

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あり方に関する研究

平成25年度 総括研究報告書

平成26年(2014)3月

研究代表者 辻 省 次

（東京大学医学部附属病院神経内科 教授）

目 次

・総括研究報告書

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
辻 省次

1

・テーマ別研究報告書

次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義について
松本直通、松田文彦、松原洋一、梅澤明弘、辻 省次

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
斎藤加代子、福島義光、武藤香織、難波栄二、森田啓行、山内泰子

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
宮地勇人、難波栄二

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
後藤雄一

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
松本直通、小崎健次郎、斎藤加代子、福島義光、難波栄二

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
松田文彦、松原洋一

・分担研究報告書

1．国立高度専門医療研究センターにおける遺伝学的検査提供に関する検討
松原洋一

2．小児希少遺伝性難病に対する遺伝学的検査の開発と全国展開
奥山虎之

3．Leigh 脳症 6 4 例における原因遺伝子の検討
後藤雄一

4．遺伝性神経筋疾患におけるゲノム解析研究
斎藤加代子

5．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研究
宮地勇人

6．細胞遺伝学的検査の提供体制の研究
福島義光

7．家族性腫瘍の遺伝学的検査の提供体制に関する研究
古川洋一

- 8 . 遺伝性疾患の遺伝学的検査の提供体制に関する研究
難波栄二
- 9 . 遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
秋山真志
- 10 . 遺伝学的検査による難聴の分子病態の解明
野口佳裕
- 11 . 循環器領域への次世代型シーケンス遺伝学的検査導入にかかる問題点に関する研究
森田啓行
- 12 . 海外の状況・動向に関する研究
小崎健次郎
- 13 . 神経疾患における遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
青木正志
- 14 . 次世代シーケンサー時代に予想される神経変性疾患遺伝子解析
小野寺 理
- 15 . 日本人の遺伝子変異データベースの構築
松田文彦
- 16 . 遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
梅澤明弘
- 17 . 全エクソーム解析により解決できた原因不明の周産期異常家系
松本直道
- 18 . 小児病院におけるマイクロアレイ染色体検査実施状況
岡本伸彦
- 19 . 遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究
山内泰子
- 20 . 次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の倫理的課題の研究
武藤香織

. 研究成果の刊行に関する一覧表

. 班構成員名簿

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

総括研究報告書

研究代表者 辻 省次 東京大学医学部附属病院 教授

次世代シーケンサーを診断確定を目指した遺伝学的検査に応用する場合に必要な課題を抽出し、それぞれの課題についてどのように対応をしていくべきか検討を行った。本研究班では、医療における遺伝学的検査の役割、薬事承認に関連する課題、遺伝学的検査の依頼側から見た課題、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、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の倫理的課題、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の拠点化に関する課題、大学の研究室などで遺伝学的検査を提供する際の品質管理や認証などを課題と設定し、海外の状況についてもあわせて調査研究を行った。これらの検討を受けて、次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの実施体制について具体的な提案をとりまとめた。また、難病研究班との連携による、クリニカルシーケンシング実施体制のネットワーク化、医療制度の中に位置づけていくためのロードマップ、膨大な変異情報を解釈するための情報基盤の整備、偶発的所見を含む、倫理面での課題についての提言をとりまとめた。

A. 研究目的

本伝学的検査の提供体制については、一部の遺伝性疾患について保険収載されているものの、大部分の疾患については、保険収載されていない。先進医療で提供されている遺伝学的検査もあるが、ごく一部にとどまっている。以上のことから、わが国では大部分の疾患の遺伝学的検査が、保険診療の枠外に置かれているのが現状である。分子遺伝学的研究の発展の結果、数多くの疾患で病因遺伝子が見出されてきており、診断確定のために多数の遺伝子を検索する必要が出てきている。次世代シーケンサーの実用化を始めとするゲノム解析技術の進歩と共に、多数の遺伝子を同時に解析する

ことが可能になってきているが、体外診断法として保険収載をしていくには、薬事承認への対応が必要になること、検出される変異の数が多くなり、その解釈にも専門的な知識が要求されるようになるなど、多くの課題が存在する。

このような状況から、遺伝学的検査の実施拠点の構築が必要になってきている。そこで、医療における遺伝学的検査の役割、薬事承認に関連する課題、遺伝学的検査の依頼側から見た課題、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、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査の倫理的課題、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の拠点化に関する課題、大学の

研究室などで遺伝学的検査を提供する際の品質管理や認証などを課題として設定し、あわせて海外の状況についても調査研究を行うこととした。これらについて、研究班会議で討議を進め、遺伝学的検査の拠点のミッション、特定疾患調査研究班との連携、registry、変異データベースの構築に関する指針、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指針、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に関する指針、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指針、次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップなどについてまとめることを目的とした。

B. 研究方法

本年度2回の班会議（第一回班会議：平成24年11月30日、第二回班会議：平成25年2月22日）を開催した。本研究では、次世代シーケンサーによるゲノム解析をクリニカルシーケンシングに応用する際に、検討すべき課題を重点的にとりあげ、具体的な提言を示すことを目的としている。具体的には、1) 次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義、特定疾患調査研究班との連携（松田、松原、松本、梅澤、辻）、2) 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（小野寺、青木、岡本、小崎、後藤、奥山、松原、岡本）、

3) registry、変異データベースの構築（松田、松原）、4) 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（松本、小崎、斎藤、福嶋、難波）、5) 次世代シーケンサーにより得られるデータの解釈（松田、松原、松本、梅澤、辻）、6) 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に関する指針（福嶋、山内、難波、斎藤、森田、武藤）、7) 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指針（宮地、難波）、8) 次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップ（辻、宮地）、9) 国際的な動向（小崎、松原）、などの課題について検討を行った。

（倫理面への配慮）

本研究班において、次世代シーケンサーを用いた解析を含め、研究的な活動を含む遺伝学的検査を実施する場合には、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、所属機関の研究倫理審査委員会の承認を得て実施するようにする。また、偶発的所見への対応については、本研究班の重要な課題の一つとして取り上げて、対応方針についての指針のとりまとめを行うようにする。

C. 研究結果

次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義について

1) 次世代シーケンサーを用いたゲノム解析拠点の必要性

拠点化することにより、次世代シーケンサーによるゲノム解析能力の大規模化、ゲノムインフォマティクスの大規模化・高度化が実現できる。このことにより、ゲノム配列解析の精度の向上、スループットの向上、スケールメリットによる試薬のコスト削減が可能になる。ゲノム解析はスケールメリットの大きい分野であり、拠点化することの意義は大きい。

2) 高度なゲノム解析技術を担う役割

疾患毎に、解析対象に含めるべき遺伝子数は飛躍的に増大してきている。例えば、心筋症では 50-70 遺伝子、てんかんでは 53-130 遺伝子が解析対象となる (HL Rehm Nature Review Genetics (2013))。このように、クリニカルシーケンシングにおいて、網羅的な遺伝子解析が必須となってきており、次世代シーケンサーの持つ役割は大きくなっている。現在の次世代シーケンサーは一定頻度で error reads が含まれ、変異 (variants) を call する条件についても解析の目的に応じた最適化していく必要がある。また、見出された変異については、クリニカルシーケンシングにおいては、必ず、Sanger 法などの標準的な塩基配列解析方法による確認作業が必要となる。また、想定

される変異の種類 (構造多型、リピート伸長など) によっては、array CGH, repeat-primed PCR など、他の解析を併用する必要がある、統合的かつ高度なゲノム解析能力が必要となり、クリニカルシーケンシングの技術開発研究も含め、次世代シーケンサー解析拠点の持つ役割は大きい。

3) ゲノムインフォマティクスの重要性

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ビッグデータの研究分野として発展する。次世代シーケンサーから産生される膨大な情報から、配列情報の抽出、ヒトゲノム参照配列への整列、変異の call などの一連の解析、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、変異がもたらす機能への影響の予測、あるいは、機能解析を加えるなど、重層的な解析が求められる。また、必要に応じて、新しいアルゴリズムの開発研究も求められる。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

オマティクスの分野の人材育成という点できわめて重要となり、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。特に重要な点は、新しい解析アルゴリズムの解析など、研究面で高いレベルを目指すことが大切であり、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に造詣の深い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。

4) 医療におけるクリニカルシーケンシングの必要性

診断確定のために、遺伝学的検査、特に、複数の遺伝子を対象としたクリニカルシーケンシングの必要性が医療現場で高まってきた。個別の研究室で遺伝学的検査ができるところもある一方、網羅的な解析・解釈ができる研究室は限られており、このような状況において、次世代シーケンサー解析拠点が果たす役割が大きい。依頼側から見ると、どのような要件を満たせば依頼できるのかなど、依頼から結果の受け取りまでの流れが明快に示されていれば、そのようなフレームワークを利用してクリニカルシーケンシングを依頼できるメリットは大きいと考えられる。診断確定のための必要なステップとしてクリニカルシーケンシングを利用できる体制の整備と、依頼側から見て満足できる turn around time (受け取りから結果返却までの期間) で、ゲノム解析結果を返却できるだけの体制を拠点側で

整備し、透明性を確保することが重要である。また、解析結果については、依頼側が診療や臨床研究に活用できるようにすると共に、一定の猶予期間後に、データベース登録を義務づけるなどの仕組みを整備して、疾患変異データベースを充実させていくことも大切であると考えられる。近い将来、クリニカルシーケンシングが医療の中で重要な役割を果たすようになると予測され、検査の標準化、品質管理、倫理面の課題などを含め、医療制度の中でクリニカルシーケンシングを実装していく上でも、貢献することが期待される。

5) 解析結果の解釈についての重要性

網羅的なゲノム配列解析を行うことにより、膨大な数のゲノム上の変異が見出される。例えば、全エクソン配列解析を実施すると、200-300 個の新規 (データベースに登録されていないもの) の非同義置換 (アミノ酸置換を伴う変異) が見出され、これらの変異について、どのように解釈を与えるかが重要となる。この解釈にあたっては、1. 大規模の日本人健常者のゲノム多様性のデータベースを用いた分析 (新規の変異であるか、既知の変異であればそのアレル頻度などの分析)、2. 対象とする疾患に関して、HGMD (Human Gene Mutation Database) をはじめとする疾患関連変異のデータベース、特に日本人の変異データベースの分析、3. 疾患の表現型の多様性を考慮に入れた分析 (臨床側で想定していなかった遺伝子の変

異であることが判明することもある), 4. 病原性変異の判断基準に基づく検討(一定の基準に基づく, 病原性変異としてのランクづけ), 5. 種間の保存性などに基づく, deleterious mutation の推定のスコアリング(ランクづけ), 6. 必要に応じて, 連鎖解析など家系分析を追加しての検討(候補遺伝子領域の絞り込み)次世代シーケンサー以外の解析方法の適用などが必要になる. このように豊富な分析能力を整備するには, 拠点がその開発を含めて担うことが必要であり, それを, 医療コミュニティ(医師, 遺伝カウンセラー, 研究者など, 幅広い職種)で活用していくことが望まれる.

