の特徴とその供給体制について考察した。上記の遺伝子検査供給体制の課題は、本研究班の全体で議論された内容と連動している。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

(原著論文)

Sangatsuda Y, Nakamura M, Tomiyasu A, Deguchi A, Toyota Y, Goto Y, Nishino I, Ueno A, Sano A. Heteroplasmic m.1624C>T mutation of the mitochondrial tRNA-Val gene in a proband and his mother with repeated consciousness disturbances. *Mitochondrion* 12: 617-622, 2012

(著書)

後藤雄一. ミトコンドリア病、「希少疾患/難病の診断・治療と製品開発」、(株)技術情報協会、東京、pp. 999-1005、2012

後藤雄一. ミトコンドリア病(ミトコンドリア脳筋症)、「すべての内科医が知っておきたい神経疾患の診かた、考え方とその対応」、羊土社、東京、pp. 282-289、2012

後藤雄一. ミトコンドリア脳筋症。「疾患・症状別 今日の治療と看護」、南江堂、東京、pp. 771-773、2011

(総説)

後藤雄一. ミトコンドリア病の治療と最新ケアの情報。難病と在宅ケア 18:28-30, 2012.

後藤雄一. 臨床症状と診断のしかた、「特集ミトコンドリア病」、*Clinical Neuroscience* 30: 997-999, 2012.

後藤雄一. ミトコンドリア病の解明、生体の

科学 63: 440-441, 2012

2. 学会発表

(国際学会)

Goto Y, “Mitochondrial diseases”. Joint Congress of 12th International Child Neurology Congress and 11th Asian and Oceanian Congress of Child Neurology, Brisbane, Australia, 5.28, 2012.

Goto Y, “Reversible infantile respiratory chain deficiency: a clinical and molecular study”. The 11th Annual Scientific Meeting of the Asian Oceanian Myology Center, Kyoto, Japan, 6.7, 2012.

Sato Y, Goto Y. Furnishing with appropriate information on mitochondrial diseases to patients and their families. The 62nd Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, San Francisco, USA, 11.6-11.10, 2012,

(国内学会)

後藤雄一. ミトコンドリアと老化. ART FORUM 2012,大阪, 8.30, 2012

後藤雄一. ヒトミトコンドリアの特性～ヒト疾患の病態基盤, 第12回日本ミトコンドリア学会、公開講座、筑波. 12.21、2012

末岡浩、佐藤卓、水口雄貴、泉陽子、高橋香織、佐藤健二、中林章、吉村泰典、後藤雄一. ミトコンドリア遺伝病における着床前遺伝子診断の不効率例に対する新たな対策の必要性. 第57回日本人類遺伝学会大会、東京、10.24-27、2012

G. 知的所有権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

小児神経筋疾患における遺伝学的検査の体制

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 教授

研究協力者 荒川玲子, 久保祐二, 青木亮子, 渡辺基子, 浦野真理,
伊藤万由里, 近藤恵里, 松尾真理
東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

研究要旨

小児神経筋疾患である Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)、Becker 型筋ジストロフィー(BMD)、福山型筋ジストロフィー(FCMD)、脊髄性筋萎縮症(SMA)において、保険収載以降、確定診断目的での遺伝子検査数が増加している。遺伝学的検査は確定診断の他にも、保因者診断、出生前診断にも利用されている。当センターにおける DMD、BMD、FCMD、SMA の遺伝学的検査の体制について報告する。

A.研究目的

Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)、Becker 型筋ジストロフィー(BMD)、福山型筋ジストロフィー(FCMD)は 2006 年から、脊髄性筋萎縮症(SMA)は 2008 年から、遺伝学的検査および遺伝カウンセリングが保険収載され、確定診断のための遺伝子検査が保険診療で行えるようになった。これらの血液を用いた遺伝子検査は、筋生検などの侵襲性のある検査に代わり、確定診断のための有用な検査法として、必要性が高まってきている。さらに、DMD におけるエクソンスキップ治療などの進歩に伴い、遺伝子変異部位の同定を含めた正確で迅速な診断は、治療法を検討していく上でも重要度を増している。神経筋疾患における遺伝子診断は、疾患の確定疾患、出生前診断、保因者診断、発症前診断などに利用される。

小児神経筋疾患である DMD、BMD、FCMD、SMA について、当センターでの確定診断、出生前診断、保因者診断体制について報告する。

B.研究方法

保険収載の前年度にあたる 2005 年から 2012 年

の間で、東京女子医科大学附属遺伝子医療センターで実施した DMD、BMD、FCMD、SMA における確定診断、出生前診断、保因者診断について検査依頼数、遺伝子変異検出数について検討を行った。他施設の患者は主治医からの依頼により、遺伝子医療センターに郵送された血液から DNA を調製して遺伝学的検査を行った。

(倫理面への配慮)

遺伝子検査の実施に当たっては、受診者は遺伝子医療センターもしくは遺伝子診療外来において遺伝カウンセリングを実施した。他施設の患者に関しては、説明文書と同意書を郵送し、それぞれの施設にてインフォームドコンセント、遺伝カウンセリングを実施した。遺伝学的検査においては文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針(2001)」、遺伝関連 10 学会「遺伝学的検査に関するガイドライン(2003)」、日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン(2011)」を遵守した。

C.研究結果

当センターで2005年から2012年に施行したDMD、BMD、FCMD、SMAにおける確定診断、出生前診断、保因者診断の検査数および推移は図1に示すごとくであった。疾患別ではSMAにおける遺伝子検査の施行数が最も多く、出生前診断、保因者診断に比べ、確定診断目的での遺伝子検査が最も多かった。さらに、保険収載以前の2005年から保険収載後、2012年までの検査施行数の推移を図2に示す。DMD/BMDの遺伝子検査は2006年の保険収載の直後に実施数が増加した。SMAでは保険収載後、一旦増加し、その後徐々に遺伝子検査の施行数が増加している。

以下に、各疾患における確定診断、出生前診断、保因者診断法の特徴、方法について示す。

DMD/BMD:

X連鎖劣性遺伝性疾患であるDMD（重症型）、BMD（軽症型）は、ともにジストロフィン遺伝子変異により発症する。

【確定診断】エクソンレベルの欠失スクリーニングとして、multiplex polymerase chain reaction (PCR)法を用いて、以前は変異の検索を行っていた。遺伝子欠失のホットスポットであるエクソンをターゲットとした複数のプライマーのペアを用いて1回の反応で複数の部位を増幅して、欠失の有無をスクリーニングする。しかし、重複の判定は困難であること、全てのエクソンについて変異を同定することができないことなどから、現在は、Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)法を用いて遺伝子診断を行っている。これは、DMD遺伝子の79個のエクソンを同時に増幅し遺伝子欠失、重複を面積で比較、評価できる方法である。MLPA法で変異が見つからなかった場合には、個別に遺伝子変異を見つけ出す必要がある。翻訳領域のすべてのエクソンを両端のイントロンのスプラインシング領域を含んで増幅し、直接シーケンス法により解析する。一方、血液または筋組織からmRNAを調製後、ジストロフィン

遺伝子の全領域をカバーするプライマーを設計して、RT-PCR法により増幅し、塩基配列決定（シーケンス）することも行う。後者は筋生検由来のサンプルで実施されることが多い。

【保因者診断】DMDの保因者診断は、DMD家系の女性からの相談の場合に行われる。DMDにおいては、保因者が筋症状を呈することがあり、manifesting carrierと呼ばれる。そのため、本人の健康管理という視点において保因者診断が行われることがある。家系図から保因者と診断できる場合や、血清CK値の高値により保因者診断できる場合もある。遺伝子診断による保因者診断では、家系の患者（発症者）の遺伝子診断が必須である。エクソン単位の欠失、重複変異の場合は、MLPA法により定量的判定による診断が可能である。

