

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は疾病の発症予防にとって極めて有用であり、対象疾患を拡大することによって更なる小児の健康増進と医療費削減に寄与することが期待される。本分担研究では、遺伝子解析による新生児マススクリーニングの可能性について検討をおこなった。次世代遺伝子解析装置によるマススクリーニングは、技術的課題、コスト、対象疾患の選定、偶発的所見などの点において現時点では時期尚早と考えられた。一方、すでに諸外国で実施されている先天性免疫不全症については早急にわが国でも検討を開始すべきであると考えられる。

研究協力者

小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科・教授）

今井耕輔（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科・准教授）

小野寺雅史（国立成育医療研究センター・部長）

また、研究協力者らによってすでに諸外国で実施されている先天性免疫不全症の NBS についてパイロットスタディを実施した。

（倫理面への配慮）

本研究は、研究協力者が所属する各施設の倫理委員会の承認を得て実施された。

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（以下、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るバイオアッセイ法から始まった NBS は、アミノ酸やホルモンの定量、さらに 1990 年代に導入されたタンデムマススペクトロメトリを用いたアミノ酸とアシルカルニチンの網羅的分析により、対象疾患の数が大きく増加した。このことによって、多くの先天性疾患の発症を未然に防止することができるようになった。

本分担研究では、今後の NBS の拡大を目的として、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した。

B．研究方法

国内外の遺伝子解析法による NBS 法、特に網羅的遺伝子解析法によるものについて情報収集し分析を行った。

C．研究結果

1．次世代遺伝子解析装置によるマススクリーニングについて

次世代シーケンサーは、個々人のゲノムを網羅的にシーケンスするもので、原理的にはほぼあらゆる遺伝性疾患の検出が可能である。技術的には、ゲノム全体をシーケンスする whole genome sequencing (WGS)、タンパク翻訳領域をコードするエキソン部分のみについてシーケンスする whole exome sequencing (WES)、標的とする一群の疾患群の遺伝子部分のみをシーケンスする targeted re-sequencing の 3 種類に分類することができる。いずれも数多くの遺伝性疾患を網羅的に一斉にスクリーニングすることが可能である。

1) 諸外国における現状

WGS あるいは WES を用いた新生児集団の遺伝子解析については、すでに研究的な検討が始められている。米国 NIH では、2013 年より Genomic

Sequencing and Newborn Screening Disorders programのもとに、4つの研究医療機関に5年で2500万ドルの研究費を交付し、倫理面を含めた検討が開始されている。

民間企業においても、例えば米国 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。また、同じく米国 Inova Translational Medicine Institute では、バージニア州において5,000家族、20,000ゲノムのWGS解析を開始したと報告しており、この中には妊娠中から追跡した新生児も含まれている。

2) 網羅的遺伝子解析の課題

費用

現在のところ、1検体あたり十～数十万円のコストを要する。数多くの疾患を一斉に解析することが可能なため、1疾患当たりの費用は数百円程度に抑えることができるが、総額としては現行のマスクリーニング事業をはるかに超える金額となり、現行制度にそのまま組み込むことは難しい。これが最大の課題である。

技術的課題

研究機器として開発されてきたため、マスキューニングのプラットフォームには対応していない。しかしながら、各ステップの自動化、機械化が進んできており、マスキューニングに適したシステムを組むことは十分可能と考えられる。

遺伝子解析というこれまでのスクリーニング法と全く異なる技術の導入は、担当者の教育・研修を含めた新たな課題に対処する必要がある。

感度、特異度

現段階の技術では、遺伝子解析によってすべての患者を同定することはできない。また、病的変異のデータベースが未整備なため、遺伝子配列変化があっても、しばしばその判定をすることが困難である(VUS:variant of unknown significance)。これらの制約を理解したうえでスクリーニングを行う必要がある。

対象疾患の選定

病因遺伝子が明らかにされている疾患すべて

を対象とすることが可能であるが、NBSとしてふさわしいかどうかを慎重に評価する必要がある。各疾患の専門家を交えた慎重な議論が必要である。

偶発的所見

網羅的解析によって、本来目的としない疾患までも検出することの是非が議論されている。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) をもとにしばしば議論がなされている。しかしながら、NBSとしての応用を考えると、ソフトウェア的に対象疾患のみを検出するプログラムを用いれば解決が可能であり、必ずしも障壁となるものではないと考えられる。

倫理的課題

既存の対象疾患と質的に異なるものではない。

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

本項目については、研究協力者3名によって詳細な検討が行われており、そちらを参照されたい。

すでに米国をはじめとする諸外国では、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。発見された患者には、造血幹細胞移植、遺伝子治療による治療が実施されている

同様に、B細胞新生能のマーカーKREC (kappa-deleting recombination excision circles)の測定によるB細胞欠損症のスクリーニングも計画されている。B細胞レセプターの鎖から生成される環状DNA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。

これらの遺伝子検査は、塩基配列の変化を検出するものではなく、免疫関連細胞が作られる過程で生じる「特定の遺伝子産物の定量」である。この点が、ほかの遺伝子検査と大きく異なる点である。スクリーニングに当たっては、定量とカットオフ値の設定が最も重要な要素であり、代謝産物やホルモンを測定する現行のNBSと親和性が高い。この点で実務上も比較的容易に導入することが可能と考えられる。研究協力者3名によるそれぞれの研究でも、実用段階にあることが示されている。

D. 考察

次世代遺伝子解析法を用いたNBS法を1st tierとして用いるには、特にコスト面で現段階での実用化は困難である。しかしながら、近い将来予想される低コスト化が実現すれば、十分導入が可能と考えられる。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今後の検討課題である。2nd tierとしての次世代遺伝子解析はすでに一部で試行されており、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。

E. 結論

次世代遺伝子解析をNBSに導入するに当たり、現時点ではいくつかの課題が存在する。将来的にはその導入によって対象疾患を飛躍的に拡大させていくものと予測される。

先天性免疫不全症のスクリーニングはわが国においても試行すべき段階にあると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Katoh-Fukui Y, Igarashi M, Nagasaki K, Horikawa R, Nagai T, Tsuchiya T, Suzuki E,

Miyado M, Hata K, Nakabayashi K, Hayashi K, Matsubara Y, Baba T, Morohashi K, Igarashi A, Ogata T, Takada S, Fukami M. Testicular dysgenesis/regression without campomelic dysplasia in patients carrying missense mutations and upstream deletion of SOX9. *Mol Genet Genomic Med.* 3(6):550-7, 2015

2) 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 Mabry syndrome. *Am J Med Genet A* 167A(4):777-85, 2015.

3) Moriya M, Inoue SI, Miyagawa-Tomita S, Nakashima Y, Oba D, Niihori T, Hashi M, Ohnishi H, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Adult mice expressing a Braf Q241R mutation on an ICR/CD-1 background exhibit a cardio-facio-cutaneous syndrome phenotype. *Hum Mol Genet.* 24(25):7349-60, 2015

4) Niihori T, Ouchi-Uchiyama M, Sasahara Y, Kaneko T, Hashii Y, Irie M, Sato A, Saito-Nanjo Y, Funayama R, Nagashima T, Inoue S, Nakayama K, Ozono K, Kure S, Matsubara Y, Imaizumi M, Aoki Y. Mutations in *MECOM*, encoding oncoprotein *EVI1*, cause radioulnar synostosis with amegakaryocytic thrombocytopenia. *Am J Hum Genet.* 97(6):848-54, 2015

5) Komatsuzaki S, Ogawa E, Shimosawa N, Sakamoto O, Haginoya K, Uematsu M, Hasegawa Y, Matsubara Y, Ohura T. First Japanese case of Zellweger syndrome with a mutation in *PEX14*. *Pediatr Int.* 57(6):1189-92, 2015.

6) Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M,

Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations. *Hum*

Genet. 135(2):209-22, 2016

2 . 学会発表

なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし