

全く触れていないものの2つのグループに分かれることが明らかとなった。後者のグループの検査担当者への聞き取り調査により、配列解析の結果見つかる多様な変異に関して、それらの病原性についてすべて調べて情報提供することは、検査会社には責任が重すぎるとの意見であった。すなわち配列解析による変異の指摘は可能であるが、その判定は医師の責任で行うべきとの見解であった。遺伝子変異の判定が非常に難しいことがあることを考えると、上記の意見は尤もと理解できる。一方B社は、ある家族性腫瘍の原因遺伝子についての特許を保有しており、世界中の同遺伝子の解析を行い独自の変異情報を蓄積してきた。したがってB社が病原性判定を行えるのも十分に納得できる。見方を変えれば、詳細な遺伝子変異データベースがあれば判定は容易になると言える。すでにAPC遺伝子やリンチ症候群の原因であるミスマッチ遺伝子群の変異データベースが存在するが、より充実したデータベースとなることが望まれる。

上記のE社やF社の解析報告書の内容を、一般医師が正しく判定して開示するのは困難と考えられ、専門家の助言や介入があることが望ましい。遺伝学的検査の結果は、患者の治療だけでなく、家系の構成員の健康管理、家族計画などにも影響を及ぼす情報でもある。誤った情報を提供することがないように、また被験者の社会的・精神的な負担に配慮しながら、遺伝カウンセリングを通じた専門家による開示が望ましい。それを可能とするためには、家族性腫瘍の遺伝子解析結果の開示の際の遺伝カウンセリングを、保険診療として認めるのが最も効果的である。日本の医療保険制度の改変の中で、訴えていく必要があると考える。また、診療上に必要な家族性腫瘍の遺伝学的検査が保険収載可能とするために、より感度・特異性が高い検査体制を構築することや、データベースの充実を推進していくことが必要であろう。

#### E. 結論

家族性腫瘍の遺伝学的検査は企業により提供さ

れているが、その結果報告書の記載事項は統一されていない。また遺伝子検査の知識が乏しい医師による、不適切な検査の提供が行われる危険がある。そこで検査の保険収載と共に、適切なカウンセリングを保険診療として認め、検査提供の管理・監督が望まれる。

また遺伝学的検査の結果、病原性の判定が困難なイントロンの異常に対して、スプライス機能解析法が有用であることを証明した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Takahashi, M., Furukawa, Y., Shimodaira, H., Sakayori, M., Moriya, T., Moriya, Y., Nakamura, Y., and Ishioka, C. Aberrant splicing caused by a MLH1 splice donor site mutation found in a young Japanese patient with Lynch syndrome. *Fam. Cancer* 11: 559-64, 2012.

Yamamoto, S., Ebihara, Y., Mochizuki, S., Kawakita, T., Kato, S., Ooi, J., Tojo, A., Yusa, N., Furukawa, Y., Oyaizu, N., Watanabe, J., Sato, K., Kimura, F., and Tsuji, K. Quantitative PCR detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 syndrome. *Leukemia & Lymphoma*, in press.

##### 2. 学会発表

なし

#### 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班  
分担研究報告書

## 遺伝性疾患の遺伝学的検査の提供体制に関する研究

研究分担者 難波 栄二<sup>1) 2) 3)</sup>

研究協力者 足立 香織<sup>1)</sup>

- 1) 鳥取大学生命機能研究支援センター、2) 鳥取大学医学部附属病院 遺伝子診療科  
3) 鳥取大学医学部附属病院 次世代高度医療推進センターゲノム医療部門

研究要旨： 小児神経疾患を中心に、より多くの遺伝性疾患の遺伝学的検査に対応できるよう、その解析体制について検討した。臨床遺伝専門医 1 名、常勤職員 1 名、非常勤職員 7 名で対応できる体制を構築し検討した。遺伝子解析の工程を細分化すると共に、手順書を整備し、作業を標準化することにより、多くの遺伝子解析を行うことが可能となった。データ解析には Variant reporter ソフトウェアを使用し、dbSNP (NCBI)、変異データベース (HGMD など) との照合も行った。新規変異と考えられる場合には、PolyPhen での解析も参考とした。

鳥取大学医学部附属病院に次世代高度医療推進センターが設置され、病院全体の遺伝学的検査に対応できる体制を整えた。また、規則・料金体系の整備により、院内・院外の遺伝学的検査の依頼に対応可能となった。

### A. 研究目的

遺伝性疾患は数千種類を超えるが、現在、保険収載されている遺伝性疾患の遺伝学的検査は、そのうちわずか 35 疾患にとどまっている。また、これら疾患の中には、物理的に臨床検査会社では実施不可能なものもあり、依然、研究ベースで実施されている場合が多い。

遺伝学的検査を実施する新たな体制の構築を検討するため、より多くの疾患に対応できる体制の検討を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 遺伝子診断体制の効率化

##### 1) 検体の依頼

「遺伝学的検査に関するガイドライン」

に従って検体を採取した。鳥取大学医学部附属病院以外からの検体についても、「遺伝学的検査の依頼に関する確認書」と共に検体を受け付けた。

また、外部機関から遺伝学的検査を受託できるよう規則・料金体系を整えた。

##### 2) PCR 直接シーケンス

Primer3 ソフトで PCR プライマー設計を行った。PCR は、DNA 量が 100ng、アニーリング温度を 60°C、35 回で行った。シーケンスは、PCR と同じプライマーを用い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit を用い反応させ、ABI Genetic Analyzer 3130xl で泳動を行った。

#### 4) データ解析

シーケンスで得られたデータは、Variant reporter ソフトウェア (ABI) を用いて解析を行った。その上で Sequence Scanner (ABI) での波形データ確認と、Genetyx ソフトウェアでの変異部位の確認を併用した。解析は、HGMD (The Human Genome Mutation Database, <https://portal.biobase-international.com/cgi-bin/portal/login.cgi> (有料版)) の既報の変異を優先して解析を行った。また、dbSNP (NCBI) から SNP を除外するとともに、新規変異と考えられる場合には、PolyPhen (prediction of functional effect of human nsSNPs) <http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/> での解析結果も参考として報告書に記載した。

#### 5) 遺伝学的診断の体制

昨年度に引き続き、鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野では、遺伝学的診断を含めた遺伝子解析を臨床遺伝専門医・指導医 1 名、助教 1 名、8 時間非常勤職員 1 名、6 時間非常勤職員 3 名、アルバイト職員 3 名の体制で構築した。

また、今年度設置された次世代高度医療推進センターには、認定遺伝カウンセラー 1 名、6 時間非常勤職員 2 名を配置し、院内・院内の遺伝学的検査の依頼に対応した。

各疾患の遺伝子解析は、DNA 分離、PCR、DNA シークエンス、データ分析、報告書作成、など各ステップに分け、それぞれのステップごとに担当者を決める体制を構築した。情報はオンライン上でファイルを共有し、データの蓄積にはオンラインストレージを利用した。

#### 2. 病院全体での遺伝子診断体制の検討

今年度、鳥取大学医学部附属病院には次世代高度医療推進センターが設置された。遺伝学的検査の依頼窓口を同センターとし、病院全体の遺伝子診断に対応できる体制とした。

#### C. 研究結果

##### 1. 遺伝子診断体制の効率化

本年度は下記 29 疾患 35 遺伝子、149 件の遺伝学的検査を実施した。このうち 1-5. は新たに遺伝学的検査体制を構築した例、6-29. は従来構築していた検査体制で実施した例である。

1. フォン・ヒッペル・リンドウ病 (*VHL*)  
2 件
2. GM2 活性化蛋白質欠損症 (*GM2A*) 1 件
3. Pelizaeus-Merzbacher 病 (*PLP1*)  
(MLPA 法) 1 件
4. メチルマロン酸血症  
(*MMAA, MMAB, MMADHC, MUT*)  
1 件
5. 結節性硬化症 (*TSC1, TSC2*) 1 件
6. 脆弱 X 症候群 (*FMR1*) 39 件
7. Cowden 病 (*PTEN*) 21
8. ゴーシェ病 (*GBA*) 10 件
9. ライソゾーム病 10 件
10. 筋緊張性ジストロフィー (*DMPK*) 9 件
11. ニーマンピック病 C 型  
(*NPC1, NPC2*) 8 件
12. Joubert 症候群 (*AHI1, NPHP1*) 7 件
13. GM1-ガングリオシドーシス (*GLB1*)  
6 件
14. Fabry 病 (*GLA*) 5 件
15. Insulin-like growth factor 1 receptor  
(*IGF1R*) (MLPA 法) 4 件
16. Pompe 病 (*GAA*) 3 件

17. Tay-sachs 病 (*HEXA*) 3 件
18. I-cell 病 2 件
19. Menkes 病 (*ATP7A*) 2 件
20. デュシェンヌ型筋ジストロフィー (*DMD*) (MLPA 法) 2 件
21. ポルフィリン症 (*AIP, HCP*) 2 件
22. 異染性白質ジストロフィー (*ARSA*) 2 件
23. 肢帯型筋ジストロフィー (*DYSF*) 2 件
24. calcium-sensing receptor (*CASR*) (MLPA 法) 1 件
25. Myotubular myopathy (*MTM1*) 1 件
26. Pendred 症候群 (*SLC24A4*) 1 件
27. シアリドーシス (*NEU1*) 1 件
28. ミトコンドリア病 1 件
29. 福山型筋ジストロフィー (*FKTN*) 1 件

## 2. 病院全体での遺伝子診断体制の検討

- ① 専門の遺伝カウンセラーをおき、病院全体の遺伝子診療を支援する体制を構築した。
- ② 患者に関しては遺伝カウンセラーなどの支援を得て、各科で遺伝子診断に対する遺伝カウンセリングに対応できる体制とした。
- ③ 家系の方々など病気でないヒトの対応を強化するために、遺伝子診療科のチーム医療を充実させている(遺伝カウンセラー、看護師、心理士、臨床検査技師などの連携)。
- ④ 各診療科で遺伝学的検査の実施を検討する際、まずは次世代高度医療推進センターへ相談してもらう体制を整えた。
- ⑤ 生命機能研究支援センター遺伝子探索分野、検査部などの支援を得て、要望の

ある遺伝子診断の検査体制を充実させた。

- ⑥ 遺伝学的検査の料金を算定し、鳥取大学医学部附属病院の規則に盛り込むことで、院内への周知を図ると共に、他病院からの検査委託を可能とした。
- ⑦ その他、カンファレンス、情報提供や勉強会など遺伝子医療を推進する体制を強化した。

## D. 考察

遺伝学的検査の実施にあたって遺伝子解析の工程を細分化し、担当者を割り振ることにより、より多くの遺伝子解析を行うことが出来るようになった(平成 23 年度:102 件、平成 24 年度:149 件)。

プライマー設計から PCR、シーケンスまでの工程で手順書を整備し、作業を標準化することにより、専門的知識がない人でも十分対応することが可能となった。

データ解析は、Variant reporter ソフトウェアを使用することにより、専門的知識がなくても変異の可能性のある部位を漏れなく探し出すことが可能となり、担当者が増えることによってデータ解析のスピードは格段に速くなった。

原因遺伝子(解析エクソン数)が多数ある疾患については、PCR シーケンス法では限界があり、次世代シーケンサー等での解析システムの構築を検討していく必要がある。

院内のみならず、院外からの遺伝学的検査の依頼に対応できるよう、鳥取大学医学部附属病院の規則・料金体系を整備した。これにより、遺伝学的検査の費用を正式に請求することが可能となった。ただし、混合診療の問題が課題として残っており、今後の検討が必要である。

今年度、鳥取大学医学部附属病院には次世代高度医療推進センターが設置され、院内の窓口となると共に、遺伝子診療科、生命機能研究支援センターとの連携拠点としても機能し、病院全体の遺伝学的検査に対応できる体制を整えた。

#### E. 結論

1. 効率的な遺伝学的検査の方法について検討した。
2. 臨床遺伝専門医 1 名、常勤職員 1 名、非常勤職員 7 名で対応できる体制を構築した。
3. DNA 分離、PCR、DNA シークエンス、データ分析、報告書作成、など各ステップに分け、それぞれのステップごとに担当者を決める体制を構築し、効率化を図った。
4. データは、Variant reporter ソフトウェアによるデータ解析、dbSNP、HGMD 等のデータベースの確認に加え、PolyPhen などのデータも参考にした。
5. 院内・院外の遺伝学的検査の依頼に対応できるよう、鳥取大学医学部附属病院の規則・料金体系を整備した。
6. 窓口となるセンターが設置されたことにより、病院全体の遺伝学的検査に対応できる体制を整えた。混合診療の問題については、引き続きの検討が必要と思われた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ① Sekijima Y, Nakamura K, Kishida D, Narita A, Adachi K, Ohno K, Nanba

E, Ikeda S. Clinical and serial MRI findings of a sialidosis type I patient with a novel missense mutation in the NEU1 gene. Intern Med. 2013;52(1):119-24.

- ② Higaki-Mori H, Kuwamoto S, Iwasaki T, Kato M, Murakami I, Nagata K, Sano H, Horie Y, Yoshida Y, Yamamoto O, Adachi K, Nanba E, Hayashi K. Association of Merkel cell polyomavirus infection with clinicopathological differences in Merkel cell carcinoma. Hum Pathol. 2012 Dec;43(12):2282-91.

##### 2. 学会発表

足立香織、大野耕策、難波栄二. 我々のセンターにおける遺伝子診断システムの検討:2009年から2011年の内容. 日本人類遺伝学会第57回大会 2012年10月24日・27日、東京

#### H. 知的財産権の出願・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

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

皮膚科領域の遺伝学的検査提供体制についての研究

研究分担者 秋山 真志<sup>1)</sup>

1) 名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学分野

**研究要旨：** 我が国における遺伝性疾患に対する病因遺伝子変異検索等の検査体制は十分整備されているとは言えず、とりわけ、皮膚科領域では欧米と比べて立ち遅れていると言わざるを得ない。本研究の目的は、我が国における皮膚科領域の遺伝学的検査の提供体制における課題を調査研究し、最適な遺伝学的検査提供体制を実現することである。本研究におけるこれまでの成果の上に、皮膚科領域での最適な病因遺伝子変異検索等の遺伝学的検査提供体制の構築を目標とし、平成22年度、23年度の研究に引き続き、国内および海外の皮膚科領域の遺伝学的検査提供体制についての調査研究を施行するとともに、遺伝学的検査に関わる問題点について、さらに研究を行った。その結果、皮膚科領域の疾患については、海外においても十分とは言えないが、国内においては、組織的・効率的・包括的に遺伝学的検査を提供する体制が顕著に不足していることが明らかになった。特定の疾患については、遺伝学的検査を提供する施設、スタッフがないことにより、診断が困難な状況も来していることが、問題点として浮き彫りになった。

#### A. 研究目的

本研究の最終目的は、我が国において最適な遺伝性皮膚疾患の遺伝子診断体制の提供についての提言を行うことである。その目的達成のため、平成22年度、平成23年度に引き続き、我が国での皮膚科領域の希少性の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の提供体制における課題を調査研究してきた。本年度においては、皮膚科領域の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の提供体制について、我が国の現状を把握し、適切な遺伝学的検査の提供体制についての提言を行い、方策を具体化することを目標として研究を行った。

#### B. 研究方法

平成22年度に行われたkick-off シンポジウム以降、平成22年度、平成23年度に行われた、本研究班班会議において、他診療科領域の研究分担者との連携を形成し、皮膚科領域の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の提供体制についての、検討課題の具体化を図ってきた。平成22年度、平成23年度に引き続き、これまでの成果に基づき、国内および海外の調査研究を遺伝学的検査提供体制に関して施行した。皮膚科領域における遺伝学的検査提供体制の問題点を明らかにするため、皮膚科領域の遺伝学的

検査に関わる問題点について、国内外の文献調査を施行した。本年度の成果に、平成22年度、平成23年度に得られたデータを合わせ、検討した結果、本邦での皮膚科領域での遺伝学的検査提供体制の実態についての情報は非常に限られたものであることが明らかになった。さらに、新たに、全国の皮膚科関連基幹診療施設に、遺伝学的検査提供体制の現状のアンケート調査を施行すべく、準備を進めてきた。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト遺伝子解析結果等の情報を含む可能性があるため、倫理的配慮と研究対象者に対する十分なインフォームドコンセントの下、施行した。

### C. 研究結果

平成22年度のkick-off シンポジウム以降、平成22年度、平成23年度に行われた本研究班班会議等での討議に引き続き、本年度も他診療科領域の研究分担者との連携を確認した。平成22年度、平成23年度からの研究成果に基づき、本年度は国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の提供体制についての情報収集を行った。その結果、皮膚科領域では、遺伝学的検査をどのように提供するかという方針が不明確で、しっかり定まっていないこと、遺伝学的検査が提供されていない遺伝性皮膚疾患が数多く存在すること、研究レベルの段階が終了した遺伝性皮膚疾患の場合、大学などの研究機関でその診断サービスを継続して提供することが困難になること等の問題点が明らかとなり、平成22年度、平成23年度の研究に引き続き、さらに皮膚科領域での遺伝学的検査の提供体制の検討すべき課題の具体化を行った。さらに、本邦での皮膚科領域での遺伝学的検査提供体制の実態自体についての情報についても、国内および海外の調査研究、文献調査の結果、非常に限られたものであることが明らかになった。平成24年度は、遺伝学的検査提供体制の現状のアンケート調査を全国の皮膚科関連基幹診療施設に施行するための、対象施設

の選定などの準備作業を行い、アンケート調査を進めつつある。

### D. 考察

3年間の本研究では、我が国において、皮膚科領域での遺伝学的検査の提供に関する問題点を明らかにし、海外における遺伝学的検査の提供体制との比較検討を行った。最終的な本研究の到達目標は、これらの課題を克服すべく、本研究での分析に基づき、わが国における皮膚疾患の遺伝学的検査の最適な提供の体制について、取るべき方策を示すことにある。

3年間にわたる本研究によって、皮膚科領域においても、他の臨床領域同様、遺伝学的検査の供給体制には大きな問題が複数あることが明らかになった。具体的には、遺伝学的検査により新規変異が見いだされた場合、その解釈には十分な経験と専門知識を有するスタッフによる作業が必要とされるが、必ずしも、すべての皮膚科領域の疾患にたいして、それぞれの専門家が、本邦にいるわけではない点が浮き彫りになった。また、疾患によっては、病因遺伝子がexon数、塩基数の大きい遺伝子であったり、一つの疾患に対して、多数の病因候補遺伝子があり、それらを網羅的に解析する必要があることなどから、遺伝子診断を施行する事が現状では非常に困難な遺伝性皮膚疾患も多数あることが明確になった。さらに、遺伝学的検査が提供されていない疾患が、数多く存在すること、遺伝学的検査が過去に提供されていた疾患についても、研究レベルの段階が終了した段階においては、大学等の研究機関の研究者による診断サービスが、継続して提供されなくなること等の問題が明確になった。

### E. 結論

平成22年度、平成23年度に引き続き、皮膚科領域

での遺伝学的検査の提供体制について、国内外の文献調査、調査研究を施行した。本研究でのそれらの調査、研究の結果、皮膚科領域において、研究レベルの段階が終了した疾患に対しては、大学などの研究機関でその診断サービスを継続して提供することが困難になること、遺伝学的検査が提供されていない疾患が未だに数多く存在すること等の遺伝学的検査の提供体制上の問題点があることが明らかになった。これらの諸問題点の中で、最も本質的かつ深刻な問題点は、遺伝学的検査をどのように提供するか、という基本方針が定まっていないことである。3年間の本研究の成果から、これらの問題を克服する方策の手掛かりが得られることが期待される。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

論文 1) Natsuga K, Shinkuma S, Kanda M, Suzuki Y, Chosa N, Narita Y, Setoyama M, Nishie W, **Akiyama M**, Shimizu H.

Possible modifier effects of keratin 17 gene mutation on keratitis-ichthyosis-deafness syndrome.

**Br J Dermatol** 166: 903-5, 2012.

論文 2) Kono M, **Akiyama M**, Kondo T, Suzuki T, Suganuma M, Wataya-Kaneda M, Lam J, Shibaki A, Tomita Y.

Four novel *ADARI* gene mutations in patients with dyschromatosis symmetrica hereditaria.

**J Dermatol** 39: 819-821, 2012.

論文 3) Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Shimoyama Y, Muro Y, **Akiyama M**.

A novel IL36RN/IL1F5 homozygous nonsense mutation, p.Arg10X, in a Japanese patient with adult-onset generalized pustular psoriasis.

**Br J Dermatol** 167: 699-701, 2012.

論文 4) Shinkuma S, Inoue A, Aoki J, Nishie W, Natsuga K, Ujiie H, Nomura T, Abe R, **Akiyama M**, Shimizu H.

The  $\beta 9$  loop domain of PA-PLA<sub>1</sub> $\alpha$  has a crucial role in autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis.

**J Invest Dermatol** 132: 2093-2095, 2012.

論文 5) Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ito Y, Ogawa Y, Muro Y, **Akiyama M**.

Severe chilblain lupus is associated with heterozygous missense

mutations of catalytic amino acids or their adjacent in the exonuclease domains of 3'-repair exonuclease 1.

**J Invest Dermatol** 132: 2855-2857, 2012.

論文 6) Umemoto H, **Akiyama M**, Domon T, Nomura T, Shinkuma S, Ito K, Asaka T, Sawamura D, Uitto J, Uo M, Kitagawa Y and Shimizu H.

Type VII collagen deficiency causes defective tooth enamel formation due to poor differentiation of ameloblasts.

**Am J Pathol** 181: 1659-1671, 2012.

論文 7) Pohler E, Mamai O, Hirst J, Zamiri M, Horn H, Nomura T, Irvine AD, Moran BE, Wilson NJ, Smith FJD, Goh CSM, Sandilands A, Cole C, Barton GJ, Evans AT, Shimizu H, **Akiyama M**, Suehiro A, Konohana I, Shboul M, Teissier, Boussofara L, Denguezli M, Saad A, Gribaa M, Dopping-Hepenstal PJ, McGrath JA, Brown SJ, Goudie DR, Reversade B, Munro CS, McLean WHI.

Haploinsufficiency for AAGAB causes clinically heterogeneous forms of punctate palmoplantar keratoderma.

**Nat Genet** 44: 1272-6, 2012.



論文 8) Nomura Y, Nomura T, Sakai K, Sasaki K, Ohguchi Y, Mizuno O, Hata H, Aoyagi S, Abe R, Itaya Y, Akiyama M, Shimizu H.

A novel splice site mutation in *NCSTN* underlies a Japanese family with hidradenitis suppurativa.

**Br J Dermatol** 168: 206-209, 2013.

論文 9) Takeichi T, Sugiura K, Matsuda K, Kono M, Akiyama M.

Novel *ABCA12* splice site deletion mutation and *ABCA12* mRNA analysis of pulled hair samples in harlequin ichthyosis.

**J Dermatol Sci** 69: 259-261, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特に無し。

## 耳鼻咽喉科領域の遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制について

研究分担者 野口 佳裕 東京医科歯科大学耳鼻咽喉科 講師

### 研究要旨

既に 50 以上の原因遺伝子が同定されている非症候群性遺伝性難聴において、網羅的遺伝子解析の意義は高い。2012 年度からインバーダー法を用いた網羅的な「先天性難聴の遺伝子診断」が商業ベースにて保険適用となった。今後は、次世代シーケンサーを基盤とした全難聴遺伝子を対象とする網羅的解析プラットフォームが診断のより効果的な実施体制として望まれる。

### A.研究目的

遺伝性難聴は、耳鼻咽喉科領域において遺伝学的検査が必須の代表的疾患である。先天性難聴は出生数 650～1000 人中 1 人と高頻度に生じる先天性疾患であるが、この中の約半数が遺伝性難聴とされている。さらに、常染色体優性遺伝形式やミトコンドリア遺伝形式の遺伝性難聴が後天性難聴として発症しうるため、難聴における遺伝学的検査の対象は多い。また、難聴を引き起こす原因遺伝子を同定することは、先天性難聴の補助的診断、人工内耳手術における予後推定、難聴の予防的治療、遺伝カウンセリングなどにおいて重要な情報となることから遺伝学的検査の価値は高い。一方、難聴のみを唯一の症候とする非症候群性遺伝性難聴においても、50 以上の原因遺伝子が同定されている。そのため、低音障害型感音難聴、前庭水管拡大症などの特徴的な表現型を示す一部の遺伝性難聴以外では、ターゲットとする原因遺伝子を絞り込むことは困難である。

2008 年より信州大学にて開始された先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」は 2012 年により保険適用となり、遺伝性難聴に対する遺伝子診断は大きく前進した。しかし、本検査においても変異が認められない例や後天性遺伝性難聴例に対する遺伝学的検査体制を整えていく必要がある。

本研究の目的は、遺伝学的検査についての当施

設および国内での現状を明らかとし、遺伝性難聴の遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制について検討することである。

### B.研究方法

当施設での遺伝学的検査の進捗状況と国内での報告をもとに本邦における難聴の遺伝学的検査実施体制のあり方を検討する。

#### （倫理面への配慮）

難聴の遺伝学的検査は、当施設の倫理審査委員会の承認のもと文書による同意取得の後に行った。

### C.研究結果

#### (1) 網羅的な遺伝学的検査の有用性を示した症例

我々は、当施設を受診し遺伝性難聴が疑われ血縁関係のない 373 例に対して、ミトコンドリア DNA 主要 29 変異に対する網羅的解析を行った（Kato et al. J Hum Genet 55: 147-154, 2010）。その結果、m.1555A>G を 11 例、m.3243A>G を 9 例、m.8348A>G、m.11778G>A、m.15498G>A を各 1 例に同定した。m.3243A>G が同定された 9 例中 8 例はすでに PCR-RFLP や自動シーケンサーによる解析にて変異が同定されていた。しかし、残り

の 1 例は、本解析により変異が初めて同定され、網羅的解析の有用性を示唆するものであった（学会発表 4）。症例は 47 歳、女性であり、病歴聴取上は難聴に対して母系遺伝は疑われず、耳小骨奇形があったことからミトコンドリア DNA 変異は疑われていなかった。網羅的解析により m.3243A>G が同定されたあとは、精査により糖尿病が明らかとなり、その早期治療が可能となった。また、耳小骨奇形に対する手術的治療を検討していたが、m.3243A>G による感音難聴が今後進行する可能性があるため、補聴器装用が選択された。

#### (2) ミトコンドリア DNA 変異網羅的解析

遺伝性難聴が疑われた血縁関係のない 373 例に対して、以前施行されたミトコンドリア DNA 主要 29 変異とは別の 32 変異に対する網羅的解析を行った（論文発表 1）。その結果、これまで判明していなかった、m.7444G>A、m.7472insC が各 1 例に同定された。

#### (3) 新規原因遺伝子同定のための全エクソーム解析

auditory neuropathy は、耳音響放射にて内耳外有毛細胞は正常であり、聴性脳幹反応が高度低下あるいは無反応を示す比較的稀な難聴疾患である。約 40%は遺伝性に発症するが、非症候群性のほとんどは *OTOF* 変異による劣性遺伝である。今回我々は、世界で 3 家系目の優性遺伝形式の非症候群性 auditory neuropathy 家系に対して全エクソーム解析を行った（学会発表 5）。絞られた 10 の原因候補遺伝子の中の 1 つは終止変異を示し、現在新しい難聴原因遺伝子の同定に向けて研究中である。

#### (4) 国内での難聴遺伝学的検査

2008 年より開始された先進医療「先天性難聴の遺伝子診断」は 2012 年により保険適用となり、検査会社に委託しての難聴の遺伝学的検査が可能となった。検査対象は日本人に既に同定されている既知の難聴遺伝子 13（既知の 47 変異）であり、インベダー法を用いた網羅的解析がコマーシャルベースで可能となっている。

## D. 考察

非症候群性遺伝性難聴の原因遺伝子は既に 50 以上が判明しており、人的労力、経済性を考慮すればキャピラリー式自動シーケンサーでの遺伝学的検査には限界がある。また、遺伝性難聴例では *GJB2* や m.1555A>G などの高頻度に認められる変異を同時に有することもあり原因遺伝子の網羅的解析が望まれる。この点で「先天性難聴の遺伝子診断」が保険適用下にコマーシャルベースで施行可能となり、耳鼻咽喉科領域の遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制は築かれつつある。しかし、「先天性難聴の遺伝子診断」において原因変異が同定される頻度は、先天性あるいは早期発症の難聴児に対象を限定しても 41.8%とされている（Usami et al. *PloS One* 7, e31276, 2012）。従って、変異が同定されない 50%以上の遺伝性難聴例に対してはキャピラリー式あるいは次世代シーケンサーを用いた従来からの遺伝子解析を行う必要がある。また、「先天性難聴の遺伝子診断」では、対象が先天性難聴に限られている。しかし、実際には常染色体優性やミトコンドリア性の遺伝性難聴の中には後天性難聴を示すものがある。特に、後天性遺伝性難聴の代表である m.1555A>G では、アミノグリコシドに対する内耳易受傷性の点においても遺伝学的検査が予防的治療に重要となる。従って、明らかな難聴の家族歴などの遺伝性を疑う所見があれば、後天性難聴においても本遺伝学的検査を適用とすべきである。

アメリカでは、難聴遺伝子を網羅的に解析する複数のプラットフォームがある。その中の 1 つである OtoSCOPE は、次世代シーケンサーを組み合わせた solution-based target enrichment and massive parallel sequencing 法を用いたものである。既知の難聴遺伝子すべてを対象としており、新規変異同定にも対応可能である点に大きな利点がある。本邦においても慶應大学医学部臨床遺伝センター（小崎健次郎教授）が東京医療センター聴覚障害研究室（松永達雄室長）との共同

で、次世代シーケンサーを用いた難聴遺伝子網羅的解析の開発が進められている。得られた variant は病因か否かの判別が困難な場合があると考えられるが、耳鼻咽喉科領域の遺伝学的手法における診断において目標とすべき実施体制である。

## E. 結論

「先天性難聴の遺伝子診断」の保険適用により、耳鼻咽喉科領域の遺伝学的検査体制は大きく全身した。今後は全難聴遺伝子を対象とした網羅的解析プラットフォームの開発が望まれる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kato T, Nishigaki Y, Noguchi Y, Fuku N, Ito T, Mikami E, Kitamura K, Tanaka M: Extended screening for major mitochondrial DNA point mutations in patients with hereditary hearing loss. *Journal of Human Genetics* 57: 772-775, 2012
- 2) Kato T, Fuku N, Noguchi Y, Murakami H, Miyachi M, Kimura Y, Tanaka M, Kitamura K: Mitochondrial DNA haplogroup associated with hereditary hearing loss in a Japanese population. *Acta Oto-laryngologica* 132: 1178-1182, 2012
- 3) 野口佳裕, 伊藤 卓, 川島慶之, 西尾綾子, 本田圭司, 喜多村 健: 前庭水管拡大症を伴う *SLC26A4*, *ATP6V1B1*, *SIX1* 変異例の聴平衡覚所見の検討. *Equilibrium Research*, in press.

### 2. 学会発表

- 1) Noguchi Y, Takahashi M, Honda K, Nishio A, Kitamura K: microRNA expression in the aging mouse cochlea. 35<sup>th</sup> Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, 2012.2
- 2) Kato T, Noguchi Y, Fuku N, Murakami H, Miyachi M, Tanaka M, Kitamura K. Mitochondrial haplogroup analysis in patients with hereditary hearing loss. 35<sup>th</sup> Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, 2012.2
- 3) Nishio A, Noguchi Y, Kitamura K: A DFNA5 mutation in two Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. 35<sup>th</sup> Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, 2012.2
- 4) 野口佳裕, 本田圭司, 加藤智史, 奥野秀次, 喜多村 健: 遺伝子診断が有用と考えられた耳小骨奇形による混合難聴合併のミトコンドリア 3243 変異. 第 57 回日本人類遺伝学会, 東京, 2012.10
- 5) Noguchi Y, Nishio A, Takeda N, Shimada A, Chida I, Naruse T, Kimura A, Kitamura K: A Japanese family with autosomal dominant auditory neuropathy spectrum disorder. 36<sup>th</sup> Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, Baltimore, 2013.2

## 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

## 循環器領域の遺伝学的検査提供体制に関する研究

研究分担者 森田 啓行<sup>1)</sup>

研究協力者 山田 奈美恵<sup>2)</sup>

1) 東京大学大学院医学系研究科健康医科学創造講座, 2) 同研究科総合研修センター

### 研究要旨

循環器領域においても単一遺伝子疾患の原因遺伝子変異同定が進んできた。しかしながら、診療の一環として遺伝学的検査がおこなわれているのはごく一部にとどまる。本分担研究では、遺伝性の循環器疾患として最も頻度が高い肥大型心筋症を例に、遺伝学的検査が診療現場で進まない原因を分析し、今後診療の一環として位置づけられるために解決すべき問題点を挙げ、解決方法を考察した。診療体制重点化、レジストリー確立・運用、精度保証された集中的検査拠点確立、施設間ネットワーク確立、変異-臨床所見データベース確立・運用を柱にした体制が理想的である。持続可能な制度設計と費用確保が必要なのは言うまでもないが、そのワークフローを支える人材育成、医療者・国民に対する遺伝教育、社会のコンセンサス獲得、データ管理手法の決定、ガイドライン・法整備などおこなうべき課題はきわめて多い。現在「医療」が抱える多様な問題を「遺伝医療」という観点から深く再考察することがもとめられる。

### A. 研究目的

循環器領域では、肥大型心筋症、先天性QT延長症候群など単一遺伝子疾患を中心に原因遺伝子変異同定研究が進んできた。遺伝子変異と臨床徴候との連関検討も進んでおり、先天性QT延長症候群の遺伝学的検査は既に保険収載に至っている。肥大型心筋症[1]における遺伝学的検査の現状はどうか。肥大型心筋症は遺伝性心疾患の中では最も高頻度である。米国での疫学調査によると一般人口の500人に1人といわれており、単純に本邦にあてはめると20万人余ということになる。10歳代に発症することが多く、若年者において突然死原因の首位を占める。前途有望な若年者に不慮の死をもたらす心臓疾患として本症を再認識し、患者および家族への遺伝子診断体制を整備して発症前診断を実現すれば、本症で突然死する若者を減らすことができる。肥大型心筋症では患者の約60%に原因変異が検出され、そのほとんどはサルコメア(心筋の収縮弛緩をつかさどる筋原線維)構成タンパク遺伝子の優性変異である。診断確定やある程度の子後予測だけでなく、心臓

大をきたす他の遺伝性疾患(心Fabry病など)との鑑別に有用であることも知られる。しかしながら現状では、肥大型心筋症の診療の一環として遺伝学的検査が行われていないのは明らかである。本分担者は、この肥大型心筋症を例に、遺伝学的検査が循環器診療の現場で進まない原因を分析し、今後、診療の一環として位置づけられるためにクリアしなくてはならない問題点を挙げ、方策を考察する。

### B. 研究方法

関連文献(末尾に参考文献として記載)を検索し、それらを参考にまとめと考察をおこなった。

### C. 研究結果

肥大型心筋症が疑われる患者に対する本邦の遺伝学的検査の現状は下記の如くである。

遺伝学的検査の意義と限界、結果の開示と撤回の自由、連結可能匿名化、陽性と判定された際には血縁者の遺伝学的検査に対して考慮すべき旨を十分に説明し、「心筋症関連遺伝子を

対象に研究室ベースで解析する」ことに関して文書による同意を取得、採血後は教官・大学院生が研究室で末梢血多核白血球からゲノムDNAを抽出し遺伝子解析(ダイレクトシーケンス法など)をおこなう、というワークフローが国内大学病院では一般的と思われる。国内数箇所の大学病院では肥大型心筋症患者ゲノムDNAを地域関連病院および他大学から精力的に集積し解析をおこなっている。解析結果は本人の承諾に基づいて本人に説明され、必要に応じて遺伝カウンセリングがおこなわれる。解析結果の診療録への記載は義務づけられていない。

このように肥大型心筋症の遺伝学的検査はおもに大学の研究室単位でおこなわれており、医学研究としてはきわめて意義の深い知見が蓄積されてきた。一方で、診療現場の一般臨床医の反応は、「そもそも最新知見をよく知らない」「遺伝子変異がわかったところで治療が変わるわけではない」「病院の倫理委員会に諮り遺伝子検査のための同意書をつくらないと検査できない」「解析結果をどう解釈し、患者に説明すればよいか心許ない」「多忙な診療の中で同意取得、十分な結果説明、カウンセリングまでこなすのは到底無理」「一体どこに紹介すれば検査してもらえるかわからない」など、きわめて多様である。「診療の一環にする」は「一般病院でも可能にする」を意味するのが理想であるが、当面の実現可能性を見据えると大学病院など特定機能病院に紹介して遺伝学的検査をおこなう、を念頭に置いた方がよさそうである。ここでは特定機能病院で遺伝学的検査が肥大型心筋症診療の一環として位置づけられるには何が問題になるかを列挙する。

1) 変異陽性がわかったところで治療は変わらないという現状が遺伝学的検査への無力感を助長している。遺伝子変異陽性だが未発症という血縁者も多いが、早期介入の対象にすべきなのか不明である。

2) 60%の患者にはサルコメア遺伝子に変異が検出されるが、40%の患者では原因遺伝子が未だ不明、すなわち、検査対象遺伝子リストが未確定である。サルコメア遺伝子に限っても原因変異カタログは未整備である。したがって、遺伝学的検査によって既報の遺伝子変異が見つからない場合でも未同定の変異が原因となっている可能性が残る。

3) 一家系にしか検出されない変異(private mutation)が多い。浸透率(変異陽性者に占める発症者の割合)が低い変異も多く、遺伝子変

異と臨床所見・治療反応性との対応関係はほとんどわかっていない。

4) サルコメア遺伝子に検出された既報の変異はきわめて多様(1000種類以上)である。既報の遺伝子変異に関して調べるだけでもかなり大変な作業である。結果返却までに時間を要し、補助診断として利用しにくい。

5) 同意取得、検体採取、管理、結果説明、遺伝カウンセリングという現場での一連のワークフローが未整備、一般医療者の遺伝学的検査に対するモチベーション・知識が十分とは言えない。

6) 診療の一環としてひろくおこなわれるようになると高頻度疾患であることも相俟って対象者が飛躍的に増えることが予想されるが、現在の運用方法ではコスト・労力面の負担増加に耐えることは困難である。一般国民が遺伝学的検査に基づいた医療を受け入れるに十分な教育はおこなわれていない。付随して起こりうる問題に対応できる法の整備に関して議論は熟していない。

7) 血縁者スクリーニングがひろくおこなわれた場合、遺伝カウンセリングの需要が高まるが、現在の運用方法では医療現場が負担増加に耐えることは不可能である。社会側の受け入れ準備に関しては未着手である。

8) 診療の一環としておこなわれるべき遺伝学的検査が遺伝子解析研究と渾然一体となっている。などが挙げられる。

#### D. 考察

ゲノム研究の成果は疾患メカニズムに関する科学的知見を与えてくれるだけでなく、診断法、治療法の進歩に貢献する。肥大型心筋症においては約20年前にサルコメア遺伝子異常が発症原因であることがわかり、現在1000をこえる遺伝子変異が報告されている。未だに40%程度の症例では原因遺伝子が判明していないこと、症例によって変異部位がバラエティーに富んでいること、変異がわかっていても現状では必ずしも治療に結びつかないことは本症における遺伝学的検査の普及を阻害している。しかし、2011年ACCF/AHA肥大型心筋症の診断・治療ガイドライン[2]において、「家族内遺伝の評価および遺伝カウンセリングは肥大型心筋症患者アセスメントの一部として推奨される(Class I)」、「肥大型心筋症患者の第一親等血縁者は臨床的スクリーニング(遺伝学的検査の有無を問わず)が推奨される(Class I)」、「肥大型心筋症を発症するリスクを有する第一親等

血縁者同定を促すために発端者に対して遺伝学的検査をおこなうことは合理的である(Class IIa)」とされていることから、遺伝学的検査を本症診療の一環に位置づけようとする動きは妥当であると考え。上記に挙げた問題点に関して、理想的方策を含め以下に考察する。

1) 変異陽性がわかったところで治療は変わらないという現状が遺伝学的検査への無力感を助長している。遺伝子変異陽性だが未発症という血縁者も多いが、早期介入の対象にすべきなのか不明である。

原因変異と臨床所見との対応関係がいくつか報告されているが、個別症例には必ずしもあてはまらない。また、原因変異だけでなく遺伝子多型(SNP)が genetic modifier として作用し、臨床所見の多様性を規定している可能性も議論されているが、診療に生かすには未だ基礎データに乏しい。そもそも本症の診断・治療方針決定に遺伝学的検査がはたして必要なのか、「臨床的有用性」を問い直し、診療の一環にする方向で進めるべきかどうかをいったん立ち止まって精査する必要がある。遺伝子解析研究の一次目標は変異同定を糸口に病態を理解すること、生理学を知ることにある。しかし、究極の目標である個別化医療への応用を見据えたとき、有用性評価研究は不可欠である[3]。臨床所見と変異との関係性を解明する、薬剤(β遮断薬など)の有効性と強く相関する変異を見つける、また変異陽性者に対する早期治療介入の有効性を証明するために、適切な評価指標を設定した臨床研究・モデル事業を推進しエビデンスを得なくてはならない。基礎研究の成果を診療現場に実装するうえでこのステップは必須である。逆に、遺伝学的検査を診療の一環と位置づけることが遺伝学的検査を受ける患者数を飛躍的に増加させることにつながり、散発的研究報告という現状を改善させ、より包括的な変異-臨床所見・治療反応性解析が可能になると期待される。

また、一般医療者に現状を正しく理解してもらうためには学生時代からまた生涯教育として遺伝医療教育がおこなわれるべきである。遺伝子解析の成果を過大評価し遺伝子ですべてが解決できると思いつく決定論的思考は慎むべきであるが、遺伝学的検査をしても役に立ちそうもないから手を出さないでいるという消極的態度は将来の進歩を阻む。

2) 60%の患者にはサルコメア遺伝子に変異が

検出されるが、40%の患者では原因遺伝子が未だ不明、すなわち、検査対象遺伝子リストが未確定である。サルコメア遺伝子に限っても原因変異カタログは未整備である。したがって、遺伝学的検査によって既報の遺伝子変異が見つからない場合でも未同定の変異が原因となっている可能性が残る。

診療体制を重点化、心筋症レジストリーを確立し、次世代型シーケンサー活用により包括的解析をおこなう研究プロジェクトを推進し検査対象遺伝子リストを確定する必要がある。ここでは遺伝子変異同定研究が完遂していないことが問題である。変異データベースの確立・Up-to-date 更新・稼働が必要と考える。同定した変異を研究発表するという時代は過去のものとなった。すなわち遺伝子変異同定は診療サービスとして位置づけられる時期に到達している。変異データベースへのデータ登録の仕組みをつくり、それらを国内の一箇所で統合するのが望ましい。現状では、未同定の変異がはじめて検出された場合、家系が小さい、孤発例である、浸透率(変異陽性者に占める発症者の割合)が低い、などの理由から、co-segregation の検討ができず原因変異と断定できないことも稀でない。それを回避するためにも多数症例を集積した疾患レジストリー、変異データベースが必要である。

また、レジストリー、データベース構築の際の個人情報保護、同意の取り直しに関しては慎重な議論を要する。

3) 一家系にしか検出されない変異(private mutation)が多い。浸透率(変異陽性者に占める発症者の割合)が低い変異も多く、遺伝子変異と臨床所見・治療反応性との対応関係はほとんどわかっていない。

上記変異データベースが疾患レジストリー(臨床所見や治療反応性)とタグされるように設計し、多数の症例を集積することにより変異-臨床所見・治療反応性連関の検討を進めることが可能になる。

4) サルコメア遺伝子に検出された既報の変異はきわめて多様(1000種類以上)である。既報の遺伝子変異に関して調べるだけでもかなり大変な作業である。結果返却までに時間を要し、補助診断として利用しにくい。

遺伝学的検査にあたってはサルコメアタンパク遺伝子全領域を対象にしなくてはならない。特にタイチンなど大きな遺伝子の全領域を解析することも考えると従来のダイレクトシ

ークエンス法では、コスト、労力面から考えて限界である。解析方法を考慮する必要がある。さらに研究としておこなわれている現状だと研究重点課題が解析の中心となり、「既知の部分」には注力されない傾向があり、また、工程によってはサンプルが集まってから一度にまとめておこなわれることが多いために余計に時間を要する原因となっている。診療の一環として検査をおこなう際には、迅速に解析し結果を早く返却することが保証されなくてはならない。これに伴うコスト・労力と報酬とのバランスを取るためにも、適した解析方法を選択する、精度保証された検査機関、解析拠点を確立し検体を集中させるなどの工夫が必要になる。

5) 同意取得、検体採取、管理、結果説明、遺伝カウンセリングという現場での一連のワークフローが未整備、一般医療者の遺伝学的検査に対するモチベーション・知識が十分とは言えない。

現在本症の遺伝学的検査がおこなわれているのはごく一部の医療機関だけであるが、その場合には研究へのモチベーションの高さが診療現場での遺伝学的検査を動かしている。遺伝学的知識のあるスタッフが同意取得し、検査結果を解釈し、患者に結果説明し、遺伝カウンセリングをおこなっている。多忙な日常診療の中で同意を取得し、検査結果を高い専門性をもって解釈し、患者に結果説明をおこない、患者の切実な問いかけに答え、遺伝カウンセリングをおこなう、医師ひとりではとても不可能である。臨床遺伝専門医、遺伝カウンセラーが医療スタッフとの緊密な連携を保ちうる持続可能なシステム作りが理想であるが、これに関しては診療拠点を設定しそこに患者を紹介するというシステム(後述)を立ち上げ、稼働させることが現実的方策であると考えられる。

また、遺伝学的検査が診療の一環に位置づけられるためには一般医療者に対する遺伝医療教育が不可欠である。

6) 診療の一環としてひろくおこなわれるようになると高頻度疾患であることも相俟って対象者が飛躍的に増えることが予想されるが、現在の運用方法ではコスト・労力面の負担増加に耐えることは困難である。一般国民が遺伝学的検査に基づいた医療を受け入れるに十分な教育はおこなわれていない。付随して起こりうる問題に対応できる法の整備に関して議論は熟していない。

多くの場合、解析費用は研究費で充当されて

いるのが現状である。診療の一環となると自費でまかなわれる、ないしは保険収載を目指す、という選択肢が考えられる。患者、健保、国庫に与える経済的影響を評価する必要がある。一般医療者の労力負担は増え、臨床遺伝専門医、遺伝カウンセラーのニーズも高まる。検査件数の飛躍的増加が見込まれるので、研究室で対応している現状では継続困難である。精度保証されたアカデミア主導の拠点を確立し、そこにサンプルを集中させて効率的に解析するのがよいと考える。遺伝学的検査担当施設(民間を含む)を認定、認定施設では解析検体数を一定以上確保し体制維持、精度保証につとめる。米国では診療における遺伝学的検査はCLIA(Clinical Laboratory Improvement Amendments)の認証を必要とする。臨床遺伝専門医を育成し、専門医経由のオーダーをおこなうことでの外的な検査依頼を減少させ、その妥当性を担保できる。さらにこの集中解析拠点確立だけでは不十分であり、診療体制に関しても見直しが必要である。特定機能病院を診療拠点とし、紹介患者を受け入れ、専門外来で診察、遺伝カウンセリング、同意取得、検体採取をおこない、集中解析拠点到解析を依頼するという手順が効率的である。解析結果返却時にはデータ解釈を添付するなど、一般臨床医が結果を活用しやすい仕組みづくりが必要と考える。このデータ解釈には診療・遺伝子解析両面に精通していることが必要とされるため、担当者には臨床遺伝専門医を充てる。責任の所在を明確化する必要もある。「診断料」によるインセンティブなども大いに議論されるべきであろう。

このようなシステムの構築に先立って社会への説明が必要である。有意義な議論がおこなわれ、最終的に合意に到達するためには、医療者だけでなく一般国民に対しても学生時代からまた生涯教育としてひろく遺伝・遺伝医療に関する教育をおこなう必要がある。また、遺伝差別が起こらないような施策、法整備が必要である。

7) 血縁者スクリーニングがひろくおこなわれた場合、遺伝カウンセリングの需要が高まるが、現在の運用方法では医療現場が負担増加に耐えることは不可能である。社会側の受け入れ準備に関しては未着手である。

遺伝学的検査による血縁者スクリーニングが医療現場・社会にいかなる影響を及ぼすかを評価する必要がある。肥大型心筋症は晩発性も多いために、発端者の血縁者は変異が陽性でも未発症ないし一見健康(心エコー検査をおこな



ってはじめて心臓の軽度肥大がわかる程度)なキャリアーであることが多い。すなわち、健康な一見健康な血縁者に対して発端者と同じ変異を保有するかどうかの遺伝学的検査を実施することになる。一家系内で発端者ひとりあたり2~4名の血縁者が存在する。本症のような高頻度疾患ではそもそも発端者が多いので、血縁者スクリーニングの対象者はきわめて多い。検査件数の飛躍的増加に伴い、検査前後の遺伝カウンセリングの件数増加にどう対応するのか、発端者の外来主治医が多忙な診療枠で全員を診るのかなど、医療者、医療機関の負担増加に関して多くの問題が発生する。臨床遺伝専門医、遺伝カウンセラーのニーズはさらに高まる。診療拠点(前述)で対応することにより一般医療者の負担を軽減でき、また集中解析拠点(前述)を確立して有効活用することにより検査件数増加にも対処できると考える。血縁者スクリーニングの検査費用は研究費で充当されているのが現状であるが、診療の一環と位置づけた場合、検査および遺伝カウンセリングの費用をどうするかなど別途議論が必要である。また、発端者だけでなくひろく血縁者の遺伝学的検査もおこなうようになると結果をめぐり社会で様々な問題が惹起される。遺伝差別などが起こらないような教育、施策、法整備を推進する必要がある。

#### 8) 診療の一環としておこなわれるべき遺伝学的検査が遺伝子解析研究と渾然一体となっている。

これまで診療と研究とが渾然一体となって運用されてきた経緯から診療における遺伝学的検査までもが研究費で充当され、患者からその費用を徴収するという事は少なかった。さらに研究レベルでの解析が終了してしまうとそれを引き続き診療サービスとして提供することはできなくなっていた。このままの体制を続けていけば、診療現場でひろく遺伝学的検査をおこなうことは難しい。「診療用」と「研究用」との切り分けを明確にする必要がある。診療の一環として次世代型シーケンサーによる遺伝学的検査をおこなった際に、診療において使われなかった膨大なゲノムデータをいかに管理するか、開示対応をどうするか、偶然に他疾患の原因遺伝子変異が見つかったときにはどうするかなど、今後の議論が必要である。どの範囲が「診療の一環」でどの範囲が「研究の一環」なのかの区別が曖昧なままだと問題になる。シームレスな運用を阻害しないよう留意しつつ「診療用」と「研究用」との切り分けを

明確にする必要がある。現在、倫理面でのサポートもゲノム研究[4]とゲノム診療[5]とで異なる、といった状況であり、今後の議論を必要とする。

以上、各問題点に関する理想的方策を述べた。「技術的に実現可能・持続可能か」「現場でのワークフロー(同意取得、採血、検体匿名化、検体管理、患者への結果説明・遺伝カウンセリング、血縁者スクリーニングのオプション)が持続可能か」「診断に役立つか」「診療での意思決定にインパクトを与えるか」「医師に遺伝学的検査の意義が浸透し、医療行動に変容をもたらすか」「コスト効果比はどうか」「個人情報保護と遺伝差別回避は大丈夫か」「従来医療と比較したアウトカムデータを個人と社会全体のレベルで得ることができるか」「遺伝医療に関連した制度・施策(医薬品ラベルへの遺伝子型-薬効関係の記載、direct-to-consumer 遺伝子検査に対するレギュレーションなど)はどうか」「データベース化にかかる問題(運営主体と運用ルール、コスト、精度保証、個人情報保護と同意問題、アクセス方法、知財問題)はどうか」「一般国民に対する教育、社会全体のコンセンサスはどうか」、などの問題に答える必要がある[6]。

診療拠点の設定、疾患レジストリー確立・運用、検査施設の集中化、施設間ネットワークによるデータ共有、原因変異-臨床所見データベース確立・運用、が柱になる。持続可能性のある安全かつ柔軟な(ニーズに応じて中途での改変可能な)システムとして確立するためには、思慮深い制度設計と財源確保が必要である。

このように遺伝学的検査が肥大型心筋症の診療の一環に組み込まれるためにはおこなうべき課題が多い。しかしこれが実現すれば、本症の補助診断として威力を発揮するだけでなく、遺伝学的検査対象症例が飛躍的に増加し、研究レベルでおこなわれている現状では達成できていない遺伝子変異フルカタログ作成、変異と臨床所見・治療反応性との連関解明が推進され、リアルワールドにおける肥大型心筋症の実像を捉えることが可能になる。

#### E. 結論

肥大型心筋症の遺伝学的検査が現場で効率的におこなわれるシステムを構築しそれを持続的に運用するためには、重点化された診療拠点、精度保証された集中解析拠点、疾患レジストリーおよび変異データベース、遺伝教育、社会でのコンセンサス獲得、ガイドラインや法の

整備、今後の遺伝子解析研究との関係性のあり方、などに考えを巡らせる必要がある。本症診療に「遺伝学的検査」という検査の一項目が加えられるという単純な話にとどまらない。医療制度、医療倫理、医学教育、医事法制、医療情報管理、個人情報保護、医療経済などに関して現在「医療」が抱える多様な問題を「遺伝医療」という観点から再度深く考察することがもめられる。

## G. 研究発表

森田啓行 心肥大症例に認められる遺伝子異常  
循環器内科 2012;71(6): 554-558.

森田啓行、山田奈美恵、小室一成：肥大型心筋症の遺伝子診断：推進に向けての方策 日本内科学会雑誌 in press

Morita H. Human genomics in cardiovascular medicine-implications and perspectives-  
*Circ J* in press (PMID23470884)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### 参考文献

1. 森田啓行.  
循環器疾患の遺伝子診断  
呼吸と循環 2011;59(8): 817-823.

2. Gersh BJ, et al.  
2011 ACCF/AHA guideline for the diagnosis and treatment of hypertrophic cardiomyopathy: executive summary: A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines.  
*Circulation* 2011;124(24):2761-2796.

3. Ashley EA, et al.  
Genetics and cardiovascular disease: a policy statement from the American Heart Association.  
*Circulation* 2012; 126(1): 142-157.

4. 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 (2013)  
2013年2月8日公布、同年4月1日施行

5. 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)

6. Chan IS, Ginsburg GS.  
Personalized medicine: progress and promise. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2011;12:217-244.

## 海外の遺伝学的検査の提供体制に関する調査研究

研究分担者 小崎 健次郎<sup>1)</sup>

研究協力者 鳥居 千春<sup>1)</sup>

### 1) 慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター

#### 研究要旨

これまで、本研究班で検討した、わが国の遺伝学的検査の問題点が明確となったが、海外でどのような取り組みが行われているか、英国遺伝学的検査ネットワーク、米国臨床遺伝専門医会 American College of Medical Genetics を中心に情報を収集・集積した。1) 英国においては遺伝子診断の保険承認までのプロセスが明示されていること、2) 米国・英国における遺伝子検査の実施に必要な人的・物的資源の定量的評価法が明示されていることが明らかになった。わが国においても同様のスキームを確立する必要がある。3) 今後、次世代シーケンサーの臨床応用は不可避と考えられるが、米国臨床遺伝専門医会は患者に報告すべき副次的所見についてのガイドラインを公表し患者に告げることが推奨される遺伝子として 56 が明示されている。4) エクソーム解析に使う正常人および患者の参照ファイルの作成・維持・公表については米国 NIH の Clinvar プログラムが実用的な見地から、有用性が高いと考えられた。5) 臨床検査として遺伝学的検査を提供する場合には欧米諸外国では各種の施設認証が行われている。国内の大学や研究機関で研究として実施されている遺伝子の総数の 500 は海外と比較して遜色するものではない。普及しつつある次世代シーケンサーの分析技術と、臨床検査会社の品質管理のノウハウ、わが国の各大学・研究機関が有する遺伝子診断分析結果の解釈可能な人的資源を組み合わせることにより、遺伝子解析を確かな医療技術として国民に貢献することが可能に

#### A. 研究目的

これまで、本研究班で検討した、わが国の遺伝学的検査の問題点は下記の 4 点に整理される。

- 1) 現在、わが国で保険に採用されている検査項目は約 30 項目のみに限られる。疾患原因遺伝子が判明しているメンデル遺伝病の総数 3000 に比較すると 1%程度のみである。このわが国の遺伝学的検査の臨床応用の現状は、500 以上の遺伝子の遺伝学的検査が臨床検査として行われている欧米の状況と比較すると極めて限定されている。
- 2) わが国では保険で採用されている遺伝学的検査についても、遺伝子のサイズがコストに反映されず、4000 点に固定されている。一般に遺伝学的検査の実施に必要な消耗品や人的資源のコストは遺伝子のサイズによって異なるが、4000 点

で償還可能な遺伝学的検査はほとんどなく、現状の保険点数の設定では臨床検査会社の遺伝学的検査分野への参入は期待できない。

- 3) わが国の健康保険制度では遺伝学的検査を持続可能な検査として維持可能とするシステムが存在しない。上述の 1)や 2)の理由により、臨床検査会社の遺伝学的検査分野への参入は限られており、企業に代わる公的な検査システムも存在しない。
- 4) 検査の質を保証する仕組みがない。本研究ではこれらの問題について、海外でどのような取り組みが行われているか、調査・検討をおこなった。

#### B. 研究方法

- 1) UKGTN の Mark Kroese 担当官（医師）と継

続的に通信し、英国の遺伝学的検査の情報を収集・集積した。

2)研究分担者が所属するアメリカ遺伝医学会 American College of Medical Genetics の会報等を通じて米国の遺伝学的検査を取りまく諸ガイドラインについて、継続的に情報を収集・集積した。

3)次世代シーケンサーの臨床応用にかかわる各種海外ガイドライン等について調査した。

(倫理面への配慮)

諸外国の現状に関する調査については特段の倫理的配慮を要する研究ではなかった。臨床遺伝学的研究については、ゲノム指針を遵守し、施設内倫理委員会の了解を得て実施した。

## C.研究結果

1) 英国における遺伝子診断の保険承認までのプロセス

まず検査の必要性について、患者団体・臨床医・遺伝子診断を実際に実施している施設から、検査の必要性についての要望がなされる。そこで評価提案書が作成され、適応・検査を受ける患者群・感度と特異度・技術情報、費用などが議論される。全体の評価と優先順位付がなされたあと、公的に支援すべき遺伝子検査と諮問がなされ、正式の検査として認可される。これまで 750 以上の遺伝子が認可されている。

ネフロン癆という遺伝性腎疾患について、個別の症例における遺伝子診断の実施を認めるかどうかの例を示す。ネフロン癆という小児腎疾患でおこなわれる NPSH2 遺伝子の検査について例示する。検査の依頼が可能なのは小児腎臓専門医または臨床遺伝専門医に限られる。遺伝学的検査を行うための最低基準をみたすかどうかのチェックシートが準備されている。基準を満たさないが、検査が必要と考えられる場合にネゴシエーションを行うべき相手先の医師名が明示されている。なお、今春、英国では次世代シーケンサーを用いた 13 件の臨床検査が新たに国営保険で実施可能

な検査として認可された。

具体例の一部を示すと、家族性肥大型心筋症が 13 遺伝子、Charcot-Marie-Tooth 病が 54 遺伝子、先天性ミオパチーが 22 遺伝子、色素性乾皮症関連が 16 遺伝子、糖原病が 13 遺伝子、Noonan 関連疾患が 12 遺伝子、脳奇形が 8 遺伝子などが含まれている。

2)米国・英国における遺伝子検査の実施に必要な人的・物的資源の定量的評価法

米国では CPT コード体系の中に、遺伝子診断が含まれ、その中で、遺伝子の大きさに応じて課金を認める枠組みが作られている。英国では、公費で遺伝子検査が実施されているが、全国の遺伝子検査拠点における各遺伝子検査の実施状況について定量的に評価するために測定単位を設定している。各拠点が発行する検査報告書は検査の複雑さ、具体的にはエクソン数に応じて A 群から G 群に区分けされる。

3) エクソーム解析に伴う偶発的所見 (incidentalome) の取り扱い

今後は解析の主流は single gene testing から mutli gene testing(標的遺伝子群)、さらに all gene testing(全遺伝子の翻訳領域の検査すなわちエクソーム解析)に移行すると思われる。エクソーム解析を実施すると遺伝子解析の契機となった原疾患と無関係な遺伝子に、副次的に変異が同定され、倫理的な観点から問題となりうる。遺伝性疾患の多くは根治が困難であるが、原疾患に加えて、他の疾患を発症することを告げなければならなくなるからである。最近の文献によれば、incidental findings (incidentalome)が同定される確率は 100 名のエクソーム解析に対して 1~2 名の割合とされ、エクソーム解析の臨床応用が進めば無視できない事象となる。incidentalome の取り扱いについては、米国臨床遺伝専門医学会 (ACMG) が患者に報告すべき副次的所見についてのガイドラインを公表した(2013年3月21日)。このガイドラインに、incidental findings として異常が見つかった際に患者に告げることが推奨