

分担研究課題

次世代のマススクリーニングの在り方に関する研究

研究分担者 松原洋一 (国立成育医療研究センター 研究所長)

研究要旨

新生児マススクリーニングの対象疾患の拡大にあたり、遺伝子解析および次世代遺伝子解析装置を用いたスクリーニングについて検討を行った。今後の課題は、対象疾患の選定、手法、精度、費用、検出感度 / 陽性率、倫理的諸問題、遺伝カウンセリングなどと考えられる。

研究協力者

呉 繁夫 (東北大学大学院医学系研究科・教授)

A . 研究目的

時代とともに開発される新しい技術を取り入れ、小児の障害予防の対象疾患を拡大していくことは、新生児マススクリーニング (NBS) に課せられた重要な使命の一つである。1960 年代に枯草菌を用いたフェニルケトン尿症のスクリーニングから始まった NBS は、その後甲状腺機能低下症、メープルシロップ尿症、ガラクトース血症などにも応用されるようになった。1990 年代に導入されたタンデムマススペクトロメトリー (TMS) は、各種のアミノ酸とアシルカルニチンを網羅的に分析することによりスクリーニング対象疾患の数を一気に拡大することになった。このことによって、多くの脂肪酸代謝異常症や有機酸代謝異常症の発症を未然に防止することができるようになった。

本分担研究は、近年技術革新が著しい遺伝子解析の手法を中心に、NBS への応用の可能性を検討することが目的である。

B . 研究方法

国内外の新しいマススクリーニング法や網羅的遺伝子解析法に関する情報、また検討すべき新しい対象疾患についての情報を、文献、関連研究者および関連学会を通じて収集し、分析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、実際に患者情報を扱ったり、新たな遺伝子解析を実施しないため、特段の倫理面への配慮は不要と考えられた。

C . 研究結果

1) 新生児マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件と制約

研究代表者の山口清次によれば、マススクリーニング対象疾患の満たすべき要件は以下のとおりである (参考文献 : 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) 「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」研究班作成、新しい新生児マススクリーニング : タンデムマス Q&A 2012、平成 24 年 3 月発行)

発症する前に見つかる病気

放置すると重大な障害を起こす病気

治療法のある病気

赤ちゃんに負担にならない検査

精度の高い検査

安価な検査費用

好ましい費用対効果

発見された時の適切な医療機関

上記のうち、技術革新とともに変化する 、 、 をひとまず除外して考えると、 ~ およびの要件を満たす疾患は、現行の先天性代謝異常症や内分泌疾患に限らず多くの遺伝性疾患が該当

すると考えられる。

一方、現行のNBSは新生児期に採取した乾燥濾紙血を基本に行われており、この枠を外れたスクリーニングとして実施されている（あるいはされていた）対象疾患は、以下の3種である。

- ・ 神経芽細胞腫～尿検体、乳児期の検体採取
- ・ 聴覚スクリーニング～生理学的検査
- ・ 胆道閉鎖症～便色カラーカード

新生児への侵襲度、家族への負担、コストを考慮すると、新生児期に採取した乾燥濾紙血を検体として用いる手法を基本として検討すべきと考えられる。乾燥濾紙血からDNA抽出をおこなって遺伝子解析を行うことはすでに広く実施されており、このことから数多くの遺伝性疾患が潜在的な検討対象疾患となる。

2) 遺伝子解析を用いた原発性免疫不全症の新生児スクリーニング（米国での事例）

米国ウィスコンシン州では、TREC測定によって重症複合型免疫不全症を引き起こすT細胞欠損症のスクリーニングが実施されている。TREC (T-cell receptor excision circle)は、T細胞受容体再構成の副産物として生じる環状のDNAで、細胞増殖の際に複製されないため胸腺からの成熟T細胞産生量を推測するためのマーカーとなっている。これまでに、71,000人中5例の患者が同定されており、造血幹細胞移植、遺伝子治療による治療が可能となった。すでに米国内のその他の州や台湾、英国、スウェーデンでもスクリーニングの試みが開始されている（野々山恵章「先天性免疫不全と新生児マススクリーニング」ラジオNIKKEI小児科診療Up-to-Date 2014.2.19）

同様に、KREC測定によるB細胞欠損症のNBSも計画されている。KREC (kappa-deleting recombination excision circles)はB細胞レセプターの鎖から生成される環状DNAでB細胞新生能のマーカーである。患者に対して、定期的なガンマグロブリン補充療法による治療が可能である。

3) 次世代遺伝子解析装置によるNBSの可能性
近年開発された次世代シーケンサーは遺伝

子塩基配列決定のコストを等比級数的に低下させるとともにヒト遺伝子の網羅的な一斉解析を可能とした。理論的には、ほぼすべての遺伝性疾患を一挙に検出することが可能である。

米国の国立衛生研究所(NIH)では、2013年に25億円の研究費を次世代シーケンサーを用いたNBSの研究に支出し検討を開始している。また米国G2P社では、BabySeq Projectとしてゲノムシーケンスを基盤とする新生児疾病スクリーニングの研究を発表している。ロシアのセコイア・ジェネティクス社は、脾のう胞性線維症、フェニルケトン尿症、ガラクトース血症に対して、次世代シーケンサーを用いたNBSの臨床試験を開始したと表明している。

3) 倫理的課題

網羅的遺伝子解析は、必然的に治療法が存在しない予後不良な疾患も検出することから、大きな倫理的課題を包含している。このことについては、米国の臨床遺伝専門医学会であるAmerican College of Medical Geneticsによる提言(ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing, *Genetics in Medicine*, 2013)を踏まえた慎重な検討が必要と考えられる。

D. 考察

遺伝子解析法を用いたNBS法としては、1st tierとしての遺伝子診断と、確定診断のための2nd tierとしての遺伝子診断が考えられる。

1st tier 遺伝子診断は、飛躍的な機器の進歩と大幅なコスト低減が進んでいく現状を鑑みると、将来的には次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析に収束していく可能性も否定できない。その際、対象疾患の選定、手法、精度、費用、検出感度/陽性率、倫理的諸問題、遺伝カウンセリングなどが検討課題となってくるであろう。

2nd tierとしての遺伝子診断は、すでに一部でキャピラリーシーケンサーによる遺伝子毎の解析が実施されているが、今後は次世代シーケ

ンサーによる疾患パネルの一斉解析に移行していくと考えられる。こちらでは、手法、精度、費用、検出感度/陽性率について検討することが必要と考えられる。

E. 結論

次世代遺伝子解析が将来的に新生児マススクリーニングに導入され、対象疾患を飛躍的に拡大させていくと予測される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ogata T, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakashima S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y. TBX1 mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One*. 9(3):e91598, 2014.
- 2) Dragneva S, Szyszka-Niagolov M, Ivanova A, Mateva L, Izumi R, Aoki Y, Matsubara Y. Seven Novel Mutations in Bulgarian Patients with Acute Hepatic Porphyrias (AHP). *JIMD Rep*. 16:57-64, 2014.
- 3) Inoue SI, Moriya M, Watanabe Y, Miyagawa-Tomita S, Niihori T, Oba D, Ono M, Kure S, Ogura T, Matsubara Y, Aoki Y. New BRAF knockin mice provide a pathogenetic mechanism of developmental defects and a therapeutic approach in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet*. 23(24):6553-66, 2014.
- 3) Izumi R, Niihori T, Suzuki N, Sasahara Y, Rikiishi T, Nishiyama A, Nishiyama S, Endo K, Kato M, Warita H, Konno H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama

K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y, Aoki M. GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: A report of two siblings. *Neuromuscul Disord*. 24(12):1068-72, 2014

4) Nakano E, Masamune A, Niihori T, Kume K, Hamada S, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Targeted Next-Generation Sequencing Effectively Analyzed the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene in Pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2014 Dec 10. [Epub ahead of print]

5) Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentigines. *Am J Med Genet A*. 2014 Nov 25. doi: 10.1002/ajmg.a.36842. [Epub ahead of print]

6) Kon M, Suzuki E, Dung VC, Hasegawa Y, Mitsui T, Muroya K, Ueoka K, Igarashi N, Nagasaki K, Oto Y, Hamajima T, Yoshino K, Igarashi M, Kato-Fukui Y, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Moriya K, Ogata T, Nonomura K, Fukami M. Molecular basis of non-syndromic hypospadias: systematic mutation screening and genome-wide copy-number analysis of 62 patients. *Hum Reprod*. 2015 Jan 20. pii: deu364. [Epub ahead of print]

7) Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kannno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in *PIGL* in a patient with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *Am J Med Genet A* (in press)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし