

マイクロアレイ染色体検査を用いた診療体制の確立

研究分担者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター 遺伝科部長

研究要旨

先天異常は、一般集団の約 2-3%に及ぶ遺伝的異質性の高い疾患で、医療においてその正確な診断は不可欠である。この集団に対してマイクロアレイ染色体検査で検出できる疾患は 12%程度とされている。診断未確定症例約 1000 例に対してマイクロアレイ染色体検査によるスクリーニングを行い、約 14%で変異を検出することができた。この中には、**recognizable syndrome** も含まれるが、多くの例は記載あるものの実際には **unrecognizable** な疾患に分類された。一方で比較的頻度が高いとされる **SATB2** 異常症は含まれず、発生頻度が低い多くの症候群は、専門医療機関でも遭遇する頻度は極めて低いことが分かった。医療としてマイクロアレイ染色体を行う際の指針をまとめた。

A. 研究目的

先天異常は、一般集団の約 2-3%に及ぶ遺伝的異質性の高い疾患で、その発生頻度からも病因解析研究は常に医学の大きな課題である。医療においてその正確な診断は不可欠である。しかし、遺伝的異質性が高いが故に、原因解明は膨大な労力を要する。一般に中等度以上の精神遅滞の病因における遺伝的背景の占める割合は、染色体検査で検出可能な疾患は 3%、マイクロアレイ染色体検査で検出できる疾患は 12%程度とされている。本研究では、次世代シーケンス技術やマイクロアレイ染色体検査を用いて、正確な診断を行い、診療ガイドラインを確立することを目的とする。

B. 研究方法

施設内スクリーニングの対象は、神奈川県立こども医療センター受診歴のある診断

未確定症例約 1000 例で、染色体検査などなど一般的遺伝学的検査がなされて染色体異常症は臨床的に否定されている。マイクロアレイ CGH は、Agilent 社製マイクロアレイシステムを用い、アレイは SurePrint G3 Human CGH Microarray kit 8x60K を用いた。解析手順は、Agilent 社による標準プロトコールに準じて進めた。得られたデータの解析は Agilent Genomic Workbench ソフトウェアを用いた。データは DLR spread 値 < 0.30 を採用した。比較対照 DNA は、Promega 社製 Female および Male genomic DNA を用いた。解析したゲノム DNA は、QIAamp DNA Blood Mini kit を用いて自動抽出機で末梢血液から抽出した。アレイ CGH で検出されたゲノムコピー数異常は、ISCN2009 に準じて記載した。参照ゲノムマップとして UCSC Genome Browser on Human Feb. 2009 (hg19)

Assembly を用いた。

検出された CNV を原因とする染色体微細構造異常量の医療管理および疾患概要は文献的考察を中心にまとめた。先天異常症候群を含む遺伝病の疾患概要ならびに遺伝カウンセリング、診療ガイドラインとして GeneReviews

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) や OMIM (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>) や個別症例報告も参照した。

(倫理面への配慮)

マイクロアレイ CGH による解析は、こども医療センター倫理審査において、研究課題「原因不明多発奇形精神遅滞症候群のゲノムワイドな病因解析」として平成 22 年 7 月 22 日に承認を得たものである。検査前に十分な説明を行い、文書により同意のもとで解析を行った。解析にあたっては、全ての個人情報情報を潜在化した。

C、D. 研究結果と考察

施設内診断未確定 1000 症例中には、CNV による SATB2 異常症は検出されなかった。一般に発生頻度は、診断未確定精神遅滞症例の 0.25-0.3% と推定されている。実際には、さらに頻度は低い可能性がある。

マイクロアレイ染色体検査を診療として用いる場合の指針を総説としてまとめ、使用頻度が高い小児科医を対象として総説にまとめた (マイクロアレイ染色体検査 小児臨床検査のポイント 2017 小児内科 2017;49 (増刊号):687-690)。

時代は次世代シーケンスによる網羅的解析に移りつつあることから、次世代氏一県シングからマイクロアレイまで幅広く対応

できる臨床検査としての網羅的解析の中にマイクロアレイを組み入れ、説明文書を立案した。

E. 結論

マイクロアレイも含めた網羅的ゲノム解析検査を前提とした取り組みが今後の課題と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Ono H, Kurosawa K, Wakamatsu N, Masuda S. Hearing impairment in a female infant with interstitial deletion of 2q24.1q24.3. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2016 Dec 30. doi: 10.1111/cga.12207. [Epub ahead of print]

Hossain MA, Yanagisawa H, Miyajima T, Wu C, Takamura A, Akiyama K, Itagaki R, Eto K, Iwamoto T, Yokoi T, Kurosawa K, Numabe H, Eto Y. The severe clinical phenotype for a heterozygous Fabry female patient correlates to the methylation of non-mutated allele associated with chromosome 10q26 deletion syndrome. *Mol Genet Metab*. 2017 Mar;120(3):173-179. doi: 10.1016/j.ymgme.2017.01.002.

Shimbo H, Oyoshi T, Kurosawa K. A contiguous gene deletion neighboring TWIST1 identified in a patient with Saethre-Chotzen syndrome associated with neurodevelopmental delay: possible contribution of HDAC9.

Congenit Anom (Kyoto). 2017 Feb 21.
doi: 10.1111/cga.12216. [Epub ahead of
print]

Shimbo H, Yokoi T, Aida N, Mizuno S,
Suzumura H, Nagai J, Ida K,
Enomoto Y, Hatano C, Kurosawa K.
Haploinsufficiency of BCL11A
associated with cerebellar
abnormalities in 2p15p16.1 deletion
syndrome. *Molecular Genetics &
Genomic Medicine* 2017;5(4):429-
437.

Hori I, Kawamura R, Nakabayashi K,
Watanabe H, Higashimoto K,
Tomikawa J, Ieda D, Ohashi K,
Negishi Y, Hattori A, Sugio Y, Wakui
K, Hata K, Soejima H, Kurosawa K,
Saitoh S. CTCF deletion syndrome:
clinical features and epigenetic
delineation. *J Med Genet.* 2017 Aug
28. pii: jmedgenet-2017-104854. doi:
10.1136/jmedgenet-2017-104854.
[Epub ahead of print]

黒澤健司 マイクロアレイ染色体検査 小
児臨床検査のポイント 2017 小児内
科 2017;49 (増刊号) :687-690.

2. 学会発表

Hatano C, Yokoi T, Enomoto Y, Tsurusaki
Y, Saito T, Nagai J, Kurosawa K.
Dosage Changes of *NIPBL* cause
various types of neurodevelopmental
disability. The 13th International
Congress of Human Genetics
2016.4.3-7 Kyoto

Enomoto Y, Yokoi T, Hatano C, Ohashi I,

Kuroda Y, Tsurusaki Y, Ida K, Naruto
T, Kurosawa K. The comprehensive
genetic analysis of Rubinstein-Taybi
syndrome(RSTS). The 13th
International Congress of Human
Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

Shimbo H, Yokoi T, Mizuno S, Suzumura
H, Aida N, Nagai J, Ida K, Enomoto Y,
Hatano C, Kurosawa K. Structural
brain abnormalities associated with
deletion at chromosome 2p16.1. The
13th International Congress of Human
Genetics 2016.4.3-7 Kyoto

湊川真理、羽田野ちひろ、横井貴之、大橋
育子、黒田友紀子、黒澤健司 Pitt-
Hopkins 症候群 3 例に対する診断アプ
ローチ 第 119 回日本小児科学会学術
集会 2016.5.13-15 札幌

榎本友美、黒澤健司 CNV 検出手法
XHMM と log2ratio 変換法の比較—実
際の解析例について— 第 169 回染色
体研究会 2017.4.8. 東京慈恵医大

Kurosawa K, Minatogawa M, Yokoi T,
Enomoto Y, Ida K, Harada N, Nagai J,
Tsurusaki Y. Microdeletion of
17q21.31 causes a novel
malformation syndrome. *American
Society of Human Genetics* 2017,
2017.10.17-21. Orlando.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

