

201324049A

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）

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした
原因遺伝子変異データベースの構築

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター
松 田 文 彦

2014（平成 26）年 3 月

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）

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした
原因遺伝子変異データベースの構築

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター
松 田 文 彦

2014（平成 26）年 3 月

目 次

I. 本研究事業について	1
II. 研究班構成	2
III. 本事業のロードマップ	3
IV. 総括研究報告 難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした 原因遺伝子変異データベースの構築	5
研究代表者・松田 文彦（京都大学医学研究科・教授）	
V. 分担研究報告	
1. 辻 省次（東京大学医学系研究科・教授）	11
2. 松原 洋一（東北大学医学系研究科・教授）	14
3. 梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所・副所長）	18
4. 松本 直通（横浜市立大学医学研究科・教授）	20
5. 山田 亮（京都大学医学研究科・教授）	25
6. 日笠幸一郎（京都大学医学研究科・特定講師）	27
7. 寺尾知可史（京都大学医学研究科・特定助教）	30
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	33
VII. 学会発表に関する一覧表	41
VIII. 研究成果による特許等の知的財産権の出願・登録状況	45
IX. 研究成果の刊行物・別刷	47

I. 本研究事業について

ヒト疾患の解析に全ゲノムシーケンスが利用可能となったことで、稀少難治性疾患の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられるが、効率的な研究の実施、医科学的価値の高い成果の創出、患者の適切な診断治療において、疾患遺伝子情報を共有するシステムは不可欠である。本研究事業では「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」の拠点研究機関が連携して、疾患と関連する遺伝子変異情報を集約・共有するためのデータベースを構築することを目標とした。

厚労省「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）」の各研究拠点の代表者による運営委員会を早期に設立し、具体的に提供されるデータフォーマットの標準化、データ提供方法・時期、公開範囲、公開の時期等について検討したことにより、一般研究班との連携がスムーズに確立されただけでなく、各研究班の実務担当者による協議も進み、運営委員会で策定された事業計画と設計制度に沿って最終目標に至るまで円滑な事業の推進が達成され、2013年11月12日に遺伝子リファレンスライブラリデータベースの公開に至った (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>)。本データベースには、日本人遺伝子リファレンス情報（3,248人の健常者のSNP頻度情報、1,208検体のエクソーム解析情報）、稀少難治性疾患の遺伝子変異情報（12疾患、215変異）が収載され、公開から3ヶ月で70万回以上のアクセスを得ており、疾患ゲノム解析への関心の高さ、含まれるゲノム情報の有用性が証明された。

将来に向けて、本事業で得られた成果やバイオリソースなどを、研究者コミュニティが広く活用できるような仕組みを発展させることが重要である。今後は、様々な疾患でシーケンスデータを用いたゲノム関連解析が増加すると予測されるが、そのような研究の基盤として、日本人ゲノム変異データベースの検体数を増やすとともに、難病の遺伝子変異のデータベース登録を難病研究班にうながし、新たなデータの蓄積、機能の向上、維持管理などを継続的におこない、より充実したデータベースとすることが望まれる。本事業によって達成された大規模研究成果データベースの利活用により、疾患の原因変異究明プロセスのみならず、遺伝子情報に基づく質の高い「個の医療」が飛躍的に進展することを期待してやまない。

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター

松田 文彦

II. 研究班構成

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	松田文彦	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	センター長 教授
研究分担者	辻 省次	東京大学医学系研究科 東 経 内 科	教 授
	松原洋一	東北大学医学系研究科 遺 伝 病	教 授
	梅澤明弘	国立成育医療研究センター 研 究	副 所 長
	松本直通	横浜市立大学医学研究科 横 遺	教 授
	山田 亮	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	教 授
	日笠幸一郎	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	特 定 講 師
	寺尾知可史	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	特 定 助 教
研究協力者	岩田 岳	国立病院機構東京医療センター 臨床研究センター・分子細胞生物学部	部 長
	岩本幸英	九州大学医学研究院 整 形 外 科	教 授
	小崎健次郎	慶應義塾大学医学部 臨 床 遺 伝 学 セ ン タ	教 授
	小島 勢二	名古屋大学医学系研究科 小 児 科	教 授
	小室 一成	大阪大学医学系研究科 大 循 環 器 内 科	教 授
	高嶋 博	鹿児島大学医歯学総合研究科 鹿 経 病	教 授
	戸田 達史	神戸大学医学研究科 神 経 内 科	教 授
	西野 一三	国立精神・神経医療研究センター 神 経 研 究 所 ・ 疾 病 研 究 第 一 部	部 長
	長谷川奉延	慶應義塾大学医学部 小 児 科	教 授
	吉浦孝一郎	長崎大学医歯学総合研究科 人 類 遺 伝	教 授
	事務局	金澤雅美	606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53 京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター 電話：075-751-4157 Fax：075-751-4167 mkana@genome.med.kyoto-u.ac.jp
経理事務 担当	有井秀幸	606-8501 京都市左京区吉田近衛町 京都大学医学・病院構内共通事務部 経理・研究協力課 電話：075-753-4686 Fax：075-753-4347 igakukenko@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp	

Ⅲ. 本事業のロードマップ

大項目	実施項目	実施期間				中・長期的展望	
		2012 年度		2013 年度		2016 年度	2021 年度
組織構築・制度設計	運営委員会の設立と開催	■	■	■	■	<p>迅速で精度の高い診断技術の開発と診断キットの実用化</p> <p>集約された疾患情報を活用した精度の高い診断・予知と治療方針の決定</p> <p>多数の希少難治性疾患における日本人に固有の遺伝子変異情報の発信</p>	<p>遺伝情報を用いた確度の高い発症前診断と予防的介入による発症防止と遅延</p> <p>(希少難治性疾患における先制医療の実現)</p> <p>疾患の分子機構の解明に基づく治療法の開発と創薬</p>
	実務者会議の設立と開催	■	■	■	■		
	班会議・ワークショップの開催	■	■	■	■		
	事業計画策定(運営委員会)と細部検討(実務者会議)						
	データフォーマットの標準化、データ提供方法の検討	■	■				
	データ提供の時期、データの公開範囲の検討	■	■				
	公開データのフォーマット、公開時期の検討		■	■			
	データの試験的公開における問題点と改良点の検討			■	■		
	事業の進捗報告と事業計画の変更(必要に応じて)		■	■	■		
データベース構築	データベース設計						
	メタデータ・オントロジーの定義	■					
	データフォーマット定義と最適なフォーマット選定	■	■				
	データベーススキーマの設計	■	■				
	データベースの修正・機能付加・改訂			■	■		
	ウェブインターフェイス開発(閲覧・ダウンロード)	■	■				
	ウェブインターフェイスの改良			■	■		
データエントリー	各班からの疾患基礎情報の収集と蓄積	■	■				
	日本人リファレンス遺伝子情報の蓄積		■	■			
	難病関連遺伝子変異情報の蓄積			■	■		
情報の発信	ウェブページの立ち上げ	■					
	事業内容および研究班の活動内容の公開と更新		■	■			
	小規模データの試験的公開			■	■		
	日本人リファレンス遺伝子情報の公開				■	■	
	難病関連遺伝子変異情報の公開				■	■	

IV. 総括研究報告

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))
総括研究報告書

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした
原因遺伝子変異データベースの構築

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

研究要旨

ヒト疾患の解析に全ゲノムシーケンスが利用可能となったことで、稀少難治性疾患の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられるが、効率的な研究の実施、医科学的価値の高い成果の創出、患者の適切な診断治療においては、疾患原因遺伝子情報を共有するシステムの構築が不可欠である。本年度は、研究施設間の緊密な連携のもと、日本人遺伝子リファレンス情報(3,248人の健常者のSNP頻度情報、1,208検体のエクソーム解析情報)、稀少難治性疾患の遺伝子変異情報をデータベースに集約し公開した。公開から3ヶ月で71万回のアクセスを記録しており、収載したゲノム情報の有用性が証明された。また、本データベースの長期的維持・管理体制を整備した。

A. 研究目的

難病の研究や診断治療において、全ゲノムシーケンスを利用した原因遺伝子の探索は極めて強力なアプローチである。平成23年度より「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」が開始されたことで、従来とは比較にならない量の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられる。そういった情報を公開・共有することは、重複を回避した効率的な研究の実施と、さらなる医学的価値の高い成果の創出に不可欠であり、患者の適切な診断治療にも欠かせない。しかし、疾患遺伝子解析研究で収集した臨床情報や解析された遺伝子情報を全国で統一的に管理・運用するナショナルデータベースは、これまでに構築されていない。本事業では、稀少難治性疾患研究拠点間の連携で、難病の発症や予後等に関連する遺伝子変異情報を集約したデータベースを構築し、蓄積した情報を広く公開することで、科学的価値の高い成果を創造し、精度の高い診断、迅速な治療方針の決定による質の高い「個の医療」の実現に資することを目標とする。

B. 研究方法

拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、厚労省「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難治性疾患克服関連分野)」の各研究班に検体が集積された疾患を対象に、遺伝子リファレンスライブラリーの構築を以下のように実施する。

組織構築・制度設計

- 1)運営委員会でルール作りを進め、適宜修正・改訂を行う。本事業終了後のデータベースの維持・管理についても意見交換を行う。現時点ではバイオサイエンスデータベースセンターへの移築を想定している。
- 2)実務者会議では、引き続き現状の問題点の集約・改善方法の検討を行い、運営委員会との緊密な連携で質の向上に務める。

データベース構築

- 1)データ公開に向けた準備を整える。運営委員会で決定したデータ公開範囲に応じてウェブページを作成し、小規模データの試験的な公開を経て意見を集約し、正規版を作成する。
- 2)データ公開範囲に則った形にデータを出力するべく、データベースの修正・更新を実施する。

データエントリー

- 1)引き続き日本人集団のゲノム変異情報の格納を行い、年度半ば完了を目指し情報を充実させる。
- 2)難病患者における原因遺伝子の突然変異の遺伝型や遺伝子塩基配列の情報の格納を実施する。

情報の発信

年度後半を目途に、運営委員会の定めた公開範囲のデータをセキュリティに十分配慮したうえでウェブページから一般公開する。

また当該疾患の研究に資するように、ウェブページから必要情報（例えば各疾患における遺伝子変異情報）が一括ダウンロード可能にする。

バイオサイエンスデータベースセンター（NBDC）との連携

稀少難治性疾患研究で得られた解析生データは、原則として NBDC を通して研究者に情報提供するが、本事業では日本人集団のゲノム変異の頻度情報、難病の突然変異情報に限定して公開する。運営委員会は、NBDC と緊密な連携体制を構築し、データフォーマットなどに関しては、本事業の独自規格でなく、NBDC が定義するオントロジーやスキーマとも整合を図りながら可能な限り標準的な規格を構築し、データの再利用を高める。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学倫理委員会の承認を得て実施する。エクソーム解析や全ゲノムシーケンスなど網羅性の高いデータを扱うことから、データの公開・共有にあたっては、インフォームドコンセントで同意が得られているもののみとし、それに応じて公開レベルを設けるなど、十分に配慮する。共同研究機関においては、各機関の倫理委員会で承認を得たプロトコルに基づいた解析情報のみを利用し、データベースへは、匿名化された情報のみを受領する。日本人レファレンスパネルとして用いる「ながはまプロジェクト」の網羅的ゲノム多型情報は、国の倫理指針に基づき、独自に策定した「ながはまルール」（長浜市で条例化済み）に則って利用する。当該ルールは、京都大学の倫理審査委員会、ならびにながはまプロジェクト事業審査会の承認を得ている。参加者からは書面による包括同意を得ており、個人情報は二重匿名化している。

C. 研究結果

研究拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、各研究班に蓄積された遺伝子変異情報を対象に情報を集約し、遺伝子リファレンスライブラリーの構築を以下のように実施した。

組織構築・制度設計

1) 昨年度実施した研究拠点の代表者による運営委員会に引き続き、以下の2回の連絡会議を実施し、事業計画策定と制度設計を進めた。提供されるデータフォーマットの標準化、

データ提供方法・時期、公開範囲、公開の時期等について検討した。

- ・2013年2月9日、京都大学東京オフィス
- ・2013年2月21日、京都大学東京オフィス

2) 研究代表者、研究分担者および一般研究班の連携協力者の参加による関係者会議を昨年度同様に、年2回開催し、各研究班の実務担当者による協議を進行、運営委員会で策定された計画に沿って事業を推進した。また、同日に研究成果進捗報告を兼ねた一般公開ワークショップを開催し、研究内容・意義についての幅広い普及に努めた。

・「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成25年度第1回ワークショップ

2013年8月24日、京都大学芝蘭会館稲盛ホール

・「次世代遺伝子解析装置を用いた難病の原因究明、治療法開発プロジェクトの成果発表会」公開シンポジウム

2013年7月13日、都市センターホテルコスモスホール

データベース構築

1) データベースの機能や利用におけるインターフェイスの利便性について評価を得るため、2013年2月からセキュリティに細心の注意を払いつつ研究分担者、連携研究者を対象に限定的に公開し、フィードバックされた情報を集約してデータベースの改良と機能の追加を行った。

2) データベース及びインターフェイスの改良と全データエントリー登録を完了した2013年11月12日に、遺伝子リファレンスライブラリデータベース（Human Genetic Variation Database : HGVD）を公開し、幅広く情報を配信した。

（<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB>）

データエントリー

1) 日本人集団のゲノム変異情報の集約を実施した。具体的には、SNP アレイを用いたゲノムスキニング法により得られた3,248人の健常者の一塩基多型頻度情報の標準化を行い、データベースに蓄積した。次世代シーケンサーによる日本人ゲノム変異情報については、研究分担者から提供されたデータも含め、計1,208検体のエクソームシーケンス情報より多種多様なゲノム変異情報を抽出し、それらの頻度情報を集約してデー

データベースへ蓄積した。また当該疾患の研究に資するため、ウェブページから必要情報（染色体位置、頻度情報、遺伝子情報等）が一括ダウンロード可能にした。

2)エクソーム解析を実施した DNA 検体 300 例については、ゲノムスキニング法による一塩基多型情報、及び、発現解析アレイによる末梢血 RNA からの遺伝子発現量情報を収集した。これらの情報をもとに、遺伝子多型と発現量との関連解析（eQTL 解析）を実施し、結果をデータベースに登録した。当初は、この解析結果をデータベースに加えることを想定していなかったが、エクソーム解析で見出された新規のゲノム変異の機能的役割を解釈する上で有用な付加価値情報となるため、事業計画に加えた。

3)ゲノム解析によって同定された疾患と関連する遺伝子変異情報を集約・共有するために、各研究班が連携してデータベースを構築し、難病の原因となる日本人特異的な遺伝子変異の情報提供を受けてデータベースに蓄積し、12 疾患、215 変異の登録が完了した。また、変異データ登録システムを設計、構築、公開し、様々な研究施設からのデータ受け入れ態勢を整えた。今後、少なくとも 35 遺伝子、600 変異のデータが登録される予定である。

情報の発信

データベースの公開に先立ち、本事業のウェブページ

(<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/IntractableDiseases>)

を立ち上げ、プロジェクトの概要・目的・研究計画、及び、各研究班の研究内容に関する情報を発信した。データベース公開時には、記者会見をおこない、情報の周知に努めた。また、国際連携については、運営委員会で検討しながら諸外国との連携体制を構築した。

バイオサイエンスデータベースセンター (NBDC) との連携

昨年度に引き続き、以下の日程で開催された、NBDC 運営委員会データ共有分科会に参加し、データの公開・共有にともなうガイドラインの策定について意見交換を実施した。また、データフォーマットの規格化、NBDC が定義するオントロジーやスキーマとの整合性についての議論を行い、標準的な規格の策定を進め、本データベースの長期的維持・管理体制を整えた。

・2013 年 11 月 1 日、実務者会議、JST 東京本部

D. 考察

運営委員会で策定された事業計画と設計制度に沿って最終目標に至るまで円滑な事業の推進が達成され、2013 年 11 月 12 日に遺伝子リファレンスライブラリデータベースの公開に至った。本データベースは、公開から 3 ヶ月で 717,654 回のアクセスを得ており、疾患ゲノム解析への関心の高さ、含まれるゲノム情報の有用性が証明された。今後、様々な疾患でエクソーム関連解析が増加すると予測されるが、そのような研究の基盤として、さらに検体数・情報量をふやし、データベースの価値を高めることが重要である。

日本人健常者集団のゲノム変異情報の集積は、3,248 人の健常者の一塩基多型頻度情報に加え、1,208 検体のエクソーム解析による各種ゲノム変異の頻度情報の蓄積し、ゲノム上の遺伝子をコードする領域に存在する、日本人の標準的な遺伝子情報とその正常なバリエーションを明らかにした。このデータベースを研究者が活用することによって、日本人での遺伝病の原因遺伝子の発見や、見出された変異が疾患発症に関わる可能性の評価・解釈、種々の病気になりやすい遺伝的体質の解明が大きく進展するものと期待される。これらの情報に加えて、新規に同定された遺伝子変異の機能的役割を解釈する上で付加価値の高い、遺伝子変異と遺伝子発現量の関連解析（eQTL）情報を加えることができた。ゲノムワイド関連解析等で同定された疾患関連変異について、機能的な解釈を考察するうえでも、重要なリソースである。これにより本研究事業で構築されるデータベースがさらに利用価値の高いものとなり、目標以上にデータベースの内容を充実させることができたと考えている。

本データベースに登録した 288,025 個の遺伝子変異のうち、156,622 個 (54.4%) は、欧米の既存のデータベースには存在しない日本人特異的な新たな変異であり、そのうち 88.6% は、日本人集団における頻度が 0.5% 以下の低頻度変異であった。また、95,020 個 (60.7%) のバリエーションはアミノ酸変化を伴い、タンパク質の機能に影響を与える変異であったことから、これらの日本人特異的ゲノム変異は、遺伝子の機能に関わる重要な変異の可能性が高く、難病に関連する遺伝子変異の効率的な探索に有用なリソースで

ある。

バイオサイエンスデータベースセンター (NBDC) 運営委員会との定期的会議により、提供するデータフォーマットの策定を進め、事業終了後のデータベースの長期的維持と管理体制を整えることができた。

E. 結論

研究拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、運営委員会で策定された事業計画と制度設計に沿って計画通りに事業を推進し、2013年11月12日に遺伝子リファレンスライブラリーデータベースを公開した。本データベースの利活用により、疾患の原因変異究明のプロセスが飛躍的に向上することが期待できる。今後、日本人ゲノム変異データベースの検体数を増やすとともに、難病の遺伝子変異のデータベース登録を難病研究班にうながし、新たなデータの蓄積、機能の向上、維持管理などを継続的におこない、より充実したデータベースとすることが重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Okada, Y., Wu, D., Trynka, G., Raj, T., Terao, C., Ikari, K., Kochi, Y., Ohmura, K., Suzuki, A., Yoshida, S., Graham, R. R., Manoharan, A., Ortmann, W., Bhangale, T., Denny, J. C., Carroll, R. J., Eyler, A. E., Greenberg, J. D., Kremer, J. M., Pappas, D. A., Jiang, L., Yin, J., Ye, L., Su, D. F., Yang, J., Xie, G., Keystone, E., Westra, H. J., Esko, T., Metspalu, A., Zhou, X., Gupta, N., Mirel, D., Stahl, E. A., Diogo, D., Cui, J., Liao, K., Guo, M. H., Myouzen, K., Kawaguchi, T., Coenen, M. J. H., van Riel, P. L. C. M., van de Laar, M. A. F. J., Guchelaar, H. J., Huizinga, T. W. J., Dieude, P., Mariette, X., Bridges Jr, S. L., Zhernakova, A., Toes, R. E. M., Tak, P. P., Miceli-Richard, C., Bang, S. Y., Lee, H. S., Martin, J., Gonzalez-Gay, M. A., Rodriguez-Rodriguez L., Rantapaa-Dahlqvist, S., Arlestig, L., Choi, H. K., Kamatani, Y., Galan, P., Lathrop, M., the RACI consortium, the GARNET consortium, Eyre, S., Bowes, J., Barton, A., de Vries, N., Moreland, L. W., Criswell, L. A., Karlson, E. W., Taniguchi, A., Yamada, R., Kubo, M., Liu, J. S., Bae, S. C., Worthington, J., Padyukov, L., Klareskog, L., Gregersen, P. K., Raychaudhuri, S., Stranger, B. E., De Jager, P. L., Franke, L., Visscher, P. M., Brown, M. A., Yamanaka, H., Mimori, T., Takahashi, A., Xu, H., Behrens, T. W., Siminovitch, K. A., Momohara, S., Matsuda, F., Yamamoto, K. and Plenge, R. M. (2014) Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* **506**, 376-381.
2. Tanaka, K., Terao, C., Ohmura, K., Takahashi, M., Nakashima, R., Imura, Y., Yoshifuji, H., Yukawa, N., Usui, T., Fujii, T., Mimori, T. and Matsuda, F. (2014) Significant association between *CYP3A5* polymorphism and blood concentration of tacrolimus in patients with connective tissue diseases. *J. Hum. Genet.* **59**, 107-109.
3. Yamamoto, H., Higasa, K., Sakaguchi, M., Shien, K., Soh, J., Ichimura, K., Furukawa, M., Hashida, S., Tsukuda, K., Takigawa, N., Matsuo, K., Kiura, K., Miyoshi, S., Matsuda, F. and Toyooka, S. (2013) Novel germline mutation in the transmembrane domain of HER2 in familial lung adenocarcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.* Dec 7. [Epub ahead of print]
4. Oishi, M., Yamashiro, K., Miyake, M., Akagi-Kurashige, Y., Kumagai, K., Nakata, I., Nakanishi, H., Yoshikawa, M., Oishi, A., Gotoh, N., Tsujikawa, A., Yamada, R., Matsuda, F. and Yoshimura, N. (2013) Association between ZIC2, RASGRF1, and SHISA6 genes and high myopia in Japanese subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* **54**, 7492-7497.
5. Cheng, C.Y., Schache, M., Ikram, M.K., Young, T.L., Guggenheim, J.A., Vitart, V., Macgregor, S., Verhoeven, V.J., Barathi, V.A., Liao, J., Hysi, P.G., Bailey-Wilson, J.E., St Pourcain, B., Kemp, J.P., McMahon, G., Timpson, N.J., Evans, D.M., Montgomery, G.W., Mishra, A., Wang, Y.X., Wang, J.J., Rohtchina, E., Polasek, O., Wright, A.F., Amin, N., van Leeuwen, E.M., Wilson, J.F.,

- Pennell, C.E., van Duijn, C.M., de Jong, P.T., Vingerling, J.R., Zhou, X., Chen, P., Li, R., Tay, W.T., Zheng, Y., Chew, M.; Consortium for Refractive Error and Myopia, Burdon, K.P., Craig, J.E., Iyengar, S.K., Igo, R.P. Jr., Lass, J.H. Jr.; The Fuchs' Genetics Multi-Center Study Group, Chew, E.Y., Haller, T., Mihailov, E., Metspalu, A., Wedenoja, J., Simpson, C.L., Wojciechowski, R., Höhn, R., Mirshahi, A., Zeller, T., Pfeiffer, N., Lackner, K.J.; Wellcome Trust Case Control Consortium 2, Bettecken, T., Meitinger, T., Oexle, K., Pirastu, M., Portas, L., Nag, A., Williams, K.M., Yonova-Doing, E., Klein, R., Klein, B.E., Hosseini, S.M., Paterson, A.D.; Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions, and Complications Research Group, Makela, K.M., Lehtimäki, T., Kahonen, M., Raitakari, O., Yoshimura, N., Matsuda, F., Chen, L.J., Pang, C.P., Yip, S.P., Yap, M.K., Meguro, A., Mizuki, N., Inoko, H., Foster, P.J., Zhao, J.H., Vithana, E., Tai, E.S., Fan, Q., Xu, L., Campbell, H., Fleck, B., Rudan, I., Aung, T., Hofman, A., Uitterlinden, A.G., Bencic, G., Khor, C.C., Forward, H., Pärssinen, O., Mitchell, P., Rivadeneira, F., Hewitt, A.W., Williams, C., Oostra, B.A., Teo, Y.Y., Hammond, C.J., Stambolian, D., Mackey, D.A., Klaver, C.C., Wong, T.Y., Saw, S.M. and Baird, P.N. (2013) Nine loci for ocular axial length identified through genome-wide association studies, including shared loci with refractive error. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 264-277.
6. Nakata, I., Yamashiro, K., Kawaguchi, T., Gotoh, N., Nakanishi, H., Akagi-Kurashige, Y., Miyake, M., Tsujikawa, A., Oishi, A., Saito, M., Iida, T.; The Nagahama Cohort Research Group, Yamada, R., Matsuda, F. and Yoshimura, N. (2013) Association between the cholesteryl ester transfer protein gene and polypoidal choroidal vasculopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **54**, 6068-6073.
7. Terao, C., Bayoumi, N., McKenzie, C. A., Zelenika, D., Muro, S., Mishima, M.; The Nagahama Cohort Research Group, Connell, J. M., Vickers, M. A., Lathrop, G. M., Farrall, M., Matsuda, F. and Keavney, B. D. (2013) Quantitative variation in plasma angiotensin-I converting enzyme activity shows allelic heterogeneity in the ABO blood group locus. *Ann. Hum. Genet.* **77**, 465-471.
8. Terao, C., Yoshifuji, H., Kimura, A., Matsumura, T., Ohmura, K., Takahashi, M., Shimizu, M., Kawaguchi, T., Chen, Z., Naruse, T. K., Sato-Otsubo, A., Ebana, Y., Maejima, Y., Kinoshita, H., Murakami, K., Kawabata, D., Wada, Y., Narita, I., Tazaki, J., Kawaguchi, Y., Yamanaka, H., Yurugi, K., Miura, Y., Maekawa, T., Ogawa, S., Komuro, K., Nagai, R., Yamada, R., Tabara, Y., Isobe, M., Mimori, T. and Matsuda, F. (2013) Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 289-297.
9. Plenge, R. M., Greenberg, J. D., Mangravite, L. M., Derry, J. M., Stahl, E. A., Coenen, M. J., Barton, A., Padyukov, L., Klareskog, L., Gregersen, P. K., Mariette, X., Moreland, L. W., Bridges, S. L. Jr, de Vries, N. Huizinga, T. W. Guchelaar, H. J., International Rheumatoid Arthritis Consortium (INTERACT), Friend, S. H. and Stolovitzky, G. (2013) Crowdsourcing genetic prediction of clinical utility in the Rheumatoid Arthritis Responder Challenge. *Nat. Genet.* **45**, 468-469.
10. Cui, J., Stahl, E. A., Saevarsdottir, S., Miceli, C., Diogo, D., Trynka, G., Raj, T., Mirkov, M. U., Canhao, H., Ikari, K., Terao, C., Okada, Y., Wedrén, S., Askling, J., Yamanaka, H., Momohara, S., Taniguchi, A., Ohmura, K., Matsuda, F., Mimori, T., Gupta, N., Kuchroo, M., Morgan, A. W., Isaacs, J. D., Wilson, A. G., Hyrich, K. L., Herenius, M., Doorenspleet, M. E., Tak, P. P., Crusius, J. B., van der Horst-Bruinsma, I. E., Wolbink, G. J., van Riel, P. L., van de

- Laar, M., Guchelaar, H. J., Shadick, N. A., Allaart, C. F., Huizinga, T. W., Toes, R. E., Kimberly, R. P., Bridges, S. L. Jr., Criswell, L. A., Moreland, L. W., Fonseca, J. E., de Vries, N., Stranger, B. E., De Jager, P. L., Raychaudhuri, S., Weinblatt, M. E., Gregersen, P. K., Mariette, X., Barton, A., Padyukov, L., Coenen, M. J., Karlson, E. W. and Plenge, R. M. (2013) Genome-wide association study and gene expression analysis identifies CD84 as a predictor of response to etanercept therapy in rheumatoid arthritis. *PLoS Genet.* **9**, e1003394.
11. Jia, W. H., Zhang, B., Matsuo, K., Shin, A., Xiang, Y. B., Jee, S. H., Kim, D. H., Ren, Z., Cai, Q., Long, J., Shi, J., Wen, W., Yang, G., Delahanty, R. J. Colon Cancer Family Registry (CCFR), Ji, B. T., Pan, Z. Z., Matsuda, F., Gao, Y. T., Oh, J. H., Ahn, Y. O., Park, E. J., Li, H. L., Park, J. W., Jo, J., Jeong, J. Y., Hosono, S., Casey, G., Peters, U., Shu, X. O., Zeng, Y. X., Zheng, W. Genetics and Epidemiology of Colorectal Cancer Consortium (GECCO). (2013) Genome-wide association analyses in East Asians identify new susceptibility loci for colorectal cancer. *Nat. Genet.* **45**, 191-196.
2. 学会発表
1. Matsuda, F. Genomic analysis of immune-related diseases using GWAS and WES. The Second Kyoto Symposium on Bioinformatics for Next Generation Sequencing with Applications in Human Genetics, (Kyoto, Japan), March 14, 2014.
 2. Matsuda, F. Genome-wide association studies in IgG4-RD. Second International Symposium on IgG4 and Related Diseases, (Honolulu, USA), February 18, 2014.
 3. Matsuda, F. The Nagahama Study as a model for the comprehensive human bioscience. Kyoto Symposium on Bioinformatics for Next Generation Sequencing with Application in Human Genetics, (Kyoto, Japan), January 19, 2013.
 4. 松田文彦 地域に根ざした新時代の予防医学の試み 2013 年度ソニー／医科歯科クリニカルサミット 東京医科歯科大学鈴木記念講堂（東京）2013 年 8 月 20 日
 5. 松田文彦 ヒト生命情報統合研究とゲノムコホート 第 20 回日本遺伝子診療学会大会教育講演 アクトシティ浜松コンgresセンター（浜松）2013 年 7 月 20 日
 6. 松田文彦 難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした原因遺伝子変異データベースの構築 日本予防医学協会医療と健康のシンポジウム 全国社会保険協会連合会研修センター（東京）2013 年 3 月 20 日
 7. 松田文彦 ヒト生命情報統合研究とその情報基盤 大阪大学蛋白研究所セミナー「ビッグデータ時代に向けた医療データベース」大阪大学中之島センター（大阪）2013 年 3 月 8 日
 8. 松田文彦「分子を通して自分の健康をながめる～ながはま 0 次コホート研究と次世代の予防医療～」いわて東北メディカル・メガバンク機構発足記念シンポジウム 岩手医科大学矢巾キャンパス（矢巾）2013 年 2 月 2 日
- 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

V. 分担研究報告

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))
分担研究報告書

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした
原因遺伝子変異データベースの構築
“日本人における変異データベースの構築”

研究責任者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦
研究分担者：東京大学医学部附属病院・教授 辻 省次

研究要旨

日本人健常者 373 例を含む 2,264 例のエクソーム解析のデータを用いて、文献的に定義された、医療上介入可能な病原性変異の頻度について検討した。病原性変異の解釈は、文献を含め既存の情報の多寡に大きく依存する。日本人における遺伝子診断の質を高めるためには、疾患患者と変異情報の蓄積と集約が必須である。

A. 研究目的

エクソーム解析、全ゲノム解析により、迅速かつ網羅的な遺伝子解析・遺伝子診断が可能となり、希少難治性疾患への適用が進んでいる。一方、遺伝子診断の文脈で網羅的なゲノム解析を行う際、偶発的に発見され得る医療上介入可能な病原性変異をどのように取り扱うかについて議論がされている。

NHLBI の exome sequencing project からランダムに抽出された 1,000 例のエクソームデータを用いて、疾患関連遺伝子 114 遺伝子について、病原性変異の有無を検索した既報告があり (Am J Hum Genet 2013; 93: 631-40)、ヨーロッパ系アメリカ人の 3.4%、アフリカ系アメリカ人の 1.2% に医療上介入可能な病原性変異が観察されている。

我々は、日本人集団における医療上介入可能な病原性変異の頻度を検討するため、既報告と同じ基準を用いて、日本人 2,264 例(健常者 373 例, 神経疾患患者 1,891 例)のエクソーム解析のデータを対象に頻度について検討した。

B. 研究方法

エクソーム解析、全ゲノム解析の施行の同意が得られている健常者・神経疾患患者の検体に対して、集団内の変異頻度情報を検索することについて、過去検体を含めて東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得た。

日本人 2,264 例 (健常者 373 例, 神経疾患患者 1,891 例) のエクソーム解析のデータ

を検索の対象にした。

キャプチャーは Agilent 社 SureSelect v4+UTR または v5+UTR キットを用いて翻訳領域、UTR 領域を中心に濃縮し、Illumina 社 HiSeq2000/2500 を用いてシーケンスを行った。参照配列は hg19 を用いて、BWA によりアライメントを行い、Samtools により変異のコールを行った。

既報告 (Am J Hum Genet 2013; 93: 631-40) でリストされた疾患関連遺伝子 114 遺伝子における翻訳領域内の非同義性の一塩基置換変異を対象とし、HGMD (Human Gene Mutation Database) に登録されている変異を抽出したうえで、それぞれの変異の病原性について検討した。

病原性の解釈については、以下に述べる既報告 (Am J Hum Genet 2013; 93: 631-40) の基準に従った。

「pathogenic mutation」: HGMD に登録されている変異の中で、文献情報を含めて以下の要件を満たす変異

- ・アレル頻度が 0.5%以下

かつ

- ・血縁のない 2 家系で共分離を確認

または

- ・1 家系で共分離し、少なくとも 3 例の血縁のない発症者で確認

または

- ・1 家系で共分離し、少なくとも 1 例の発症者が de novo であることを確認

または

- ・null 変異が病原性と知られている遺伝子における null 変異

「likely pathogenic mutation」: HGMD

に登録されている変異の中で、文献情報を含めて以下の要件を満たす変異

- ・アレル頻度が 0.5%以下
かつ

少なくとも 3 例の血縁のない発症者で確認

- ・1 家系で共分離を確認
または

・少なくとも 1 例の発症者が de novo であることを確認

(倫理面への配慮)

本研究については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会からの承認を受けて実施した。

C. 研究結果

既報告 (Am J Hum Genet 2013; 93: 631-40) でリストされた疾患関連遺伝子 114 遺伝子において、HGMD に登録のある変異は 390 種類得られた。これらの変異について文献情報を用いて、病原性変異の解釈を行った結果、13 種類の変異が pathogenic/likely pathogenic のカテゴリーに属し、2,264 例中 20 例 (0.9%) に認められた。

D. 考察

日本人 2,264 例 (健常者 373 例, 神経疾患患者 1,891 例) における pathogenic/ likely pathogenic mutation の頻度は 0.9%であった。既報告 (Am J Hum Genet 2013; 93: 631-40) におけるヨーロッパ系アメリカ人の 3.4%, アフリカ系アメリカ人の 1.2%と比べるとやや低い傾向があるが、一定の割合で存在することが分かった。これは、既知の pathogenic/likely pathogenic mutation が、アメリカ人で記載されたものが多いことを反映している可能性がある。

E. 結論

病原性変異の解釈は、文献を含め既存の情報の多寡に大きく依存する。次世代シーケンサーの普及により、データベースに登録されていない変異が見出された場合に、その解釈が困難な場合が少なくない (variants of unknown significance)。日本人における遺伝子診断の質を高めるためには、疾患患者と変異情報の蓄積と集約が必

須である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mitsui, J., Matsukawa, T., Ishiura, H., Mitsui, J., Matsukawa, T., Ishiura, H., Fukuda, Y., Ichikawa, Y., Date, H., Ahsan, B., Nakahara, Y., Momose, Y., Takahashi, Y., Iwata, A., Goto, J., Yamamoto, Y., Komata, M., Shirahige, K., Hara, K., Kakita, A., Yamada, M., Takahashi, H., Onodera, O., Nishizawa, M., Takashima, H., Kuwano, R., Watanabe, H., Ito, M., Gen, S., Sobue, G., Soma, H., Yabe, I., Sasaki, H., Aoki, M., Ishikawa, K., Mizusawa, H., Kanai, K., Hattori, T., Kuwabara, S., Arai, K., Koyano, S., Kuroiwa, Y., Hasegawa, K., Yuasa, T., Yasui, K., Nakashima, K., Ito, H., Hananosato, M.V., Izumi, Y., Kaji, R., Kato, T., Kusunoki, S., Osaki, Y., Horiuchi, M., Kondo, T., Murayama, S., Hattori, N., Yamamoto, M., Murata, M., Satake, W., Toda, T., Dürr, A., Brice, A., Filla, A., Klockgether, T., Wüllner, U., Nicholson, G., Gilman, S., Shults, C.W., Tanner, C.M., Kukull, W.A., Lee, V.M., Parkinson, U., Masliah, E., Low, P.A., Sandroni, P., Trojanowski, J.Q., Parkinson, U., Ozelius, L., Foroud, T., Tsuji, S. (2013) Mutations in COQ2 in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N. Engl. J. Med.* 369, 233-244.
2. Isojima, T., Doi, K., Mitsui, J., Oda, Y., Tokuhira, E., Yasoda, A., Yorifuji, T., Horikawa, R., Yoshimura, J., Ishiura, H., Morishita, S., Tsuji, S., Kitanaka, S. (2014) A recurrent de novo FAM111A mutation causes kenny-caffey syndrome type 2. *J. Bone Miner. Res.* 29, 992-998.
3. Takahashi, Y., Fukuda, Y., Yoshimura, J., Toyoda, A., Kurppa, K., Moritoyo, H., Belzil, V.V., Dion, P.A., Higasa, K., Doi, K., Ishiura, H., Mitsui, J., Date, H., Ahsan, B., Matsukawa, T., Ichikawa, Y., Moritoyo, T., Ikoma, M., Hashimoto, T., Kimura, F., Murayama, S., Onodera, O., Nishizawa, M., Yoshida, M., Atsuta, N., Sobue, G:

- JaCALS, Fifita, J.A., Williams, K.L., Blair, I.P., Nicholson, G.A., Gonzalez-Perez, P., Brown, R.H. Jr., Nomoto, M., Elenius, K., Rouleau, G.A., Fujiyama, A., Morishita, S., Goto, J., Tsuji, S. (2013) ERBB4 mutations that disrupt the Neuregulin-ErbB4 pathway cause amyotrophic lateral sclerosis type 19. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 900-905.
4. Doi, K., Monjo, T., Hoang, P.H., Yoshimura, J., Yurino, H., Mitsui, J., Ishiura, H., Takahashi, Y., Ichikawa, Y., Goto, J., Tsuji, S., Morishita, S. (2014) Rapid detection of expanded short tandem repeats in personal genomics using hybrid sequencing. *Bioinformatics* **30**, 815-822.
5. Ishiura, H., Takahashi, Y., Hayashi, T., Saito, K., Furuya, H., Watanabe, M., Murata, M., Suzuki, M., Sugiura, A., Sawai, S., Shibuya, K., Ueda, N., Ichikawa, Y., Kanazawa, I., Goto, J., Tsuji, S. (2014) Molecular epidemiology and clinical spectrum of hereditary spastic paraplegia in the Japanese population based on comprehensive mutational analyses. *J. Hum. Genet.* **59** 163-172.
6. Shimazaki, H., Honda, J., Naoi, T., Namekawa, M., Nakano, I., Yazaki, M., Nakamura, K., Yoshida, K., Ikeda, S.I., Ishiura, H., Fukuda, Y., Takahashi, Y., Goto, J., Tsuji, S., Takiyama, Y. (2014) Autosomal-recessive complicated spastic paraplegia with a novel lysosomal trafficking regulator gene mutation. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* (in press).
7. Yamada, M., Tanaka, M., Takagi, M., Kobayashi, S., Taguchi, Y., Takashima, S., Tanaka, K., Touge, T., Hatsuta, H., Murayama, S., Hayashi, Y., Kaneko, M., Ishiura, H., Mitsui, J., Atsuta, N., Sobue, G., Shimozawa, N., Inuzuka, T., Tsuji, S., Hozumi, I. (2014) Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan. *Neurology* (in press).
2. 三井純、辻省次 パーソナルゲノム解析が医療を変貌させる 第85回日本遺伝学会市民公開講座 慶應義塾大学日吉キャンパス(横浜) 2013年9月21日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

2. 学会発表

1. 三井純、後藤順、辻省次 エクソーム解析による遺伝的異質性の高い疾患に対する遺伝子検査 第20回日本遺伝子診療学会 アクトシティ浜松(浜松) 2013年7月19日

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))
分担研究報告書

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした
原因遺伝子変異データベースの構築
“次世代シーケンサーを用いた希少遺伝性難病病因遺伝子の探索”

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦
研究分担者：東北大学大学院医学系研究科・教授 松原 洋一

研究要旨

次世代シーケンサーの導入によって、欧米の研究室を中心に希少遺伝性難病の原因遺伝子が次々と解明されつつある。日本国内の研究体制を整備し解析拠点を構築することが急務である。本研究の目的は、東北大学の次世代遺伝子解析コア施設を活用した希少遺伝性疾患解明の拠点施設を構成し、国内の一般研究班と連携して病因遺伝子同定を行うことにある。すでに昨年までの研究によって次世代遺伝子解析のパイプラインが整備され、そのシステムを用いて種々の病因遺伝子探索が進行中である。これまでに神経器疾患、先天奇形、呼吸器疾患、消化器疾患、先天代謝異常症、皮膚疾患、眼疾患、血液疾患などを有する患者より得られた検体について 302 エクソームを解析した。そのうちの数疾患において新規病因遺伝子を同定し論文として報告した。また、既知の病因遺伝子が同定されたものも存在した。

A. 研究目的

次世代シーケンサーの導入によって、欧米の研究室を中心に希少遺伝性難病の原因遺伝子が次々と解明されつつある。日本国内の研究体制を整備し解析拠点を構築することが急務である。

東北大学では、代表研究者の研究室を中心に過去 30 年にわたり一貫して希少遺伝性難病の原因遺伝子の同定、病態解明、治療法開発に成果を挙げてきた。また、難治性疾患克服研究事業の支援を得た研究の成果を患者家族に還元してきた。このような背景を元に、東北大学医学部では次世代遺伝子解析コア施設を計画し、専任のバイオインフォマティクス研究者と技術補佐員とともに整備をすすめてきた。

本分担研究の目的は、東北大学の次世代遺伝子解析コア施設を活用した希少遺伝性疾患解明の拠点施設を構成した上で、データベース構築に必要な、疾患と関連する遺伝子変異情報を収集することである。

B. 研究方法

1) 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析システム

東北大学に設置された SOLiD4, GAIIX, HiSeq2000, MiSeq の機器を用いて次世代遺伝子解析を実施した。得られたデータの

情報解析は図 1 のようなプロトコールに従って実施した。パイプライン開発、性能評価を行った。



最終的な結果はエクセル形式で一覧できるようにし、臨床家にとっても解析がしやすいフォーマットとした。

2) 全国の難治性疾患克服研究事業研究班からの検体収集と東北大学における遺伝子解析

拠点施設として、全国の研究班からの臨床検体を受託して解析をおこなった。検体依頼があった施設を日本地図上にプロットしたものを示す。北海道から九州までの広

範囲の地域から臨床検体が寄せられた。これらの症例や家系について、臨床的な評価、これまでの遺伝子解析状況を検討し、必要に応じてマイクロアレイ解析による遺伝子欠失・重複の検索、SNPを用いた連鎖解析をおこなったうえで、次世代遺伝子解析を実施した。



3) デスクトップ型次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断システムの構築

Agilent 社 Haloplex と Illumina 社の次世代シーケンサー Miseq を用いておこなった。

(倫理面への配慮)

本研究は3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。

C. 研究結果

1) 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析

本年度は前年度に加え147サンプルの解析を行った。計302サンプル(神経筋疾患41例、呼吸器疾患24例、消化器疾患15例、血液疾患8例、先天奇形55例、先天代謝異常症10例、眼疾患5例、皮膚疾患10例、腎疾患8例、患者の血縁者等健常人126例)、38ランのエキソームデータを解析し、疾患に関連すると考えられる変異を同定した。一部については共同研究者が論文発表を行い、残りのものについては変異リストの検証、疾患との関連についての詳細な解析を進めている。解析結果の中で最も重要となる変異リストについては、共同研究者からのフィードバックに基づき必要な情報の追加、表示形式の変更を随時行った。

平成25年度に解析を開始した12疾患

のうち、新規病因候補遺伝子が同定されたものは1疾患、既知の病因遺伝子が同定されたものが3疾患となっており、8疾患では解析を終了し原因候補変異の絞り込みを行っている。また、健常人38例のエキソームデータを Human genetic variation browser

(<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) に登録した。

2) 遺伝子診断のためのデスクトップ型次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンスシステムの構築

対象とした疾患群とそれぞれの遺伝子数は、Ras/MAPK 症候群(24遺伝子)、成人発症型ミオパチー(44遺伝子)、遺伝性膝関節炎(69遺伝子)、筋萎縮性側索硬化症(35遺伝子)であった。それぞれのシステム構築と検証を行った。

D. 考察

平成24年度から本年度にかけての研究により、東北大学での次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析体制が整備・運用された。バイオインフォマティクスを含めた遺伝子解析パイプラインの確立と HiSeq2000 の導入によるスループットの飛躍的な増強により、全国の一般研究班との連携、検体受入を行った。

これまでに302検体のエクソーム解析が終了し、新規病因遺伝子が同定されたものが6疾患、既知の病因遺伝子が同定されたものが9疾患、となった。

今後、より多くの疾患・症例・家系について次世代遺伝子解析を実施する予定である。

E. 結論

東北大学における次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析体制の運用を開始し、一般研究班との連携をおこないながらエクソーム解析を実施した。その結果、新規および既知の病因遺伝子を同定することができた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Aoki, Y., Niihori, T., Banjo, T., Okamoto, N., Mizuno, S., Kurosawa, K., Ogata, T.,

- Takada, F., Yano, M., Ando, T., Hoshika, T., Barnett, C., Ohashi, H., Kawame, H., Hasegawa, T., Okutani, T., Nagashima, T., Hasegawa, S., Funayama, R., Nagashima, T., Nakayama, K., Inoue, S., Watanabe, Y., Ogura, T., Matsubara, Y. (2013) Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am. J. Hum. Genet.* **93**, 173-80.
2. Izumi, R., Niihori, T., Aoki, Y., Suzuki, N., Kato, M., Warita, H., Takahashi, T., Tateyama, M., Nagashima, T., Funayama, R., Abe, K., Nakayama, K., Aoki, M., Matsubara, Y. (2013) Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J. Hum. Genet.* **58**, 259-66.
 3. Ogata, T., Niihori, T., Tanaka, N., Kawai, M., Nagashima, T., Funayama, R., Nakayama, K., Nakashima, S., Kato, K., Fukami, F., Aoki, Y., Matsubara, Y. (2014) TBX1 mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One* **9**, e91598.
 4. Sekiguchi, K., Maeda, T., Suenobu, S., Kunisaki, N., Shimizu, M., Kiyota, K., Handa, Y.S., Akiyoshi, K., Korematsu, S., Aoki, Y., Matsubara, Y., Izumi, T. (2013) A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and a germline BRAF mutation. *Am. J. Med. Genet. A.* **161**, 2600-3.
 5. Ninomiya, M., Kondo, Y., Niihori, T., Nagashima, T., Kogure, T., Kakazu, E., Kimura, O., Aoki, Y., Matsubara, Y., Shimosegawa, T. (2013) Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleoside/nucleotide analog treatment detected by deep sequencing. *Hepatol. Res.* *Epub ahead of print.*
2. 学会発表
1. Aoki, Y., Niihori, T., Inoue, S. and Matsubara, Y. Genetic syndromes associated with the Ras/MAPK pathway and the identification of mutations in a new gene, RIT1, for Noonan syndrome. Third International Meeting on Genetic Syndromes of the Ras/MAPK Pathway: Towards a Therapeutic Approach (Orland, USA) August 2-4, 2013.
 2. Izumi, R., Niihori, T., Aoki, Y., Suzuki, N., Kato, M., Warita, H., Takahashi, T., Tateyama, M., Nagashima, T., Funayama, R., Abe, K., Nakayama, K., Aoki, M., Matsubara, Y. A mutation in A-band titin is associated with hereditary myopathy with early respiratory failure in a Japanese family. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting (Boston, USA) October 22-26, 2013.
 3. Niihori, T., Aoki, Y., Banjo, T., Okamoto, N., Mizuno, S., Kurosawa, K., Ogata, T., Takada, F., Yano, M., Ando, T., Hoshika, T., Barnett, C., Ohashi, H., Kawame, H., Hasegawa, T., Okutani, T., Nagashima, T., Hasegawa, S., Funayama, R., Nagashima, T., Nakayama, K., Inoue, S., Watanabe, Y., Ogura, T., Matsubara, Y. Exome sequencing identifies mutations in a novel gene in patients with Noonan syndrome. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting (Boston, USA) October 22-26, 2013.
 4. 新堀哲也、青木洋子、番匠俊博、岡本伸彦、水野誠司、黒澤健司、緒方勤、高田史男、長谷川奉延、舟山亮、長嶋剛史、中山啓子、井上晋一、渡邊裕介、小椋利彦、松原洋一 エクソームシーケンシングによる Noonan 症候群新規原因遺伝子 RIT1 の同定 日本人類遺伝学会第 58 回大会 江陽グランドホテル (仙台) 2013 年 11 月 20~23 日
 5. 青木洋子 次世代シーケンサーを用いた希少遺伝性疾患の原因解明と遺伝子診断の現状 日本人類遺伝学会第 58 回大会 江陽グランドホテル (仙台) 2013 年 11 月 20~23 日
 6. 井泉瑠美子、新堀哲也、青木洋子、鈴木直輝、加藤昌昭、割田仁、高橋俊明、堅山真規、長嶋剛史、舟山亮、阿部康二、中山啓子、青木正志、松原洋一 Miofibrillar myopathy の大家系における次世代シーケンサーを用いた新たな原因遺伝子の