

いて検査の普及と質確保に限界がある。保険診療、先進医療の枠組みで遺伝学的検査を適正に運用する方法について、日本臨床検査標準協議会遺伝子関連検査標準化検討委員会で検討した結果、遺伝学的検査の審査や評価には、薬事承認のみならず、海外事例にしたがい質保証の点で新たな要件（精度管理、外部精度評価、資格認定等）を基準とすることが必要との見解に至った。

3) 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

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。

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。

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。

研究的検査において、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。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

一連の保険診療報酬改定において、収載項目の増加や増点がなされてきた。しかしながら、保険診療において、単一遺伝子疾患の遺伝学的検査は広く利用される状況にない。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。

このことを踏まえ、その背景要因について調査した。その結果、測定用キットや検査サービス提供について、検査診断薬製造企業、病院検査室および登録衛生検査所において、経済的、技術的、倫理的、職業的な課題が明らかとなった。さらに、検査の継続的な実施体制と質保証の両者を確保する上で、現行の保険診療上の問題点が明らかとなった。

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。

研究的検査において、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。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、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

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、遺伝学的検査の精度保証上の課題を整理と、保険診療の枠組みでの検査の一般利用における課題を整理し、それに基づき体制整備の在り方および保険診療制度における運用案について検討した。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「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」（日本臨床検査

標準協議会）で重要項目としている質保証（施設認定）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点について、学術団体等の活動による個別の関連した取り組みがある。医療における遺伝学的検査の実施では、薬事承認を基準とした先進医療や一律の保険点数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、限られた財源の中では、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 研究的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 研究的検査における一定の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。

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

1. 宮地勇人. 遺伝子関連検査の標準化活動と展開. 第19回日本遺伝子診療学会学術集会. 2012

I. 論文発表

1. Asai S, Okami, K, Nakamura, N, Ogawa Y, Ohta Y, Ogase Y, Jin G, Matsushita, H, Miyachi H. The tortoiseshell pattern in one or both sides of the submandibular glands in mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma is related to chromosomal aberrations and the disease extent. *J Ultrasound Med.* 29: 111-115, 2010.
2. Ozawa H, Asai S, Jin G, Hasunuma Y, Tanaka C, Ikeda T, Kimura M, Ueda A, Yamashita T, Miyachi H. Severe pneumonia caused by a novel influenza A (H1N1) virus in an asymptomatic emphysematous smoker. *Intern Med:* 49: 1667-1670, 2010.
3. Tsukamoto Y, Takizawa S, Takahashi W, Mase H, Miyachi H, Miyata T, Takagi, S. Effect of Edaravone on the estimated glomerular filtration rate in patients with acute ischemic stroke and chronic kidney disease. *J Stroke Cerebrovasc Dis.* 20: 111-116, 2010.

4. Muguruma Y, Matsushita H, Yahata T, Shizu Yumino S, Tanaka Y, Miyachi H, Ogawa Y, Kawada H, Ito M, Ando K. Establishment of xenograft model of human myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 96: 543-551, 2011.
5. Matsushita H, Gondo K, Tanaka Y, Miyachi H. "Triage" of lymphoid malignancies in the peripheral blood using the Extended Immunofluorescent Application of the CELL-DYN Sapphire automated hematology analyzer. *Clin Chem Lab Med* 49: 933-935, 2011.
6. Asai S, Ohshima T, Yoshihara E, Jin G, Umezawa K, Inokuchi S, Miyachi, H. Differential coexpression of Mex efflux pumps in a clinical strain of metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* during the stepwise evolution of resistance to aminoglycosides. *Inf Dis Clin Practice.* 19: 38-42, 2011.
7. Miyachi H. Current status and future prospects of molecular diagnostic testings. *Sysmex J.* 20: 7-21, 2011.
8. Hori T, Suzuki N, Hatakeyama N, Yamamoto M, Inazawa N, Miyachi H, Taki T, Tsutsumi H. Infantile acute promyelocytic leukemia without an RAR α rearrangement. *Pediatrics International* 53: 1070-1096, 2011.
9. 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
10. Umezawa K, Asai S, Inokuchi S, Miyachi H. A Comparative Study of the Bactericidal Activity and Daily Disinfection Housekeeping Surfaces by a New Portable Pulsed UV Radiation

Device. *Curr Microbiol* 64: 581-587, 2012

11. 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.

12. 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.

13. Mokuyasu N, Suzuki Y, Miyachi H, Tokuda Y. A comparative clinical evaluation of the assay of serum extracellular domain of HER2 protein using a chemiluminescent immunoassay method in breast cancer patients with or without HER2 protein expression in immunohistochemistry. *Rinsyo Byori.* 60: 612-620, 2012.

14. 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

細胞遺伝学的検査の効果的な実施体制に関する研究

研究分担者 福嶋義光¹⁾

研究協力者 涌井敬子¹⁾

1) 信州大学医学部 遺伝医学・予防医学講座

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（染色体検査）は、保険適応の検査とはなっているが、熟練を必要とする技術で、特に人材育成に関して危機的状況にある。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。

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。

本研究の当初の目的は、わが国で染色体検査を実施している病院・検査センターの担当者からの意見聴取に基づき、わが国の染色体検査体制の現状と課題を明らかにすることであった。

しかし、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、先進諸外国においては、診断目的に広く利用される状況となっていることから、当初の目的に加えて、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した。

B. 研究方法

(1) 染色体検査を実施している施設の把握と染色体検査の課題に関するアンケート調査

わが国で染色体検査を実施している施設の全容はどこにも把握されていないため、日本人類遺伝学会臨床細胞遺伝学認定士、臨床細胞遺伝学セミナー参加者、染色体研究会参加者、日本人類遺伝学会関係者からの情報をもとに、現在、わが国で染色体検査を実施している施設を検索・リストアップし、それらの施設を対象に染色体検査の現状と課題についてのアンケート調査を行った。

(2) 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、2011年10月にモントリオールで開催された米国人類遺伝学会 (The American Society of Human Genetics: ASHG) 第61回大会と合同開催された第12回国際人類遺伝学会 (12th International Congress of Human Genetics (ICHG 2011))、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、機器展示など、そして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 ISCA (International Standard Cytogenomic Array Consortium) が提供している情報を含む、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。

(3) 細胞遺伝学的検査の課題に関する討議

染色体検査を実施している担当者が集まり、染色体検査およびマイクロアレイ染色体検査の課題と解決方法について討議した。

- ・第1回 2011年1月8日 (土)
- ・第2回 2011年12月4日 (土)
- ・第3回 2012年12月15日 (土)

(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) 染色体検査を実施している施設の把握と染色体検査の課題に関するアンケート調査

2010年度現在、染色体検査を実施していることが確認できた施設は、大学病院 16施設、大学病院以外の病院 12施設、検査センター等 12施設、計40施設であった。

これらの施設を対象に染色体検査の現状と課題についてのアンケート調査を行ったところ、17施設から回答があり、次に掲げる課題が明らかとなった。

- ・ 人材育成の困難さと人材の不足
- ・ 実施施設責任者の要件
- ・ 精度管理のあり方
- ・ 報告書の記載方法
- ・ 新しい技術への対応

(2) 先進諸外国の状況調査

2011年度のICHGではマイクロアレイ染色体検査がトピックスのひとつで急速に普及しつつある現状が示されていたが、2012年度のESHGおよびASHGにおいては、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、全ゲノム解析にシフトし、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ことがわかった。さらに、現在、研究に用いら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臨床応用されると考えられた。

「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。ネットワーク・オブ・エクセレンス EuroGentest においては、欧州での臨床遺伝サービスにおける品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)

(3) 細胞遺伝学的検査の課題に関する討議

第1回(2011年1月8日,東京) :

25施設から28名の代表者等が集まり、下記の意見交換を行った。

- ・ 人材育成の困難さと人材の不足について
染色体検査の基本である核型分析は、細胞培養・低調処理・固定・標本展開・染色・顕微鏡観察・分析・結果解釈というプロセスの多い工程を必要とし、核型分析には形態学的検査であるため検査担当者には熟練が要求されるといった人件費のかかる検査である。米国では約\$900という検査費用が算出されているが、わが国の保険点数はその約1/3という経済的に厳しい状況で実施している。病院では、複数人の担当者を配置できない施設も少なくなく、また臨床検査部内のローテーションにより仕事を覚えた頃に別部署への配属になるなど、染色体検査技術を身につけさせるための体制をとることが難しい。担当者が代わる際に技術を維持できず、染色体検査の院内での実施を断念せざるをえなかった施設がこれまでも多くある。結果的に外注となり、検査センター主体となってしまっている現状がある。
- ・ 実施施設責任者の要件
Ph. D. レベルの専門家を責任者として配置することが要求されている欧米では人材育成体制を整えているが、わが国では実施施設も責任者も規定がない。日本人類遺伝学会の「遺伝学的検査としての染色体検査ガイドライン」には項目が掲載されているが、実施施設の要件も、責任者の要件も、報告書の内容についての要件も、強制力はない。
- ・ 精度管理のあり方
わが国では、臨床検査として染色体検査を実施する際の精度管理に関する規定はないので、標準化の推進を進める必要がある。特に今回の調査対象とできなかった、出生前診断のみ自施設で独自に実施している施設の検査精度の評価も考慮する必要がある。
- ・ 報告書の記載方法
遺伝学的検査のひとつでもある、先天異常患者の染色体検査などに関しては、検査結果が直接臨床診断に関わる場合が少なくないが、検査実施施設側、特に検査技師が責任者となっている施設にお

いては、報告書のコメントとして記載する内容に苦慮しているため、目安となるようなガイドラインが必要である。報告書に書けないような臨牀的なコメントは直接電話で伝えている施設もある。検査を依頼する医師の染色体検査についての教育も不十分であり、また将来的に医師が責任者となる体制の維持が困難である状況においては、専門家としての責任者育成を早急に進める必要がある。

・新しい技術への対応

MLPA 染色体検査、マイクロアレイ染色体検査など、詳細なゲノムコピー数異常を検出できる検査法が開発され、欧米では数年前より新しい細胞遺伝学的検査としてすでに臨床検査として実施されている。わが国においても臨床検査としての導入とそれに伴う体制の整備が必要であるが、現在の医療体制においては様々な問題があり、国際的に遅れをとってしまっている。

第2回（2011年12月4日，東京）：

染色体検査を実施している20施設の責任者が集まり、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。

染色体検査を自施設で実施していただく中核病院において、自施設での実施意義は理解しながら撤退あるいは中断せざるをえなくなったことが明らかになった。

現在の染色体検査の保険点数について、以下の要望があった。

- ・ 熟練の必要性も考慮した人件費を考慮した点数に改善して欲しいこと、
- ・ 下記に示すように解析方法によって材料費や人件費が異なるので、方法ごとに適正な点数に設定してほしいこと

[分染法（分裂像）、1プローブFISH法（分裂像・間期核）、2プローブFISH法（分裂像・間期核）、3プローブFISH法（分裂像・間期核）、4プローブFISH法（分裂像・間期核）、5プローブFISH法（分裂像・間期核）、全サブテロメアプローブFISH法（分裂像）、24色FISH法（分裂像）]

- ・ 生殖細胞系列の染色体は生涯変化することがないという理由で1度だけの算定しか認められていないが、複数の方法による解析が必要な症例も少なくないため、必要な追加検査や複数方法の同時実施の際の加算を認めて欲しいこと
- ・ MLPA染色体検査も適正な点数の保険適応の染色体検査として位置づけて欲しいこと

マイクロアレイ染色体検査をわが国で臨床検査として実施する体制としては、広く利用してもらうために保険診療として進める体制の構築が望ましいという意見と、研究的評価も時に避けられないマイクロアレイ染色体検査の特殊性に鑑み、検査実施施設

を全国レベルで適当数認定し、さらにマイクロアレイ染色体検査を依頼できる施設も限定した形で実施するといった、従来とは別の枠組みでの実施を検討すべきという意見があった。

染色体検査は医療分野では、先天異常の確定診断、腫瘍の病型分類、胎児の出生前診断を中心に実施されてきたが、着床前診断技術の発展により生殖補助医療分野でも応用されている。さらに再生医療分野でも培養細胞の精度管理としての染色体検査、さらに福島原発事故をうけて放射線被曝線量評価のための染色体検査技術継承の必要性も見直され、それらの担当者との連携について検討が必要と考えられた。

第3回（2012年12月15日，東京）：

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。

- ・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・高度医療機関においては、年間100～200件で、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。

- ・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の情報が広く共有利用できる体制で収集されていない。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) 同様に検査精度を確保する仕組みが整っていない。

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、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。

今後、以下の取り組みを早急を実施することを提案したい。

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。

2) マイクロアレイ解析方法・結果解釈について検討するためのワーキングなどを立ち上げ、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) を作成する。

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行う。

(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

マイクロアレイ染色体検査技術や次世代シーケンサー解析技術などを用いたゲノム解析においても、染色体をはじめとする細胞遺伝学の知識と技術の重要性は変わらない。細胞遺伝学的検査 (染色体検査) は、わが国では保険収載された臨床検査のひとつとして、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すでに一般診療の場で広く実施されている遺伝学的検査である。しかし、染色体検査の基本である核型分析技術は熟練を要する形態学的検査であることと、現在の染色体検査の保険点数が人件費を考慮したものでないために、わが国では、細胞遺伝学の知識と技術を有する人材が急速に失われつつある。日本人類遺伝学会が行っている「臨床細胞遺伝学認定士制度」と「細胞遺伝学セミナー」は、人材養成のための一定の役割を果たしているが十分

ではなく、わが国の染色体検査を担当することのできる人材養成は危機的状況にある

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。

また、精度管理については、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の確保、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。

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、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。

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

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

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

- 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：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）
- 涌井敬子, 古庄知己, 高田史男, 福嶋義光. 染色体端部欠失患者の両親のメタフェーズ解析の必要性 —染色体端部欠失パターンを示す患者の親に認めた均衡型構造異常からの考察—. 第34回日本小児遺伝学会学術集会, 横浜
- 涌井敬子, 古庄知己, 鳴海洋子, 清水健司, 大橋博文, 福嶋義光. Cytogenetic Array 解析により検出された一般成人のゲノムコピー数変化. 遺伝医学合同学術集会 2011（第35回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 第18回日本遺伝子診療学会大会, 第17回日本家族性腫瘍学会学術集会）, 京都
- 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, 福嶋義光. 染色体構造異常およびMCA/MR患者を対象としたマイクロアレイ染色体検査とmetaphase FISH法による臨床細胞遺伝学的解析結果, 日本人類遺伝学会第56回大会, 千葉

- 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, 數川 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 | |

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

本研究では(1)国内企業による家族性腫瘍の遺伝学的検査提供体制、(2)遺伝学的検査の解析法、(3)検査費用、(4)結果報告書の記載事項について調査を行った。その結果、大手検査企業4社において9種類の家族性腫瘍（家族性大腸腺腫症、Lynch症候群、Cowden病、遺伝子乳癌卵巣癌、Li-Fraumeni症候群、多発性内分泌腫瘍I型、多発性内分泌腫瘍II型、神経線維腫症II型、von Hippel-Lindau症）の遺伝子検査が提供されていた。頻度の低い家族性腫瘍（Peutz-Jeghers症候群、遺伝性胃がんなど）については企業による検査提供はなく、大学の研究室等での解析のみであった。(2)解析方法については、PCRダイレクトシーケンス法が大部分で、Protein Truncation Test (PTT)、Multiplex Ligation Probe Amplification (MLPA)解析は、それぞれ1社が提供していた。(3)解析費用に関しては、疾患によって調べる遺伝子数が異なり、あるいは原因遺伝子の広い範囲を調べなければならないものもあり、高額となるものがあった。(4)報告書の記載事項では、遺伝子変異の疾患関連性についての記載のあるものもあれば、記載のないものもあった。また、遺伝子解析結果の解釈が被験者に正しく伝わっていないケースが存在した。今後は、解析対象者の効率的な選択基準の検討、検査の臨床的有用性の評価、日本人患者の遺伝子情報や臨床情報に関するデータベースの構築、検査提供・結果開示する担当者の教育活動、などの推進が必要である。また、臨床的有用性の高い検査については、早期の保険収載とカウンセリングの保険診療化が望ましい。

A.研究目的

本研究の目的は、日本における家族性腫瘍に対する遺伝学的検査体制の整備と検査の普及を通じて、家族性腫瘍が疑われる患者、ならびにその近親者の健康増進と福祉に貢献することである。その為に、まず遺伝子検査体制を把握するとともに、その実施状況、問題点、今後の課題などについて検討した。さらに、イントロンの遺伝子変異の病的意義を評価するための、新たな機能解析法の樹立を目指した。

B.研究方法

(1) 国内企業による家族性腫瘍の遺伝学的検査提供体制・実施状況の把握のために、国内の4検査会社に対して、家族性腫瘍に対する遺伝子検査実施体制・受託状況に関するアンケート調査を行った。具体的には計20種類の家

族性腫瘍について、遺伝学的検査提供体制の有無、受託実績の有無、年間受託件数、解析方法、費用を問い合わせた。

(2) 稀少な家族性腫瘍であるvon Hippel-Lindau病、多発性内分泌腫瘍症2型(MEN2)の遺伝子検査を提供している研究室責任者、および遺伝診療を提供している施設の担当者に聞き取り調査を行った。

(3) 遺伝子検査結果報告書の記載事項については、当院の遺伝カウンセリング外来を受診し、企業が提供した遺伝学的検査を受けたクライアントの結果報告書の写しをすべて精査した。記載項目、特に疾患との関連性の記載について比較検討を行った。

(4) イントロン領域の遺伝子変異の病的意義を検討するための機能的な解析方法を樹立し、リンチ症候群患者に認められた3種類のイ

ントロン変異について解析し、その有用性を評価した。

(倫理面への配慮)

- (1) 今回のアンケート調査・聞き取り調査は個々の患者情報に関する聞き取り調査でないため、倫理的な配慮の必要性を認めなかった。
- (2) 遺伝子解析に関しては、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を行った。

C.研究結果

- (1) 企業による遺伝学的検査提供体制では、家族性大腸腺腫症、Lynch症候群、Cowden病、遺伝子乳癌卵巣癌、Li-Fraumeni症候群、多発性内分泌腫瘍I型、多発性内分泌腫瘍II型、神経線維腫症II型、von Hippel-Lindau症の9種類の疾患に対する遺伝子検査が、少なくとも1社で提供されていた。しかしMYH関連大腸腺腫症、Peutz-Jeghers症候群、若年性ポリポーシス、遺伝性網膜芽細胞腫、遺伝性胃癌、神経線維腫症I型、Wilms腫瘍、Gorlin症候群、家族性黒色腫、色素性乾皮症、多発性外骨腫については、企業による検査提供体制は存在しなかった。受託件数については4社のうち2社から回答が得られたが、残る2社からは回答がなかった。
- (2) 解析方法は、大部分がPCR-ダイレクトシーケンス法であった。MLPA解析の提供状況は1社のみで、対象とする疾患は、家族性大腸腺腫症、Lynch症候群、遺伝子乳癌卵巣癌、多発性内分泌腫瘍I型、多発性内分泌腫瘍II型であった。PTTは、家族性大腸腺腫症に対して1社が提供していた。
- (3) 発端者に対する遺伝子検査の費用（保因者診断を除く）は、疾患により4万円～38万円と大きなばらつきがあった。
- (4) 稀な家族性腫瘍であるvon Hippel-Lindau病と多発性内分泌腫瘍症2型の遺伝子解析実

施施設に検査提供の問題点を聞き取り調査した。

von Hippel-Lindau病の原因遺伝子 (*VHL*) 検査については、年間検査件数は約10件程度と少ないため、現在は研究費で提供していた。解析には、PCRダイレクトシーケンス法とサザン法などを併用して、90%近くの高い感度であった。一統的な検査の実施、費用負担、技術者の維持・育成、検査の品質保証などを考えると、企業による検査の実施が望まれるが、PCR-ダイレクトシーケンス法だけでは検査の感度が十分でないこと、費用が高額であることが問題であった。

多発性内分泌腫瘍症2型患者には、甲状腺髄様癌が発生し、甲状腺全摘出が必要なる。したがって診断確定の為だけでなく、治療方針決定の為にも遺伝学的検査が必要である。しかし本遺伝学的検査は、臨床的有用性が高いにも関わらず保険収載されていない。現在、内野眞也医師（野口病院）らが中心となって、複数の施設で遺伝子検査が高度先進医療として行われている。

- (5) スプライス・アクセプター、ドナーサイト以外のイントロン内の変異に関しては、その病的意義の評価は困難なことが多い。そこで我々は、スプライス異常の有無を高感度に調べる機能的解析法を樹立した。リンチ症候群患者に認められた3種類のイントロン変異 (*MLH1* c.790 +5 G>T, *MSH2* c.211+1G>C, *MLH1* c.1731+5 G>A) について、本機能解析を行った。その結果、いずれの変異も **exon skipping** を起こすことが明らかとなった。さらに患者の血液で、これらのスプライス異常をもつ **transcript** の存在を確認した。
- (6) 遺伝子検査報告書の調査では、6社（海外企業を含む）の報告書を比較検討した。変異の病的意義についての記載がある報告書もあったが、記載がないものもあった。遺伝相談を受けることや専門家による遺伝子変異の

判定を確認してもらうことなど、被験者が次にとるべき行動について記載されているものもあった。

D.考察

- (1) 本調査から、国内の企業が主要な9種類の家族性腫瘍の遺伝学的検査を提供していることが明らかとなった。しかしPeutz-Jeghers症候群や遺伝性胃癌、Gorlin症候群など、頻度の低い家族性腫瘍の遺伝学的検査は提供されていなかった。論文等の調査により、遺伝性胃癌は浜松医科大学病理学第一講座（梶村春彦教授）、Gorlin症候群は北里大学医学部分子遺伝学講座（宮下利之教授）で、研究として遺伝子解析が行われていた。Peutz-Jeghers症候群は、我々の研究室（東大医科学研究所）で解析を行っている。今後は稀少家族性腫瘍の検査提供体制の確立と維持への支援が必要と考えられる。
- (2) MLPA解析を導入している会社は1社のみと少なかった。日本人のLynch症候群の遺伝子解析の結果では、遺伝子異常が判明している患者のうち約27%がMLPA解析で見つかった。このことは、ダイレクトシーケンスによる配列解析だけでは、遺伝子異常を有する患者のうち、3割弱の患者を見逃すことになることを示唆している。感度の高い、かつ効率的な遺伝学的検査体制の構築が期待される。
- (3) 発端者に対する遺伝子検査費用は、4万円～38万円と大きなばらつきがあった。このばらつきは、解析する遺伝子数、遺伝子領域、解析方法によるものと考えられた。検査に必要とされる試薬や消耗品、機器の維持・管理費、人件費等すべて考慮すると、必ずしも法外な値段とは言えない。これらの遺伝子検査は保険収載されておらず、依頼者の自己負担あるいは研究費・大学運営費等で支払われたものと推察される。
- (4) 平成23年12月に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実施総検査件数は873件であった。今回のアンケート調査で回答が得られた2社の受託件数から、頻度の高い家族性腫瘍の遺伝子検査でも年間100～200件程度と推察される。遺伝性大腸がんは大腸がんの約4%（推定年間4000人が発症）、遺伝性乳がん卵巣がんは乳がんの5%（推定年間2000人が発症）との推測からすると、年間100～200件の遺伝子検査実施数は10%以下と少ない。その理由としては、検査が保険収載されていないため、高額な検査費用を負担できないことが主な理由として考えられる。また、対象者の基準がはっきりしないことや、医師の理解が不足していること、検査感度が十分でないことなども理由として考えられる。

- (5) 家族性腫瘍の遺伝学的検査の最大の問題点は、診断あるいは治療に必要な検査に関わらず保険収載されていないことである。これらの疾患は通常の一般診療の中で取り扱われており、またこれらの疾患に対する遺伝カウンセリングが保険診療として認められていない為、正しい情報が提供されていない危険性が存在する。
- (6) 遺伝学的検査結果報告書に、変異の病的意義を記載していないものがあった。現状では、配列解析で同定された様々な変異に対して、その病的意義の判断をすべて検査会社が責任を以って行うのは困難と考えられた。判定を容易にするためにも、日本人の詳細な遺伝子変異データベースの整備が必要である。
- (7) 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必要である。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ある。誤った情報を提供することがな

いよう、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結果の開示が望ましい。

E. 結論

本研究により、国内の家族性腫瘍に対する遺伝子検査提供体制、実施状況、問題点などが明らかとなった。また検査結果の病的意義の判定体制確立の必要性、結果報告に関する問題点も示された。家族性腫瘍が疑われる患者、ならびにその近親者の健康増進と福祉に貢献する為に、臨床上有用性の高い検査については保険収載を認めること、患者に対する遺伝カウンセリング提供の保険医療化が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Nozawa H, Yamada Y, Muto Y, Endo J, Asakage M, Oka T, Furukawa Y, Arai M. Double primary adenocarcinomas of the jejunum and descending colon with lung metastases presenting rare immunohistochemical phenotypes: a case report. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 22:228-33, 2010.
- (2) Yamaguchi K, Sakai M, Shimokawa T, Yamada Y, Nakamura Y, Furukawa Y, C20orf20 (MRG-binding protein) as a potential therapeutic target for colorectal cancer. *Br. J. Cancer* 102:325-31, 2010.
- (3) Inoue M., Senju S., Hirata S., Ikuta Y., Hayashida Y., Irie A., Harao M., Imai K., Tomita Y., Tsunoda T., Furukawa Y, Ito T., Nakamura Y., Baba H., Nishimura Y. Identification of SPARC as a candidate target antigen for immunotherapy of various cancers. *International Journal of Cancer.* 127: 1393-1403, 2010.

- (4) Stefanou N, Papanikolaou V, Furukawa Y, Nakamura Y, Tsezou A. Leptin as a critical regulator of hepatocellular carcinoma development through modulation of human telomerase reverse transcriptase. *BMC Cancer.* 10(1):442, 2010,
- (5) Yamamoto K, Ishida T, Nakano K, Yamagishi M, Yamochi T, Tanaka Y, Furukawa Y, Nakamura Y, Watanabe T. SMYD3 interacts with HTLV-1 Tax and regulates sub-cellular localization of Tax. *Cancer Science* 102: 260-266, 2011.
- (6) Kaneko M, Nozawa H, Kitayama J, Sunami E, Akahane M, Yamauchi N, Furukawa Y, Nagawa H, A case of hereditary hemorrhagic telangiectasia (Osler-Weber-Rendu disease) with multiple polyps arising in the cecum and appendix. *Acta Gastroenterol Belg* 74(2):352-354, 2011.
- (7) 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.
- (8) 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

平成 22 年度 日本衛生検査所協会 関東甲信越支部 学術研究発表会 「*TACSTD1* 遺伝子の異常による遺伝性非ポリポーシス大腸がん(HNPCC)」(共同発表者)

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

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^{1) 2) 3)}

研究協力者 足立 香織¹⁾

- 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、遺伝学的検査を実施する新たな体制の構築に向けて、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。その結果、22～24 年度の 3 年間で、46 疾患、273 件の遺伝学的検査を実施することができた。さらに、次世代高度医療推進センターゲノム医療部門を設置し、鳥取大学医学部附属病院全体に遺伝学的検査を提供できる体制を整え院内・院外の遺伝学的検査の依頼に対応可能となった。検査費用についても検討しており、今後は検査精度を担保できる体制を検討し、精度の高い遺伝学的検査が提供できる体制の構築を目指したい。

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。診療に際して、疾患の確定診断や治療方針の決定のために遺伝学的検査を実施することは重要な要素の一つであり、遺伝学的検査を安定して提供出来る体制を構築することが緊急の課題となっている。

我々は従来、遺伝子診療科で遺伝カウンセ

リングに対応し、実際の解析は生命機能研究支援センターの専門の技術者が 2 名程度で遺伝学的検査に対応してきた。しかし、近年の遺伝学的検査の増加により、従来の体制では解析が困難となってきたために、技術補佐員を増強し新たな体制を検討した。さらに、すべての診療科で遺伝学的診断が重要となっており、病院全体に遺伝学的診断を提供する体制を構築することが必要となってきた。そのために、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ゲノム医療部門を設置し、体制を検討した。

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

Entrez Gene、RefSeq の Genomic の遺伝子情報を元に、Primer3 ソフトで PCR プライマー設計を行った。エクソン周辺を 50bp 程度含み、Tm 値は 63°C を最適温度として 60~70°C の高めの設定範囲とした。また、Genetyx ソフトウェアの GC Contents アルゴリズムによる GC のプロフィールを確認し、GC コンテンツが高い (70%以上) 領域がある場合には、PCR ポリメラーゼに工夫を行った。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。

3) 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。

4) 遺伝学的診断の体制

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。遺伝学的診断を半日 (3 時間) で可能な範囲の業務単位に分け、業務単位で役割分担する体制とした。1 つの疾患の解析に、複数人数の担当者で対応する体制とした。最初の検体の受付と解析結果の確認・報告書作成は、データ解析に習熟した職員と臨床遺伝専門医が担当した。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。

5) 出生前診断への対応

「遺伝性の難治性神経筋疾患・先天代謝異常症・先天異常症の出生前診断」の課題で、鳥取大学医学部倫理審査委員会で包括的な承認を得た出生前診断に対応している。

2. 病院全体での遺伝子診断体制の検討

鳥取大学医学部附属病院には、24 年度に次世代高度医療推進センターが設置され、認定遺伝カウンセラー 1 名、6 時間非常勤職員 2 名を配置した。遺伝学的検査の依頼窓口を同センターとし、病院全体および院外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

22～24年度の3年間で、下記46疾患、273件の遺伝学的検査を実施した。このうち1.-22.は新たに遺伝学的検査体制を構築した例、23.-46.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. 遺伝性対側性色素異常症 (*ADAR1*) 1件
7. ALX4,MSX2 遺伝子解析 (*ALX4, MSX2*) 1件
8. Papillon-Leferve syndrome (*CTSC*) 1件
9. Klippel-Feil 症候群 (*GDF6*) 1件
10. Growth hormone receptor (*GHR*) 1件
11. Insulin-like growth factor 1 receptor (*IGF1R*) (MLPA 法) 5件
12. 肢帯型筋ジストロフィー (*DYSF*) 4件
13. Feingold syndrome (*MYCN*) 1件
14. オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (*OTC*) 2件
15. 母斑性基底細胞癌症候群 (*PTCH1*)
16. 遊離シアル酸蓄積病 (*SLC17A5*) 1件
17. Pendred syndrome (*SLC26A4*) 2件
18. Dopamine transporter (*SLC6A 3*) 1件
19. Werner 症候群 (*WRN*) 1件
20. ゴーシェ病 (*GBA*) 15件
21. Joubert 症候群 (*AHI1,NPHP1*) 15件
22. 良性遺伝性舞蹈病 (*NKX2-1*) 1件
23. 脆弱 X 症候群 (*FMR1*) 72件
24. Cowden 病 (*PTEN*) 25件
25. ライソゾーム病 10件
26. 筋緊張性ジストロフィー (*DMPK*) 21件
27. ニーマンピック病 C 型 (*NPC1,NPC2*) 19件
28. GM1-ガングリオシドーシス (*GLB1*) 8件
29. Fabry 病 (*GLA*) 8件
30. Pompe 病 (*GAA*) 8件
31. Tay-sachs 病 (*HEXA*) 4件
32. I-cell 病 2件
33. Menkes 病 (*ATP7A*) 4件
34. デュシェンヌ型筋ジストロフィー (*DMD*) (MLPA 法) 2件
35. ポルフィリン症 (*AIP,HCP,VP*) 6件
36. 異染性白質ジストロフィー (*ARSA*) 4件
37. calcium-sensing receptor (*CASR*) (MLPA 法) 1件
38. Myotubular myopathy (*MTM1*) 5件
39. シアリドーシス (*NEU1*) 2件
40. ミトコンドリア病 2件
41. 福山型筋ジストロフィー (*FKTN*) 2件
42. Pelizaeus-Merzbacher 病 (*PLP1*) 3件
43. Familial dysautonomia (*IKBKAP*) 1件
44. 腎性尿崩症 (*AVPR*) 1件

45. X 連鎖性遺伝性水頭症 (LICAM) 1 件

46. ガラクトシアリドーシス (CTSA) 1 件

2. 病院全体での遺伝子診断体制

日本医学会のガイドラインに従って、患者に関しては遺伝カウンセラーなどの支援を得て、各科で対応できる体制とした。また、家系の方々など病気でないクライアントに対応するため、遺伝子診療科では、専門の遺伝カウンセラーを設置し、看護師、心理士、臨床検査技師などと連携した体制を構築した。そして、次世代高度医療推進センターに解析の窓口を新たに設置した。検査部と連携し、この窓口で受付や検体の処理 (DNA 分離や培養など) を行い、得られた検体を生命機能研究支援センター遺伝子探索分野で解析し、その結果を次世代高度医療推進センターの受付窓口に返却し、最終的に依頼者へ返却が可能な体制とした。検体は次世代高度医療推進センターで匿名化することにより、生命機能研究支援センターのみならず、他の検査機関に送付し解析することも可能な体制となった。多施設からの検体も次世代高度医療推進センターに集め管理する体制とした。

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 22 年度: 22 件、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、これまではある程度の専門知識が必要であり、習熟した人だけが担当する作業であったため、遺伝学的検査のボトルネックとなっていた。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 シークエ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。ただし、PCR 直接シーケンス法での確認は出生前診断や保因者診断には今後も重要な位置づけとなってゆくと考えられ、その体制整備を今後とも行ってゆく必要がある。

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・料金を検討した。

受付、検体処理、データ返却の窓口として鳥取大学医学部附属病院・次世代高度医療推進センターが設置され、病院全体に遺伝学的検査を提供する体制を整備することができた。さらにこのセンターが、全国の解析施設と連携することにより、さらに多くの遺伝学的検査を提供できる体制を整えることができる。

今後、検体管理や解析技術など遺伝学的検査の精度を標準化させ、さらに質の高い体制を整える予定である。

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. 病院すべての診療科に対して患者の遺伝学的検査を行う体制の構築を行った。
 6. 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・料金体系を検討した。
 7. 窓口となる次世代高度医療推進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。
 8. 今後、遺伝学的検査の精度を向上させる予定である。
- 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.
 - ③ Xiong H, Higaki K, Wei CJ, Bao XH, Zhang YH, Fu N, Qin J, Adachi K, Kumura Y, Ninomiya H, Nanba E, Wu XR. Genotype/phenotype of 6 Chinese cases with Niemann-Pick disease type C. Gene. 2012 May 1;498(2):332-5.
 - ④ Kawashima Y, Higaki K, Fukushima T, Hakuno F, Nagaishi JI, Hanaki K, Nanba E, Takahashi SI, Kanzaki S. Novel missense mutation in the IGF-I receptor L2 domain results in intrauterine and postnatal growth retardation. Clin Endocrinol (Oxf). 2012 Feb 6.
 - ⑤ Muraoka T, Muraio K, Imachi H, Kikuchi F, Yoshimoto T, Iwama H, Hosokawa H, Nishino I, Fukuda T, Sugie H, Adachi K, Nanba E, Ishida T. Novel mutations in the gene encoding acid α -1,4-glucosidase in a patient with late-onset glycogen storage disease type II (Pompe disease) with impaired intelligence. Intern Med. 2011;50(24):2987-91.
 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

足立香織、大野耕策、難波栄二。私が携わった遺伝学的検査のまとめと今後の体制の検討。日本人類遺伝学会第 56 回大会 2011 年 11 月 9 日-12 日、千葉市

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 清水 宏¹⁾（平成22、23年度）

秋山 真志²⁾（平成24年度）

1) 北海道大学大学院医学研究科皮膚科学分野

2) 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： 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った。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。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、3年間に及ぶ本研究の成果から、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

3年間の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った。その目的達成のため、3年間に及ぶ本研究期間に、我が国での皮膚科領域の希少性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。研究最終年度においては、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

初年度の平成22年度に行われたkick-off シンポジウム以降、3年間の研究期間中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た。初年度から平成24年度までの3年間に、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。また、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