

修正版

201324146A

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）

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

平成26年(2014)3月

研究代表者 辻 省 次

(東京大学医学部附属病院神経内科 教授)

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）

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

平成26年(2014)3月

研究代表者 辻 省 次

(東京大学医学部附属病院神経内科 教授)

目 次

I. 総括研究報告書	
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究……………	1
辻 省次	
II. テーマ別研究報告書	
次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義について……………	31
松本直通、松田文彦、松原洋一、梅澤明弘、辻 省次	
次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査における倫理的課題……………	35
斎藤加代子、福嶋義光、武藤香織、難波栄二、森田啓行、山内泰子	
次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題に関する検討……………	40
松本直道、小崎健次郎、齋藤佳代子、福嶋義光、難波栄二	
患者登録（レジストリー）、変異データベース構築に関する課題……………	44
松田文彦、松原洋一	
大学などの研究室で行う遺伝学的検査の品質管理に関する課題……………	49
宮地勇人、難波栄二	
特定疾患調査研究班との連携、遺伝学的検査の依頼のシステム、ゲートキーパー の必要性……………	52
後藤雄一	
III. 分担研究報告書	
1. 国立高度専門医療研究センターにおける遺伝学的検査提供に関する検討……………	57
松原洋一	
2. 小児希少遺伝性難病に対する遺伝学的検査の開発と全国展開……………	67
奥山虎之	
3. Leigh 脳症 6 4 例における原因遺伝子の検討……………	70
後藤雄一	
4. 遺伝性神経筋疾患におけるゲノム解析研究……………	72
斎藤加代子	
5. 大学などの研究室で行う遺伝学的検査の品質管理に関する研究……………	74
宮地勇人	

6. 細胞遺伝学的検査の提供体制の研究	81
福嶋義光	
7. 家族性腫瘍の遺伝学的検査の提供体制に関する研究	86
古川洋一	
8. 遺伝性疾患の遺伝学的検査の提供体制に関する研究	88
難波栄二	
9. 遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究	92
秋山真志	
10. 遺伝学的検査による難聴の分子病態の解明	94
野口佳裕	
11. 循環器領域への次世代型シーケンス遺伝学的検査導入にかかる問題点に関する研究	96
森田啓行	
12. 海外の状況・動向に関する研究	102
小崎健次郎	
13. 神経疾患における遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究	106
青木正志	
14. 次世代シーケンサー時代に予想される神経変性疾患遺伝子解析	109
小野寺 理	
15. 日本人の遺伝子変異データベースの構築	112
松田文彦	
16. 遺伝的検査の実施拠点の在り方に関する研究	116
梅澤明弘	
17. 全エクソーム解析により解決できた原因不明の周産期異常家系	119
松本直道	
18. 小児病院におけるマイクロアレイ染色体検査実施状況	122
岡本伸彦	
19. 遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究	126
山内泰子	
20. 次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の倫理的課題の研究	128
武藤香織	

IV. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 133

V. 班構成員名簿…………… 153

I 総括研究報告書

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）

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

総括研究報告書

研究代表者 辻 省次 東京大学医学部附属病院 教授

次世代シーケンサーを診断確定を目指した遺伝学的検査に応用する場合に必要な課題を抽出し、それぞれの課題についてどのように対応をしていくべきか検討を行った。本研究班では、医療における遺伝学的検査の役割、薬事承認に関連する課題、遺伝学的検査の依頼側から見た課題、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の倫理的課題、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の拠点化に関する課題、大学の研究室などで遺伝学的検査を提供する際の品質管理や認証などを課題と設定し、海外の状況についてもあわせて調査研究を行った。これらの検討を受けて、次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの実施体制について具体的な提案をとりまとめた。また、難病研究班との連携による、クリニカルシーケンシング実施体制のネットワーク化、医療制度の中に位置づけていくためのロードマップ、膨大な変異情報を解釈するための情報基盤の整備、偶発的所見を含む、倫理面での課題についての提言をとりまとめた。

A.研究目的

本伝学的検査の提供体制については、一部の遺伝性疾患について保険収載されているものの、大部分の疾患については、保険収載されていない。先進医療で提供されている遺伝学的検査もあるが、ごく一部にとどまっている。以上のことから、わが国では大部分の疾患の遺伝学的検査が、保険診療の枠外に置かれているのが現状である。分子遺伝学的研究の発展の結果、数多くの疾患で病因遺伝子が見出されてきており、診断確定のために多数の遺伝子を検索する必要が出てきている。次世代シーケンサーの実用化を始めとするゲノ

ム解析技術の進歩と共に、多数の遺伝子を同時に解析することが可能になってきているが、体外診断法として保険収載をしていくには、薬事承認への対応が必要になること、検出される変異の数が多くなり、その解釈にも専門的な知識が要求されるようになるなど、多くの課題が存在する。

このような状況から、遺伝学的検査の実施拠点の構築が必要になってきている。そこで、医療における遺伝学的検査の役割、薬事承認に関連する課題、遺伝学的検査の依頼側から見た課題、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題、次世代シーケンサー

を用いる遺伝学的検査の倫理的課題，次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の拠点化に関する課題，大学の研究室などで遺伝学的検査を提供する際の品質管理や認証などを課題として設定し，あわせて海外の状況についても調査研究を行うこととした．これらについて，研究会議で討議を進め，遺伝学的検査の拠点のミッション，特定疾患調査研究班との連携，registry，変異データベースの構築に関する指針，次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題に関する指針，次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査における倫理的課題に関する指針，大学などの研究室で行う遺伝学的検査の品質管理に関する指針，次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップなどについてまとめることを目的とした．

B.研究方法

本年度2回の研究会議（第一回研究会議：平成24年11月30日，第二回研究会議：平成25年2月22日）を開催した．本研究では，次世代シーケンサーによるゲノム解析をクリニカルシーケンシングに応用する際に，検討すべき課題を重点的にとりあげ，具体的な提言を示すことを目的としている．具体的には，1) 次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義，特定疾患調査研究班との連携（松田，松原，松本，梅澤，辻），2) 遺伝学的検査

の依頼のシステム，ゲートキーパーの必要性（小野寺，青木，岡本，小崎，後藤，奥山，松原，岡本），3) registry，変異データベースの構築（松田，松原），4) 次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題に関する検討（松本，小崎，斎藤，福嶋，難波），5) 次世代シーケンサーにより得られるデータの解釈（松田，松原，松本，梅澤，辻），6) 次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査における倫理的課題に関する指針（福嶋，山内，難波，斎藤，森田，武藤），7) 大学などの研究室で行う遺伝学的検査の品質管理に関する指針（宮地，難波），8) 次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップ（辻，宮地），9) 国際的な動向（小崎，松原），などの課題について検討を行った．

（倫理面への配慮）

本研究班において，次世代シーケンサーを用いた解析を含め，研究的な活動を含む遺伝学的検査を実施する場合には，ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い，所属機関の研究倫理審査委員会の承認を得て実施するようにする．また，偶発的所見への対応については，本研究班の重要な課題の一つとして取り上げて，対応方策についての指針のとりまとめを行うようにする．

C.研究結果

次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義について

1) 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析拠点の必要性

拠点化することにより、次世代シーケンサーによるゲノム解析能力の大規模化、ゲノムインフォマティクスの大規模化・高度化が実現できる。このことにより、ゲノム配列解析の精度の向上、スループットの向上、スケールメリットによる試薬のコスト削減が可能になる。ゲノム解析はスケールメリットの大きい分野であり、拠点化することの意義は大きい。

2) 高度なゲノム解析技術を担う役割

疾患毎に、解析対象に含めるべき遺伝子数は飛躍的に増大してきている。例えば、心筋症では50-70 遺伝子、てんかんでは53-130 遺伝子が解析対象となる (HL Rehm Nature Review Genetics (2013))。このように、臨床シーケンシングにおいて、網羅的な遺伝子解析が必須となってきており、次世代シーケンサーの持つ役割は大きくなっている。現在の次世代シーケンサーは一定頻度で error reads が含まれ、変異 (variants) を call する条件についても解析の目的に応じた最適化していく必要がある。また、見出された変異については、臨床シーケンシングにおいては、必ず、Sanger 法などの標準的な塩基配列

解析方法による確認作業が必要となる。また、想定される変異の種類 (構造多型, リピート伸長など) によっては, array CGH, repeat-primed PCR など, 他の解析を併用する必要があり, 統合的かつ高度なゲノム解析能力が必要となり, 臨床シーケンシングの技術開発研究も含め, 次世代シーケンサー解析拠点の持つ役割は大きい。

3) ゲノムインフォマティクスの重要性

次世代シーケンサーを用いた大規模ゲノム解析においては、ゲノムインフォマティクスの持つ役割が飛躍的に増大してきており、今後は、大規模臨床情報を含めたビッグデータの研究分野として発展する。次世代シーケンサーから産生される膨大な情報から、配列情報の抽出、ヒトゲノム参照配列への整列、変異の call などの一連の解析、さらに、病的意義を有する変異の探索、評価においては、さまざまなデータベースを参照すること、変異がもたらす機能への影響の予測、あるいは、機能解析を加えるなど、重層的な解析が求められる。また、必要に応じて、新しいアルゴリズムの開発研究も求められる。これらの解析を実施するためには、大規模並列処理ができる計算サーバーを備え、インフォマティクスの研究者が担当する研究体制が必要であり、このような役割を次世代シーケンサー解析拠点が担う必要がある。また、医学系の情報と、大規模ゲノム情報を同時に扱い、OJT (on the

job training) が可能な環境が、人材不足が指摘されているメディカルゲノムインフォマティクスの分野の人材育成という点できわめて重要となり、このような環境の構築・提供が次世代シーケンサー解析拠点の役割となる。特に重要な点は、新しい解析アルゴリズムの解析など、研究面で高いレベルを目指すことが大切であり、そのような研究の場を提供し、ゲノムインフォマティクスに造詣の深い研究者を育成する機能が、次世代シーケンサー解析拠点の重要な役割となる。

4) 医療におけるクリニカルシーケンシングの必要性

診断確定のために、遺伝学的検査、特に、複数の遺伝子を対象としたクリニカルシーケンシングの必要性が医療現場で高まってきている。個別の研究室で遺伝学的検査ができるところもある一方、網羅的な解析・解釈ができる研究室は限られており、このような状況において、次世代シーケンサー解析拠点が果たす役割が大きい。依頼側から見ると、どのような要件を満たせば依頼できるのかなど、依頼から結果の受け取りまでの流れが明快に示されていれば、そのようなフレームワークを利用してクリニカルシーケンシングを依頼できるメリットは大きいと考えられる。診断確定のための必要なステップとしてクリニカルシーケンシングを利用できる体制の整備と、依頼側から見て満足できる turn around time

(受け取りから結果返却までの期間)で、ゲノム解析結果を返却できるだけの体制を拠点側で整備し、透明性を確保することが重要である。また、解析結果については、依頼側が診療や臨床研究に活用できるようにすると共に、一定の猶予期間後に、データベース登録を義務づけるなどの仕組みを整備して、疾患変異データベースを充実させていくことも大切であると考えられる。近い将来、クリニカルシーケンシングが医療の中で重要な役割を果たすようになると予測され、検査の標準化、品質管理、倫理面の課題などを含め、医療制度の中でクリニカルシーケンシングを実装していく上でも、貢献することが期待される。

5) 解析結果の解釈についての重要性

網羅的なゲノム配列解析を行うことにより、膨大な数のゲノム上の変異が見出される。例えば、全エクソン配列解析を実施すると、200-300 個の新規（データベースに登録されていないもの）の非同義置換（アミノ酸置換を伴う変異）が見出され、これらの変異について、どのように解釈を与えるかが重要となる。この解釈にあたっては、1. 大規模の日本人健常者のゲノム多様性のデータベースを用いた分析（新規の変異であるか、既知の変異であればそのアレル頻度などの分析）、2. 対象とする疾患に関して、HGMD (Human Gene Mutation Database) をはじめとする疾患関連変異のデータベース、特に日本人の変異デー

データベースの分析, 3. 疾患の表現型の多様性を考慮に入れた分析 (臨床側で想定していなかった遺伝子の変異であることが判明することもある), 4. 病原性変異の判断基準に基づく検討 (一定の基準に基づく, 病原性変異としてのランクづけ), 5. 種間の保存性などに基づく, deleterious mutation の推定のスコアリング (ランクづけ), 6. 必要に応じて, 連鎖解析など家系分析を追加しての検討 (候補遺伝子領域の絞り込み), 次世代シーケンサー以外の解析方法の適用などが必要になる. このように豊富な分析能力を整備するには, 拠点がその開発を含めて担うことが必要であり, それを, 医療コミュニティ (医師, 遺伝カウンセラー, 研究者など, 幅広い職種) で活用していくことが望まれる.

6) 研究面での次世代シーケンサー解析拠点の役割

次世代シーケンサー解析拠点においては, クリニカルシーケンシングの提供を行うとともに, 未だ発症機構が未解明な疾患について, 遺伝性疾患の病因遺伝子の解明, 多因子疾患 (孤発性疾患) (complex trait disease) の疾患感受性遺伝子の解明に対して貢献することが求められる. 遺伝性疾患については, 現在病因遺伝子が未解明の疾患の多くは, 小家系だったり, きわめて稀であったり, 病因遺伝子の解明が困難な疾患が数多く残されており, その点で, 連鎖解析, エクソーム・全ゲノム

シーケンシングなど, 高度かつ統合的な解析技術を投入する必要がある. また, 多因子疾患については, サンプル数の大規模化が成果をあげる上で必須であるので, 難病研究班との連携を含め, 臨床側と次世代シーケンサー解析拠点で, 適切な多施設共同研究体制を構築してそれぞれに役割分担をすることも求められる. このような研究は疾患ゲノムコホート研究として位置づけられ, 大規模研究プロジェクトとして推進する必要がある. 次世代シーケンサー解析拠点が, 多施設共同研究体制のもとにこのような研究を担当する役割を果たすことが望ましい. また, その解析結果などを研究者コミュニティが広く活用でき, わが国全体のゲノム医学研究が発展するような仕組みを整備することも求められる. また, 個別の研究室において行われる疾患遺伝子探索研究も数多くあり, このような研究に対しても, 次世代シーケンサー拠点が必要に応じて一定枠の支援的な役割を果たすことがわが国の研究全体の発展にも貢献する.

7) データベースの構築・維持

上述したように, クリニカルシーケンシングにおいては, 観察されたゲノム変異に対する解釈が最も重要となる. この解釈においては, 健常者集団のゲノム多様性についてのデータベース, 疾患毎の変異データベースが重要なリソースとなる. 特に, ゲノム多様性, 疾患関連変異は, 民族毎に固有のもの

(ethnicity-specific) が少なくないことがわかってきており、日本人集団のデータベースの持つ役割が重要な位置を占める。これまでこのような日本人に特化したデータベースは存在していなかったが、先に公開された 1,208 名の健常者日本人集団のゲノム多様性のデータベース (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) は、厚労科研でサポートされた次世代シーケンサー 5 拠点が協力して構築されたものであり、次世代シーケンサー解析拠点の持つ重要な役割といえる。このようなデータベースは広く研究者がさまざまな研究、診療に活用することができ、わが国の研究の基盤的な役割を果たす。今後、生活習慣病など頻度の高い疾患の発症に対する影響度の高いゲノム変異の検索を目的に exome-association study が発展すると予測されるが、そのような研究の基盤として、多施設共同研究体制に基づいて、さらにサンプルサイズを拡大することが重要である。

疾患に関連する変異データベースは、個別の疾患についていくつかの小規模データベースはわが国でも存在するが、幅広く多くの疾患を網羅したデータベースは存在していない。次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの拠点化は、このような変異データベースの構築に対しても大きく寄与すると考えられる。また、疾患関連の変異データベ

ースの構築・維持については、拠点のみならず、個別研究で見出される疾患関連変異についても、多くの研究者の協力を基づきデータベースへの deposit を推進することも重要である。

国際的には、Human Variome Project という大きな動きがあり、全世界で、ヒトゲノムの多様性情報のデータベースの構築していくことが進められている。日本では、まだ、Japan Node が設置されておらず、Japan Node を設置し、国際的な Human Variome Project の推進に貢献していくためにも、このような次世代シーケンサー解析拠点が重要な役割を担うことが求められる。

8) 国際的な動向

ゲノム医学分野で、国際的に activity の高い次世代シーケンサー解析拠点としては、英国 Sanger 研究所、米国 Broad 研究所、Baylor College of Medicineなどをあげることができる。また、ゲノム医学に特化していないが、全ての生物を対象としたゲノムシーケンシングの分野では、中国の BGI が群を抜いて活発な研究を進めている。いずれの研究所においても、資源を集中し、次世代シーケンサー、ゲノムインフォマティクスの大規模解析拠点を構築している。最近になり、米国 Broad 研究所は CLIA の認証を取得し、クリニカルシーケンシングの分野に乗り入れている、Baylor College of Medicine は早い時期から、次

世代シーケンサーをクリニカルシーケンシングの分野に取り入れ、大きな成果をあげている。英国 Sanger 研究所は、ヨーロッパのゲノム解析拠点としても機能しており、多くの研究者が自らのサンプルを持って、研究を行う仕組みも整備している。このように国際的な動向は、資源の集中化と高度化、さらにその拠点を研究者コミュニティ全体が活用する仕組みも整備してきている。

特定疾患調査研究班との連携、遺伝学的検査の依頼のシステム、ゲートキーパーの必要性

難病については、遺伝子解析によって初めて診断が確定する疾患が数多く含まれている。近年の分子遺伝学の研究の発展により、多くの疾患について、多数の病因遺伝が見出されてきている。このような分子遺伝学手研究の発展に伴って明らかになってきたことは、臨床症状や家族歴だけから、特定の疾患を臨床的に診断することは容易でなく、また、遺伝学的検査についても、複数の遺伝子を同時に解析する必要に迫られている。痙性対麻痺を例にあげると、常染色体劣性遺伝性疾患に限ったとしても、その病因遺伝子として 50 種類もの遺伝子が病因遺伝子として明らかにされている。常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺の多くは、複合型の痙性対麻痺を呈し、臨床症候からこれらの疾患の診断を確定することは困難である。従って、遺伝学的検査によってそ

の病型を確定する必要があるが、従来から行われているような個別の遺伝子を解析することは、労力の上からも非常に困難なことになってきている。従って、このように、多数の遺伝子を解析することが必要な場合には、次世代シーケンサーを用いて、網羅的な遺伝子解析を実施することが必要となる。

網羅的な遺伝子解析の方法としては、エクソームシーケンシングと呼ばれるゲノム上のすべての遺伝子を対象として、そのエクソン領域を濃縮して網羅的に塩基配列解析を行う方法、あるいは、対象とする遺伝子群を選択的に濃縮した後に、次世代シーケンサーで解析する、ターゲットシーケンシングと呼ばれる方法がある。

次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析に基づく病原性変異の同定は診断に大きく寄与するが、その実施においては、次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングを担当できる拠点を整備し、その品質を担保していくことが重要であると考えられる。また、エクソームシーケンシング、ターゲットシーケンシングのいずれを行うにしても、一定の費用がかかることから、このような次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングは、臨床現場によるクリニカルシーケンシングの必要性の検討、適応の決定、検体の輸送、次世代シーケンサー拠点による解析、病原性変異の抽出・解釈を進める必要がある。

特に重要なことは、病原性変異の解釈においては、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析・ゲノムインフォマティクスの専門家はもちろん、当該疾患の診療の臨床遺伝・診療の経験が豊富な医師の連携の上に、適切な解釈を行うことが必要である。また、得られた変異に関する情報は、データベース化し、データを蓄積することにより、変異の解釈を行う際の重要な情報基盤として充実させていく必要がある。

このように、遺伝学的検査の依頼、次世代シーケンサーを用いたエクソームシーケンシング、ターゲットシーケンシングの実施、データの解釈、臨床側への結果の提供、変異データ、臨床情報のデータベース化を体系化して推進する必要がある。このようなシステム構築は、次世代シーケンサー拠点、難病研究班との連携が必須である。特に、遺伝学的検査の依頼が発生した時点で、その必要性、適応を決定する、ゲートキーパーの役割を設けることが重要である。次世代シーケンサーによるシーケンシング解析は、現在のテクノロジーの範囲では、まだ、かなりの費用を必要とする検査であることから、与えられた予算の中で効率よい遺伝学的検査を提供するためには、ゲートキーパーによる、検査の必要性、適応の吟味が重要な役割を持つようになる。

registry, 変異データベースの構築

見出された変異が、既報の病原性変異である場合は、直接診断確定につながる結果となるが、新規の変異であった場合に、それが、稀な中立的変異であるのか、病原性変異であるのかの判断が難しくなる。このような状況に役立つ情報基盤として、次世代シーケンサーで見出されたすべての変異をデータベース化すること、病原性変異と考えられる変異についてのデータベース化をすることが重要である。データベースは、多くの研究者が利用できるように公開を基本として提供されることが、遺伝学的検査の結果の解釈、疾患研究などに大きく貢献することは言うまでもない。一方、遺伝情報は、個人のプライバシーに関わるものであることから、公開することで個人のプライバシーを侵害することのないように適切な配慮が必要となる。公開することが可能な情報と、公開は適さず、申請に基づく利用（制限付きアクセス）の区別を適切に行うことが必要である。

このようなデータベースの構築に当たっては、集団における頻度情報のように、公開することができる情報と、1個人のゲノム上の変異情報のように、制限付きアクセスによる対応が必要な情報を区別すべきである。病原性変異については、一定の臨床情報を付加する形でのデータベース化がこの分野の診療、

遺伝子検査においては重要と考えられ、公開データベースの構築、提供が医師・研究者コミュニティの情報基盤として大きく貢献すると考えられる。このような情報は、個人のプライバシーに関連するものが少なくなく、個人のプライバシーの保護に対する十分な配慮をするように留意する必要がある。また、データベースの構築、公開、制限付きアクセスによる共有などについて、非検者に十分な説明と同意を得ようとすることが求められる。