6) 研究面での次世代シーケンサー解析拠点の役割

次世代シーケンサー解析拠点においては, クリニカルシーケンシングの提供を行うとともに, 未だ発症機構が未解明な疾患について, 遺伝性疾患の病因遺伝子の解明, 多因子疾患(孤発性疾患)(complex trait disease)の疾患感受性遺伝子の解明に対して貢献することが求められる. 遺伝性疾患については, 現在病因遺伝子が未解明の疾患の多くは, 小家系だったり, きわめて稀であったりと, 病因遺伝子の解明が困難な疾患が数多く残されており, その点で, 連鎖解析, エクソーム・全ゲノムシーケンシングなど, 高度かつ統合的な解析技術を投入する必要がある. また, 多因子疾患については, サンプル数の大規模化が成果をあ

げる上で必須であるので, 難病研究班との連携を含め, 臨床側と次世代シーケンサー解析拠点で, 適切な多施設共同研究体制を構築してそれぞれに役割分担をすることも求められる. このような研究は疾患ゲノムコホート研究として位置づけられ, 大規模研究プロジェクトとして推進する必要がある. 次世代シーケンサー解析拠点が, 多施設共同研究体制のもとにこのような研究を担当する役割を果たすことが望ましい. また, その解析結果などを研究者コミュニティが広く活用でき, わが国全体のゲノム医学研究が発展するような仕組みを整備することも求められる. また, 個別の研究室において行われる疾患遺伝子探索研究も数多くあり, このような研究に対しても, 次世代シーケンサー拠点が必要に応じて一定枠の支援的な役割を果たすことがわが国の研究全体の発展にも貢献する.

7) データベースの構築・維持

上述したように, クリニカルシーケンシングにおいては, 観察されたゲノム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, 健常者集団のゲノム多様性についてのデータベース, 疾患毎の変異データベースが重要なリソースとなる. 特に, ゲノム多様性, 疾患関連変異は, 民族毎に固有のもの(ethnicity-specific)が少ないことがわかってきており, 日本人集団のデータベースの持つ役割が重要な位置を占める. これまでこのような日本人に特化した

データベースは存在していなかったが、先に公開された 1,208 名の健常者日本人集団のゲノム多様性のデータベース (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) は、厚労科研でサポートされた次世代シーケンサー 5 拠点が協力して構築されたものであり、次世代シーケンサー解析拠点の持つ重要な役割といえる。このようなデータベースは広く研究者がさまざまな研究、診療に活用することができ、わが国の研究の基盤的な役割を果たす。今後、生活習慣病など頻度の高い疾患の発症に対する影響度の高いゲノム変異の検索を目的に exome-association study が発展すると予測されるが、そのような研究の基盤として、多施設共同研究体制に基づいて、さらにサンプルサイズを拡大することが重要である。

疾患に関連する変異データベースは、個別の疾患についていくつかの小規模データベースはわが国でも存在するが、幅広く多くの疾患を網羅したデータベースは存在していない。次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの拠点化は、このような変異データベースの構築に対しても大きく寄与すると考えられる。また、疾患関連の変異データベースの構築・維持については、拠点のみならず、個別研究で見出される疾患関連変異についても、多くの研究者の協力に基づきデータベースへの deposit を推進することも重要である。

国際的には、Human Variome Project という

大きな動きがあり、全世界で、ヒトゲノムの多様性情報のデータベースの構築していくことが進められている。日本では、まだ、Japan Node が設置されておらず、Japan Node を設置し、国際的な Human Variome Project の推進に貢献していくためにも、このような次世代シーケンサー解析拠点が重要な役割を担うことが求められる。

8) 国際的な動向

ゲノム医学分野で、国際的に activity の高い次世代シーケンサー解析拠点としては、英国 Sanger 研究所、米国 Broad 研究所、Baylor College of Medicine などあげることができる。また、ゲノム医学に特化していないが、全ての生物を対象としたゲノムシーケンシングの分野では、中国の BGI が群を抜いて活発な研究を進めている。いずれの研究所においても、資源を集中し、次世代シーケンサー、ゲノムインフォマティクスの大規模解析拠点を構築している。最近になり、米国 Broad 研究所は CLIA の認証を取得し、クリニカルシーケンシングの分野に乗り入れている、Baylor College of Medicine は早い時期から、次世代シーケンサーをクリニカルシーケンシングの分野に取り入れ、大きな成果をあげている。英国 Sanger 研究所は、ヨーロッパのゲノム解析拠点としても機能しており、多くの研究者が自らのサンプルを持って、研究を行う仕組みも整備している。このように国際的な動向は、資源の集中化と高度化、さらにそ

の拠点を研究者コミュニティ全体が活用する仕組みも整備してきている。

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

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。近年の分子遺伝学の研究の発展により，多くの疾患について，多数の病因遺伝が見出されてきている。このような分子遺伝学手研究の発展に伴って明らかになってきたことは，臨床症状や家族歴だけから，特定の疾患を臨床的に診断することは容易でなく，また，遺伝学的検査についても，複数の遺伝子を同時に解析する必要に迫られている。痙性対麻痺を例にあげると，常染色体劣性遺伝性疾患に限ったとしても，その病因遺伝子として 50 種類もの遺伝子が病因遺伝子として明らかにされている。常染色体劣性遺伝性痙性対麻痺の多くは，複合型の痙性対麻痺を呈し，臨床症候からこれらの疾患の診断を確定することは困難である。従って，遺伝学的検査によってその病型を確定する必要があるが，従来から行われているような個別の遺伝子を解析することは，労力の上からも非常に困難なことになってきている。従って，このように，多数の遺伝子を解析することが必要な場合には，次世代シーケンサーを用いて，網羅的な遺伝子解析を実施することが必要とな