【出生前診断】出生前診断の適応は、遺伝関連10学会による「遺伝学的検査に関するガイドライン（2003年）」に示されている。DMDは「妊婦が新生児期もしくは小児期に発症する重篤なX連鎖遺伝病のヘテロ接合体の場合」に入る。出生前診断では、その家系におけるDMD罹患者の遺伝子変異の同定が必須である。

出生前遺伝子診断に用いる胎児の細胞を得る方法には、絨毛穿刺と羊水穿刺がある。絨毛穿刺は胎盤絨毛の一部を経膈的にまたは経腹的に穿刺する方法で、妊娠10~12週に実施する。羊水穿刺は妊娠15~18週に実施される。

被験者（母体）が保因者であると診断された例で、出生前診断を希望する場合には、十分な遺伝カウンセリングを行った上で検査を行うことがある。絨毛細胞や羊水細胞（胎児由来細胞）を用いて、Y染色体特異的primerを用いたPCR法により、性別診断を行う。男児の場合は、引き続きDMD遺伝子変異同定を行う。DMDの児を出生したことがある被験者が、保因者でないと診断された場合においても、生殖細胞モザイクによる次子罹患の可能性があるため、胎児の確定診断のために出生前診断を行う場合がある。

FCMD :

わが国の小児期発症の進行性筋ジストロフィーの中で DMD の次に多い疾患である。筋ジストロフィーとしての骨格筋病変とともに、神経細胞遊走障害に起因する中枢神経病変を特徴とする。原因遺伝子である *FKTN* 遺伝子は、9 番染色体長腕 9q31 に存在する。

【確定診断】9q31 におけるマイクロサテライト DNA マーカーによる多型解析で、特定のハプロタイプが創始者変異を示すため、遺伝子診断として利用している。FCMD 患児では、80%が 2 本とも創始者変異を有し、ほぼ全例が染色体の 2 本のうち少なくとも 1 本に創始者変異を有している。ヘテロ接合体である場合には、シーケンス法により、一方の変異を調べることもある。

創始者変異は、*FKTN* 遺伝子の 3' 末端の 3kb レトロトランスポゾン挿入配列である。3kb 挿入配列をホモ接合性に有するか、ヘテロ接合性に有するかは PCR 法で同定可能であり、検査企業が実施している方法である。

【保因者診断】我が国では保因者頻度は 88 人に 1 人と考えられている。FCMD は常染色体劣性遺伝性疾患であり、患者の両親は保因者である。遺伝カウンセリングにおいては患者の同胞や両親の同胞の保因者診断を求められることがある。患者とその両親の DNA が得られる場合は、ハプロタイプ解析により診断を行う。また、3kb 挿入配列が存在するかについて PCR 法にて判断を要する症例もある。

【出生前診断】当センターでは、1996 年から本学倫理委員会の承認の下に、十分な遺伝カウンセリングを行った上で多型解析による出生前診断を行っている。被験者はすでに少なくとも一人の FCMD の患児を産んでいる場合、次子の FCMD 罹患の判定を求めて、遺伝カウンセリングに来院する例が多い。3kb 挿入配列の確認は、PCR 法でのシグナルが薄く判断が困難な場合があるため、当センターでは、9 番染色体の 5q31 におけるマイクロサテライト多型マーカーを用いて出生前診断

を実施している。絨毛細胞または羊水細胞から DNA を調製し、家系の FCMD 患児のハプロタイプと次子のハプロタイプが同一であるかを調べるにより診断が可能である。次子妊娠における時間的制約のため、FCMD 患児と親からの採血により DNA を得て、非妊娠時に予め多型解析を行っておく必要がある。

SMA :

脊髄前角細胞の消失による筋萎縮と進行性の筋力低下を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患のである。

【確定診断】小児期発症の SMA は、多くの場合 *SMN1* (survival motor neuron 1) 遺伝子の変異により発症する。*SMN1* 遺伝子は 5 番染色体長腕 5q13 領域に存在する。多くの SMA 患者では、二つある *SMN1* 遺伝子の両方に欠失を認める。一部では、一方の *SMN1* 遺伝子に欠失があり、他方の *SMN1* 遺伝子に遺伝子内の微小な変異が認められる。遺伝子検査では血液に含まれるリンパ球から DNA を抽出して検査を実施する。*SMN* 遺伝子のエクソン 7 とエクソン 8 をそれぞれ独立に PCR 法で増幅し、*SMN1* 遺伝子欠失の有無を判定する。臨床症状から SMA と診断されたが *SMN1* 遺伝子欠失を認めない症例については、MLPA 法と Direct sequencing 法を用いて *SMN1* 遺伝子解析を行っている。MLPA 法の結果より片アレルの *SMN* 遺伝子の欠失を示した症例については、*SMN1* 遺伝子の全 exon 領域のシーケンスを行い、*SMN1* 遺伝子の複合ヘテロ変異の解析を行っている。MLPA 法と Direct sequencing 法を併用することで、従来の PCR 法では欠失が同定できない症例においても遺伝子診断が可能となっている。*SMN* 遺伝子の変異を示さない症例に対しては、次世代シーケンサーにより全エクソーム解析を行い新規原因遺伝子検索を施行中である。

【保因者診断】保因者頻度は欧米では 60~80 人に 1 人、我が国では 100~150 人に 1 人と考えられている。保因者は生涯、症状は出現しない。*SMN1*

遺伝子変異による SMA は常染色体劣性遺伝性疾患であり、患者の両親は保因者と考えられる。遺伝カウンセリングにおいては、患者の同胞や両親の同胞の保因者診断を求められることがある。患児の *SMN1* 遺伝子欠失が明らかとなっている場合、血縁者の保因者診断においても MLPA 法は有効である。

【出生前診断】当院では、SMA については I 型、II 型における出生前診断が倫理委員会で承認されており、1996 年から実施し、十分な遺伝カウンセリングの下に行っている。被験者はすでに少なくとも一人の SMA の患児を産んでいる場合、次子の SMA 罹患か否かの判定を求めて、遺伝カウンセリングに来院する例が多い。あらかじめ患児の *SMN1* 遺伝子の欠失を証明しておくことが必要である。家系の患児の遺伝子診断がなされていないと、出生前診断を行うことはできない。絨毛もしくは羊水細胞から DNA を調製し、次子の *SMN1* 遺伝子欠失の有無を調べる。出生前診断では高い精度が要求されるため、さらに SMA の遺伝子領域のマイクロサテライト DNA 多型マーカーを用いたハプロタイプ解析も同時に行っている。

図 1

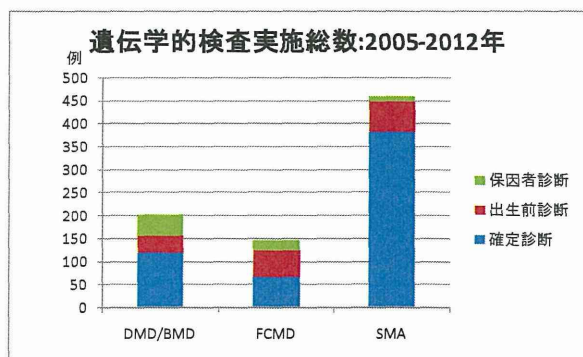
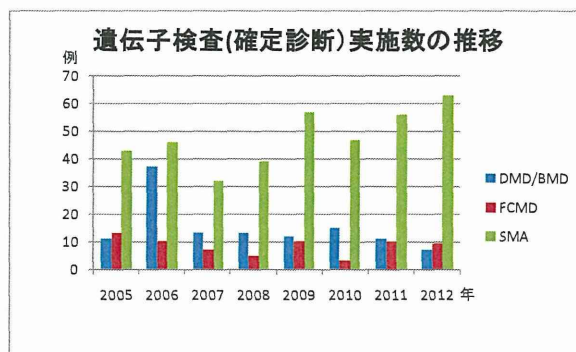


図 2



D. 考察

遺伝学的検査の保険収載以降、当センターにおいては、他施設からも確定診断を目的とした遺伝子検査の依頼件数が増加傾向にある。特に、2008 年の遺伝子検査の保険収載以降、SMA の依頼件数が増加しており、遺伝子検査が日常診療に汎用されるようになってきたと考えられる。DMD/BMD、FCMD は、検査企業でも遺伝子検査が行われているため、検査施行施設が分散してきている。遺伝子診断は、筋生検などの侵襲性のある検査に比べ、採血で診断が可能となるため、患者の負担が少ないというメリットがある。しかし、生涯変わることがなく、血縁者で一部共有されている遺伝学的情報における検査は、容易に施行されることはあってはならず、適切な遺伝カウンセリング体制の上で行われる必要がある。特に、小児難治性神経筋疾患は、治療法が確立しているものが少なく、遺伝カウンセリングは、疾患の自然歴や対症療法などの知識を持った上で十分に時間をかけて行われるべきである。現行では、DMD、BMD、FCMD、SMA については、遺伝子検査とそれに伴う遺伝カウンセリング加算（1 回のみ）が保険収載されている。これらの疾患の遺伝カウンセリングにおいては、保因者診断、出生前診断など多岐にわたる情報提供やカウンセリングの必要がある。そのため、複数回の遺伝カウンセリングに対しての保険収載が必要である。

E. 結論

当センターでの DMD、BMD、FCMD、SMA に

おける遺伝学的検査の体制について検討を行った。保険収載以降、特に、検査企業で行われていない SMA 遺伝子検査実施件数が増加している。検査の増加に伴い、遺伝カウンセリング体制も同時に充実させていく必要がある。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

- 1) van Kulenburg A B.P, Dobritsch D, Meijer J, Krumpel M, Selim L A., Rashed M S., Assmann B, Meinsma R, Lohkamp B, Ito T, Abeling N G.G.M, Saito K, Eto K, Smitka M, Engvall M, Zhang C, Xu W, Zoetekouw L, Hennekam R C.M. β -Ureidopropionase deficiency: Phenotype, genotype and protein structural consequences in 16 patients. *Biochim Biophys Acta*. 1822(7). 1096-1108. 2012
- 2) Uchiyama T, Kanno H, Ishitani K, Fujii H, Ohta H, Matsui H, Kamatani N, Saito K. An SNP in CYP39A1 is associated with severe neutropenia induced by docetaxel. *Cancer Chemother Pharmacol*. 69: 1617-1624. 2012
- 3) Saito K. Fukuyama congenital muscular dystrophy. *GeneReviews*. database online. 2012
- 4) Kuramochi H, Kanno H, Uchiyama T, Nakajima G, Saito K, Hayashi K. Comprehensive analysis of genetic polymorphisms and irinotecan-induced adverse events in Japanese gastrointestinal cancer patients: A DMET microarray profiling study. *J Clin Oncol*. 30. e21108. 2012
- 5) Akizawa Y, Nishimura G, Hasegawa T, Takagi M, Kawamichi Y, Matsuda Y, Matsui H, Saito K. Prenatal diagnosis of osteogenesis imperfecta type II by three-dimensional computed

tomography: The current state of fetal computed tomography. *Congenital Anomalies*. 52(4). 203-206. 2012

- 6) Akizawa Y, Kanno H, Kawamichi Y, Matsuda Y, Ohta H, Fujii H, Matsui H, Saito K. Enhanced expression of myogenic differentiation factors and skeletal muscle proteins in human amnion-derived cells via the forced expression of MYOD1. *Brain&Development*. 35(4). 349-255. 2012
- 7) Arakawa R, Aoki R, Arakawa M, Saito K. Human first-trimester chorionic villi have a myogenic potential. *Cell Tissue Res*. 348(1). 189-97. 2012
- 8) 岡本健太郎、斎藤加代子、佐藤孝俊、石垣景子、舟塚真、大澤真木子. 脊髄性筋萎縮症 0 型の 1 例. *脳と発達*. 44(5). 31-34. 2012
- 9) 斎藤加代子、近藤恵里、青木亮子. 筋疾患の診断における遺伝子検査の役割. *小児内科*. 44(9). 1442-1448. 2012
- 10) 斎藤加代子. 24. ウイリアムス症候群. *内科*. 109(6). 1067-1069. 2012
- 11) 荒川玲子、松尾真理、斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の診断とケア. *難病と在宅ケア*. 18(9):40-43. 2012

2. 学会発表

- 1) 浦野真理、相楽有規子、斎藤加代子、福山型筋ジストロフィーにおける遺伝子診断-確定診断と出生前診断の検討, 第 36 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2012. 6. 9, 松本市
- 2) 近藤恵里、斎藤加代子, 小児神経筋疾患の遺伝医学, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京
- 3) 久保祐二、相楽有規子、斎藤加代子, 小児期発症脊髄性筋萎縮症の家系における MLPA 法を用いた SMN 遺伝子解析, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京
- 4) 久保祐二、相楽有規子、森田光哉、中野今治、

斎藤加代子, 成人発症の脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子 copy 数の解析, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京

5) 浦野真理, 大学病院における遺伝カウンセリング, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京

6) 伊藤万由里、斎藤加代子、浦野真理、相楽有規子、大澤真木子, 日本における脊髄性筋萎縮症 (SMA) の臨床・疫学調査, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京

7) 荒川玲子、青木亮子、相楽有規子、浦野真理、松尾真理、斎藤加代子, 遺伝性神経筋疾患の治療を目指した妊娠初期絨毛の性質についての検討, 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 2012. 10. 24-27, 東京

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制に関する研究
分担研究報告書

遺伝学的検査の質保証と保険診療に関する研究

研究分担者 東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学 宮地勇人

研究要旨

遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制の構築を図る上で、遺伝学的検査の質保証とともに、保険診療の枠組みでの検査の適正利用と普及が望まれる。本研究では、単一遺伝子疾患の遺伝学的検査の継続的な実施体制と質保証の確保の両立を目指して、関連する情報を収集、整理し、それに基づき保険診療制度における運用案について検討することを目的とした。具体的な方策について提言を以下のごとくまとめた。①研究検査として行われている遺伝学的検査の中で、臨床的有用性が明らかで、その結果が患者診療に用いられる場合、一定の品質確保の体制のもとでの検査実施と結果報告が求められる。②研究検査における一定の品質確保と継続的な実施体制の構築の選択肢として、同じ施設（医療機関）の臨床検査室または登録衛生検査所への検査移管があり、そのための環境作りの検討が必要である。③遺伝学的検査が継続的に実施され、かつ質を確保する上で、具体的な償還方法として、診断薬（製品）と検査サービスそれぞれの質の評価に基づくことが望まれる。その指標に基づき、診断薬（製品）または個別の検査項目は従来からの個別項目の点数にて、検査サービスについては、検体検査管理加算等の施設加算の利用が挙げられる。④将来の保険診療への移行を視野に置く先進医療において、従来の薬事承認の基準に加え、検査サービスの質の観点を含む基準での審査が望まれる。⑤将来的には、質確保を指標とした一定の施設要件を満たす検査機関に対して、認可、認証、認定のしくみが必要で、また保険医療制度の中での規制や保険診療上の報酬等のインセンティブと連動することが望まれる。⑥国のリーダーシップのもと、産官学が連携して、現行の保険医療制度の中で、質確保と継続的な実施体制の両立のための施策を推進することが望まれる。

A. 研究目的

遺伝学的検査に基づく単一遺伝子疾患の適正な診療には、保険診療での枠組みで一

般利用が普及する必要がある。保険診療における単一遺伝子疾患の遺伝学的検査（生殖細胞系列遺伝子検査）は、平成18年の診

療報酬改定にて、初めて進行性筋ジストロフィーの DNA 診断が保険適用となり、その後の一連の診療報酬改定で、対象項目数の増加や増点がなされた。しかしながら、これら遺伝学的検査は、広く実施または利用可能な状況にない。特に、希少疾患の遺伝学的検査は、その疾患頻度が低いためにコストパフォーマンス上の理由等により、検査サービス提供が可能とはいえない。

23 年度「遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制に関する研究」の分担研究では、その背景要因について課題の整理と対応策の検討を行った結果、以下の結論に至った。医療における遺伝学的検査の実施では、一律の保険点数や薬事承認を基準とした先進医療での審査において検査の普及と質確保に限界がある。遺伝学的検査が保険診療において適正に利用され普及するには、検査の継続的な実施体制と質保証の確保の両立を可能とするしくみが必要である。そこで、24 年度の分担研究では、遺伝学的検査の継続的な実施体制と質保証の確保の両立を目指して、関連する情報を収集、整理し、それに基づき保険診療制度における現実的な運用案を提案することを目的とした。

B. 研究方法

品質または質の定義について、品質マネジメントに関する ISO9001 等のガイドラインの記述を参考とした。

品質マネジメントと技術的要求事項に関する国内外の取り組みを調査した。

遺伝学的検査の質の確保に向けた国内外の取り組みを整理した。

現行の保険医療制度の中で、質確保と継続的な実施体制の両立のための具体的な方策について提言としてまとめた。

C. 研究結果

1) 遺伝学的検査の品質とは？

遺伝学的検査に関して、品質の定義とし

て、「製品とサービスが利用者の期待に合致している、または超えている。」とされている。すなわち、検査のサービスとしての質を考慮に入れる必要性が指摘されている。すなわち、製品の技術的性能に限らず、相談システム、検査結果の精確性や報告書の正確性、検体や患者情報の適切な取り扱い、カウンセリングなど測定前後のプロセスの考慮である。

「遺伝学的検査の質的保証に関するベストプラクティス・ガイドライン」(OECD ガイドライン) は、遺伝学的検査サービスの提供の一側面に焦点を当て、遺伝学的検査を実施する検査施設の質保証実務に関するものである。その内容は、①検査の質保証のための施設認定(検査機関に対する認定システムの導入、認定を受けるインセンティブを付与、認定システムの国際的な協調、協力)、②技能試験(技能試験を認定システムの中に含む、技能試験を受けるインセンティブを付与、検査機関に対するモニタリング)、③検査結果の報告(検査結果の取扱い、必要となる報告の内容)、④検査機関の職員に対する教育(検査に従事する者の水準や資格)が挙げられている。

これに呼応して、我が国の現状を踏まえて、日本臨床検査標準協議会では「遺伝子関連検査に関する日本版ベストプラクティス・ガイドライン」を作成し、公表した(2010 年)。その骨子は、OECD ガイドラインと同様に、一般原則に加えて、主な項目として、質保証システム、施設技能試験、結果の報告の質、検査施設要員の教育と訓練の基準の 4 つを柱としている。

2) 品質の確保を指標とした評価とは？

品質の確保を指標とした評価を保険償還に組み込む上で、診断薬(製品)とサービスのそれぞれで品質保証の指標を設定する必要がある。実際には、多くの遺伝学的検査において、試薬キットや自動測定システムなど製品は利用できる状態でない。

測定が複雑で、専門的技術・知識、解釈・判断、教育トレーニングを必要とする遺伝学的検査では、品質保証を確保する上で、品質マネジメントさらに技術的要求事項を満たすことまでをカバーすることが望まれている。具体的には、後者について「遺伝子関連検査に関する日本版ベストプラクティス・ガイドライン」で述べられた項目を検討する必要がある。

海外においては、質確保を指標とした一定の施設要件を満たす検査機関には、その段階（品質管理、品質マネジメントさらに技術的要求事項）によって、認可、認証、認定のしくみがある。「臨床検査室としての検査を行う能力に関する特定要求事項」を規定した国際規格である ISO15189 において、新たに遺伝学的検査に関する事項が盛り込まれ、2012 年 11 月に改定版 ISO15189:2012 が発行された。

現在、我が国においては登録または認可の対象として、遺伝学的検査の実施施設の登録衛生検査所の認可登録基準に関して、臨床検査技師等に関する法律施行規則および医療法施行規則の改正（23 年 2 月 23 日）において、遺伝学的検査が初めて、検査分類（分野）の 2 次分類に生殖細胞系列遺伝子検査として位置づけされることとなった。

3) 研究検査から臨床検査への移行

研究検査において、臨床的有用性が明らかで、その結果が患者診療に用いられる場合、一定の品質確保の体制のもとで継続的な検査実施と結果報告が求められる。このような体制整備は、実際に研究検査を行って来た多くの研究室では困難である。先進医療における検査も同様である。保険診療への移行を加速させ、その枠組みで行われることが望ましい。質確保と継続的な実施体制の両立のための選択肢として、同じ施設（医療機関）の臨床検査室または登録衛生検査所への検査移管が挙げられる。

D. 考察

遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制の構築を図る上で、保険診療の枠組みでの検査の適正利用と普及が望まれる。しかしながら、我が国では、遺伝学的検査の総合的な質保証を推進するための医療保険制度上の規制や保険診療上の報酬等のインセンティブはない。

品質の確保を指標とした評価を保険償還に組み込む上で、診断薬（製品）とサービスのそれぞれで品質保証の指標を設定する必要がある。保険診療における具体的な評価は、前者は従来の薬事審査項目にて、後者について具体的には、「遺伝子関連検査に関する日本版ベストプラクティス・ガイドライン」で述べられた項目を検討する必要がある。保険償還の方法は、製品または個別の検査項目は従来からの個別項目の保険点数にて、検査サービスについては、検体検査管理加算等の施設加算の利用が挙げられる。将来の保険診療への移行を視野とする先進医療において、従来の薬事承認の基準に加え、検査サービスの質の観点を含む基準での審査が望まれる。

将来的には、質確保を指標とした一定の施設要件を満たす検査機関には、その段階（品質管理、品質マネジメントさらに技術的要求事項）によって、認可、認証、認定のしくみが必要である。それぞれ、診療報告機関の登録、先進医療の保険移行審査、保険償還の審査の基準となりうる。

「臨床検査室としての検査を行う能力に関する特定要求事項」を規定した国際規格である ISO15189 において、新たに遺伝学的検査に関する事項が盛り込まれ、改定版 ISO15189:2012 が発行されたことにより、欧米では遺伝学的検査を実施する検査機関における ISO15189 認定取得の動きが加速すると予想される。我が国においても、検査機関の認証・認定に関する医療保険制度上の規制や保険診療上の報酬等のインセンティブ付与の検討が必要である。

研究検査において、臨床的有用性が明らかで、その結果が患者診療に用いられる場合、一定の品質確保の体制のもとでの検査実施と結果報告が求められる。品質確保と継続的な実施体制の両立のための選択肢として、同じ施設（医療機関）の臨床検査室または登録衛生検査所への検査移管が挙げられる。前者は、検査移管における技術移転や結果解釈等の連携においてより現実的である。また、検体検査管理加算など施設加算を運用することで、検査実施の財政的、人的な基盤が確保可能である。一方、後者においては、技術移転や結果解釈等の連携において、産官学の協調が必要である。

国のリーダーシップのもと、産官学が連携して、現行の保険医療制度の中で、品質確保と継続的な実施体制の両立のための施策を推進することが望まれる。

上記の達成に向けて、フィージビリティを検討するモデル事業と調査の実施が期待される。

E. 結論

遺伝学的検査が保険診療において適正に利用され普及するには、検査の継続的な実施体制と質保証の確保の両立を可能とするしくみが必要で、限られた財源の中では、品質確保を評価基準としたインセンティブ付与に基づく保険診療での運用が必要である。提言を以下のごとくまとめた。

- ① 研究検査として行われている遺伝学的検査の中で、臨床的有用性が明らかで、その結果が患者診療に用いられる場合、一定の品質確保の体制のもとでの検査実施と結果報告が求められる。
- ② 研究検査における一定の品質確保と継続的な実施体制の構築の選択肢として、同じ施設（医療機関）の臨床検査室または登録衛生検査所への検査移管があり、そのための環境作りの検討が必要である。
- ③ 遺伝学的検査が継続的に実施され、かつ質を確保する上で、具体的な償還方法と

して、診断薬（製品）と検査サービスそれぞれの質の評価に基づくことが望まれる。その指標に基づき、診断薬（製品）または個別の検査項目は従来からの個別項目の点数にて、検査サービスについては、検体検査管理加算等の施設加算の利用が挙げられる。

- ④ 将来の保険診療への移行を視野に置く先進医療において、従来の薬事承認の基準に加え、検査サービスの質の観点を含む基準での審査が望まれる。
- ⑤ 将来的には、品質確保を指標とした一定の施設要件を満たす検査機関に対して、認可、認証、認定のしくみが必要で、また保険医療制度の中での規制や保険診療上の報酬等のインセンティブと連動することが望まれる。
- ⑥ 国のリーダーシップのもと、産官学が連携して、現行の保険医療制度の中で、品質確保と継続的な実施体制の両立のための施策を推進することが望まれる。

上記の達成に向けて、フィージビリティを検討するモデル事業と調査の実施が期待される。

F. 健康危険情報 該当なし

G. 研究発表 なし

I. 論文発表

1. Yamamoto M, Hori T, Hatakeyama N, Igarashi K, Iesato K, Nakanishi K, Noguchi H, Miyachi H, Ito M, Tsutsumi H, Suzuki N. Successful treatment of childhood hypocellular acute myeloid leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 34: 398-401, 2012
2. Matsushita H, Nakamura N, Tanaka Y, Ohgiya D, Tanaka Y, Asai S, Yabe M, Kawada H, Ogawa Y, Ando K, Miyachi H. Clinical and pathological features of B-cell non-Hodgkin lymphomas lacking

the surface expression of immunoglobulin light chains. *Clin Chem Lab Med*, 50: 1665-1670, 2012

3. Asai S, Okami K, Nakamura N, Shiraishi S, Yamashita T, Anar D, Matsushita H, Miyachi H. The sonographic appearance of the submandibular glands in patients with IgG4-related disease. *J Ultrasound Med*. 31: 489-93, 2012.

4. Asai S, Okami K, Nakamura N, Shiraishi S, Sugimoto R, Anar D, Sato S, Matsushita H, Suzuki Y, Miyachi H. Localized or diffuse lesions of the submandibular glands in IgG4-related disease in association with differential organ involvement. *J Ultrasound Med*. 32: 2013. (in press)

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

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制に関する研究
分担研究報告書

細胞遺伝学的検査の効果的実施体制に関する研究

研究分担者 福嶋義光 信州大学医学部 遺伝医学・予防医学講座 教授

研究要旨

ゲノムの量的不均衡を詳細にスクリーニングできるマイクロアレイ染色体検査を細胞遺伝学的検査（染色体検査）として、早急に導入する必要がある。一方、わが国の細胞遺伝学的検査の実施体制は危機的状況にあると言わざるをえない。今後、細胞遺伝学的検査を国際レベルの臨床検査として適切に実施してゆくためには、全国レベルで継続性のある染色体検査実施施設と核型分析技術を有する技術者の教育、および細胞遺伝学の高度な専門的知識を有する施設責任者育成のありかたについての検討を急ぐべきである。

共同研究者

涌井 敬子（信州大学医学部 遺伝医学・予防医学講座）

A. 研究目的

染色体検査はゲノム DNA の大きな量的変化（コピー数、遺伝子量 (gene dosage)）や再構成・構造変化（転座など）の有無をスクリーニングするのに極めて有効な検査法であり、先天異常症の診断や白血病・腫瘍の病型分類などを目的に、広く一般診療の場で実施されている。

一方、ゲノムの量的不均衡をより詳細に検出できるマイクロアレイ染色体検査が開発され、先進諸外国においては、特に原因不明の先天異常症の診断目的に広く利用される時代を迎えている。

本研究において、先進諸外国のマイクロアレイ染色体検査の普及状況とわが国の染色体検査の実施状況を対比することにより、現在のわが国の細胞遺伝学的検査の課題や問題点を詳細に分析し、わが国においては未だ研究レベルで実施せざるをえないマイクロアレイ染色体検査を含めた国際レベルの細胞遺伝学的検査の実施体制を今後どのように構築すべきかを提言することを目的とする。

B. 研究方法

(1) 先進諸外国の状況調査

マイクロアレイ染色体検査を含めた細胞遺伝学的検査の診療への導入の状況等について、2012年6月にニュルンベルク（ドイツ）で開催された欧州人類遺伝学会（European Human Genetics Conference: ESHG）、11月にサンフランシスコ（米国）で開催された米国

人類遺伝学会（The American Society of Human Genetics: ASHG）における講演、一般発表、企業セミナー、機器展示、ISCA（International Standard Cytogenomic Array Consortium）等、インターネットに掲載されている細胞遺伝学的検査に関する情報、書籍「Quality Issues in Clinical Genetic Services」（Kristoffersson, Ulf; Schmidtke, Jörg; Cassiman, J. J. (Eds.) 1st Edition., 2010年）の掲載情報、および国内外の細胞遺伝学的研究者との私信等により情報収集を行った。

(2) マイクロアレイ染色体検査の課題に関する討議

2012年12月15日（土）に、国内で先天異常症の診断を目的とするマイクロアレイ染色体検査を実施、または実施を計画している施設（大学・研究機関：13、検査会社：3）の責任者と遺伝学的検査の体制整備の必要性を強く認識している研究者計19名が集まり、先進諸外国のマイクロアレイ染色体検査の普及状況とわが国の現状についての情報を共有するとともに、わが国の染色体検査の課題と解決方法について討議した。

（倫理面への配慮）

本研究は、染色体検査の実施体制についての研究なので、倫理面での問題はない。

C. 研究結果

(1) 先進諸外国の状況調査

ESHGおよびASHGのトピックスは、次世代シーケンス解析技術を用いた、ターゲットエクソーム解析、全エ

クソーム解析, 全ゲノム解析であり, マイクロアレイ染色体検査は原因不明の先天異常患者に対して最初に実施すべきスクリーニングとしてすでに諸外国では一般診療に普及している印象であった. マイクロアレイ染色体検査の国際コンソーシアムとして活動している International Standard Cytogenomic Array Consortium (ISCA) が 2013 年から International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG) に名称が変更されることも, 現在, 原因不明の先天異常・遺伝性疾患の新規原因遺伝子探索研究のために利用されている次世代シーケンス解析技術が, 近い将来, 原因不明の先天異常・遺伝性疾患患者の診療目的の遺伝学的検査としてマイクロアレイ解析に引き続き, あるいは最初に実施すべき遺伝学的検査として臨床応用される実施されることを視野にしていると考えられた. 遺伝性乳癌の責任遺伝子である *BRCA1*・*BRCA2* の遺伝子変異解析においても, 一部のグループでは結果解釈にマイクロアレイ染色体検査で用いている「pathogenic (症状に影響あり), unclear (症状への影響は不確定), benign (症状に影響なし)」という分類を利用しはじめていた.

昨年, 次世代シーケンス解析技術の臨床応用として話題になっていたダウン (トリソミー21) 症候群の非侵襲的出生前遺伝学的検査 (Non-invasive Prenatal Genetic Testing: NIPT) はトリソミー18とトリソミー13症候群を加えた常染色体トリソミー症候群, さらに性染色体異常も加えた染色体異常性異常症のスクリーニング検査として, ある企業から受託が開始され, 日本でも実施にむけた準備が進められている.

「Quality Issues in Clinical Genetic Services」(臨床遺伝サービスにおける品質問題)の書籍については, 下記の項目の翻訳を行い, わが国の遺伝学的検査の効果的実施体制に関する検討の基礎資料とした. 1990年代に医療関連行為の質が問題になり, 多くの国で, 国家機関が医療提供の質を管理する勧告, 指針もしくは法的手続きを作成し始め, 臨床検査医学分野で検査における認証評価が用いられるようになり, それは遺伝学的検査実施に際しても適応された. 欧州連合のような国際機関は早くから質についての勧告を統一することが必要であることを認識し, 過去15年間に, 遺伝学的検査の臨床応用および研究に対して資金援助してきた. その中でもネットワーク・オブ・エクセレンス EuroGentestにおいては, 欧州での質の問題をさらに統一・発展させることを目的として2005年から2010までの間第6次フレームワーク計画の下10M(ユーロ)もの助成金を受け活動してきたことなどが記されていた.

- ・欧州における臨床遺伝子サービスの質向上と基準の統一 (Jean-Jacques Cassiman : Center Human Genetics, Belgium)
- ・関連する遺伝学的検査: 適切な定義の意義 (Jorge Sequeiros : University of Porto; EuroGentest, Portugal)

- ・希少疾患としての遺伝疾患: 欧州方針の見解 (Ségolène Aymé, et al. : Inserm SC11, Rare Diseases Platform, France)
- ・分子遺伝学的検査における品質問題 (Clemens R. Mueller, and Robert G. Elles : University of Wuerzburg, Germany)
- ・細胞遺伝学の質 (Ros Hastings and Rod Howell : Oxford Radcliffe Hospital, UK)
- ・分子細胞遺伝学の質保証におけるFISH解析 (Thomas Liehr : Institute of Human Genetics and Anthropology, Germany)
- ・患者の観点からみた遺伝学的検査 (Alastair Kent : Genetic Interest Group, UK, Alex McKeown : EuroGenguide, UK and Celine Lewis : EuroGentest, UK)

(2) マイクロアレイ染色体検査の課題に関する討議

2012年12月15日(土)に, 国内で先天異常症の診断を目的とするマイクロアレイ染色体検査を実施, または実施を計画している施設(大学・研究機関: 13, 検査会社: 3)の責任者と遺伝学的検査の体制整備の必要性を強く認識している研究者計19名が集い, 課題と今後の方向性について討議した. その概要を示す.

1. 討議の目的と内容

厚生労働省 難治性疾患克服研究事業 (H22-H24)

「遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制に関する研究」(研究代表者: 辻 省次)として, 「細胞遺伝学的検査の効果的実施体制に関する研究」を行っている. H22年度は「染色体検査の課題, 実施施設・担当者のネットワーク構築」について, H23年度は「細胞遺伝学的検査の現状と課題」について検討したので, H24年度「マイクロアレイ染色体検査をわが国で医療として導入するためのシステムのあり方」について検討することとした.

2. マイクロアレイ染色体検査実施施設(実施予定を含む)の現状

マイクロアレイ染色体検査を実施している8つの大学・高度医療機関から現状を報告していただいたところ, 年間100~200件, 研究として行っているところが半分ほど, それ以外は20~80件ほどであった. 1大学はNPO法人として会員から受託するシステムも立ち上げている. 企業では1社が先天異常に関するマイクロアレイ染色体検査の受託を開始していた.

課題としては大学等からは, 1) 研究費が得られなくなると, 継続実施が困難であること, 2) 結果の解釈が困難な場合があり, 日本人のbenign CNV (Copy Number Variation) データベースの構築が必要であること, 3) 結果解釈は, 片手間ではできることではなく, 高度な知識と技術を有する専門家の育成が望まれることなどがあげられた.

検査会社からは, 現状では1) 検査費用として15万円程度必要であること, 2) 有用性の高くない検査の依頼を控えてもらうためには, マイクロアレイ染色体検査の意義を熟知している医師のみから受託する必要があると考えていること, 3) コンスタントにある一定数以上の依頼を確保することが検査継続に必

要であること、4) 正確な結果解釈のために、日本人の benign CNV データベース構築が必要であること、などの報告がなされた。

3. マイクロアレイ染色体検査の課題と方向性

将来的には、保険診療として実施できることが望ましいが、次の問題がある。1) CNV には人種差があることが知られているにもかかわらず日本人の CNV の情報が収集されていない。2) 欧米では遺伝学的検査実施に際して解析結果を解釈する laboratory geneticist のような人材の認証も含めた質的保証のための体制整備に国家機関が取り組んでいるが、わが国ではその体制がない。3) 同じく検査精度を確保する仕組みが整っていない。

そこで、今後、以下の取り組みが提案された。

1) すでに行われた解析結果を集め、日本人の CNV 情報を収集し、データベース(統合データベース、UCSC、DGV など)に掲載することをめざす。

2) マイクロアレイ解析方法・結果解釈について検討のためのワーキングなどを立ち上げるとともにガイドライン(解析方法:対象症例,プローブデザイン,対照サンプル・ゲノムデータ,結果解釈:CNV の判断基準 (pathogenic, unclear, benign) 等の作成をめざす。

3) 現在、診療的側面を有する研究としてマイクロアレイ染色体検査を実施している 10 施設程度にて精度管理のパイロット研究を行う。

4) 先進医療の承認をめざした取り組みと、人材育成の取り組みを開始する。

D. 考察

(1) マイクロアレイ染色体検査について

マイクロアレイ染色体検査は、疾患原因の特定を目的に全ゲノムのコピー数異常をスクリーニングする方法であるが、その結果解釈は単純ではない。ヒトの多型にはそれまで知られていた VNTR や SNP 以外にコピー数多型 (CNV) もあるということが明らかとなり、コピー数の変化があっても疾患と関連しない場合 (benign CNV) もあることもわかってきた。

マイクロアレイ解析の結果を解釈する際には、すでに病気の原因であることが確定している pathogenic CNV であるか、正常人でも認められることが確定している benign CNV であるか、あるいはどちらも言えない CNV であるかを判定する必要がある。これらの判定の正確性を向上させるためには、わが国においても、benign CNV の情報とともに患者に認めた疾患との関連が明らかあるいは関連している可能性がある全ての CNV をその表現型とともに登録し、その情報を閲覧できるシステムを構築する必要がある。

マイクロアレイ染色体検査は、Cytogenetics と Molecular genetics の中間に属しており、マイクロアレイ染色体検査を担う人も両者の知識が必要である。ヨーロッパでは、マイクロアレイ染色体検査は公費によるルーチン化がなされており、人材を育成するシステムも確立している。わが国においても同様の取り組みを開始することが臨まれる。

さらに、将来、次世代シーケンス解析技術が臨床応

用されることを鑑みても、マイクロアレイ染色体検査で得られているゲノムコピー数異常と疾患・病態との関連についての結果解釈 (pathogenic, unclear, benign) の知見は欠かせないものとなることは明らかであり、そのためにもマイクロアレイ染色体検査の体制整備は重要な課題である。