次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の技術的課題に関する検討

現在用いられている次世代シーケンサーは、100-150塩基程度の short read が膨大な数得られるという特徴がある。次世代シーケンサーは、1塩基置換や、短い挿入・欠失などの検出力は高いものの、遺伝子全体を含む領域のコピー数が増えるコピー数変異 (Copy number variation, CNV) や、サイズの大きい挿入・欠失変異など、構造変異として分類される変異の検出力は弱い。このような変異に対しては、array CGH (comparative genomic hybridization) 法あるいは SNP (single nucleotide polymorphism) 解析による cytogenomic microarray 法や、MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) 法などの解析方法を用いる必要がある。

特に、臨床的に確定診断が困難な小児の先

天異常疾患などにおいては、cytogenomic microarray 解析を最初に行うことが国際的にも推奨されており、わが国でもこのような解析法の普及が望まれる。CNVs 領域の解析結果の解釈については、当該疾患の診療に精通した専門家と臨床細胞遺伝学の専門家の関与が望まれる。日本人ゲノムに固有の CNVs もあり、健常日本人集団で観察される CNVs、疾患に関連して観察される CNVs について、データベースを構築し、データの解釈に役立つ情報基盤として整備を進める必要がある。

神経疾患で多く見られる、リピート伸長変異も次世代シーケンサーによる変異の検出は困難で、この場合には、repeat primed PCR や、リピート長を挟んで PCR を行い、得られる PCR 産物のサイズを比較するような解析が必要となる。

このように、現在の技術水準の次世代シーケンサーで検出が困難な変異について、その技術的限界を十分に把握し、臨床側からの依頼に適切な解析方法を用いた解析を提供することが求められる。

次世代シーケンサーにより得られるデータの解釈

次世代シーケンサーを用いた解析では、膨大な数の変異が見出される。例えば、全ゲノム配列解析を行った場合には、1個人あたり、300万種類もの変異が見出される。

このように膨大な数の変異リストの中から、疾患発症の原因となっている病原性変異を検出するには、多くの課題がある。それらを列挙すると、次世代シーケンサーを用いた解析、変異の call に精通している専門家が必要である、さまざまなデータベースを参照しながら、疾患との関連性の高い変異を絞り込むインフォマティクス処理、その上で、当該疾患の病原性変異を絞り込む作業をする必要があり、この段階では、当該疾患の診療に精通した専門家の関与が望まれる。以上のように、次世代シーケンサーを用いたゲノム配列解析の解釈は、学際的な分野の専門家がチームとして取り組む必要があり、そのような体制の整備が早急に望まれる。次世代シーケンサー解析拠点を中心にこのような体制を整備することが望まれる。

一方、検査会社が検査を担当した場合、日本では、伝統的に、結果の解釈には関与しない対応がなされてきている。しかしながら、次世代シーケンサーを用いた解析では、結果の解釈が最大の課題となり、企業が行う場合には、その解釈を誰が担当するのか明確にすると共に、そのような体制の整備が必要となる。

次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査における倫理的課題に関する指針

次世代シーケンサーによる網羅的な配列解

析、特に、エクソームシーケンシングによる解析では、目的とする遺伝子だけでなく、ゲノム上のほぼすべての遺伝子に関する変異情報が得られることになる。そのような変異の中には、発がんの大きなリスクが予測でき、適切な対応をとることにより、非検者の健康維持に大きく貢献できるものが少なからず含まれる可能性がある。

このような情報は、偶発的所見(Incidental Findings)として、最近注目されるようになってきている。米国では、2013年に、Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues から、Incidental Findings に関する勧告が発表された (Anticipate and Communicate. Ethical Management of Incidental and Secondary Findings in the Clinical, Research and Direct-to-Consumer Context. Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues)。この報告では、Incidental Findings を、研究、診療、Direct-to-Consumer の3つの場合分けをして、それぞれについて、適切な配慮をするように求めている。この報告書のタイトルにあるように、このような Incidental Findings 見出される可能性をあらかじめ認識しておくこと、検査を受ける方(被検者)への十分な情報提供と、意思疎通を行うように求めている。

Incidental Findings については、最近、米国の ACMG (American College of Medical

Genetics) がクリニカルシーケンシングとしてエクソームシーケンシングや全ゲノムシーケンシングを行った場合、Incidental Findingsとして報告に含めるべき対象遺伝子の一覧を提示している。この一覧は、小児の遺伝性疾患や、家族性腫瘍などに重きを置いた形になっているが、わが国で、日本人を対象とした場合に、適切な遺伝子リストはどうあるべきかの検討を早急に行う必要がある。

また、対象遺伝子がリストとされたとしても、見出された変異が病原性であるかどうかの判定は容易でないことが多い。病原性変異として報告されたものであっても、その後の研究により、中立的な変異とされるものも少なくない。また、新規の変異については、病原性の判定が非常に困難である。このような状況にあって、対象疾患の専門家とも連携して、病原性変異のデータベース化、適切な解釈について協力を進める必要がある。

また、偶発的所見の定義についても、研究、クリニカルシーケンシング、Direct-to-Consumerのそれぞれの場合で、適切な定義を検討していく必要がある。例えば、研究の場合、偶発的所見の対象となっている遺伝子群の解析、検討を義務化することは、必ずしも適切でないと考えられる。偶然に見出される場合がどういう場合であるのかについての検討が必要である。クリニカルシーケンシングにおいては、偶発的所見への

対応はもっと積極的な対応をするかどうかなど、十分な検討を進める必要がある。

Direct-to-Consumerの分野は、本研究班の対象外であるが、検査を受けた人の健康維持に重要な情報であり、また、医療の枠外においてこのような情報をどのように扱うのが適切であるのか、さらに検討を進める必要がある。

大学などの研究室で行う遺伝学的検査の品質管理に関する指針

これまでわが国では、大学などの研究機関が、研究の一環として、遺伝学的検査を提供してきたことが多かった。つまり、研究の枠組みでありながら、診療への検査の提供を行ってきたという実態がある。クリニカルシーケンシングのように、診療への結果の提供を担当する場合、当然のこととして、検査についての品質管理を保証するような一定の基準を設けることが必要となる。特に、保険収載をする場合、薬事法との整合性を取ることも大きな課題となってくる。

米国ではCLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) という法制度で設けられたシステムがあり、この認証を受ければ、検査会社であっても、大学などの研究機関であっても、診療に対しての検査の提供が可能となり、保険償還も可能となる。

今後検討すべき課題は、2つあると考えられる。1つは、大学などの機関が、次世代シ

シーケンサーを用いた遺伝学的検査を提供する場合に、その品質管理に必要な基準を具体化することである。CLIA のように制度化される基準が望ましいが、その実現には一定の期間を要することを考慮すれば、自主的な基準であっても一定の基準を設け、それに従って次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の提供を実現することが必要である。

もう一つの課題は、薬事法への対応である。体外診断法においては、薬事法は、診断薬キット、診断機器に対して、それぞれ、薬事承認がなされていることを前提としている。しかしながら、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査は、キット化されず、研究で用いられているさまざまな試薬などが用いられる可能性が想定され、すべて診断キットとして提供されることは想定しにくい。また、解析機器についても、一部の機器は薬事承認が得られる可能性があるが（例えば、Illumina 社の MiSeq は、FDA の承認が得られている）、主として研究に用いられる機器の多くが薬事承認される状況は想定しにくく、一部は研究用機器が診断を目的とした検査に用いられる可能性が考えられる。このような状況を考慮すると、研究機関で次世代シーケンサーを用いて解析をする場合、Laboratory-developed test (LDT) として承認する可能性も検討する必要があると思われる。検査会社が担当する場合は、薬事承認された診断薬キット、診断

機器が前提となると考えられるが、大学などの研究機関が行う場合は、LDT を積極的に認める方向を検討していくことが望まれる。

次世代シーケンサーを用いた解析を医療の中に導入していく場合、検査件数も考慮に入れた対応が必要である。難病の場合、検査の件数は極端に少ないことが多く、その解釈が困難であることも多い。このような難病の遺伝学的検査は、大学などの研究機関が担当することが適切であると考えられる。一方、例えば、BRCA1, BRCA2 などのように、検査件数が多数にのぼると予測される場合は、検査会社が担当することが適切であると考えられる。

次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップ

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の有用性は広く実証されてきており、今後、医療の中に普及させていく必要がある。その場合に、医療制度の中にどのように位置づけていくかを検討する必要がある。具体的には、保険収載するのか、公的資金で対応するのか、あるいは、先進医療や、混合診療なども考慮されうる。

現状では、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査は、研究の枠組みで提供されており、当面、その位置づけで進むことが想定される。しかし、医療の中に位置づけるために

は、一歩進んでどのような制度で対応をするのか検討する必要がある。

現在の日本の制度も考慮に入れると、まずは、次世代シーケンサーを用いた診断のネットワークを構築し、研究の枠組みで開始をする。そして、先進医療として一定期間実績を積み上げた後に、保険収載を実現する、というロードマップが、実現性が高いものと考えられる。

保険収載に関しては、次世代シーケンサーによる遺伝学的検査の費用は現時点ではかなりの費用を必要とし、現行の遺伝学的検査のように、一律 4,000 点では、対応できない。次世代シーケンサーを用いた解析方法に対して適切な保険点数の設定が必要である。

また、難病医療においては、診断は、難病認定の最初のステップという要素もあり、公的資金による負担を積極的に検討することが望まれる。

国際的な動向

海外においては、国によって、対応が大きく異なる。例えば、国民皆保険の英国では、UK GTN (UK Genetic Testing Network) (<http://ukgt.nhs.uk/>) という組織があり、検査の依頼に対するゲートキーパーの役割を担っており、さらに、国内の検査機関を束ねてネットワークして、検査の項目毎に、適切な検査機関に検査を依頼するというシステムが動

いている。検査の必要性、適応、予算に応じた柔軟な運営がされている。

欧州について、EuroGentest は European Commission (EC) 内の遺伝子検査実施機関が連携したネットワークである (<http://www.eurogentest.org/>)。遺伝子診断の質の保証、各疾患に対する遺伝子診断の有用性に関する情報提供 (Clinical Utility Gene Cards, 116 疾患)・遺伝子診断を実施している施設の紹介を行っている。

EuroGentest の調査によれば、2013 年の 10 月の時点で、European Commission (EC) 内の 25 の検査室が、776 の次世代シーケンサーを用いたパネル検査を臨床検査として実施しており、このパネルでカバーされる遺伝子の総数は 2236、疾患の総数は 1114 種である。このように、欧州においても次世代シーケンサーを基盤として、臨床遺伝子検査が実施されつつあるといえる。この EuroGentest は、稀少疾患とオーファンドラッグに関するデータベースである Orphanet (<http://www.orpha.net/>) とも連携している。Orphanet は、平成 23 年 9 月までに、35 カ国が参加しており、欧州以外の諸外国から参加要望も受けつけている。

米国では、CLIA という認証制度の下に、民間の検査会社、大学などの研究機関が、積極的に、次世代シーケンサーを用いた検査の提供をしている。また、費用は、検査の費用に応じて柔軟に設定されており、保険償還が

実現している。民間検査会社においては、難病に対する、次世代シーケンサーを用いた検査も積極的に提供しており、頻度は稀であっても、全体として採算がとれるような、ビジネスモデルを構築している点が注目される。

英国、欧州、米国の実情と日本を比較してみると、費用をどこが、どのように負担をするかが、明確に制度化されている。これに対して、日本は、伝統的に、研究の延長線上で細々と対応してきたという点があり、このような対応が限界に来ている。従って、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の提供を、どこが行い、費用は、どこがどのように負担をするかを具体的に決めていく必要がある。

D. 考察

本研究班でとりまとめた、次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップを次頁に示す、クリニカルシーケンシングのコアとして、次世代シーケンサー拠点を構築することが必要であり、平成26年度の厚労科研で具体化することが期待されている。この拠点においては、そのミッションとして、網羅的ゲノム配列解析の提供を行うと同時に、品質管理基準を設定していくことが求められる。また、次世代シーケンサーを用いたゲノム配列解析により見出される膨大な数の変異について、適切な医学的解釈を行うためのアルゴリズム、すな

わち、病原性変異の判定アルゴリズムの整備を進めることが必要である。同時に、ゲノム配列解析から見出される可能性のある偶発的所見への対応指針を定めることが求められる。この拠点で得られた変異に関するデータは、データベース化し、適切な形で研究者コミュニティが利用できるようにしていく必要がある。

この拠点が、クリニカルシーケンシングを担当するに当たり、医療機関からの検査の依頼について、その必要性などを判断する、ゲートキーパーの役割を果たす組織を整備することが望まれる。このようなゲートキーパーの役割は、特定疾患の調査研究班が積極的に関わることで、期待される。

次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を、クリニカルシーケンシングとして、医療制度の中で実装するには、さまざまな課題が存在する。当初は、研究としての位置づけで開始することが望ましいと考えられるが、その次のステップとしては、保険診療として位置づけていくのか、あるいは、保険診療とは別の制度を設けるのか検討をする必要がある。また、難病のように、検査の頻度が極めて少ない場合と、年間で、例えば、1,000件以上というように、検査に対してかなりのニーズが存在する場合について、制度設計を区別していくことが必要であると考えられる。前者は、次世代シーケンサー拠点が担当し、後者は、