

成人期の医療体制の整備に関する調査研究

分担研究者： 羽田 明 （千葉大学大学院医学研究院公衆衛生学 教授）

研究要旨

先天代謝異常を含む単一遺伝子疾患の原因遺伝子探索手法の進歩は著しい。以前は症状や生体試料の解析などから疾患発症原因として可能性のある遺伝子を個々に解析する手法が一般的であった。しかし、ゲノム解析手法の進歩により、エクソンあるいはゲノム全体のシーケンシングにより、疾患責任遺伝子を探索する、あるいは候補遺伝子が複数ある場合、まとめて解析することが一般的となってきた。また、解析コストの急激な低下により、ゲノム研究の手法を臨床診断に応用することが可能となり、クリニカルシーケンスと称されるようになった。一方、これにより対象患者においては解析前には想定しなかった遺伝子の異常が検出される（二次的所見）、対照集団からも疾患責任遺伝子多型が検出される（偶発的所見）可能性がある。本研究では解析手法の開発中に対照集団において偶発的所見が見つかった自験例を紹介し、今後の課題を検討した。

研究協力者氏名

中岡博史，井ノ上逸朗（国立遺伝学研究所）
宇津野恵美，野村文夫（千葉大学附属病院遺
伝子診療部）

A．研究目的

ゲノム研究手法の急激な進歩と解析コストの急減により、臨床診断を目的としたクリニカルシーケンスが現実のものとなりつつある。この背景には次世代シーケンサーの発達により網羅的に多くの領域を一気に解析することが可能になったこと、そのデータから目的とする部位を抽出するバイオインフォマティックスの手法が発達したことが大きく寄与している。具体的な手法として、症状からある一群の疾患を考え得る場合、疾患責任遺伝子になり得る遺伝子群をまとめて解析する、既知の単一遺伝子病の責任遺伝子として報告されている遺伝子群を網羅的に解析する、エクソン部のみを濃縮し、全エクソンを網羅的に解析する、ゲノム全体を網羅的に解析する、と考えられる。現在のところ、

網羅的な手法で、臨床検査としては使われていない。しかし、はすでに一部において応用研究が行われている。現時点では安価になったとは言え保険には未収載なのでコストの問題から一般的では無いが、わが国においても数年以内に一般化してくるものと思われる。

網羅的解析をすることにより、診断が確定され、それに基づいたフォローアップや治療が可能になるなど臨床的メリットは多大である。一方、目的とする遺伝子以外も解析されるため、解析前には考慮していなかった疾患責任多型が見つかる可能性がある。これを二次的所見 (secondary findings: SF) と称する。また、別の研究で収集したDNAを、他の研究目的に使う場合に、予期しない疾患責任多型が見つかる場合があり、これを偶発的所見 (incidental findings: IF) と称する。今後、網羅的解析が臨床レベルで使われる事は間違いないので、これにどのような対応をするのか、わが国における方針を決め、基本的なガイドラインを作っておくことは、国民がゲノム医療のメ

リットを最大限，享受する為にも不可欠である．

本研究では，我々が経験した例を紹介し，課題を整理することが目的である．

B．研究方法

遺伝性乳がん・卵巣がん症候群（HBOC）の責任遺伝子であるBRCA1およびBRCA2を安価に解析する手法を開発するにあたって，既に遺伝子診断が確定した患者DNAと一般集団からボランティアを募って収集した対照DNAを提供した．

確定した患者DNA試料の解析結果は，既に得ていた結果と一致したが，対照群から2例の疾患責任遺伝子多型の可能性が高いものが検出された．

DNA試料の取り違いなどの可能性を否定するため，遺伝カウンセリング後，再度，当該2例の解析を実施する事となった．また，再解析の結果，取り違いが否定された段階で，被験者に結果を開示し，説明する事を計画した．

引き続いて血縁者の罹患可能性を説明し，家系解析のメリット，デメリットを話し合い，今後の方針を決める遺伝カウンセリングを行う予定とした．

（倫理面への配慮）

本研究を始めるにあたって，遺伝解析手法の開発に関する倫理申請課題を学内生命倫理診査委員会で承認を得ている．対照群は別の生命倫理審査で他の研究にも使用することのインフォームド・コンセントを得ていたが，遺伝子解析手法の開発研究に使用するにあたって，新たに生命倫理申請をおこない，承認を得ている．2例の遺伝カウンセリングは，千葉大学医学部附属病院遺伝子診療部において，臨床遺伝専門医と認定遺伝カウンセラーの二人で個別に実施した．