(2) 細胞遺伝学的検査を含む遺伝学的検査の提供体制について

遺伝学的検査の提供体制は、医療制度が異なっていることを反映して国によって大きく異なっている。研究として実施する検査と診療として実施する臨床検査は明確に分離されており、先進諸外国では、研究者が研究費ではじめた解析結果を蓄積し、臨床的有用性と妥当性が明らかにされたのちに、患者から費用を徴収して臨床検査として実施するという、研究から診療への流れが確立している。英国では UKGTN というネットワークがあり、遺伝医療拠点を定めている。臨床検査として実施開始するには、このネットワークにおいて遺伝学的検査の必要性が判断され、必要と認められた場合に検査項目ごとに定められた機関で実施される。遺伝学的検査の費用を含めたプロセス全体が国レベルで管理運営され、患者情報はレジストリされる。米国では、遺伝学部門のある大学が、自施設の遺伝学的検査室で特定の疾患について自施設の患者のみならず他施設の患者の解析にも積極的に有償で対応している。そして需要のある疾患(項目)については一部の民間会社も遺伝学的検査実施に参入することができる。いずれにおいても、米国では臨床検査として実施する場合には、Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) の施設認証を得なければ検査費用を徴収することができない。英国でも米国でも、遺伝学的検査の提供施設は、精度管理に必要な一定数以上の解析数、定期的な精度管理プログラムへの参加、遺伝学的診断に欠かせない結果解釈のできる Ph. D. レベルの経験を積んだ専門家を責任者として配置することなどのソフト面の条件も求めており、そのための人材育成の体制も考慮されている。検査費用にはそのような人件費や精度管理に必要な経費も含み算定されている。

臨床検査としての実施を開始する際は、稀な疾患の遺伝学的検査は拠点を設け(国が検査施設を把握できる)、特定の検査室に検体を集め精度の高い解析を行いながら、多数患者の蓄積がなければ得られないデータを研究成果として公表したり、臨床的に確定診断されながら遺伝子変異がみつからない稀な患者については別途研究としてさらなる解析に対応するなど、研究と結びついた体制がとられていることにも注目したい。

わが国では、これまで臨床的有用性・妥当性が確立した遺伝学的検査であっても、電解質の検査などの臨床検査と異なる特徴が現状の保険制度にそぐわず、また、大学の研究室などで検査を実施する際には、患者から費用を徴収するシステムがなく研究費を充当するしかないため、精度管理などまで費用をかけられず、その品質管理という点でも課題が存在する。保険診療として実施できないためやむを得ず研究として

実施せざるをえない点が問題点となっている。

いずれにせよ、臨床的有用性・妥当性が確立し、諸外国では原因不明の先天異常患者に必須の臨床検査としてマイクロアレイ染色体検査が広く普及している現状を鑑み、適切な制度の提案と早期導入のための体制整備は必須である。しかしながら、米国の企業により試薬が提供されている米国において、ISCAの示す最低限の精度を満たすプラットフォームによるマイクロアレイ染色体検査が約\$1500(約15万円)で実施されていることを鑑みても、わが国の保険制度で一律4000点(4万円)という遺伝学的検査の設定では、マイクロアレイ染色体検査を臨床検査として提供することは現状では困難である。

E. 結論

わが国の細胞遺伝学的検査の実施体制はさまざまな問題により危機的状況にある。今後、国際レベルの細胞遺伝学的検査を臨床検査として適切に実施してゆくためには、まずマイクロアレイ染色体検査を臨床検査として利用できる体制の早期整備を進めつつ、全国レベルで継続性のある染色体検査実施施設と核型分析技術を有した技術者教育および細胞遺伝学の高度な専門的知識も有する施設責任者育成のありかたについての検討が急務である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Narumi Y, Shiohara M, Wakui K, Hama A, Kojima S, Yoshikawa K, Amano Y, Kosho T, Fukushima Y. Myelodysplastic syndrome in a child with 15q24 deletion syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012 Feb;158A(2):412-6.

Motobayashi M, Nishimura-Tadaki A, Inaba Y, Kosho T, Miyatake S, Niimi T, Nishimura T, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Koike K. Neurodevelopmental features in 2q23.1 microdeletion syndrome: report of a new patient with intractable seizures and review of literature. *Am J Med Genet A*. 2012 Apr;158A(4):861-8.

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Kosho T, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kaname T, Naritomi K, Kawame H, Wakui K, Fukushima Y, Homma T, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Mizuno S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T,

Shiina M, Ogata K, Ohta T, Niikawa N, Miyatake S, Okada I, Mizuguchi T, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Genet*. 2012 Mar 18;44(4):376-8.

Tsurusaki Y, Kosho T, Hatasaki K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing in a family with an X-linked lethal malformation syndrome: clinical consequences of hemizygous truncating OFD1 mutations in male patients. *Clin Genet*. 2013 Feb;83(2):135-44.

2. 学会発表

福嶋 義光. シンポジウム3: 稀少難病患者支援と遺伝カウンセリング「難治性疾患克服研究事業と遺伝カウンセリング」. 第36回日本遺伝カウンセリング学会. 2012年6月8-10日, 松本

福嶋 義光, 松原 洋一, 野村 文夫, 斎藤 加代子, 高田 史男, 小杉 眞司, 玉置 知子, 櫻井 晃洋, 関島 良樹, 涌井 敬子, 加藤 光広, 小泉 二郎. 疾病中心から患者中心の希少難治性疾患研究を可能とする患者支援団体と専門家集団とのネットワーク構築. 日本人類遺伝学会第57回大会, 10月25-27日, 東京

涌井 敬子, 古庄 知己, 鳴海 洋子, 大橋 博文, 清水 健司, 岡本 伸彦, 水野 誠司, 黒澤 健司, 高田 史男, 川目 裕, 佐村 修, 服部 重人, 福嶋 義光. ゲノムコピー数異常の情報のみでは正確な染色体再構成の確認はできない - 核型分析技術を含む細胞遺伝学的視点の必要性 -. 日本人類遺伝学会第57回大会, 2012年10月25-27日, 東京

鳴海 洋子, 清水 健司, 鮫島 希代子, 数川 逸郎, 中村 恒一, Yumie Rhee, Yoon-Sok Chung, 古庄 知己, Ok-Hwa Kim, 福嶋 義光, Woong-Yang Park, 西村 玄. NOTCH2 遺伝子エキソン 34 変異における臨床像の検討. 日本人類遺伝学会第57回大会, 2012年10月25-27日, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

家族性腫瘍の遺伝学的検査の提供体制に関する研究

研究分担者 古川 洋一 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨

家族性腫瘍の中で頻度が比較的高いリンチ症候群や、家族性大腸腺腫症の遺伝子検査は、企業により提供されている。我々は他院で行われた家族性腫瘍の遺伝子検査結果が、必ずしも正しく患者に伝わっていないケースを経験した。その症例は、遺伝学的検査の知識が乏しい担当医師により検査が依頼され、同じ医師を通じて報告が行われていた。家族性腫瘍の遺伝子検査が保険診療で行われていない現状では、知識の乏しい医師による検査依頼や結果報告に対して、監視・監督は不可能である。そこで、今年度は企業による遺伝子解析結果報告書についての調査・検討と、遺伝子検査を検討している一般の人々への情報提供、一般医師に対する遺伝学的検査結果解釈のための情報提供・啓発活動を中心に活動を行った。また病原性の解釈が困難であるイントロンの変異について、判定を補助するためのスプライス機能解析法についての研究を行った。

