

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
分担研究報告書

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

研究分担者 斎藤加代子¹⁾
研究協力者 福嶋義光²⁾、武藤香織³⁾、難波栄二⁴⁾
森田啓行⁵⁾、山内泰子⁶⁾

- 1) 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター
- 2) 信州大学医学部社会予防医学講座遺伝医学分野
- 3) 東京大学医科学研究所公共政策研究分野
- 4) 鳥取大学生命機能研究支援センター
- 5) 東京大学健康医科学創造講座
- 6) 川崎医療福祉大学医療福祉学部

研究要旨

遺伝子検査のニーズの高まりから、臨床応用としてのクリニカルシーケンスが拡がり2013年のACMGは、Policy statementを公表した。即ち、被験者に報告することを推奨する遺伝子として56遺伝子、24疾患を呈示した。偶発的・二次的所見の評価と報告を義務化すべきか、多くの議論がなされており、未だ結論には至っていない。偶発的所見が発見された場合における遺伝情報の開示に関する方針についての検討が必要である。被験者又は代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける際には、偶発的・二次的所見に関する開示についてポリシーを持ち、その方針を説明し、理解を得ることが重要である。

A. 目的

次世代シーケンス技術の進展を背景に、疾患診断における遺伝子検査のニーズの高まりから、臨床応用としてのクリニカルシーケンスが拡がり、迅速かつ網羅的な解析が臨床現場でなされるようになってきた。クリニカルシーケンスによって網羅的に全ゲノム、全エクソンの解析が行われると、効果的に原因遺伝子を同定し、確定診断を実現する一方、目的とする解析結果だけでなく、ゲノム上の全ての遺伝子の遺伝子変異の情報が得られる。その中には家族性腫瘍遺伝子や遺伝性変性疾患の遺伝子が含まれるかもしれない。家族性腫瘍の場合には、発症リスクが予測できることにより適切な対応をとることができ、被験者の健康にとって大きなメリットもあろう。現時点では治療法のない神経変性疾患の場合には、被験者は予期せぬ結果を発症前に知らされることになる。このような情報は、偶発的所見 incidental

findingsとして議論されるようになってきている。本研究では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としての偶発的所見、二次的所見の取り扱いに関する検討を行う。

B. 方法

American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)のPolicy statement¹⁾に対して考察を行う。

C. 研究結果

どのような時に全ゲノム、全エクソン解析を考えるか？

全ゲノム、全エクソン解析が必要な場合は以下のとおりである²⁾。

- 1) 表現型や家族歴により、ある患者が何らかの遺伝性疾患を有していると強く示唆されるが、

当該患者の症状は、既知の遺伝性疾患で遺伝子診断（単独の遺伝子を標的とする従来法の遺伝子診断）が可能な疾患群のいずれとも合致しない場合

- 2) 患者の症状が既知の遺伝性疾患と合致しているが、その遺伝性疾患の原因遺伝子が多数存在するため、単一の遺伝子の解析を繰り返して行うより、大規模ゲノムシーケンシングを単回行った方が実際的であると考えられる場合
- 3) 患者が特定の遺伝性疾患を持っていると考えられ、その特定の疾患の原因遺伝子の変異解析を行ったが、変異が認められず診断がつかない場合
- 4) 胎児が特定の遺伝性疾患を持っていると考えられ、その特定の疾患の原因遺伝子の変異解析を行ったが、変異が認められず診断がつかない場合

全ゲノム、全エクソン解析において考慮すべきこと

全ゲノム、全エクソン解析を実施する検査室、診療現場は偶発的所見開示の明確なポリシーを持つこと、患者はそのポリシーを知らされること、患者は偶発的所見を受け取らないオプションを与えられること、症例ごとに依頼医師と検査責任者が賢明に取扱うことをACMGでは述べている2)。

予期せぬ結果や偶発的な所見について

American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) は、2013年、被験者に報告することを推奨する遺伝子として56遺伝子、24疾患を呈示した1) (表1)。

表現型	ACMG 56	遺伝子
遺伝性乳がん・卵巣がん症候群	BRCA1, BRCA2	
Li-Fraumeni 症候群	TP53	
Peutz-Jeghers症候群	STK11	
Lynch 症候群	MLH1, MSH2, MSH6, PMS2	
家族性大腸腫瘍性ポリポーシス	APC	
MYH関連ポリポーシス	MUTYH	
多発性大腸腺がん、FAP type 2		
毛色性腫瘍を伴う常染色体劣性の大腸腫瘍性ポリポーシス	VHL	
Von Hippel-Lindau		
多発性内分泌腫瘍症 I 型	MEN1	
多発性内分泌腫瘍症 II 型	RET	
家族性甲状腺腫瘍がん	RET	
PITRN 過剰症候群	PITRN	
網膜芽細胞腫	RB1	
遺伝性バラガンクリオーマ・褐色細胞腫症候群	SDHD, SDHAF2, SDHC, SDHB	
結節性硬化症	TSC1, TSC2	
Werner 関連 Wilms 腫瘍	WT1	
神経線維腫症 II 型	NF2	
Ehlers-Danlos 症候群、血管型	COL3A1	
Marfan 症候群、Loeys-Dietz 症候群	FBN1, TGFBR1, TGFBR2, SMAD3, ACTA2, MYLK, MYH11	
家族性胸動脈瘤と解離	MYH3, MYH7, TNNT2, TNNT3, TPM1, MYL3, ACTC1, PRKAG2, GLA, MYL2, LMNA	
肥大型心筋症、拡張型心筋症	RYR2, PKP2, DSP, DSG2, TMEM43, DSG2, KCNQ1, KCNH2, SCN5A	
カテコラミン誘発性多型性心室性頻脈	RYR2	
不整脈原性右室心筋症	PKP2, DSP, DSG2, TMEM43, DSG2	
Romano-Ward QT 延長症候群 I 型, II 型, III 型	KCNQ1, KCNH2, SCN5A	
Brugada 症候群		
家族性高コレステロール血症	LDLR, APOB, PCSK9	
悪性高熱症易罹患性	RYR1, CACNA1S	

「ACMG は、クリニカルシーケンシングを行なう研究所が、表1の遺伝子の特定の 변異を検索し、報告する事を勧める。この評価と報告は、すべての臨床の生殖細胞系のエクソームおよびゲノム配列決定において行なわれるべきである。胎児のサンプルは除外されるが、腫瘍における正常組織部分を含み、年齢に関係なくあらゆる対象において、実施されるべきである。」と述べている。

Loeys-Dietz 症候群の症例

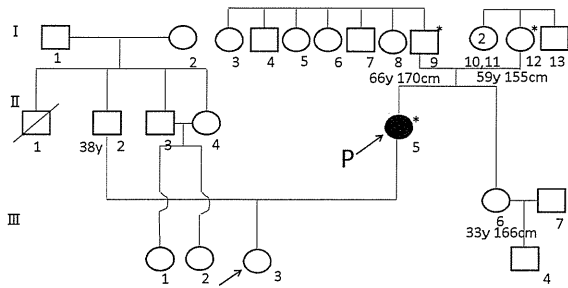
我々は、表1のACMG56に挙げられているLoeys-Dietz 症候群の女性で、遺伝子診断を受けるまで遺伝カウンセリングと診療フォローアップに8年を要した症例をここに報告する。

初診時 26歳女性 167cm 60kg、現在 38歳

【現病歴】小学校高学年：検診にて側弯を指摘されるも、経過観察。心臓等の異常指摘なく、バレーボール所属。妊娠36週、妊婦検診にて高身長、側弯にてMarfan 症候群を疑われ、遺伝カウンセリング目的に紹介受診。上行大動脈拡張(3.4cm)。38週5日にて女兒出産。

31歳、大動脈弁輪拡張症、バルサルバ洞動脈瘤に大動脈基部再建術。

【家系図】



26歳初診、妊婦健診にて思いがけず自身の疾患が判明。児への遺伝の可能性、疾患受容に時間が必要と考え、継続して臨床遺伝専門医と臨床心理士が関わる方針とした。出産後、児の健診を行いつつ、遺伝学的検査のタイミング等を考えた。児は2歳までは3か月毎、その後6か月毎の診察とした。

【遺伝学的検査について】

31歳、大動脈基部再建術を受ける時に、循環器医師から遺伝子検査を勧められた → 「受ける気持ちにならない」との結論だった。

34歳（初診から8年後）、児のフォロー外来中に遺伝子検査希望した。子どもの検査は希望しないが、自分の遺伝子検査は受けようと思う、となった。

【遺伝子検査結果】

TGFBR1 遺伝子 p.Arg225Pro (c.674G>C; exon4)
 両親に同変異はなく de novo 変異と判定した。(国立循環器病センター森崎隆幸先生、森崎裕子先生に感謝します) その後、児（現在9歳）の遺伝子検査は希望せず、at risk として定期診察でのフォローを希望している。

全ゲノム、全エクソン解析における説明と同意

ACMG Board of Directors³⁾は、全ゲノム・全エクソン解析において以下のようなことを考慮すべきと述べている。

- 1) 全ゲノム・全エクソン解析を始める前に、臨床遺伝専門医または認定遺伝カウンセラーによる遺伝カウンセリングを行わなければならない。患者から文書による同意取得を含む。
- 2) 小児でも成人でも、偶発的/二次的所見には疾患の重症化を防ぐか改善するための介入という高

い臨床的重要性があり得る。患者にインフォームド・コンセント・プロセスの一部としてこの可能性のことを通知すべきである。

- 3) 遺伝子検査前のカウンセリングは、検査結果の予測、偶発的な結果の可能性と型、そして返却されるまたは、返却されない結果の型を含むべきである。患者は検査実施機関から主治医へどのような偶発的所見が返却されるのか知るべきである。
- 4) 患者は、全ゲノム・全エクソン解析の潜在的利益および危険、そのような検査の限界、家族のための潜在的な意義、検査の代替となるものに関してカウンセリングを受けるべきである。
- 5) 全ゲノム・全エクソン解析は以下のもの以外に、未成年には推奨されない。
 - a. 臨床症状のある場合の診断
 - b. 早期のモニタリングや介入が利用でき有効である場合
 - c. 倫理委員会により承認された研究
- 6) 検査前のカウンセリングで診療のための検査か、研究のための検査か明確に区別すべき。
- 7) 患者は個々に識別可能な結果がデータベースとして提供される可能性に関して通知されるべき。また、そのような公開の不同意を許されるべき
- 8) 患者は結果についての新しい知見が得られた時に、主治医が再度連絡をしていく方針である事を知らされるべきである。

D.考察

2013年のACMGのPolicy statementの公表以来、偶発的・二次的所見の評価と報告を義務化すべきか、多くの議論がなされており、未だ結論には至っていない。Ramaniら⁴⁾は遺伝子解析の被検者にある一定条件の下に結果を返すべきと考えている研究者が69%いるにもかかわらず、実際に結果を返したのは6%であったと述べている。Klitzmanら⁵⁾も、研究者の95%が浸透率が高く、直ちに医学的な関与が必要な場合には、偶発

的・二次的所見を開示すべきと考えているが、実際に開示した研究者は12%に過ぎなかったことを指摘している。Ramaniら³⁾は結果の開示の主な理由は、被検者の健康への利益(63%)、被検者の希望(57%)である一方、非開示の主な理由は、臨床的有用性の不明確さ(76%)、被検者が誤解をする可能性(74%)、感情的に被害を及ぼす可能性(61%)、ゲノムに関わる情報を理解する臨床家へのアクセスの必要性(59%)、守秘性がなくなる可能性(51%)があると述べている。

ACMG56に挙げられている疾患のひとつであるLoeys-Dietz症候群の自験例では、遺伝子検査を受けること自体を本人が納得するのに8年間かかり、時間をかけて診療継続をすることにより、検査結果をスムーズに受容できたこと、それでもなお自身の子の遺伝子検査は受けたくない、と考えていることを示した。このように丁寧な遺伝カウンセリング、遺伝子診療を継続してようやく受容できるような被検者に、診療の場で、偶発的・二次的所見の結果を不用意に開示することは、被検者への大きな予測できない害をもたらすことになりかねない。

平成25年2月8日に改訂された文部科学省・厚生労働省・経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」において、「偶発的所見の開示に関する方針に関する細則」として、「研究責任者は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究の過程において当初は想定していなかった提供者及び血縁者の生命に重大な影響を与える偶発的所見(incidental findings)が発見された場合における遺伝情報の開示に関する方針についても検討を行い、提供者又は代諾者等からインフォームド・コンセントをうける際には、その方針を説明し、理解を得るように努めることとする。」としている。クリニカルシーケンス、すなわち次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査においては、すでに診療現場で応用され始めている現在、少なくとも、日本医学会「医療における遺伝学的検査・診断に関するガイドライン」

に下記の太字下線部分を加筆し、さらに今後の詳細な検討をしていくことを提言したい。

「3. 遺伝学的検査の留意点

3-1)すでに発症している患者を対象とした遺伝学的検査は、主に、臨床的に可能性が高いと考えられる疾患の確定診断や、検討すべき疾患の鑑別診断を目的として行われる。遺伝学的検査は、その分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性などを確認した上で、臨床的および遺伝医学的に有用と考えられる場合に実施する。複数の遺伝学的検査が必要となる場合は、検査の範囲や順番について、臨床的に適切に判断した上で実施する。検査実施に際しては、検査前の適切な時期にその意義や目的の説明を行うことに加えて、結果が得られた後の状況、検査結果が血縁者に影響を与える可能性、想定していなかった被検者及び血縁者の生命に重大な影響を与える偶発的所見(incidental findings)が見つかる可能性があること等についても説明し、被検者がそれらを十分に理解した上で検査を受けるか受けないかについて本人が自律的に意思決定できるように支援する必要がある。……遺伝学的検査の結果は、一連の診療の流れの中でわかりやすく説明される必要がある。診断は遺伝学的検査の結果のみにより行われるのではなく、臨床医学的な情報を含め総合的に行われるべきである。遺伝学的検査の結果は、診断の確定に有用なだけでなく、これによってもたらされる遺伝型と表現型の関係に関する情報も診療上有用であることにも留意する。一方で、新規の変異などその病的意義を確定することが困難な場合や、浸透率が必ずしも100%でないと考えられる場合などにおいては、遺伝学的検査の結果を解釈する際に、特段の注意が求められる。確定診断が得られた場合には、当該疾患の経過や予後、治療法、療養に関する情報など、十分な情報を提供することが重要である。偶発的所見が発見された場合における遺伝情報の開示に関する方針についての検討を行い、被験者又は代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける際には、その方針を説明し、理解を得る。」

E.結論

偶発的所見が発見された場合における遺伝情報の開示に関する方針についての検討が必要である。被験者又は代諾者等からインフォームド・コンセントを受ける際には、偶発的・二次的所見に関する開示についてポリシーを持ち、その方針を説明し、理解を得ることが重要である。

2.実用新案登録 なし

3.その他 なし

文献

1) Green RC, et al. ACMG policy statement. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in Medicine* 2013;15:565-574

2) 小崎健次郎訳:全ゲノムシーケンシング・全エクソンシーケンシングを診療に活用する際の留意点. American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). Points to Consider in the Clinical Application of Genomic Sequencing. *Genet Med* 2012;14:759

3)ACMG Board of directors. Points to consider for informed consent for genome/exome sequencing. *Genet Med* 2013;15:748-749

4) Ramoni RB, et al. Experiences and attitudes of genome investigators regarding return of individual genetic test results. *Genet Med* 2013;15:882-887.

5) Klitzman R, et al. Researchers' views on return of incidental genomic research results: qualitative and quantitative findings. *Genet Med* 2013;15:882-887

F.健康危険情報

特記事項なし

G.研究発表

1.論文発表

斎藤加代子. 遺伝子検査施行時の倫理的対応. 産科医学 2014;44:153-156

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1.特許取得 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（難治性疾患等克服研究事業）
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
テーマ別研究報告書

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

研究分担

松本 直通（横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学・教授）
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）
斎藤 加代子（東京女子医科大学附属遺伝子医療センター・教授）
福嶋 義光（信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座・教授）
難波 栄二（鳥取大学生命機能研究支援センター・遺伝子探索分野・教授）

本課題の目的は、次世代シーケンサー（Next Generation Sequencer 以下 NGS と略す）を用いた遺伝学的検査と、NGS 技術ではカバーできないマイクロアレー技術やリポート解析と、旧来技術についての技術的課題と位置づけについて検討することを目的とする。

NGS 解析

NGS 解析で遺伝学的検査に直接関連する全エクソーム解析（Whole Exome Sequencing 以下 WES と略す）とターゲット遺伝子解析（Target Gene Sequencing 以下 TGS と略す）についてその特徴と位置づけについて検討した。尚、特に断りない限り解析技術は、現時点で最も汎用されている Illumina 社の Sequence by synthesis（合成シーケンス）技術を用いた HiSeq 及び MiSeq でのシーケンスデータ、並びにゲノム分画技術は Agilent 社の Sureselect 等を用いて算出している。

現行の WES は、Sureselect V5 と HiSeq2000 を用いて 1 ラン当たり 64 例を 100 ベースのペアエンド解析でシーケンスを行うと coding sequence の通常 95% の領域を 20x 以上のカバレッジでシーケンス可能である。平均カバレッジも 120x 以上は十分に解読される。この手法で生殖細胞系列の変異の大半が理論的には可能である。現行の試薬の定価コストから試算すると 10-11 万円（1 ラン 64 サンプルの場合）程度である。実際には、解析に必要な人件費、解析機器の維持、電気代及び十分なデータが得られないときの再施行に対する費用等の上積みのコストが積みあがる。実際には様々なコンテキストで検体の解析が行われ、WES で遺伝学に解決できる率は、症例群によっても様々であり（0~60%程度）、全体で平均するとメンデル遺伝性疾患であっても 20-30%程度である。

TGS はカスタム Sureselect や原理の少し異なる Haloplex 技術で数十～数百遺伝子を分画しターゲット遺伝子領域のサイズに合わせて MiSeq 1 ランで通常 100-300x カバレッジが得られるようなサンプル数でシーケンスを行うことが多い。通常、coding sequence の 97-98% が 20x のリード数で解析され

る。この場合、現行試薬の定価コストで試算すると1サンプル当たり4-6万円となる。TGSではターゲット領域が小さいため Miseq の1ランの出力に見合うサンプル数の確保を行う必要がある。よって例えば〇〇病の症例が20例あるいは30例と集積してから解析する必要があり、対象疾患が希少な場合は検体集積に時間がかかるという難点がある。最近ではメンデル遺伝病の原因であることが判明している全遺伝子を対象としてTGSキットなども登場しWGSと小規模TGSとの隙間も埋まりつつある。

WGSとTGSについては基本NGSの同じシーケンス原理に基づく限り、遺伝子変異の同定能力は大きな差がないと考える。現行のNGS技術では、特に10塩基を超えるindel(塩基の挿入や欠失)の同定能力は高くなく、10-20塩基を超えるような異常は旧来型のサンガー法にアドバンテージがある。一方で、既知遺伝子のサンガー法による確認で異常なしと判断された症例においてもNGS解析を行うことで既知遺伝子異常が見つかることが少なからずある。10塩基以下のindelについてはサンガー法よりNGSの方が検出感度が高いと考えられる。

NGS 解析プラットフォーム

本課題では汎用されている Illumina の NGS 技術で分析しているが、NGS 技術は日々進展しており、例えば競合機種としての Life Technologies 社の Ion PGM/Ion Proton も改良が進み、従来やや安定性を欠いたエマルジョン PCR に代わる Isothermal amplification chemistry の開発、シーケンスケミストリーの大幅な改良等により homopolymer 部分以外の indel 検出能力も向上することが見込まれている。解析を行う側にとっては選択肢が増えることは望ましく、今後も新技術・新機器等の動向には常に注意を払う必要がある。

NGS データ解析(インフォーマティクスプラットフォーム)

アカデミックベースで BWA (ゲノムマッピング) > Picard (PCR Duplicate 除去) > GATK (ジェノタイプング) > Annovar (アノテーション) という流れが汎用されているようである。

Ion PGM/Ion Proton ではホモポリマー部分のノイズ低減のため T-map 等の Life Technologies 社純正のソフトウェアを使うのが一般的である。尚、これらのインフォーマティクスフローは生殖細胞系列変異を同定するためのものであり、体細胞モザイク変異は基本的に同定できない。低頻度な体細胞モザイクは GATK での検出は難しく、MuTect 等の体細胞変異ソフトウェアの使用が必須である。

WES VS TGS

WES と TGS での遺伝子変異検出能力は、対象領域の違い以外には差がないため、遺伝子異常解析系として TGS を行いさらに変異陰性例を WES する系 (TGS+WES) と TGS を行わず最初から WES を行う系 (WES only) で、コスト面からの試算を行った。WES のコストを 12 万円とし、TGS (35 遺伝子分と仮定) を 4 万円とし、全解析数 (Y 例) と TGS での変異陰性の症例数 (X 例) とすると $10Y=4Y+10X$ と TGS+WES と WES only がコスト面で均衡するのは $X=0.6Y$ となる。即ち TGS で変異が陽性の率が TGS コスト/WES コスト比を上回らない限り TGS+WES コストの方が WES only より割高になる。即ち TGS のコストが WES コストの 30%であった場合 TGS で変異同定が 30%を超えない限り WES を最初から施行した方が割安になる。一方で TGS 解析には incidental finding に遭遇

する可能性はほとんどない等の倫理的なメリットがある。TGS+WES では2度の解析が必要なこともあり最初から WES を行うことのメリットは小さくないと考える。

NGS データでの Copy Number Variation の検出

TGS データ及び WES データを用いて Copy Number Variation (CNV) の同定が可能で会える。TGS データは Nord らの CNV 解析プログラム (BMC Genomics 2011) で、全遺伝子欠失や 4.6 kb の遺伝子内 1 エクソン欠失の同定が可能であった。WES データでは XHMM (Am J Hum Genet, 2012) を用いることで、マイクロアレーで検出できた 100 kb 以上の CNV のおよそ 6 割程度の同定が可能であったが、40%程度の CNV は検出できない。一方で全ゲノム高密度マイクロアレーでも検出の難しい 10 kb 以下の CNV の少なくとも一部は XHMM で検出可能であるためマイクロアレー解析の検出感度を超える小さな CNV 検査を補完する可能性はある。

サンガー法によるキャピラリーシーケンスを含めた旧来技術の位置づけ

旧来法として、遺伝子の点変異・小さな indel の検出は PCR とサンガー法を用いたキャピラリーシーケンス、比較的大きな欠失挿入 (エクソンレベル等) は MLPA 法、DHPLC あるいは HRM は点変異スクリーニング法としては有用であるが、キャピラリーシーケンスと比較すると検出率は若干落ちる。旧来法に比較し NGS は、リード数を稼げるため体細胞変異同定にアドバンテージがある。しかし旧来法は Wet 研究者のみで、施行及び解釈が可能であったが NGS 解析ではインフォーマティクス体制は必須であるし、現時点では NGS で検出した変異もキャピラリーシーケンサーでの確認を行う必要がある。NGS 解析にはトリプレットリピート病に関する 3 塩基伸長の検出は不向きであり、repeat-primed PCR やハイブリダイゼーション法等の旧来技術が有用である。変異が既に既知である場合、ピンポイントの解析ならキャピラリーシーケンスが最も効率的である。臨床診断に用いるレベルとしてのクリニカルシーケンスにおいては NGS も旧来法も共に質的保障が必要になる。NGS は例えば WES 等で多くの疾患の診断が可能であり、NGS を用いて質的に均一で保障されたシステムを構築することはメリットがあるかもしれない。コストの均一化も旧来法は必要に応じたカスタマイズ等で難しいが、NGS だと均一化が可能である。発端者が有する遺伝子変異が既知の場合の家系内保因者解析、出生前診断解析は依然旧来法が有用である。

遺伝学的検査の料金設定と turn around time

旧来法の遺伝子解析には、DNA 抽出、電気泳動、ゲルからの精製、シーケンス反応、シーケンス泳動の諸費用が加算され、さらに人件費として基本料金や設備原価償却あるいは、解釈・説明等に関わる専門職の費用等の加算も重要である。NGS 解析は消耗品以外のコスト計算が旧来法より大がかりなためより高コストである (例えばインフォーマティクス費用等)。旧来法の Turn around time は通常 2-4 週程度である。NGS 解析においては NGS 機器とインフォーマティクス解析のキャパシティーに大きく依存し、通常数か月を要することも多い。

マイクロアレーによる CNV 解析の位置づけ

マイクロアレー法によるゲノム CNV 解析の普及により CNV データベースの蓄積とデータベース化が進んでいる。よって正常ヒトゲノムに存在する CNV 多型の情報等が十分に入手可能な環境下に現在なっている。この情報資産は極めて有益である。また欧米の遺伝学的検査においてマイクロアレーを用いたゲノム CNV 解析は必須なものとして位置づけられている。よって WES 解析を行った症例に CNV 解析を施行していないことは、包括的なゲノム遺伝子検査を施行していることにならない。特に希少難病の遺伝的解析には NGS 解析と共に CNV 解析も強く望まれる。

技術的な指針

遺伝的な原因の推定が難しい希少難病の第一選択は WES

表現型から遺伝的原因の推定が容易な場合は TGS も選択肢(ただし変異検出率が TGS/WES のコスト比を大きく上回ることが望ましい)

TGS/WES でマイクロアレー解析と同等の CNV 解析は不可能であり、包括的な遺伝学的検査にはマイクロアレー解析を行うことが理想的である。

効率的かつ適切な遺伝子診断には、旧来型と NGS の利点と欠点を考慮した適切な方法の選択が重要である。

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等克服研究事業）
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
テーマ別研究報告書

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

研究分担者 松田 文彦 京都大学大学院医学研究科・教授
研究分担者 松原 洋一 国立成育医療研究センター・所長

研究要旨

遺伝子診断体制の確立にあたり、同定された変異に適切な解釈を付与するためには、患者の臨床情報や遺伝子変異の生物学的意義等が集約されたデータベースを参照する必要がある。厚生労働省科学研究費「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」において遺伝子解析拠点研究班（5拠点）が協力して構築した「日本人の遺伝子変異データベース・疾患変異データベース」は、我が国における遺伝子診断事業に不可欠の日本人のゲノム変異情報を蓄積している。多様な疾患の遺伝子診断結果を本データベースへ継続的に蓄積し、遺伝子変異情報を集約・一元化することにより、高精度かつ標準化された手法での遺伝子診断が実施され、疾患の再分類が進み、適切な医療体制が確立されると期待される。このような体制の構築や維持・運営のためには、解析拠点施設が中心となりゲノムインフォマティクス人材の育成に尽力する必要がある。

A. 研究目的

遺伝学的検査体制の構築にあたり、遺伝子変異に応じた精度の高い診断、迅速な治療方針の決定による質の高い「個の医療」を実現するためには、遺伝子変異情報を集約し、標準化・一元管理のうえ参照可能にする情報基盤の整備が必要不可欠である。本課題では、データベースおよびゲノムインフォマティクスの現状について調査し、遺伝子診断体制に必須の情報基盤構築に関する課題について考察する。

B. 研究方法

厚生労働科学研究費「難治性疾患克服研究事業」の遺伝子解析 5 拠点（京都大学、東京大学、東北大学、横浜市立大学、国立成育医療研究センター）が連携し「日本人の遺伝子変異データベース・疾患変異データベース」を構築した。そして 2013 年 11 月より研究者コミュニティに公開している（<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB>）。本データベースは、日本人を対象としたゲノム解析研究において有用なゲノム変異情報を網羅しており、遺伝子診断

体制に必要な情報基盤としては、最適なデータベースである。本研究課題では、当該データベースの現状を報告し、遺伝子診断体制の実地に際した情報集約の意義と課題について報告する。

（倫理面への配慮）

データベースの構築に際し、研究代表者、分担者はそれぞれの機関において審査を受け、適切に実施されている。連携機関とのデータのやりとりは、匿名化された情報のみ扱われている。

C. 研究結果

日本人の遺伝子変異データベース

遺伝子診断においては、同定された遺伝子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、大規模な健常者集団のゲノム変異情報との比較や、疾患毎の変異を集約したデータベースの参照が不可欠である。ゲノム多様性、疾患関連変異は、集団に固有のものが少なくないことがわかってきており、我が国での遺伝子診断体制の確立には日本人集団のデータベース構築が

不可欠である。先に公開された 1,208 名の健常者日本人集団の「日本人の遺伝子変異データベース」は、5つの次世代シーケンサー解析拠点が緊密に連携して構築した唯一の日本人集団のデータベースであり、研究者コミュニティがさまざまな研究、診療に活用することができるわが国の生命科学における基盤的役割を果たしている。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。

以下、公開情報の概要を列挙する。

- 1,208 名のエクソーム解析結果より算出した 288,025 座位の日本人のエクソン領域における遺伝子多型頻度情報
- 3,248 名の一塩基多型タイピング解析結果より算出した 1,794,196 座位の日本人のゲノム多型頻度情報
- 300 名の発現アレイ解析とエクソーム解析情報を組み合わせた 21,755 遺伝子における網羅的発現関連解析 (eQTL) 情報

疾患変異データベース

疾患と関連する遺伝子変異のデータベースは、個別の疾患の小規模データベースは存在するが、幅広く多くの疾患を網羅したデータベースは存在しない。次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断を拠点で一元化して実施することは、データが集積されること、統一プロトコルで質の担保されたデータの産生を可能とすることなど、このような変異データベースの構築に大きく寄与すると考えられる。また、疾患関連変異データベースが、我が国での標準として研究者・医療者に長期にわたって利活用されるには、拠点の解析結果に加えて個別研究で見出される疾患関連変異も、本データベースへの登録を促すことが重要である。

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多様性情報のデータベースの構築が推進されている。このような国際的な試みに貢献していくためにも、次世代シーケンサー解析拠点が中心となり、Japan Node を設置し役割を担うことが求められる。

ゲノムインフォマティクス

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生命ビッグデータの研究を推進する学際的研究分野として発展することが予想される。次世代シーケンサーから産生される膨大な情報からの配列情報の抽出、ヒトゲノム参照配列への整列、変異のコールなどの一連の解析、品質管理、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、機能解析の予測など、重層的な解析が求められる。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分野の人材育成にとって極めて重要となり、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。京都大学では、海外より著名な講師陣を招き、次世代シーケンサー解析のトレーニングコースを年一回実施しており、教育だけでなく実践技術を習得する環境を提供し、日本のバイオインフォマティクス全体のレベル向上に努めている。さらに、新規アルゴリズムの開発など、研究面で高いレベルを目指すことも大切であり、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の深い知識と豊富な経験を持つ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。

京都大学トレーニングコース概要

- 「第 1 回次世代シーケンサー解析トレーニングコース」2013 年 1 月 15 日～18 日、京都大学大学院医学研究科 芝蘭会館
- 「第 2 回次世代シーケンサー解析トレーニングコース」2014 年 3 月 10 日～12 日、京都大学大学院医学研究科 南部総合研究 1 号館

D. 考察

データエントリー

日本人の遺伝子変異データベースに登録されている 288,025 個の変異のうち、

156,622 個 (54.4%) は、世界の公開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った。これらの変異の約 60% 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より、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、疾患に関連する遺伝子変異の効率的な探索や診断に有用と考えられる。

これらの情報に加えて、遺伝子変異と遺伝子発現量の関連解析 (eQTL) 情報も記載されており、新規に同定された疾患関連変異の機能的役割を解釈するうえで重要な情報基盤である。

情報基盤整備により期待される成果

- 1) 多種の難病の遺伝子診断体制が構築され、遺伝子診断における標準化が進む。
- 2) 遺伝子産物の構造や機能に影響を与える遺伝的変異が収集され、難病の発症機構の解明やゲノム変異に基づいた難病の再分類に役立つ。
- 3) 本データベースを参照することにより、遺伝子診断を行なった患者で同定された遺伝子変異が疾患に関連するかどうかの検証が容易に行える。
- 4) 疾患遺伝子情報のみならず、疾患背景や治療経過などの情報の収集により疾患の全体像の理解が進み、適切な医療体制を敷く基礎となるデータを提供できる。

今後の課題

・情報の集約・一元化

疾患変異データベースとして機能するための最優先課題は、既知の全ての変異情報の集約・一元化である。これにより、解析結果への適切な解釈が可能となる。

・登録の推進

遺伝子診断体制の実用化と登録の義務化により、変異情報が集約されていくシステム構築が望まれる。各研究機関に死蔵されている過去のデータ等を抽出するためには、登録への働きかけも必要とされる。また、変異の解釈に有用な充実した臨床情報の提供や科学雑誌との連携により登録のインセンティブを確保することも重要である。

・登録支援

各施設で同定された変異は、必ずしも単一のプラットフォームで解析されたものとは限らず、変異の表記法も統一されていない。そのような場合にも対応できる

ような登録支援インターフェイスを実装する。

・情報の充実化

諸外国のデータベースとの連携や、希少疾患関連変異の探索に対応するため検体数や情報量の拡大をおこなう。

・品質管理

登録に際し、品質管理の標準化・プロトコルの策定、また、信頼度の指標・確認実験手法等の情報も付加する。

・患者登録

生体試料バンク事業と連携をとる。実際の運用には、コホート事業で構築し実績のある臨床情報管理システムを利用する。

・長期的運用・維持

利用価値の高いデータベースを構築しても、資金提供のないままの運用・維持は困難であるため、事業化による長期にわたる資金的援助が強く望まれる。また、解析を専門とする人材の育成が必要である。

E. 結論

迅速かつ正確な遺伝子診断体制を確立するためには、変異情報を集約・一元化し、様々な医療機関から登録・参照可能にする情報基盤の整備が緊要の課題である。現在、遺伝子解析 5 拠点で連携して構築し、維持・運営している日本人の遺伝子変異・疾患関連変異データベースは、遺伝子診断に最適な情報基盤を構築しつつあり、観測された変異に対する解釈付与において極めて重要な役割を果たすことが期待される。今後データベースの内容をさらに充実したものとし、長期にわたって継続的な運用を行うためには、変異登録のインセンティブを確保し、ゲノムインフォマティクス人材を育成する環境を提供することが拠点機関の重要な役割である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

【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. Yamakawa, N., Fujimoto, M., Kawabata, D., Terao, C., Nishikori, M., Nakashima, R., Imura, Y., Yukawa, N., Yoshifuji, H., Ohmura, K., Fujii, T., Kitano, T., Kondo, T., Yurugi, K., Miura, Y., Maekawa, T., Saji, S., Takaori-Kondo, A., Matsuda, F., Haga, H. and Mimori, T. (2014) A clinical, pathological and genetic characterization of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders. *J. Rheumatol.* **41**, 293-299.
 4. 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.
 5. Terao, C., Yoshifuji, H., Ohmura, K., Murakami, K., Kawabata, D., Yurugi, K., Tazaki, J., Kinoshita, H., Kimura, A., Akizuki, M., Kawaguchi, Y., Yamanaka, H., Miura, Y., Maekawa, T., Saji, H., Mimori, T. and Matsuda, F. (2013) Association of Takayasu arteritis with HLA-B*67:01 and two amino acids in HLA-B protein. *Rheumatol. (Oxford).* **52**, 1769-1774.
 6. 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.
 7. 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.

8. Sekiguchi, K., Maeda, T., Suenobu, S., Kunisaki, N., Shimizu, M., Kiyota, K., Handa, Y.S., Akiyoshi, K., Korematsu, S., Aoki, Y., Matsubara, Y. and 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**, 2600-2603.
9. Miyake, N., Koshimizu, E., Okamoto, N., Mizuno, S., Ogata, T., Nagai, T., Kosho, T., Ohashi, H., Kato, M., Sasaki, G., Mabe, H., Watanabe, Y., Yoshino, M., Matsuishi, T., Takanashi, J., Shotelersuk, V., Tekin, M., Ochi, N., Kubota, M., Ito, N., Ihara, K., Hara, T., Tonoki, H., Ohta, T., Saito, K., Matsuo, M., Urano, M., Enokizono, T., Sato, A., Tanaka, H., Ogawa, A., Fujita, T., Hiraki, Y., Kitanaka, S., Matsubara, Y., Makita, T., Taguri, M., Nakashima, M., Tsurusaki, Y., Saitsu, H., Yoshiura, K., Matsumoto, N. and Niikawa, N. (2013) MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am. J. Med. Genet. A* **161**, 2234-2243.

【学会発表】

なし

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）
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

テーマ別 研究報告書

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

担当者 宮地勇人（東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学）
難波栄二（鳥取大学生命機能研究支援センター）

本研究では、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、関連する情報を収集、整理し、それに基づき、医療・ヘルスケアさらに大学などの研究室における検査の質確保のための方策を検討することを目的とした。

1) 品質の確保を指標とした評価とは？

品質のマネジメントと品質レベルとの関係では、標準規格やガイドラインがベースラインの基準となり、そのコンプライアンスに基づき、物理的要件、プロセス要件、アウトカム要件を満たすことで品質レベルが向上する。品質レベルのさらなる向上に向けて、品質サーベイランス（サービスプロバイダーのパフォーマンス、データ・フィードバック、介入）を踏まえた PDCA サイクルに基づき、継続的改善へと進む。物理的要件は規制やインセンティブやケース監査、ピアレビューにて審査され、後者は施設認証や認定の対象となる。

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。検査機関の施設認定には、米国での CAP（米国病理医協会）の施設認定があり、国際規格として「臨床検査室としての検査を行う能力に関する特定要求事項」を規定した ISO15189 に基づく施設認定がある。新たに遺伝学的検査に関する事項が盛り込まれた改定版 ISO15189:2012 が 2012 年 11 月に発行され、2013 年 4 月邦訳版が発行された。

一方、本邦では、質確保を目的とした国としての監督指導は十分整備されていない。検査機関の認証・認定取得は任意である。

2) 保険診療外の遺伝学的検査の品質の確保

新たな遺伝学的検査サービスの開始において、国内外における精度保証の取り組みや標準化の活動を踏まえて、一定の精度保証のもとで適切な実施と利用が望まれる。特に単一遺伝子疾患の確定、発症前、保因者、出生前の遺伝学的検査の提供は、医療機関はじめヘルスケアの枠組みで行われる場合は、日本臨床検査標準協議会「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」(2012年)に添って、質保証システム、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を満たすことを前提とすべきである。

単一遺伝子疾患や保因者診断、発症前診断、出生前診断、親子鑑定や移植における個人識別等の検査サービスにおいては、必要に応じて登録衛生検査所登録に加え、大手の検査機関のように、品質マネジメントと技術的要求事項を満たす国際標準規格 ISO15189 等の第三者認定が望まれる。

また、ヘルスケアや健診で利用される他の体質検査や簡易な測定(試薬キット、自動測定:薬事承認・未承認検査法)において、利用者が安心して利用できるよう、検査機関における検査の精度確保に関する取り組みの情報公開が望まれる。

3) 大学などの研究室での精度確保

大学などの研究室で取り扱う遺伝学的検査は、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。実際には、多くの遺伝学的検査において、試薬キット(薬事承認)や自動測定システムなど製品は利用できる状態でない。一方、大学などの研究室では、上記の体制整備の短期的な実現は困難である。そこで、最低限レベルの品質を確保するため、物理的要件を満たすことから開始することが望まれる。物理的要件には、環境、組織、専門家、文書記録保持が含まれる。環境、組織に関しては、検査実施のための環境整備(安全確保)、設備設置、組織構築や人員配置が必要である。専門家として、指導者と測定技術者の両者にて、一定の素養・資格を有することが求められる。文書記録保持には、検査開始前の準備として、検査の分析的妥当性、臨床的妥当性(さらには臨床的有用性)の評価に関する文書、標準作業書(SOP: standard operating procedure)の整備が必要となる。分析的性能評価は、正確性、精密度、基準範囲、報告範囲、分析的感度、分析的特異度、および測定性能を確保する上で重要な指標(検体安定性、試薬安定性、直線性、キャリアオーバー・クロスコンタミネーションなど)を含む。臨床的性能評価は、臨床的感度、臨床的特異度、陽性・陰性予測値、臨床的有用性を含む。全ての手順、すなわち、検体取扱い(採取、搬送、保存)、検査依頼(依頼書式)、検体受付、前処理、測定、報告(報告書式)、精度管理については文書化(SOP)し、関連スタッフが作業場で利用できるように整備し、教育プログラムとして(再)訓練・評価に利用する。

大学などの研究室における遺伝子診断においては、上記の要求事項に関して、段階的に取り組みに関する文書化を行う。希少な疾患の遺伝学的検査での具体的な取り組みは、「稀少

遺伝性疾患の分子遺伝学的検査を実施する際のベストプラクティス・ガイドライン、日本人類遺伝学会「遺伝学的検査標準化準備委員会」を参照する。これらの文書化された記録は、指導的立場の者にてレビューされ、検査結果を報告する上での要件を満たしていることを確認する。

上記の検査サービスとしての品質確保を求める努力とともに、利用者が安心して利用できるよう、検査機関における検査精度と要求事項への対応に関する情報公開が望まれる。

まとめ

本研究では、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、関連する情報を収集、整理し、それに基づき、医療・ヘルスケアさらに大学などの研究室における検査の質確保のための方策を検討することを目的とした。遺伝学的検査を中心に検査実施に関する提言を以下のごとくまとめた。

1. 単一遺伝子疾患の確定、発症前、保因者、出生前の遺伝学的検査が、医療機関はじめヘルスケアの枠組みで行われる場合は、日本臨床検査標準化協議会「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」(2012年)に添って、質保証システム、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を満たすことを前提とする。検査機関は、必要に応じて登録衛生検査所登録に加え、品質マネジメントと技術的要求事項を満たす国際標準規格 ISO15189等の第三者認定が望まれる。
2. 大学などの研究室を含めて、その他の遺伝子関連検査については、上記の精度確保を求める努力とともに、医療機関はじめヘルスケアの枠組みで行われる場合、利用者が安心して利用できるよう、検査機関における検査精度と要求事項に対する対応に関する情報公開が望まれる。
3. 新しい技術を用いた遺伝学的検査では外部精度調査や第三者評価のしくみが十分に整っていない。この場合は、その精度確保の確認は、上記2つに加え、臨床遺伝学や臨床検査の専門家の指導のもと実施することが望まれる。
4. 検査データ蓄積に基づく、臨床的妥当性、臨床的有用性の評価および適正利用には、検査実施・データの情報共有化が必要なため、データ登録および管理のしくみが構築され、その管理の継続性が確保できるよう、国レベルのネットワークが整備されることが望まれる。

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
テーマ別報告書

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について

後藤 雄一 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 部長

新たな難病に関する原因遺伝子が次々と発見、報告されており、確定診断を遺伝学的検査に求める疾患は増加の一途を辿っており、難病における遺伝学的検査の重要性は増すばかりである。診断としての遺伝学的検査を行う主体として、難病を専門にしている医師や研究者で構成されている特定疾患調査研究班、各領域の学会、国立高度専門医療研究センターなどが連携して活動する「難病医療支援ネットワーク（仮称）」が想定されており、その果たす役割について考察した。遺伝学的検査が有用な疾患の選定、検査依頼の受け手としてのゲートキーパー、実際の遺伝学的検査の実施、結果の解釈とその返却、などの任務を担う組織として活動することが望まれる。情報の集中化と提供はネットワーク型の組織の得意とする点であるが、患者検体の授受に関わる施設をどのようにするかが重要な点であり、研究を推進させるためのバイオリソースの確保、臨床試験を推進させるための患者レジストリーシステムと連動させることを考慮して、国立高度専門医療研究センター等が検査依頼機関と遺伝学的検査実施機関とを仲立ちするシステムを提案した。ただし、この提案は本分担研究者の個人的な見解である。

A. 背景と研究目的

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。近年の分子遺伝学的研究の発展により、多くの疾患について、多数の病因遺伝子が見出されてきている。このような研究手法の発展に伴って明らかになってきたことは、痙性対麻痺、知的障害などのように、病因遺伝子を同定するためには複数の遺伝子を同時に解析する必要に迫られていることである。そのために、次世代シーケンサー（NGS）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。実際に、この流れは欧米では確実に進んでおり、臨床診断におけるシーケンズ解析（クリニカル・シーケンズ）が積極的に行われている。

一方、わが国では、NGSによる網羅的な遺伝子解析が研究として始まったばかりである。実際、平成23年度から始まった「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係分野）」において、5ヶ所の解析拠点施設と10ヶ所の一般研究施設が選定された。しかし、研究的シーケンズと医療としてのシーケンズ（クリニカル・シーケンズ）とは、そもそも目的が異なっていて、クリアすべき問題が大

きく異なることは、本研究報告書の他の分担報告書にあるとおりである。したがって、クリニカル・シーケンズを行う施設を拠点化することの是非、それが大学やナショナル・センターなどの公的な施設か、検査会社かなどの議論も必要である。

この点は検査費用とも連動しており、NGSを用いた検査は未だ高価であり、闇雲に施行することは医療経済的に不可能である。NGS検査をどのようにして、有効に、効率的に行うかを考える必要がある。その手段として、（1）特定疾患調査研究班との連携、（2）遺伝学的検査の依頼システム、ゲートキーパー（遺伝学的検査施行の選別）の必要性、を検討することが重要になる。

B. 研究方法

平成27年度に難病医療が大きく変化する予定であるが、その構想の基本は平成25年1月25日にまとめられた「難病対策の改革について（提言）」である。難病研究班の在り方、難病支援ネットワーク（仮称）や新・難病医療拠点病院構想などの考え方を取り入れながら、課題と提言を行う。ただし、この報告書の内容は、

報告者の個人的な提言として、認識されたい。

C. 研究結果

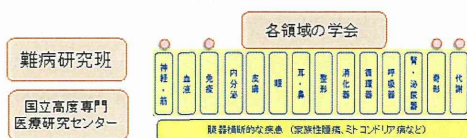
(1) 遺伝学的検査の難病診断における必要性和位置づけ

神経・筋疾患、奇形、代謝疾患などは、遺伝学的検査が確定診断のための不可欠な方法になることは想像に難くない。しかしながら、難病は種々の領域に及ぶものであり、必ずしも遺伝学的検査が必須でない難病も存在する。また、家族性腫瘍やミトコンドリア病などのように、領域を限定できず臓器横断的な疾患もあり、各領域の学会のみでは把握できない難病も存在している。

そこで、難病を、1) 遺伝学的検査以外の検査が診断の主体になるもの、2) これまでの遺伝学的検査で診断には十分なもの、3) NGS を用いた検査が必要なもの、に分類する作業を行うことが急務であると考えられる。その際、これまで活動してきた各領域の学会に加えて、難病研究班と国立高度専門医療研究センターを加えた、疾患横断的な特別作業班を組織して、疾患ごとの遺伝学的検査の有用性、遺伝学的検査の種類と方法、患者概数などを調査することが必要である。

遺伝学的検査の難病診断における必要性和位置づけ

- 1) 遺伝学的検査以外の検査が診断の主体になるもの
- 2) これまでの遺伝学的検査で十分なもの
- 3) 次世代シーケンサーを用いた検査が必要なもの



特別作業班を組織して以下の調査を早急に行う。
項目: 疾患ごとの遺伝学的検査の有用性、患者概数、遺伝学検査の種類など

(2) 遺伝学的検査の依頼システム

難病診断において、NGS 検査をはじめとする遺伝学的検査の場合、だれが依頼元となるのか、そもそも依頼元を選定する必要があるのか、選定する場合の選定方法の検討が必要になる。