る。

網羅的な遺伝子解析の方法としては，エクソームシーケンシングと呼ばれるゲノム上のすべての遺伝子を対象として，そのエクソン領域を濃縮して網羅的に塩基配列解析を行う方法，あるいは，対象とする遺伝子群を選択的に濃縮した後に，次世代シーケンサーで解析する，ターゲットシーケンシングと呼ばれる方法がある。

次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析に基づく病原性変異の同定は診断に大きく寄与するが，その実施においては，次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングを担当できる拠点を整備し，その品質を担保していくことが重要であると考えられる。また，エクソームシーケンシング，ターゲットシーケンシングのいずれを行うにしても，一定の費用がかかることから，このような次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングは，臨床現場によるクリニカルシーケンシングの必要性の検討，適応の決定，検体の輸送，次世代シーケンサー拠点による解析，病原性変異の抽出・解釈を進める必要がある。特に重要なことは，病原性変異の解釈においては，次世代シーケンサーを用いたゲノム解析・ゲノムインフォマティクスの専門家はもちろん，当該疾患の診療の臨床遺伝・診療の経験が豊富な医師の連携の上に，適切な解釈を行うことが必要である。また，得られた変異に関する情報は，データベース化し，

データを蓄積することにより、変異の解釈を行う際の重要な情報基盤として充実させていく必要がある。

このように、遺伝学的検査の依頼、次世代シーケンサーを用いたエクソームシーケンシング、ターゲットシーケンシングの実施、データの解釈、臨床側への結果の提供、変異データ、臨床情報のデータベース化を体系化して推進する必要がある。このようなシステム構築は、次世代シーケンサー拠点、難病研究班との連携が必須である。特に、遺伝学的検査の依頼が発生した時点で、その必要性、適応を決定する、ゲートキーパーの役割を設けることが重要である。次世代シーケンサーによるシーケンシング解析は、現在のテクノロジーの範囲では、まだ、かなりの費用を必要とする検査であることから、与えられた予算の中で効率よい遺伝学的検査を提供するためには、ゲートキーパーによる、検査の必要性、適応の吟味が重要な役割を持つようになる。

registry, 変異データベースの構築

見出された変異が、既報の病原性変異である場合は、直接診断確定につながる結果となるが、新規の変異であった場合に、それが、稀な中立的変異であるのか、病原性変異であるのかの判断が難しくなる。このような状況に役立つ情報基盤として、次世代シーケンサーで見出されたすべての変異をデータベース化すること、病原性変異と

考えられる変異についてのデータベース化をすることが重要である。データベースは、多くの研究者が利用できるように公開を基本として提供されることが、遺伝学的検査の結果の解釈、疾患研究などに大きく貢献することは言うまでもない。一方、遺伝情報は、個人のプライバシーに関わるものであることから、公開することで個人のプライバシーを侵害することのないように適切な配慮が必要となる。公開することが可能な情報と、公開は適さず、申請に基づく利用（制限付きアクセス）の区別を適切に行うことが必要である。

このようなデータベースの構築に当たっては、集団における頻度情報のように、公開することができる情報と、1個人のゲノム上の変異情報のように、制限付きアクセスによる対応が必要な情報を区別すべきである。病原性変異については、一定の臨床情報を付加する形でのデータベース化がこの分野の診療、遺伝子検査においては重要と考えられ、公開データベースの構築、提供が医師・研究者コミュニティの情報基盤として大きく貢献すると考えられる。このような情報は、個人のプライバシーに関連するものが少なくなく、個人のプライバシーの保護に対する十分な配慮をするように留意する必要がある。また、データベースの構築、公開、制限付きアクセスによる共有などについて、非検者に十分な説明と同意を得ようとすることが求められる。

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

現在用いられている次世代シーケンサーは、100-150塩基程度の short read が膨大な数得られるという特徴がある。次世代シーケンサーは、1塩基置換や、短い挿入・欠失などの検出力は高いものの、遺伝子全体を含む領域のコピー数が変化するコピー数変異 (Copy number variation, CNV) や、サイズの大きい挿入・欠失変異など、構造変異として分類される変異の検出力は弱い。このような変異に対しては、array CGH (comparative genomic hybridization) 法あるいは SNP (single nucleotide polymorphism) 解析による cytogenomic microarray 法や、MLPA (Multiplex ligation-dependent probe amplification) 法などの解析方法を用いる必要がある。

特に、臨床的に確定診断が困難な小児の先天異常疾患などにおいては、cytogenomic microarray 解析を最初に行うことが国際的にも推奨されており、わが国でもこのような解析法の普及が望まれる。CNVs 領域の解析結果の解釈については、当該疾患の診療に精通した専門家と臨床細胞遺伝学の専門家の関与が望まれる。日本人ゲノムに固有の CNVs もあり、健常日本人集団で観察される CNVs、疾患に関連して観察される CNVs について、データベースを構築し、データの解釈に役立つ情報基

盤として整備を進める必要がある。

神経疾患で多く見られる、リピート伸長変異も次世代シーケンサーによる変異の検出は困難で、この場合には、repeat primed PCR や、リピート長を挟んで PCR を行い、得られる PCR 産物のサイズを比較するような解析が必要となる。

このように、現在の技術水準の次世代シーケンサーで検出が困難な変異について、その技術的限界を十分に把握し、臨床側からの依頼に適切な解析方法を用いた解析を提供することが求められる。

次世代シーケンサーにより得られるデータの解釈

次世代シーケンサーを用いた解析では、膨大な数の変異が見出される。例えば、全ゲノム配列解析を行った場合には、1個人あたり、300万種類もの変異が見出される。

このように膨大な数の変異リストの中から、疾患発症の原因となっている病原性変異を検出するには、多くの課題がある。それらを列挙すると、次世代シーケンサーを用いた解析、変異の call に精通している専門家が必要である、さまざまなデータベースを参照しながら、疾患との関連性の高い変異を絞り込むインフォマティクス処理、その上で、当該疾患の病原性変異を絞り込む作業をする必要があり、この段階では、当該疾患の診療に精通した専門家の関与が望まれる。以上のように、次世代シーケン

サーを用いたゲノム配列解析の解釈は、学際的な分野の専門家がチームとして取り組む必要があり、そのような体制の整備が早急に望まれる。次世代シーケンサー解析拠点を中心にこのような体制を整備することが望まれる。

一方、検査会社が検査を担当した場合、日本では、伝統的に、結果の解釈には関与しない対応がなされてきている。しかしながら、次世代シーケンサーを用いた解析では、結果の解釈が最大の課題となり、企業が行う場合には、その解釈を誰が担当するのか明確にすると共に、そのような体制の整備が必要となる。

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に関する指針

次世代シーケンサーによる網羅的な配列解析、特に、エクソームシーケンシングによる解析では、目的とする遺伝子だけでなく、ゲノム上のほぼすべての遺伝子に関する変異情報が得られることになる。そのような変異の中には、発がんの大きなリスクが予測でき、適切な対応をとることにより、非検者の健康維持に大きく貢献できるものが少なからず含まれる可能性がある。

このような情報は、偶発的所見(Incidental Findings)として、最近注目されるようになってきている。米国では、2013年に、Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues から、Incidental Findings

に関する勧告が発表された (Anticipate and Communicate. Ethical Management of Incidental and Secondary Findings in the Clinical, Research and Direct-to-Consumer Context. Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues)。この報告では、Incidental Findings を、研究、診療、Direct-to-Consumer の3つの場合分けをして、それぞれについて、適切な配慮をできるように求めている。この報告書のタイトルにあるように、このような Incidental Findings 見出される可能性をあらかじめ認識しておくこと、検査を受ける方(被検者)への十分な情報提供と、意思疎通を行うように求めている。

Incidental Findings については、最近、米国の ACMG (American College of Medical Genetics) がクリニカルシーケンシングとしてエクソームシーケンシングや全ゲノムシーケンシングを行った場合、Incidental Findings として報告に含めるべき対象遺伝子の一覧を提示している。この一覧は、小児の遺伝性疾患や、家族性腫瘍などに重きを置いた形になっているが、わが国で、日本人を対象とした場合に、適切な遺伝子リストはどうあるべきかの検討を早急に行う必要がある。

また、対象遺伝子がリストとされたとしても、見出された変異が病原性であるかどうかの判定は容易でないことが多い。病原性変異として報告されたものであっても、そ

の後の研究により、中立的な変異とされるものも少なくない。また、新規の変異については、病原性の判定が非常に困難である。このような状況にあつて、対象疾患の専門家とも連携して、病原性変異のデータベース化、適切な解釈について協力を進めることが必要である。

また、偶発的所見の定義についても、研究、クリニカルシーケンシング、Direct-to-Consumer のそれぞれの場合で、適切な定義を検討していくことが必要である。例えば、研究の場合、偶発的所見の対象となっている遺伝子群の解析、検討を義務化することは、必ずしも適切でないと考えられる。偶然に見出される場合がどういう場合であるのかについての検討が必要である。クリニカルシーケンシングにおいては、偶発的所見への対応はもっと積極的な対応をするかどうかなど、十分な検討を進めることが必要である。Direct-to-Consumer の分野は、本研究班の対象外であるが、検査を受けた人の健康維持に重要な情報であり、また、医療の枠外においてこのような情報をどのように扱うのが適切であるのか、さらに検討を進める必要がある。

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指針

これまでわが国では、大学などの研究機関が、研究の一環として、遺伝学的検査を提供してきたことが多かった。つまり、研

究の枠組みでありながら、診療への検査の提供を行ってきたという実態がある。クリニカルシーケンシングのように、診療への結果の提供を担当する場合、当然のこととして、検査についての品質管理を保証するような一定の基準を設けることが必要となる。特に、保険収載をする場合、薬事法との整合性を取ることも大きな課題となってくる。

米国では CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) という法制度で設けられたシステムがあり、この認証を受ければ、検査会社であっても、大学などの研究機関であっても、診療に対しての検査の提供が可能となり、保険償還も可能となる。

今後検討すべき課題は、2つあると考えられる。1つは、大学などの機関が、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査を提供する場合に、その品質管理に必要な基準を具体化することである。CLIA のように制度化される基準が望ましいが、その実現には一定の期間を要することを考慮すれば、自主的な基準であっても一定の基準を設け、それに従って次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の提供を実現することが必要である。

もう一つの課題は、薬事法への対応である。体外診断法においては、薬事法は、診断薬キット、診断機器に対して、それぞれ、薬事承認がなされていることを前提として

いる。しかしながら、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査は、キット化されず、研究で用いられているさまざまな試薬などが用いられる可能性が想定され、すべて診断キットとして提供されることは想定しにくい。また、解析機器についても、一部の機器は薬事承認が得られる可能性があるが（例えば、Illumina社のMiSeqは、FDAの承認が得られている）主として研究に用いられる機器の多くが薬事承認される状況は想定しにくく、一部は研究用機器が診断を目的とした検査に用いられる可能性が考えられる。このような状況を考慮すると、研究機関で次世代シーケンサーを用いて解析をする場合、Laboratory-developed test (LDT)として承認する可能性も検討する必要があると思われる。検査会社が担当する場合は、薬事承認された診断薬キット、診断機器が前提となると考えられるが、大学などの研究機関が行う場合は、LDTを積極的に認める方向を検討していくことが望まれる。

次世代シーケンサーを用いた解析を医療の中に導入していく場合、検査件数も考慮に入れた対応が必要である。難病の場合、検査の件数は極端に少ないことが多く、その解釈が困難であることも多い。このような難病の遺伝学的検査は、大学などの研究機関が担当することが適切であると考えられる。一方、例えば、BRCA1、BRCA2などのように、検査件数が多数にのぼると予測される場合は、検査会社が担当することが

適切であると考えられる。

次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップ

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の有用性は広く実証されてきており、今後、医療の中に普及させていく必要がある。その場合に、医療制度の中にどのように位置づけていくかを検討する必要がある。具体的には、保険収載するのか、公的資金で対応するのか、あるいは、先進医療や、混合診療なども考慮されうる。

現状では、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査は、研究の枠組みで提供されており、当面、その位置づけで進むことが想定される。しかし、医療の中に位置づけるためには、一歩進んでどのような制度で対応をするのか検討する必要がある。

現在の日本の制度も考慮に入れると、まずは、次世代シーケンサーを用いた診断のネットワークを構築し、研究の枠組みで開始をする。そして、先進医療として一定期間実績を積み上げた後に、保険収載を実現する、というロードマップが、実現性が高いものと考えられる。

保険収載に関しては、次世代シーケンサーによる遺伝学的検査の費用は現時点ではかなりの費用を必要とし、現行の遺伝学的検査のように、一律4,000点では、対応できない。次世代シーケンサーを用いた解析

方法に対して適切な保険点数の設定が必要である。

また、難病医療においては、診断は、難病認定の最初のステップという要素もあり、公的資金による負担を積極的に検討することが望まれる。

国際的な動向

海外においては、国によって、対応が大きく異なる。例えば、国民皆保険の英国では、UK GTN (UK Genetic Testing Network) (<http://ukgt.nhs.uk/>) という組織があり、検査の依頼に対するゲートキーパーの役割を担っており、さらに、国内の検査機関を束ねてネットワークして、検査の項目毎に、適切な検査機関に検査を依頼するというシステムが動いている。検査の必要性 適応、予算に応じた柔軟な運営がされている。

欧州について、EuroGentest は European Commission (EC) 内の遺伝子検査実施機関が連携したネットワークである (<http://www.eurogentest.org/>)。遺伝子診断の質の保証、各疾患に対する遺伝子診断の有用性に関する情報提供 (Clinical Utility Gene Cards, 116 疾患)・遺伝子診断を実施している施設の紹介を行っている。

EuroGentest の調査によれば、2013 年の 10 月の時点で、European Commission (EC) 内の 25 の検査室が、776 の次世代シーケンサーを用いたパネル検査を臨床検査として実施しており、このパネルでカバーされる

遺伝子の総数は 2236、疾患の総数は 1114 種である。このように、欧州においても次世代シーケンサーを基盤として、臨床遺伝子検査が実施されつつあるといえる。この EuroGentest は、稀少疾患とオーファンドラッグに関するデータベースである Orphanet (<http://www.orpha.net/>) と連携している。Orphanet は、平成 23 年 9 月までに、35 カ国が参加しており、欧州以外の諸外国から参加要望も受けつけている。

米国では、CLIA という認証制度の下に、民間の検査会社、大学などの研究機関が、積極的に、次世代シーケンサーを用いた検査の提供をしている。また、費用は、検査の費用に応じて柔軟に設定されており、保険償還が実現している。民間検査会社においては、難病に対する、次世代シーケンサーを用いた検査も積極的に提供しており、頻度は稀であっても、全体として採算がとれるような、ビジネスモデルを構築している点が注目される。

英国、欧州、米国の実情と日本を比較してみると、費用をどこが、どのように負担をするかが、明確に制度化されている。これに対して、日本は、伝統的に、研究の延長線上で細々と対応してきたという点があり、このような対応が限界に来ている。従って、次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の提供を、どこが行い、費用は、どこがどのように負担をするかを具体的に決めていく必要がある。

D. 考察

本研究班でとりまとめた、次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップを次頁に示す、クリニカルシーケンシングのコアとして、次世代シーケンサー拠点を構築することが必要であり、平成26年度の厚労科研で具体化することが期待されている。この拠点においては、そのミッションとして、網羅的ゲノム配列解析の提供を行うと同時に、品質管理基準を設定していくことが求められる。また、次世代シーケンサーを用いたゲノム配列解析により見出される膨大な数の変異について、適切な医学的解釈を行うためのアルゴリズム、すなわち、病原性変異の判定アルゴリズムの整備を進めることが必要である。同時に、ゲノム配列解析から見出される可能性のある偶発的所見への対応指針を定めることが求められる。この拠点で得られた変異に関するデータは、データベース化し、適切な形で研究者コミュニティが利用できるようにしていく必要がある。

この拠点が、クリニカルシーケンシングを担当するに当たり、医療機関からの検査の依頼について、その必要性などを判断する、ゲートキーパーの役割を果たす組織を整備することが望まれる。このようなゲートキーパーの役割は、特定疾患の調査研究班が積極的に関わることが、期待される。

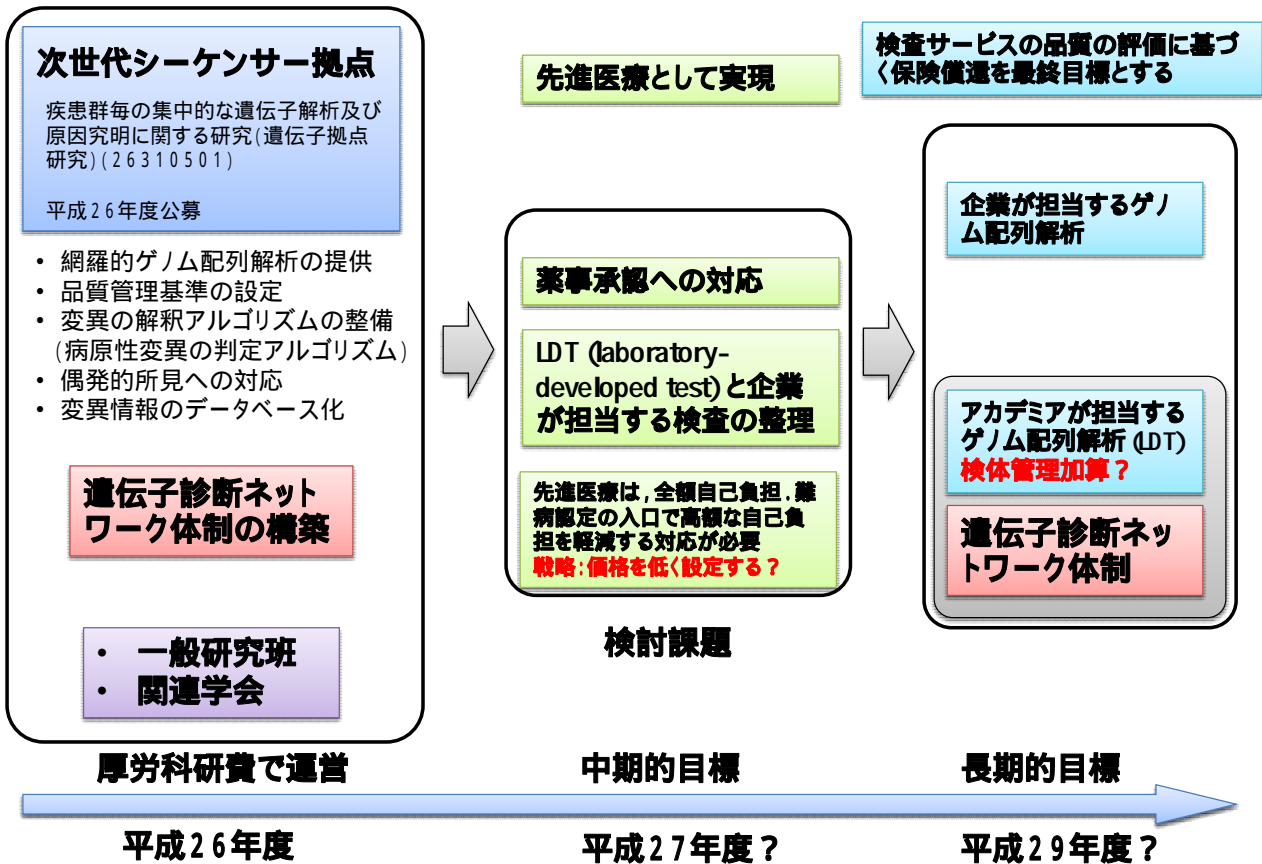
次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を、クリニカルシーケンシングとして、医療制度の中で実装するには、さまざまな課題が存在する。当初は、研究としての位置づけで開始することが望ましいと考えられるが、その次のステップとしては、保険診療として位置づけていくのか、あるいは、保険診療とは別の制度を設けるのか検討をする必要がある。また、難病のように、検査の頻度が極めて少ない場合と、年間で、例えば、1,000件以上というように、検査に対してかなりのニーズが存在する場合について、制度設計を区別していくことが必要であると考えられる。前者は、次世代シーケンサー拠点が担当し、後者は、企業が担当することが想定される。

保険診療として位置づけていくのであれば、体外診断法として、診断薬や解析機器医の薬事承認が必須事項となるが、最先端のゲノム解析技術を用いる場合、この点が大きな課題となる。特に、次世代シーケンサー拠点において、laboratory-developed testとして実施する場合は、品質管理基準を明確にした上で、薬事承認に変わる弾力的な運用の可能性も検討する必要がある。米国で行われている、CLIA認証は、このような方向性を考える上で、参考になる。医療制度への実装においては、上記に述べたような数多くの検討課題があるが、その準備を進める上では、先進医療として、実績を積みながら、制度の準備を進めるとい

う進め方が、実現性が高いのではないかと

考えられる。

次世代シーケンサーによる遺伝学的検査を医療の中に位置づけるためのロードマップ



E. 結論

次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの実施に向けて、検討すべき課題を抽出し、実施体制について具体的な提案をとりまとめた。難病研究班との連携による、クリニカルシーケンシング実施体制のネットワーク化、医療制度の中に位置づけていくためのロードマップ、膨大な変異情報を解釈するための情報基盤の整備、Incidental Findings を含む、倫理面での課題についての提言をとりまとめた。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1) 国内

口頭発表	71 件
原著論文による発表	21 件

論文発表

齋藤 加代子

Sato T, Ishigaki K, Kajino S, Saito T, Murakami T, Kato I, Funatsuka M, Saito K, Osawa M. Insomnia in Patients with Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy. J Tokyo Wom Med Univ. 83(Extra):E42-E46, 2013.

伊藤万由里、齋藤加代子、大澤眞木子. 日本における脊髄性筋萎縮症の臨床実態調査. 東女医大誌. 2013;83 (臨時増刊):E52-E57.
高澤みゆき、舟塚真、石垣景子、齋藤加代子、大澤眞木子. 筋ジストロフィー患者と家族の震災体験について～家族会での報告および症例を通して～. 東女医大誌. ;83 (臨時増刊):E236-E243, 2013.

