

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
総合研究報告書

遺伝子変異陽性患者の全国分布の把握と登録

研究分担者 小崎 健次郎  
慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授

**研究要旨**

先天異常症候群（奇形症候群）の多くは希少疾患である。治療研究を展開する上では、診断が確定している患者を把握することは重要である。本研究では、遺伝子変異陽性例の受療施設をデータベース化することにより、患者個人のプライバシーを保護しつつ、患者・主治医と研究者の継続的な連携を確保することを企図した。15疾患22遺伝子1286名を登録した。これらの症例は診断が確実な症例であり、臨床症状等の情報は今後、臨床研究を進めるうえでエビデンスの高い資料と考え得る。

**A．研究目的**

先天異常症候群（奇形症候群）の多くは希少疾患である。過去の研究により、全国の患者数の概数については把握がなされているが、診断の妥当性等についての検証は行われていない。従来、遺伝性疾患の治療は困難と考えられてきたが、遺伝性疾患に対して有効な低分子化合物が開発されたり、遺伝子編集技術の急速内進歩により、遺伝性疾患に対する治療可能性が現実のものとなりつつある。今後、治療研究を展開する上では、診断が確定している患者を把握することは重要である。一般に遺伝子診断の感度は100%ではないが、特異度はほぼ100%であるので、遺伝子変異陽性者を把握することは、今後の研究の発展を考える上で重要である。全国の遺伝子変異陽性患者数の所在の概要に関する把握が求められる。患者の個人情報に抵触しない形で、患者の所在を把握する手法の確立が必要である。

本研究では、遺伝子変異陽性例の受療施設をデータベース化することにより、患者個人のプライバシーを保護しつつ、患者・主治医と研究者の継続的な連携を確保することを企図した。

今後、遺伝子診断が確定診断の手法として普及することが期待される。遺伝子検査法として網羅的な手法である次世代シーケンサーが標準的な解析法になると予測される。次世代シーケンサーの国際標準データフォーマットとして一般的なVCF（Variant Call Format）であることを鑑み、受療施設情報を取り去り、日本人におけ

る先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したVCFファイルを作成し、全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できるデータを生成することを目指した。

**B．研究方法**

各施設から集積されたデータをHGVS（Human Genome Variation Society）が定めるフォーマットに統一した。HGVSフォーマットに統一後、Leiden university medical center が提供するMutalyzerを用いて表記ミスがないかどうかチェックした。レファレンス配列との記載が一致しない変異に関しては修正し、再度チェックを行い、最終的にレファレンス配列と整合性の取ることができなかったフォーマットに関しては、データ提供施設に問い合わせを行った。データ修正後、重複を削除した。提出されたデータがアミノ酸表記のみのものは除外した。

本学で集積したデータに関しては、上述の一連のチェックを行った後、IGV（Integrative Genomics View）の画面をAlamuteで確認し、Mutalyzer等を用いた一連の作業がレファレンス配列との整合性をチェックするのに適切であるか、アミノ酸表記が正しいかを確認した。

**C．研究結果**

遺伝子変異の詳細な情報が得られた21遺伝子471変異から確実に病的変異と考えられるもの（フレームシフト、ナンセンス、de novoのミスセンス）を抜き出すと、21遺伝子261変異のデー

タとなった。これを次世代シーケンサー等で一般的なVCF (Variant Call Format) に変換し、本人における先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したVCFを作成した。内訳に関しては表1に示す。これは、今後一般的な遺伝子検査法として普及が見込まれる次世代シーケンサーのデータフォーマットとなっており、日本人における先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したデータベースとなった。本研究班の活動範囲を超えて、全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できるデータとなった。

#### D . 考察

遺伝子診断等により診断が確実である患者群について受療施設を含めてデータベース管理することで、各疾患の医療ニーズ・医療経済的ニーズの把握が可能となった。同時に全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できる疾患原因変異のデータを編纂することができた。

##### 遺伝子変異陽性患者の登録

既に遺伝子診断により確定診断されている患者のレジストリー情報を用いて、レジストリーに個人情報登録せず、主治医名(受療施設名)のみ登録した。レジストリーの登録を進めるとともに遺伝子変異のリストを(独)医薬基盤研究所の増井の協力を得てウェブサイト公開した。レジストリーを活用して、先天異常症候群に関する全国共同研究を進めた。(基盤研:

[http://raredis.nibio.go.jp/malformation/management\\_guidelines](http://raredis.nibio.go.jp/malformation/management_guidelines)、日本小児遺伝学会

[http://p-genet.umin.jp/downloads/management\\_guidelines16.pdf](http://p-genet.umin.jp/downloads/management_guidelines16.pdf))

##### 患者の変異の登録

登録された変異を有する細胞の作製(iPSを介するまたはヒト疾患モデル) 既承認薬のライブラリー・スクリーニングという一連の流れの各要素の最適化を行うことができた。一部の疾患については候補薬を得ることができた。今後は、疾患数を増やし、より多くの疾患に対する候補薬の同定に結び付けてゆく計画である。候補薬が得られた場合、登録した主治医・受療施設のデータベースを通じて、臨床治験への参加希望者をリクルートすることになる。

なお、遺伝子診断は各施設の倫理委員会の承認を経て実施した。倫理的な配慮から、遺伝子診断の結果は各施設内で個人情報を削除した上、全データを単一データファイルとした。当該ファイルから個人のゲノム情報を特定することは不可能である。上記の処理作業は各施設で完遂した。

#### E . 結論

遺伝子診断等により診断が確実である患者群について受療施設を含めてデータベース管理することで、各疾患の医療ニーズ・医療経済的ニーズの把握が可能となった。同時に全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できる疾患原因変異のデータを形式で編纂することができた。国際的な病的変異データベースであるLOVDの規定する形式でもデータを整えた。

BRAF	10
BUB1B	2
CDKN1C	8
CHD7	76
CREBBP	26
FBN1	30
HRAS	7
KMT2D	34
KRAS	1
MEK1	2
MEK2	1
MLL2	3
NSD1	7
PTPN11	15
RAF1	4
RIT1	9
SHOC2	1
SOS1	2
TGFBR1	4
TGFBR2	5
UBE3A	14
合計	261

表 1

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

Nomura T, Takenouchi T, Fukushima H, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Catastrophic Autonomic Crisis With Cardiovascular Collapse in Spinal Muscular Atrophy With Respiratory Distress Type 1. *J Child Neurol*. 2013 ;28(7):949-951.

Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet*. 2013 ;56(1):50-53.

Ueda K, Awazu M, Konishi Y, Takenouchi T, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Persistent hypertension despite successful dilation of a stenotic renal artery in a boy with neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet A*. 2013 ;161(5):1154-1157.

Takenouchi T, Kosaki R, Torii C, Kosaki K. Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome. *American Journal of Medical Genetics* . 2013;161(7):1803-1805.

Takenouchi T, Saito H, Maruoka R, Oishi N, Torii C, Maeda J, Takahashi T, Kosaki K. Severe obstructive sleep apnea in Loey-Dietz syndrome successfully treated using continuous positive airway pressure. *Am J Med Genet A*. 2013 ;161(7):1733-1736.

Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, Kosaki K, Tanigawara Y, Aoki D. Polymorphisms in the UGT1A1 gene predict adverse effects of irinotecan in the treatment of gynecologic cancer in Japanese patients. *J Hum Genet*. 2013;58(12):794-798.

Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A*. 2013;161(12):3057-3062.

Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K. Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a

patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. *Am J Med Genet A*. 2014 Apr;164(4):993-7

Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis. *Am J Hum Genet*. 2013 ;93(5):945-956.

Takagi M, Ishii T, Torii C, Kosaki K, Hasegawa T. A novel mutation in SOX3 polyalanine tract: a case of kabuki syndrome with combined pituitary hormone deficiency harboring double mutations in MLL2 and SOX3. *Pituitary*. 2013(in press)

Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. *Am J Med Genet A*. 2014 Feb;164(2):456-60

Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T. Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: A cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study. *Orphanet J. Rare Dis*. 2013;8(1):172

### 2. 学会発表

なし

## G . 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