平成 27 年度以降に想定されている医療提供イメージにおいては、患者がかかりつけ医を受診し、二次医療圏として難病医療地域基幹病院（仮称）との連携で医療を提供する。そこで診断を含めた難病医療が困難な患者については、都道府県単位の新・難病医療拠点病院（総合

型）（仮称）や特定の領域の疾患を担当する新・難病医療拠点病院（領域型）（仮称）での医療を受けることができる。それらの拠点病院には、学会もしくは国が指定する難病指定医を配置することを想定している。これを三次医療圏と考えている。

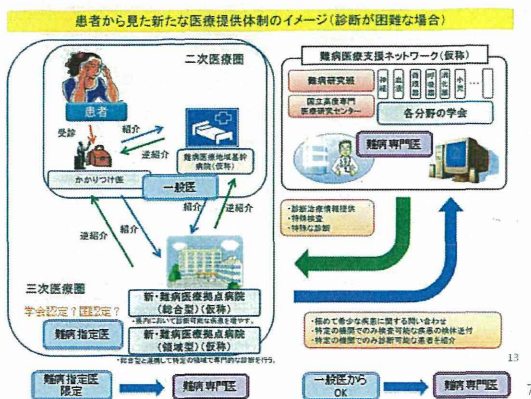
一方で、(1)でも想定した、各分野の学会、難病研究班、国立高度医療専門研究センターなどによる難病医療ネットワーク（仮称）を組織し、NGS などの特殊な遺伝学的検査を行うシステムを構築しておく構想である。

この構想を土台とすると、だれが遺伝学的検査をだれに依頼するかが見えてくる。

一つは一般医から検査を依頼できるシステムであり、実際、すでに保険収載されている遺伝学的検査は、医師であればだれでも検査依頼をすることができる。検査を行う場所は、検査会社や大学や国立高度医療専門研究センターなどである。当然ながら、クリニカル・シーケンスを行うための資格認定や検査の質の補償に関する制度を定める必要がある。もう一つは、三次医療圏として機能する新・難病医療拠点病院にいる難病指定医に限定して遺伝学的検査を依頼するというシステムである。

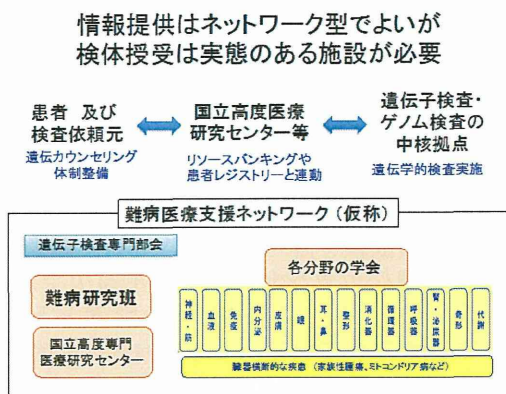
NGS などの高価で専門的な検査を行う際には、だれがその解釈を行い、どのように患者に結果を返却するかもきわめて重要な問題になる。一般医からの依頼を許可するにしても、検査前・検査後の遺伝カウンセリングが不可欠であり、遺伝カウンセリング提供体制の整備とともに行うことが重要である。一方、検査依頼者を難病専門医とすると、遺伝学的検査の結果を十分咀嚼して患者に伝える事ができるメリットが大きい。

依頼元を限定するかどうかは、遺伝カウンセリング体制、検査費用の制度と連動して考えることが必要になる。



(3) 難病医療支援ネットワーク（仮称）の役割
 難病の遺伝学的検査の担い手として、難病医療支援ネットワーク（仮称）が想定される。このネットワークは、遺伝学的検査が有用な疾患を選定し、一般医もしくは難病専門医からの検査依頼を受け、実際に遺伝学的検査を実施する活動全体を行う主体となる。各分野の難病を網羅的にカバーすることに加えて、それぞれの難病の専門的な情報を提供することがミッションになる。

その活動の大部分は情報提供であることは明らかであり、基本的にはネットワーク型の組織と考えられるが、一方で遺伝学的検査を実施することを考えると検体授受をどのように行うかも考慮する必要がある。その際、難病の遺伝学的検査は、研究バイオリソースや患者レジストリーと連動させることが望ましく、国立高度医療研究センター等を介して検体のやりとりを行う事が理想的であると考えられる。



(4) 民間検査会社が遺伝学的検査を担うこと
 すべての遺伝学的検査を大学等の解析拠点で行う事は不可能であるので、民間検査会社の参入が不可欠である。すでに欧米では、民間会社が積極的に難病の遺伝学的診断事業を展開している。米国では、CLIA という制度で診断を行う施設の認定制度を採用し、臨床検査としての検査精度を担保している。わが国においては、実質上、大学や国立高度専門医療研究センターなどが研究ベースで臨床診断に関わっていることが多く、研究と臨床を明確に区別できないことが難病の診断においても問題となっている。

一方、民間会社が難病の遺伝学的検査を行う際に、当該疾患の専門医、遺伝医療の専門医がどのように関わるかというのが問題となる。特に、NGS を用いた臨床的・シーケンスに

おいて、病因があいまいな変異に対する判断や偶発的所見を含む複数の遺伝子変異の発見に対する対応などに対する指針や相談を受けられる専門家集団の準備なども必要になる。

D. 考察

わが国の難病に対する遺伝学的検査の現状を考えると、解決すべきいくつかの問題点がある。その中の一つとして、難病研究班との連携という観点について研究した。難病研究班はすべての難病を網羅している状況ではなく、当該疾患を診ている専門医が所属している各分野の学会、国立高度専門医療研究センターなどと連携して、それぞれの分野の疾患に関して、遺伝学的検査の有用性に関する情報の集中化と提供をまずは行うことが肝要と考えられる。

その際に構築した組織を「難病医療支援ネットワーク（仮称）」の中核として、難病におけるNGS等の臨床的・シーケンスを行うシステムに組み込むべきである。その理由は、このネットワークシステムが遺伝学的検査のゲートキーパーとしての役割を果たせると考えるからである。大学や学会が医療としての臨床的・シーケンスを行う社会的仕組みが容易に構築できない場合は、厚生労働省主体でこのネットワークを運営することが必要になる可能性がある。この議論の着地点は定まっておらず、科学的及び行政的な観点を加えた総合的な議論が不可欠と思われる。

また、実際の遺伝学的検査を行うには、検体と情報の授受が必要になる。ネットワークは、情報のやりとりについては問題ないが、検体のやりとりは実態のある施設が必要である。そこで、国立高度専門医療研究センターなどのバイオリソース構築や患者レジストリーシステムと連動させて、検体授受を行う事が難病研究推進の基盤になると考える。

E. 結論

平成 27 年度に予定されている難病医療の大改革に向けて、NGS などの臨床的・シーケンスを含む遺伝学的検査の効率的、効果的な実施は重要な課題の一つである。他の報告書に示されているような種々の課題を総合的に解決する必要があり、特に遺伝カウンセリング体制整備、研究と診療の制度的峻別など、この機を捉えて大胆な変革を行っていくことが必要である。

F. 健康危険情報

なし