C．研究結果

2例の疾患責任多型の可能性がある判断されたものはいずれもBRCA2遺伝子における多型であった．1例目は女性でスプライシングのコンセンサス配列の

1塩基欠失でフレームシフトを来すものであった．2例目は男性でリジンのコドンが一塩基置換によりストップコドンに変化するノンセンス変異であった．

1例目は本人に既に乳がんの既往があり，同胞にも乳がんの家族歴がある事から，責任遺伝子多型である事は間違いないと判断した．確認のため，再度採血し解析したところ，間違いがないことが明らかになった．家系解析に関しても本人の同意を得た．本人から遠方に居住している血縁者に連絡をとったところ，近日中に遺伝子診療部に来室することになり，進めることとなった．

2例目は現在，海外に居住しているため，コミュニケーションがうまくいかないリスクはあったものの，遺伝子診療部での討議の結果，メールでのやりとりで確認に向け手順を進めることとなった．その結果，十分な理解を得たため，現地で採血し，血液を日本に送付することになったが，生物試料のため業者が送付できない事が判明し，断念した．その後，現地で遺伝カウンセリングを受けることになり，こちらのデータを元にBRCA2の解析を実施し，データが間違いのないことを確認した．しかし，その後の解析結果の検討により，ノンセンス変異が存在する場所がエクソン11であり，このエクソンはalternative splicingでスキップされるトランスクリプトがあり得ること，家系内の血縁者で若年期の乳がん患者が存在しないことの2点から，この多型はvariant of uncertain significance (VUS)と判断した．両親は日本に在住し，説明を受けたいという希望があるため，連絡があれば遺伝子診療部で対応することになっている．

D．考察

ゲノムの網羅的解析が利用できるようになったことから，今後，SF，IFが頻繁に検出され，その病的，臨床的意味の判断に迷う事例が多発すると想定される．The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)が最近，提唱した遺伝子多型の分類は以下の

通りである。この分類は従来、使われてきた変異(mutation)と多型(polymorphism)という言葉の意味が不明確になったための対応である。

1. Pathogenic (病的多型): affects function
2. likely pathogenic: 90%以上の確かさ
3. VUS: variants of unknown significance
4. likely benign
5. benign

今回の結果により、少なくとも以下の3点の検討が必要である。

1番目に正常対照群として収集していた100例未満の少数例から2例も病的変異の可能性が検出されたことより、一般集団において、従来、考えられているよりも病的変異の頻度が高い可能性がある。このことはこれまで、家系図情報から家族性腫瘍を疑われた場合のみに遺伝子検査の適応を考慮していたが、すべての乳がん罹患者まで対象を広げる妥当性を検証する必要がある事を示唆している。2番目として、病的多型の可能性があるかと判断されても、VUSである可能性を否定するのは困難な場合があり、誰が責任を持って判断し、どのように伝えるか、結果開示の体制を構築する必要がある。3番目として、VUSを判断するためには、少なくとも医療関係者が自由にアクセスできる充実したデータベースの存在が不可欠である。

今回はBRCA1とBRCA2の解析経験から得られた結果の検討であったが、先天代謝異常を含む単一遺伝子疾患すべてで緊急度に違いはあるものの早急に検討しなければならない事を強く示唆している。

E. 結論

臨床現場に網羅的ゲノム解析手法が実際に使われ始めている状況は、今後、急速に進展することは間違いない。その場合、解析する前の適切な遺伝カウンセリングによって、どのような結果が戻って

くるかを十分に説明し、被験者が理解した上で本人の意思で検査を実施する事が前提となる。また、解析結果を十分に理解して、適切に伝える集団体制が欠かせない。その意味でもある程度以上の規模の医療施設における遺伝子診療部の重要性は今後益々重要となってくると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表
無し。
2. 学会発表
第24回日本遺伝カウンセリング学会(2017年7月)において発表予定

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。BRCA1およびBRCA2を安価に検出する手法に関して井ノ上らが特許申請をしている。
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし