

について、国内外の文献調査を施行した。本研究期間、3年間に得られたデータを総合して検討した結果、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。

(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

本研究初年度のkick-off シンポジウム以降、本研究の研究期間、3年間に行われた本研究班班会議等での討議により、他診療科領域の研究分担者との連携を確認した。本研究の初年度、2年目からの研究成果に基づき、最終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。そのような3年間の研究の結果、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、3年間の本研究期間において、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。

D. 考察

本研究の研究期間、3年間において、我が国における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った。

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

3年間に及ぶ本研究の研究期間中に、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、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、さらには、研究として取り組む段階が終了した疾患に対しては、大学の教室、研究所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遺伝学的検査の提供体制上の問題点が明らかになった。これら、諸々の問題点の

中で、最も本質的かつ深刻な問題は、遺伝学的検査をどのように提供するのか、という基本方針が十分定まっていないことである。今回の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.**

Shinkuma S, Inoue A, Aoki J, Nishie W, Natsuga K, Ujiie H, Nomura T, Abe R, **Akiyama M, Shimizu H.** **Invest Dermatol** 132: 2093-2095, 2012.

論文 5) Umemoto H, **Akiyama M,** Domon T, Nomura T, Shinkuma S, Ito K, Asaka T, Sawamura D, Uitto J, Uo M, Kitagawa Y, **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 6) 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 7) 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 8) 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.

論文 9) Umemoto H, **Akiyama M,** Yanagi T, Sakai K, Aoyama Y, Oizumi A, Suga Y, Kitagawa

Y, **Shimizu H**:

New insight into genotype/phenotype correlations in ABCA12 mutations in harlequin ichthyosis.

J Dermatol Sci 61: 136-138, 2011.

論文 10) Osawa R, **Akiyama M**, Izumi K, Ujiie H, Sakai K, Nemoto-Hasebe I, Yanagi T, Koizumi H, **Shimizu H**:

Extremely severe palmoplantar hyperkeratosis in a generalized epidermolytic hyperkeratosis patient with a keratin 1 gene mutation.

J Am Acad Dermatol 64: 991-993, 2011.

論文 11) Natsuga K, Nishie W, Shinkuma S, Nakamura H, Arita K, Yoneda K, Kusaka T, Yanagihara T, Kosaki R, Sago H, **Akiyama M**, **Shimizu H**:

A founder effect of c.1938delC in ITGB4 underlies junctional epidermolysis bullosa and its application for prenatal testing.

Exp Dermatol 20: 74-76, 2011.

論文 12) Shinkuma S, **Akiyama M**, Inoue A, Aoki J, Natsuga K, Nomura T, Arita K, Abe R, Ito K, Nakamura H, Ujiie H, Shibaki A, Suga H, Tsunemi Y, Nishie W, **Shimizu H**:

Prevalent LIPH founder mutations lead to loss of P2Y5 activation ability of PA-PLA1alpha in autosomal recessive hypotrichosis.

Hum Mutat 31: 602-610, 2010.

論文 13) Natsuga K, Nishie W, Arita K, Shinkuma S, Nakamura H, Kubota S, Imakado S, **Akiyama M**, **Shimizu H**:

Complete paternal isodisomy of chromosome 17 in junctional epidermolysis bullosa with pyloric atresia.

J Invest Dermatol 130: 2671-2674, 2010.

論文 14) **Akiyama M**, Sakai K, Yanagi T, Tabata N, Yamada M, **Shimizu H**:

Partially disturbed lamellar granule secretion in mild congenital ichthyosiform erythroderma with ALOX12B mutations.

Br J Dermatol 163: 201-204, 2010.

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

難聴の遺伝学的検査は、難聴の予後推定・予防的治療、遺伝カウンセリングなど臨床的に極めて有用な情報を提供する。そして、2012年度から保険適用となった「先天性難聴の遺伝子診断」により遺伝性難聴の診療は大きく前進した。残された課題として遺伝性疾患に関する一般耳鼻咽喉科医への啓蒙、全難聴遺伝子を対象とした網羅的遺伝子解析プラットフォームの開発などを解決する必要がある。

A.研究目的

耳鼻咽喉科が関与する単一遺伝病としては、多発性内分泌腫瘍症 2 型、Cowden 病、神経線維腫症、オスラー病などがある。しかし、現在耳鼻咽喉科領域において、遺伝学的検査が最も施行され、今後一般診療においても遺伝学的診療が必須となる代表的疾患が遺伝性難聴である。

難聴は先天性および後天性に生じうる。この中で、先天性難聴は出生数 650～1000 人に 1 人の割合で発症し、その半数が遺伝性難聴と考えられている。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、遺伝学的検査が対象となる難聴例は少なくない。遺伝性難聴は、症候群性のもので非症候群性のもので分類される。この中で非症候群性遺伝性難聴が全体の遺伝性難聴に占める割合は、約 70%と高い。一方、非症候群性遺伝性難聴では、現在までに 100 以上の遺伝子座、50 以上の原因遺伝子（難聴遺伝子）が同定されている。

本研究の目的は、遺伝学的検査についての国内外での現状を明らかとし、本邦における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

本邦における過去の学会および論文報告、海外での報告、当施設での遺伝学的検査の現況をもとに、本邦における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。

(倫理面への配慮)

難聴の遺伝学的検査については、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) 難聴の遺伝学的検査の臨床的意義について

難聴児の早期診断は、児のその後の言語能力やコミュニケーション能力の発達において重要である。乳幼児では聴力検査による正確な難聴の評価が困難な場合があり、難聴の遺伝学的検査は難聴の補助的診断として有用となりうる。遺伝性難聴では、難聴遺伝子の種類により、難聴の予後、人工内耳の効果、保因者の頻度などが判明している。これらは、遺伝性難聴例に対する遺伝カウンセリングにおいても有用な情報となりうる。ミトコンドリア DNA 1555A>G や *SLC26A4* 変異のように、遺伝学的検査が難聴の予防的治療に有用な遺

伝子が存在する。

- (2) 日本人における代表的な難聴原因遺伝子
- 1) *GJB2* 遺伝子: 先天性難聴の中で最も多く変異が認められる難聴遺伝子である。先天性高度難聴に占める本遺伝子変異の割合は、欧米では 30-50%、本邦においても約 30%と考えられている。既知の変異と難聴の程度・進行の有無、変異アレル頻度などが検討されており、遺伝学的検査により有用な情報が提供可能である。
 - 2) ミトコンドリア DNA 1555A>G: ミトコンドリア DNA 1555A>G は、日本人家族性難聴の約 7%と高頻度に認められる変異である。少量のアミノ配糖体系抗菌薬の投与においても、難聴発症や増悪をきたしうる。従って、難聴の予防的治療の観点からも本遺伝子変異を解析する意義は高い。
 - 3) *WFS1* 遺伝子: 常染色体優性遺伝形式の非症候群性低音障害型感音難聴に高頻度で認められる難聴遺伝子である。過去の報告から、本遺伝子変異例は重度以上の難聴には進行しない。従って、遺伝学的検査により原因が明らかになれば難聴は補聴器で対応可能であることを説明できる。
 - 4) *TECTA* 遺伝子: 常染色体優性遺伝形式および劣性遺伝形式の非症候群性遺伝性難聴の原因になる。典型例では、中音障害型の特徴的な聴力型を示す。
 - 5) *SLC26A4* 遺伝子: *SLC26A4* は、常染色体劣性遺伝形式の非症候群性遺伝性難聴と症候群性遺伝性難聴 (Pendred 症候群) の原因遺伝子である。内耳奇形である前庭水管拡大症を合併するため、画像にて本内耳奇形が認められれば *SLC26A4* の遺伝学的検査を行なう。頭部打撲を契機として難聴が進行しうるため、頭部打撲が生じうるスポーツを回避することなどで難聴の予防的治療が可能な場合がある。
- (3) 本邦における難聴の遺伝学的検査
- 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った。これにより、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、インバー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た。

しかし、本検査で変異が同定されない場合には、従来どおりの解析方法で遺伝学的検査を行う必要がある。具体的には、最初に頻度の高い難聴遺伝子を全例にスクリーニングする。他の遺伝子に関しては特徴のある聴力型、内耳奇形の存在などをもとに遺伝学的検査を行なう。本邦において、このような遺伝学的検査が供給可能であるのは数施設にすぎない。最近では、次世代シーケンサーを用いた難聴の遺伝学的検査も施行されるようになってきている。

(4) 国外での難聴の遺伝学的検査

海外では、HHH APEX、OtoChipTM、OtoSCOPE などの遺伝性難聴に対する網羅的解析プラットフォームが報告されている。HHH APEXではsingle nucleotide extension microarraysを用い、8つの難聴遺伝子 (*GJB2*、*GJB6*、*GJB3*、*GJA1*、*SLC26A4*、*MTRNR1*、*MTTS1*) の全 198 既知変異を解析する。OtoChipTM はハーバード大学で開発された resequencing microarray 技術を用いたプラットフォームである。これらは、全難聴遺伝子を網羅していない点に問題があるとされている。一方、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法を用いたプラットフォームである。既知の難聴遺伝子すべてを対象としていること、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。現在のところ経済的な問題が残されているものの、今後アメリカでは遺伝性難聴に対するルーチンな臨床検査になることが期待されている。

(5) 当施設での遺伝学的解析

遺伝学的検査を効率的に行うためには、網羅的解析や次世代シーケンサーを組み合わせた解

析が必須となる。当施設では、遺伝性難聴 373 例を対象にミトコンドリア DNA 変異の Luminx 法を用いた解析を行い、網羅的解析の有用性を示した。また、常染色体優性遺伝形式の非症候群性 auditory neuropathy 家系、常染色体優性遺伝形式の耳小骨奇形家系などに対して全エクソーム解析を行い、新規原因遺伝子の同定においても有用であった。

D. 考察

難聴の遺伝学的検査は、乳幼児難聴の補助的診断、難聴や人工内耳手術の予後推定、難聴の予防的治療などにおいて極めて有意義な手法である。しかし、遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制を整える上で、いくつかの問題点が認められる。第 1 に、難聴は生死に関わる疾患ではなく、原因遺伝子の同定が難聴の直接的治療につながらないため、患者側は必ずしも積極的に検査を希望しない場合がある。しかし、我々の行った遺伝性難聴例に対するアンケート調査では、日本人における難聴の遺伝学的検査に対する満足度は高いため、本検査の有用性を十分に患者側に理解してもらう必要がある。第 2 に、耳鼻咽喉科疾患全体に占める遺伝性難聴は少ないため、本疾患の診療に不慣れな耳鼻咽喉科医師が存在する。また、遺伝学的検査に否定的な見解をもつ医師も少なからず存在すると考えられる。一方、2012 年より「先天性難聴の遺伝子診断」が保険適用となったため、今後遺伝性難聴に対する遺伝子診療は耳鼻咽喉科診療に欠くことのできないものになると考えられる。この場合、その診療や実際に遺伝学的検査を依頼する際に医療倫理の問題が生じる可能性があるため、一般耳鼻咽喉科医に対する啓蒙が必要と考えられる。第 3 に、「先天性難聴の遺伝子診断」の対象は先天性難聴に限られているが、実際には後天性の遺伝性難聴が数多く存在する。この中には、難聴の予防的治療にも重要なミトコンドリア DNA 1555A>G 変異が含まれている。遺

伝子変異は生下時から存在するため、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ろう。第 4 に、「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を対象を限定しても 40%程度とされている。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従来の手法による遺伝子解析を行う必要がある。しかし、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、人的労力や経済性を考慮すれば従来からの遺伝学的検査には限界がある。この点で、海外で開発された次世代シーケンサーを組み合わせた難聴遺伝子の網羅的解析プラットフォームは有用と考えられる。一方、遺伝子変異や多型には人種差が認められる。また、新規 variant が同定された際に、病因か否かの判別が困難な場合がある。従って、(1) 日本人あるいは東アジア人における難聴遺伝子変異・多型データベースの構築、(2) 全難聴遺伝子を対象とした本邦独自の難聴遺伝子網羅的解析プラットフォームの開発、(3) 臨床遺伝学に精通した耳鼻咽喉科医の育成が望まれる。

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前進したが、まだいくつかの解決すべき問題が残されている。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) Abe S, Noguchi Y, et al: What do patients with hereditary deafness think of genetic studies? *Auris Nasus Larynx*, 37, 422-426, 2010.

- 2) Yashima T, Noguchi Y, et al: Novel ATP6V1B1 mutations in distal renal tubular acidosis and hearing loss. *Acta Otolaryngol*, 130, 1002-1008, 2010.
 - 3) Ito T, Noguchi Y, et al: Hereditary Hearing Loss and Deafness Genes in Japan. *J Med Dent Sci*, 57, 1-10, 2010.
 - 4) Kato T, Nishigaki Y, Noguchi Y, et al: Extensive and rapid screening for major mitochondrial DNA point mutations in patients with hereditary hearing loss. *J Hum Genet* 55, 147-154, 2010.
 - 5) Fujikawa T, Noguchi Y, et al: Additional heterozygous 2507A>C mutation of *WFS1* in progressive hearing loss at lower frequencies. *Laryngoscope*, 120, 166-171, 2010.
 - 6) 野口佳裕 : 遺伝性難聴と遺伝カウンセリング. *総合臨牀* 60 : 468-469, 2011
 - 7) Noguchi Y, Ito T, Nishio A, Honda K, Kitamura K: Audiovestibular findings in a branchio-oto syndrome patient with a *SIX1* mutation. *Acta Otolaryngol* 131: 413-418, 2011.
 - 8) 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
 - 9) 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
 - 10) 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.
- 第 55 回日本人類遺伝学会、2010 年 10 月 29 日、大宮
 - 2) 野口佳裕、他. DFNA5 変異による非症候群性常染色体優性遺伝性難聴家系. 第 56 回日本人類遺伝学会、2011 年 11 月 12 日、千葉
 - 3) Noguchi Y, et al. Audiovestibular findings in a branchio-oto syndrome patient with *SIX1* mutation. *Collegium Oto-Rhino-Laryngologium Amicitiae Sacrum*. August 25, 2010, Budapest, Hungary.
 - 4) Kato T, Noguchi Y, Fuku N, Murakami H, Miyachi M, Tanaka M, Kitamura K. Mitochondrial haplogroup analysis in patients with hereditary hearing loss. 35th Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, 2012.2
 - 5) Nishio A, Noguchi Y, Kitamura K: A DFNA5 mutation in two Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. 35th Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, San Diego, 2012.2
 - 6) 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
 - 7) 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. 36th 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

2. 学会発表

- 1) 野口佳裕、他. *SLC26A4*、*SIX1*、*ATP6V1B1* 変異による前庭水管拡大症の聴平衡覚所見.

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¹⁾

研究協力者 山田 奈美恵²⁾

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

肥大型心筋症は循環器領域における単一遺伝子疾患として最も高頻度である。本症において遺伝子解析研究は進んでいるものの、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の症例にとどまる。本研究では、肥大型心筋症の遺伝学的検査が診療現場で進まない原因を分析し、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、疾患レジストリー確立・運用、精度保証された集中解析拠点確立、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と考える。持続可能な制度の設計と財源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・一般国民に対する遺伝教育、データ管理手法の決定、社会のコンセンサス獲得、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

循環器領域において遺伝が関与する疾患には大別して 1)心筋梗塞などの多遺伝子疾患と、2)心筋症や遺伝性不整脈などの単一遺伝子疾患、とがある。多遺伝子疾患では、比較的高頻度(1%以上)であるが個々のインパクトは弱い遺伝子変化(SNP など)が複数組み合わせあって発症素因を形成するのに対し、単一遺伝子疾患では、稀な(0.1%未満)ひとつの遺伝子変異が発症と結びついている。すなわち、単一遺伝子疾患においては原因遺伝子変異の同定が診療に大きく貢献すると期待される。循環器領域における単一遺伝子疾患として最も頻度が高いのは肥大型心筋症である。本研究では、肥大型心筋症の遺伝子解析研究の現状をまとめ、その遺伝学的検査が診療現場で進んでいない原因を分析した上で解決方法を考察した。

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

1. 肥大型心筋症と遺伝子解析

心筋症とは、収縮拡張異常ないし電気生理学的異常を伴い、不適切な心室の肥大あるいは拡張をきたす一群の心筋疾患をいう[1]。

肥大型心筋症は心室中隔優位の心室壁肥厚を特徴とする心筋疾患であり、病理組織学的には心筋細胞の肥大、錯綜配列および間質線維化を特徴とする。比較的予後は良好だが、約10%の症例では拡張相へと移行、急速に増悪し心不全をきたす。また、若年者において突然死の原因の首位を占める疾患としても重要である。肥大型心筋症と原因不明の左心室肥大をあわせると若年者アスリートの心臓突然死原因の約3分の1に相当する[2]。米国での疫学調査[3]によると肥大型心筋症の頻度は一般人口の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。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、患者および血縁者に対する遺伝学的検査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年者を減らすことができる。

2. 肥大型心筋症の遺伝子解析研究：概要

サルコメアは心筋細胞内にある筋原線維であり心筋の収縮弛緩をつかさどる。心筋ミオシンは2分子の重鎖と4分子の軽鎖からなる。ミオシン重鎖の頭部にはATPase活性がありアクチンによって活性化され、アクチンとミオシンとの間にスライディングがおこる、これが心筋の収縮である。サルコメアはこれらミオシン、アクチンの他、トロポニンT、トロポニンI、トロポニンC、トロポミオシン、ミオシン結合タンパクC、タイチンからなる。肥大型心筋症の約60%はサルコメアタンパク遺伝子の優性変異に起因する。具体的にはβ-ミオシン重鎖遺伝子(*MYH7*)、ミオシンアルカリ軽鎖遺伝子(*MYL3*)、ミオシン調節軽鎖遺伝子(*MYL2*)、ミオシン結合タンパク遺伝子(*MYBPC3*)、トロポニンT遺伝子(*TNNT2*)、トロポニンI遺伝子(*TNNI3*)、α-トロポミオシン遺伝子(*TPMI*)、α-アクチン遺伝子(*ACTC*)、タイチン遺伝子(*TTN*)、稀にα-ミオシン重鎖遺伝子(*MYH6*)である。現在1000種類をこえる遺伝子変異が報告されている。タイチンは巨大なタンパク(35991アミノ酸からなる、コーディング領域に限っても363エクソン)であり従来のダイレクトシーケンス法による解析は現実的でない。本邦でも肥大型心筋症患者群でタイチンを除くサルコメアタンパク遺伝子の包括的シーケンス解析がおこなわれ、*MYBPC3*、*MYH7*次いで*TNNT2*が高頻度であることが明らかになった[4]。心室肥大の重症度や局在、発症年齢、臨床症状および臨床経過とサルコメアタンパク遺伝子変異との対応関係が報告されている。たとえば、*TNNT2*変異は心室肥大が軽いわりには突然死が多くみられる[5]、*ACTC* Glu101Lys変異は心尖部肥厚型が多い[6]などである。Elderly-onsetの肥大型心筋症に関しては米国での検討により*MYBPC3*遺伝子変異が多いことが報告されていたが、本邦の40歳以降発症の肥大型心筋症患者41名を対象にした検討[7]では、4名に*MYBPC3*遺伝子変異、1名に*MYH7*遺伝子変異が同定された。一方、前述したように、肥大型心筋症患者の約10%では心不全への進行、「burnt-out」型拡張相への移行をきたし、予後不良で心移植を必要とすることも多い。このような予後不良の臨床経過と相関する変異も報告されている。

3. 肥大型心筋症と鑑別すべき疾患

心Fabry病は心臓限局性のスフィンゴ脂質蓄積症であり心肥大を主徴とする。全身性のFabry病がα-ガラクトシダーゼ活性の完全欠

損によっておこる稀な疾患(約4万人に1人)であるのに対し、心Fabry病はα-ガラクトシダーゼ活性の部分欠損によっておこり、決して稀な疾患ではない。心Fabry病は全身性Fabry病と同様、α-ガラクトシダーゼA遺伝子変異に起因するX染色体劣性遺伝である。40歳以降の男性にみられる。本邦での検討[8]により心肥大男性症例の3%程度にみられることが明らかにされた。α-ガラクトシダーゼの補充(本邦でも2004年から一般臨床使用可能)により心肥大の改善をみるので、本症と心肥大をきたしうる他疾患とを明確に鑑別して治療にあたる必要がある。

心臓限局型のグリコゲン貯留性疾患も心Fabry病同様、肥大型心筋症との鑑別が問題になる。骨格筋病変も伴うケースは診断がつきやすいが、心筋症単独症例では肥大型心筋症と診断されがちである。心筋生検での心筋細胞の空胞変性、空胞内のグリコゲン貯留(PAS染色陽性)所見をもって正確な診断にいたることが多い。肥大型心筋症とは異なり、心筋細胞の錯綜配列は少なく、間質線維化も有意でない。刺激伝導障害を合併することが多い。成人において特に問題になるのはAMP kinaseのγ2サブユニットをコードする*PRKAG2*遺伝子の変異である。

4. 肥大型心筋症の遺伝学的検査：メリット

肥大型心筋症が疑われる患者に対して遺伝学的検査をおこなうことはいかなるメリットをもたらすのか。

1)心エコー検査での心室壁肥厚確認と、心肥大をきたしうる他疾患の除外が診断に必須であるが、遺伝学的検査をおこない既報のサルコメアタンパク遺伝子変異が同定されれば診断を確定することができる。また、重症度予測がある程度は可能であり、急速進行型病型との関連が疑われる変異が陽性の場合、フォローアップ間隔を年1回程度から半年1回程度に短縮するなど調整を施すことができる。

2)発症者の遺伝学的検査が陽性であれば、血縁者の遺伝学的検査に進むことができる。無症候性あるいは未発症患者の同定もおこなうことができる。血縁者の中でも変異陽性者だけを対象にフォローアップをスタートさせることになる。肥大型心筋症は初発症状が運動時突然死ということもあり、変異陽性者に対しては過激な運動を回避するよう生活指導をおこない、また、その他の対策(頻回のフォローアップ、早期介入)を講じるなど前向きな取り組みも可能になる。

3)現状では血縁者は「発症するかもしれない候

補」として漠然とした不安を抱えながら年1回程度の心エコー検査を受け続けている。遺伝学的検査で陰性であることがはっきりすれば、根拠なき精神的不安から開放され、また不必要な受診・検査を回避できる。発端者が10万人いると仮定すればサルコメア変異が同定されるのが5万人、血縁者が1人の発端者あたり4人いるとして血縁者は20万人、常染色体優性遺伝疾患であるから理論上50%の血縁者が変異陰性のはずであり、すなわち10万人が年1回の不必要な受診・検査(心エコーなど)を繰り返していることになる。遺伝学的検査を活用することにより不必要な医療費支出を回避できる。

4) 心 Fabry 病など既に治療法が確立している疾患を肥大型心筋症と明確に鑑別することは重要であるが、遺伝学的検査はそれを可能にする。あくまでも確定診断は酵素活性測定によるが、心筋生検と α -ガラクトシダーゼA遺伝子変異同定は補助診断としてきわめて有用である。なお、Fabry病では遺伝子疾患検査が既に保険収載されている。

「2011年ACCF/AHA肥大型心筋症の診断・治療ガイドライン[9]」においては、「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進する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。

5. 肥大型心筋症の遺伝学的検査：現状

肥大型心筋症が疑われる患者に対する遺伝学的検査は本邦では下記のようにおこなわれている。

遺伝学的検査の意義と限界、結果開示、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関しても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研究室でおこなわれており、遺伝子解析研究としてはきわめて意義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、「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は同じ」「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、患者にどう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、遺伝カウンセリングまでこなすのは無理」「一体どこに紹介すれば検査してもらえるのかわからない」など多様である。少なくとも本邦では、肥大型心筋症診療において遺伝学的検査がおこなわれているのはごく一部の症例だけである。

D. 考察

遺伝学的検査を推進するためには現状の何が問題かを列挙し、それら諸問題を克服するための方策を項目ごとに述べた。

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。

前述したように、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」[10]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[11]。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ケンシング法では、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。

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が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的外れ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、集中解析拠点に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、健康ないしは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 (ング、血縁者スクリーニングのオプション)が

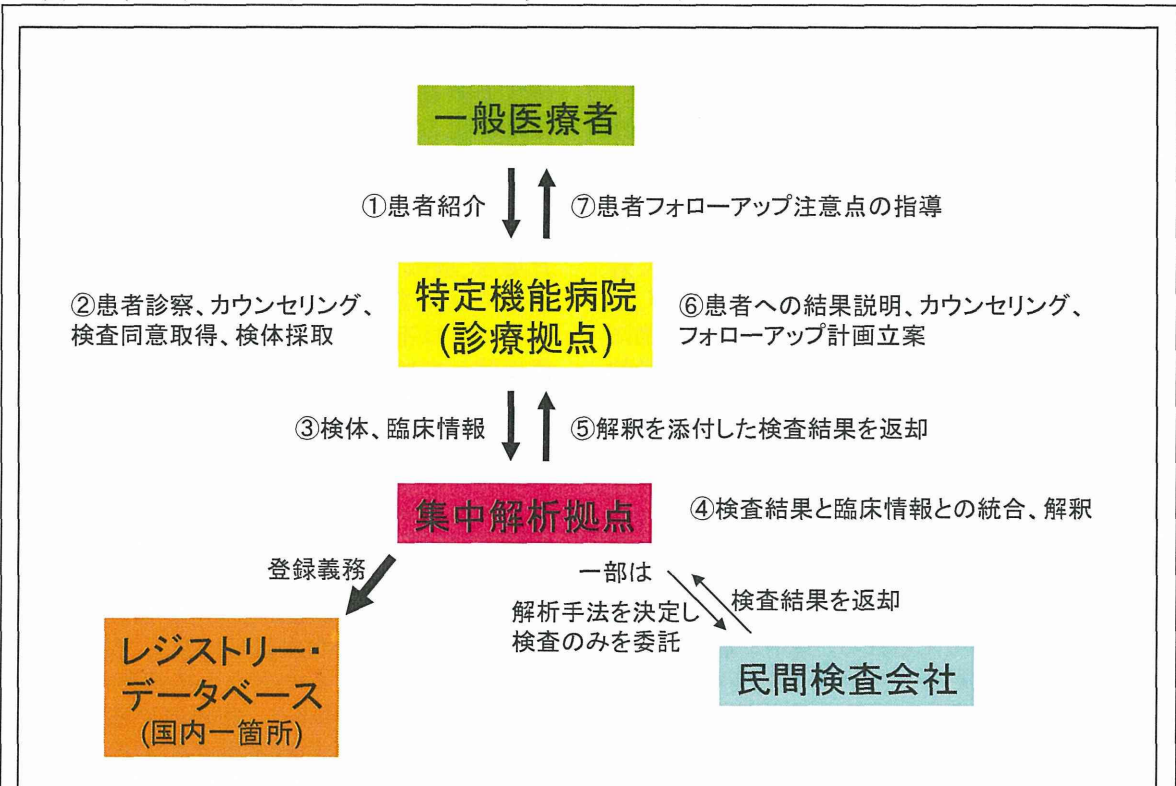


図: 肥大型心筋症の遺伝学的検査ワークフロー (案)

集中解析拠点と民間検査会社は精度保証のため定期的認定更新がもとめられる。レジストリー・データベースは許可された一般医療者がアクセス可能とする。遺伝子解析研究にも有効活用され、変異-臨床所見・治療反応性連関解明にも貢献できる運用方法が望ましい。このワークフローをまずモデル事業で試し臨床的有用性が確認できれば、財源を確保し持続運用を考える。

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。

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

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[12]。

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。われわれは上図のような体制が理想的ではないかと考えてい

る。特定機能病院(診療拠点)を経て、集中解析拠点で遺伝学的検査がおこなわれた症例は、その臨床情報、治療反応性、変異に関してレジストリー・データベースに登録される。多数症例が集積されることになる。アカウントを取得した医療者にはアクセスを許可する。集中解析拠点から特定機能病院(診療拠点)に遺伝学的検査結果を返却する際にはその解釈を添付することを想定している。的確な解釈をおこなうためにはリアルワールドにおいて変異-臨床所見・治療反応性連関を得ることがきわめて重要であり、そのためにもここで提案するレジストリー・データベースの確立は不可欠と言える。これらを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

1. 論文発表

Morita H, et al. Sarcomere gene mutations in hypertrophy and heart failure. *J Cardiovasc Transl Res* 2010; 3(4): 297-303.

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.

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 平成 25 年 5 月号 in press

Morita H. Human genomics in cardiovascular medicine-implications and perspectives- *Circ J* 2013; 77(4): 876-885.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

1. Maron BJ, et al; Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies. *Circulation* 2006; 113(14): 1807-1816.

2. Maron BJ: Sudden death in young athletes. *N Engl J Med* 2003; 349(11): 1064-1075.

3. Maron BJ, et al: Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. *Circulation* 1995; 92(4): 785-789.

4. Otsuka H, et al: Prevalence and distribution of sarcomeric gene mutations in Japanese patients with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Circ J*. 76(2): 453-461, 2012.

5. Watkins H, et al: Mutations in the genes for cardiac troponin T and alpha-tropomyosin in hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1995; 332(16): 1058-1064.

6. Arad M, et al: Gene mutations in apical hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2005; 112(18): 2805-2811.

7. Anan R, et al: Mutations in the genes for sarcomeric proteins in Japanese patients with onset sporadic hypertrophic cardiomyopathy after age 40 years. *Am J Cardiol* 2007; 99(12): 1750-1754.
8. Nakao S, et al: An atypical variant of Fabry's disease in men with left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1995; 333(5):288-293.
9. 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.
10. Ashley EA, et al: Genetics and cardiovascular disease: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation* 2012; 126(1): 142-157.
11. Morita H: Human genomics in cardiovascular medicine: implications and perspectives. *Circ J* 2013; 77(4): 876-885.
12. 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¹⁾

研究協力者 鳥居 千春¹⁾

1) 慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター

研究要旨

現在、大部分の遺伝学的検査はすべて研究費により実施されており、今後は「持続可能なシステム」の確立を目指してゆく必要がある。海外ではわが国より遺伝子診断の臨床応用が先行しており、その実施体制について知ることは、今後、わが国が進むべき方向性を考える上で有意義であると思われる。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。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なるであろう。

A. 研究目的

医学における遺伝学の応用が着実に進歩し、遺伝子診断が診療に大きなインパクトを持つようになった。「確率から確実へ」ともいわれるように遺伝子診断の実施により「確実」な情報が得られるようになった。研究分担者の施設でも、比較的頻度の高い（1/1,0000 程度）先天異常症候群の分子遺伝学的検査を標準化し、規格化された形で実施しており、現在 50 症候群について年間 200～300 件程度の検査を実施している。これらの検査はすべて研究費により実施しており、今後は「持続可能なシステム」の確立を目指してゆく必要がある。

自研究室で実施している遺伝子診断も含めて、

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。

海外ではわが国より遺伝子診断の臨床応用が先行しており、その実施体制について知ることは、今後、わが国が進むべき方向性を考える上で有意義であると思われる。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、多角的に調査・検討をおこなった。

3年間にわたる検討を行ったが、この間に次世代シーケンサーが普及するという新たな技術的な展開があった。海外では次世代シーケンサーを積極的に臨床応用する動きが加速しており、わが国への導入の方法についても検討した。

B.研究方法

英国・米国の稀少疾患の政策担当者聞き取り調査を行うとともに、資料を収集した。

英国では遺伝性疾患の患者団体の連合組織である Genetic Alliance UK 会長の Alastair Kent 氏から、米国では NIH 稀少疾患局 Stephen Groft 博士氏と詳細なインタビューを行った。さらに両氏から紹介を受けて、NIH Center for

Translational Therapeutics の Acting Deputy

Director である Susan Old 博士、UKGTN

(www.ukgt.nhs.uk) のプロジェクト責任者

Jacquie Westwood 博士から情報を収集した。

またヨーロッパの遺伝子診断のネットワークの

体制と現況については、EU 稀少疾患ネットワーク Orphanet の Ayme 博士（臨床遺伝学専門医）

および英国遺伝子診断ネットワーク (UKGTN)

の Kroese 担当官の来日時に詳細なインタビュー

を行った。平成 23 年の 1 1 月には、「稀少疾患の遺伝学的検査：いかに持続可能なシステムを構築するか」というシンポジウムを開催し、Kroese 先生には「The UK Genetic Testing Network, its role and achievements」という演題で講演をいただいた。

(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

I 米国における臨床的遺伝学的検査の発展と現況

① 実施している検査室

ハーバード大学、ペーラー医科大学、シカゴ大学、メイヨー医科大学、トロント小児病院、オレゴン大学、UCLA などゲノム研究で実績のある大学が、有料で診療応用のための遺伝子検査を受託している。加えて元は NIH の研究員が起業した

GeneDx 社 (<http://www.genedx.com>) が幅広く遺伝子検査を受託している。同社は民間会社であるが、稀少疾患の遺伝子診断に特化しており 120 人のスタッフで 200 種類以上の疾患について、世界各国から遺伝子診断を受託している。

上記の大学の検査室や GeneDx 社における遺伝子検査の開発に対して、当初、NIH が遺伝子検査の実施に対して補助金 (CETT プログラム) を出し、ゲノム解析研究から臨床検査への橋渡を補助した経緯がある。この補助金事業により、ルーチンに検査の受託が可能となった検査の例は以下のとおりである。

表 1. CETT プログラムにより、診療のための遺伝子診断事業が開始された疾患のリスト

Cornelia de Lange syndrome;

Joubert Syndrome;

Cherubism;
 X-linked Chondrodysplasia Punctata;Kallman Syndrome;
 Progressive Familial Intrahepatic Cholestasis;
 Russell Silver;
 MPS VI;
 Niemann Pick A/B;
 X-Linked Periventricular nodular heterotopia;
 Primary Ciliary Dyskinesia;
 Infantile Neuroaxonal dystrophy;
 MADD;
 Arginase;
 Allan Herndon Dudley;
 9q34 deletion;
 Epimerase GALE;
 PXE;
 Familial Focal Segmental Glomerulosclerosis;
 Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy;
 X-linked Recessive Brachytelephalangic Chondrodysplasia Punctata;
 Bilateral Frontoparietal Polymicrogyria;
 Autosomal Recessive Agammaglobulinemia;
 Urea Cycle Disorders .
 CPS1 & ASL, DMD micro-array, and AR primary microcephaly.

企業経営が成り立つようになったため NIH の CETT プログラムによる補助金事業は終了した。

平成 24 年度末の段階で GeneDx 社が臨床的遺伝子診断の対象として取り扱っている単一遺伝子疾患の総数は約 530 である。

GeneDX と同規模に事業展開している企業に PreventionGenetics 社がある。

PreventionGenetics 社が臨床的遺伝子診断の対象として取り扱っている単一遺伝子疾患の総数は約 260 である。

いずれも私的な健康保険による支払いを認めて

いる。

② インフォームドコンセント

診療のための遺伝子検査はゲノム研究とは考えられていないことを反映し、GeneDx 社では、遺伝子検査の実施に際して倫理委員会等の承認は必要とされていない。しかし疾患ごとに詳細な同意書や説明書は用意されており、ウェブサイトから自由にダウンロードできるようになっている。同意書・説明書には、当該検査の陽性率に関するデータ、結果が帰ってくるまでの時間

(turn-around-time)が明記されているほかに、特に以下の点が強調されている。

- i)被検者の同意なく、依頼医以外に情報が提供される事はない。
- ii)結果は医師ないし遺伝学の専門家に返される。
- iii)患者は自発的な意志により検査を受ける。

③ 価格の設定

検査のコストは数万円から十数万円の範囲が一般的であり、遺伝子の大きさに応じて価格が決定されている。

価格の決定の根拠となっているのは AMA

(America Medical Association : アメリカ医師会)により体系化されている。CPT コード

(Current Procedure Terminology : 医療通用手技用語集)である。

CPT コードとは米国において診療報酬請求する際に使用する医療サービスおよび手技を記述した体系で、約 8,000 に及ぶ 5 桁の数字であらわされ、詳細な記述のために小数点以下の数字が付加される。遺伝子検査の実施に際しては PCR やシーケンス反応など必要な回数に応じて積算をする。

たとえば、ワシントン大学において行われている遺伝子検査(骨形成不全症)の課金に対する CPT コードは以下のとおりである。骨形成不全症は I 型コラーゲンタンパクの異常により発症し、COL1A1 と COL1A2 のいずれかの遺伝子の異常により発症する。両者ともに比較的大きな遺伝子

である。

COL1A1 は 17 箇所、COL1A2 は 23 箇所の部位の PCR 反応により増幅され、翻訳領域の全長を決めるために、COL1A1 は 26 回のシーケンス、COL1A2 は 35 回のシーケンス反応が必要である。DNA 抽出 (コード 83891) に対して 50 ドル PCR (コード 83898) の単価が 23 ドルで $23 \times (17 + 23) = 920$ ドル、シーケンス反応 (コード 83904) の単価が 26 ドルで $26 \times (26 + 35) = 1586$ ドル 報告書の作成 (コード 83912) は 112 ドル トータルのコストが 2668 ドルと算出される。

これらの項目をどのように組み合わせるかで、検査の価格は、検査施設毎に少しずつ異なり、検査施設が申請した価格体系を認めるかどうかは保険会社の裁量に任されている。

参考資料：

<http://www.pathology.washington.edu/clinical/collagen/index.php/available-tests-right-column/costs-and-cpt-codes/>

④保険請求

民間保険を使って検査機関を利用する場合には以下のような情報を事前に検査会社に提供しなければならない。

民間保険会社からの支払許可書、患者の名前と保険証番号、保険証のコピー、支払率、民間保険会社から給付が認められなかった時に使用されるクレジットカード番号、結果を送るべき医療機関と医師名等。

なお、各症例について特定の遺伝子検査を実施した場合、民間保険会社が支払うかどうかの許可を取り付けるのは担当医ないし遺伝カウンセラーの役割となっており、相応の負担となっている。

⑤検査の質の保証

米国における臨床検査機関の認証機構である

CLIA や CAP による認証を得ている機関でなければ、民間保険会社から支払いを受けることはできない。希少疾患の遺伝学的検査に際しての注意点については、アメリカ医科遺伝協会 American College of Medical Genetics からガイドラインが 2004 年 10 月に公表されている。Technical Standards and Guidelines: Molecular Genetic Testing for Ultra-Rare Disorders Approved by the Board of Directors October 26, 2004.

⑥次世代シーケンサーを用いた網羅的診断の臨床応用

全遺伝子の翻訳領域 (いわゆるエクソーム) の解析を受託する企業が出現している。上述の GeneDx 社、AmbryGenetics 社などである。患者本人と両親の 3 つ組み (トリオ) の解析を行った場合の実施費用は数十万円程度である。次世代シーケンサーのメーカーであるイルミナ社はデスクトップ型シーケンサー (Miseq) について FDA に対して診断機器としての承認を申請中である。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。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される遺伝子として 56 が掲載されている。これらは、主に家族性腫瘍と心血管系の疾患であるが、「治療・介入

が可能である (actionable) 疾患群の原因遺伝子群であることから、患者への説明が推奨されている。ACMG からは発表されなかったが、ACMG の発行する雑誌に、incidental findings として異常がみつかった際に患者に告げないことが推奨される遺伝子のリストが広報されている。これらは、主に中枢神経変性疾患であるが、「治療・介入が困難な」疾患群の原因遺伝子群である。

II 英国における臨床的遺伝学的検査の発展と現況

①英国の臨床遺伝学サービスの組織

23 の地域遺伝センターが大学病院内の臨床遺伝学センター等として設置されている。臨床遺伝専門医(全国で約 300 名)・遺伝カウンセラーが勤務し、一般外来・特殊外来・集団外来を担当している。各臨床遺伝学センターには染色体・遺伝子検査・生化学検査を含む検査室が設置されている。これらの地域遺伝センターを含め全国で 20 の臨床遺伝学的サービスが財政的支援を受けている。

②UK Genetic Testing Network について

英国では、臨床医・遺伝子診断施設・コミッショナー・患者団体の 4 者が連携して社会システムとしての遺伝子検査の実施を担当している。コミッショナーにより認められた場合には、遺伝学的検査の費用は、National Health Service[NHS]という国民保険がすべて支払っている。

このような国営の遺伝子診断のシステムの運営のため、UK Genetic Testing Network が 2002 年に設立されている。UKGTN のミッションは患者家族の臨床遺伝学的サービスへのアクセス・診断・フォローアップをあまねく提供することとされ、臨床検査専門家・臨床医・政府管掌保険の支払い担当者、患者家族会と検査室のネットワークとの協調によって構成されている。コーディネータ機能を担う管理部門のチームが運営を担当している。

③GeneDossier : 臨床的遺伝学的検査としての推奨リスト

特定の遺伝子疾患に対する遺伝子診断が NHS から提出可能かどうかということについて 2004 年から GeneDossier というリファレンス付のリストが作成されている。対象とする患者集団や疾患と検査の目的を明確にし、遺伝学的検査が不適切な方法で幅広く使用されることを防いでいる。同時に臨床家にとって使いやすいガイドとすることも目的としている。現在までに 700 余りの疾患が登録されている。遺伝子検査の臨床的意義の判定会議のメンバーは

Clinical Geneticist (5 名) 臨床遺伝専門医
Laboratory Scientist (3 名) 臨床検査専門家
Genetic Counsellor 遺伝カウンセラー
Health care purchaser (3 名) コミッショナー
Public Health 公衆衛生担当者
Patient Group Representative 患者家族会
UKGTN Communications Manager UKGTN 職員
UKGTN Business and Corporate Support Officer

である。

③個々の患者に対する遺伝子診断の実施の実際 regional genetic center が NHS からの依頼に応じて遺伝学的検査を実施している。検査は単体で存在する訳でなく、総合的な医療管理の一部であることが重視されている。NHS の正式な検査として採用されるための要件は以下の通りである。① 疾患および検査が必要とされる状況の区別、②検査の目的と検査の対象となりうる患者集団の定義、③ 分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性、④ 医療管理を行う上で検査を行うことの意義についての記載。申請書の審査は毎年行われる。

患者にとって、どの遺伝子検査が必要かは、コミッショナーが検討した上で行われる。患者→ regional genetic center 患者主治医→施設の検