A. 研究目的

本研究班によるこれまでの調査研究で、頻度の高い家族性腫瘍に対する遺伝学的検査は企業により提供されており、その実施件数は一疾患あたり数十件から、多くて200件程度であることが明らかとなった。これらの検査は保険適応となっていないので、どのような患者に対して、どのような医師が依頼しているのか全体像を把握することは困難である。我々は、東京大学医科学研究所附属病院の遺伝カウンセリング外来において、他院で遺伝子検査を受けた患者から相談を受けることが少なくない。これら相談の中で、検査結果が正しく被験者に伝わっていない家族性腫瘍症例を経験した。また、同様の誤った判定が遺伝性の甲状腺がんの遺伝子検査であった事例が学会で報告された。以上のような状況から、被験者に対する遺伝学的検査に関する情報提供と共に、検査を依頼し結果を報告する医師に対する教育・啓発が必要である。そこで本研究では、まず企業が提供している家族性腫瘍の遺伝学的検査の報告書をもとに、その結果報告の現状を調査検討し、適切な検査結果の報告のために必要な要素を明らかにすることを一つの目的とした。また、遺伝学的検査の特性や限界についての一般の人々への情報提供と、結果を開示する担当医師への情報提供と啓発を目的としたホームページを作製し、公開した。

家族性腫瘍の遺伝学的検査では、既知の原因遺伝子の配列解析が最も頻繁に行われている。これ

らの配列解析は、主にタンパク質をコードするエクソンを解析するものであるが、エクソン周囲のイントロンの異常によっても正常なタンパク質がつくられなくなる。例えば、RNAのスプライシングに関係するスプライス・アクセプターサイト、スプライス・ドナーサイトの異常により、正常なスプライスが行えなくなることが解っている。しかし、アクセプター・サイトやドナー・サイトから離れたイントロンの変化については、病原性の評価は困難なことが多い。そこで今年度は、スプライス異常を検出する機能解析法を樹立し、その利用によるイントロン異常の病原性判定の検証を行った。本研究は、配列解析で見つかった遺伝子変異の病原性を、より正確に判定する基盤を構築することを目的としている。

B. 研究方法

- (1) 当院の遺伝カウンセリング外来のカルテ内に保存された、検査会社の提供した遺伝学的検査結果の写しをすべて精査した。記載項目、とくに病気との関連についての記載について比較検討した。
- (2) *Mouse Gapdh* 遺伝子のエクソン1から3（イントロン1, 2を含む）のゲノム領域をもつ発現ベクターを作製した。イントロン内に調べたいエクソンと周囲のイントロンを含む領域を組み込んだプラスミドを作製して、培養細胞内に導入しRNAを発現させ、

RT-PCR法でスプライシング異常を調べるアッセイ法を樹立した。アムステルダム基準を満たすリンチ症候群の患者に同定されたイントロンの異常を含む領域を、発現プラスミドにクローニングし、細胞株に導入して発現させ、スプライス異常が起こるかどうかが検討した。

(倫理面への配慮)

- (1) 今回の調査は個々の患者情報に関する聞き取り調査でなく、遺伝子解析結果報告書の記載事項の調査であるため、倫理的な配慮の必要性は認めない。
- (2) スプライス異常について検討した症例は、倫理審査会で承認された研究計画書に基づいて、個人情報保護など倫理的に配慮し、患者からインフォームドコンセントを得た上で解析が行われた。

C. 研究結果

1. 遺伝子検査報告書の調査・検討

今回の調査では、A社、B社、C社、D社、E社、F社の、6社の解析結果報告書を比較検討した。A社とB社の報告書には、配列解析の結果とともにその解釈（「病的変異あり」）の記載があった。C、D社の報告には「病的変異無し」とだけ記載されていた。E社の報告は、PTTアッセイのバンドのパターンから異常が認められることのみ、F社報告は、配列解析の結果と「変異あり」の記載だけであった。A、B、C、D社の報告書には、被験者が次にとるべき行動、すなわち遺伝相談を受けることや専門の遺伝カウンセラーに判定を確認してもらうことなどの記載があり、結果を受け取った被験者が、適切な医療行為が受けられるような配慮がなされていた。E社の報告は異常なバンドの指摘のみであったが、担当医の適切な追加解析と結果報告がなされていた。しかし、F社の解析報告書には「変異あり」とだけ記載されていたため、担当医師が病的変異と誤解釈して被験者に伝えていた。同定された変異はイントロン内の変異であり、データベースに遺伝子多型と報告されているものであった。この検査結果をもとに医療行為が行われなかった為、実害はなかった。しかし、被験者の精神的苦痛や、一歩間違えると誤った医療が行われた可能性もあり、大きな問題を含んでいることは明らかである。

2. 一般の人々への情報提供

家族性腫瘍の遺伝学的検査は、リンチ症候群が疑われる大腸がん患者を対象としたマイクロサテライト不安定性検査以外は、保険収載されていない。しかしながら、実際には保険診療以外で年間数百件の家族性腫瘍の遺伝学的検査が行われている。(平成 23 年 12 月に公表された日本衛生検査所協会から公表された「第 6 回遺伝子・染色体検査アンケート調査」によると、我が国における家族性腫瘍に対する遺伝子検査件数は 1 年間で 873

件であった。)そこで、遺伝子検査を希望する人に最低限知っておいてもらいたい情報を、我々が提供するホームページ「がんと遺伝の相談室」に (<http://cancerfamily.ims.u-tokyo.ac.jp/gene/index.html>)に掲載した。この中には、遺伝情報の特徴、検査の限界、判定が困難なケースがあること、結果が自分以外の人々にも影響があることなどを説明した。また検査のメリットとデメリットについて言及するとともに、検査を受ける前に遺伝カウンセリングを受けることを強く推奨した。

3. 医療関係者に対する遺伝子検査の情報提供・啓発活動

一般人への啓発と共に、検査を依頼する医師に対する教育の必要性も明らかとなったため、前述のホームページ内の医療関係者のページ (<http://cancerfamily.ims.u-tokyo.ac.jp/staff/index.html#num08>)に、遺伝子解析結果の開示の前に、最低限知っておくべき知識について掲載した。また解析結果の解釈を5種類に分類し、その違いを説明した。具体的には、病的異常、非病的異常のほか、病的が強く疑われる変異、非病的に準ずる変異、そして判定不能変異の5つである。これらの判定には専門的な知識が必要である事を明記した。さらに判定の参考となるデータベースのURLを疾患別に掲載した。

4. スプライス異常の検討

我々は、アムステルダム基準を満たす家系の25歳の大腸がん患者の血液から抽出したDNAに、*MLH1*遺伝子のエクソン・イントロン接合点から5塩基目に*germ-line*変異(*MLH1*c.790+5 G>T)を同定し、この変異がスプライスに影響を及ぼすかどうか検討した。*mouse Gapdh*遺伝子のエクソン1から3(イントロン1, 2を含む)のゲノム領域をプロモーター下流にもつ発現ベクターを作製し、*MLH1*遺伝子のc.790+5の野生型(G)と変異型(T)の配列、およびその周囲のエクソン、イントロンを、*mouse Gapdh*遺伝子のイントロン2内に導入し、細胞内に発現させて異常なスプライシングが起こるかどうかが、RT-PCR法で検討した。その結果、変異型の配列では*exon skipping*を起こることが明らかとなった。さらに患者の血液から抽出したRNAに、このスプライス異常をもつ*transcript*の存在が確認された。

我々は別のリンチ症候群症例で、同発現ベクターを用いた解析により、別の2つのイントロン異常(*MSH2*c.211+1G>C、*MLH1*c.1731+5 G>A)が、スプライス異常を引き起こすことを検出・確認している。これらのデータは、このスプライス機能解析法が、病的異常の判定に有用であることを示唆している。

D. 考察

今回、遺伝学的検査を提供している6社の解析結果報告書を比較したが、記載事項により、変異の病原性まで言及しているものと、病原性について