山内あけみ、齋藤加代子. 神経線維腫症 1 型の健康管理. 小児科診療. 76(7):1111-1115, 2013

浦野真理、齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の遺伝カウンセリング. 東女医大誌. 83 (臨時増刊):E651-E655, 2013.

齋藤加代子、浦野真理. 神経筋疾患における小児医療から成人医療への移行：遺伝子診断および遺伝カウンセリングを通じた介入. 診断と治療. 101(12):1887-1890, 2013

齋藤加代子、松尾真理. 2 遺伝・先天性疾患基礎的知識. 臨床病態学小児科編. 2013; 66-71, ヌーヴェルヒロカワ, 東京
齋藤加代子. 遺伝カウンセリング. 小児神経学の進歩. 13-21, 2013.

齋藤加代子、久保祐二. 脊髄性筋萎縮症. すべてがわかる ALS・運動ニューロン疾患. 116-124, 2013.

齋藤加代子. 病気と遺伝子出生前診断. ニュートン別冊遺伝とゲノムどこまでわかるのか. ニュートンプレス (東京) 108-113, 2013.

宮地勇人

宮地勇人. 無侵襲的出生前遺伝学的検査における精度保証の取り組み. Medical Technology 41: 1111-1117, 2013

宮地勇人. ファーマコゲノミクス検査の運用指針. 小児科 54: 1825-1833, 2013.

野口 佳裕

本田圭司、野口佳裕、加藤智史、奥野秀次、喜多村 健: 網羅的解析により診断された耳小骨奇形を合併したミトコンドリア 3243 変異例. Otology Japan, 23 : 227-232, 2013 .

野口佳裕、伊藤 卓、川島慶之、西尾綾子、本田圭司、喜多村 健: 前庭水管拡大症を伴う SLC26A4, ATP6V1B1, SIX1 変異例の聴平衡覚所見の検討. Equilibrium Research, 72 : 97-106, 2013 .

川島慶之、野口佳裕: 平衡覚と遺伝子 JOHNS, 印刷中 .

野口佳裕: 21 . 30 歳女性. 10 年前から徐々に両側の感音難聴が進行しています。家族、親戚に難聴者はいません。耳鼻咽喉科で特発性感音難聴 (特難) を指摘され治療はないと言われました。今後どのような対応をしたらよいでしょうか。また、急に難聴が進行した時にはどうしたらよいでしょうか (岡本美孝編). 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 Q&A こんなときどうする?, pp. 145-147, 中外医学社, 東京, 2013 .

野口佳裕: 感覚器疾患 29 . 難聴 (泉 孝英編). ガイドライン 外来診療 2014, 日経メディカル開発, 東京, 印刷中 .

森田 啓行

森田啓行. 山田奈美恵, 小室一成. 肥大型心筋症の遺伝子診断: 推進に向けての方策. 日本内科学会雑誌 102(5): 1233-1242, 2013

青木 正志
青木正志、筋萎縮性側索硬化症筋萎縮性側索硬化症の最新のトピックス FUS/TLS 遺伝子異常に伴う ALS—モダンフィジシャン、新興医学出版社 33 668-73, 2013

松本 直通
鶴崎美徳・松本直通 次世代シーケンサーを用いたメンデル遺伝性疾患の解析 分子精神医学 13(2):18-23, 2013
中島光子・松本直通 ゲノム多様性と希少疾患 細胞 45(3): 24-27 (128-131), 2013

大場ちひろ・才津浩智・松本直通 次世代シーケンサーによるメンデル遺伝性疾患の責任遺伝子解明 31(15 extra):149-155 (2461-2467), 2013

岡本 伸彦
岡本伸彦「臨床医が知っておきたい先天異常」Coffin-Siris 症候群 小児科臨床 第 6 6 巻増刊号

岡本伸彦「Coffin-Siris 症候群と SWI/SNF クロマチン・リモデリング複合体」小児科診療 第 7 6 巻 7 号

学会発表

辻 省次

三井 純, 松川 敬志, 石浦 浩之, 福田 陽子, 市川 弥生子, 伊達 英俊, Budrul Ahsan, 中原 康雄, 百瀬 義雄, 高橋 祐二, 岩田 淳, 後藤 順, The MSA Research Collaboration, 辻 省次. COQ2 変異は家族性・孤発性多系統萎縮症と関連する. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

辻 省次. 日本人 exome/whole genome sequence のデータベース. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

石浦 浩之, 高 紀信, 嶋崎 晴雄, 三井 純, 高橋 祐二, 吉村 淳, 土井 晃一郎, 森下 真一, 後藤 順, 瀧山 嘉久, 辻 省次, JAS PAC. 常染色体劣性遺伝が疑われた遺伝性対麻痺症例の exome 解析. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

磯島 豪, 土井 晃一郎, 三井 純, 小田 洋一郎, 徳弘 悦郎, 八十田 明宏, 依藤 亨, 堀川 玲子, 吉村 淳, 石浦 浩之, 森下 真一, 辻 省次, 北中 幸. 次世代シーケンサーを用いた Kenny-Caffey 症候群 (KCS) 2 型の原因遺伝子の同定. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

松原洋一
新堀哲也、青木洋子、番匠俊博、岡本伸彦、水野誠司、黒澤健司、緒方勤、高田史男、長谷川奉延、舟山亮、長嶋剛史、中山啓子、井

上晋一、渡邊裕介、小椋利彦、松原洋一. エクソームシーケンシングによる Noonan 症候群新規原因遺伝子 RIT1 の同定 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台 口演

井泉瑠美子、新堀哲也、青木洋子、鈴木直輝、加藤昌昭、割田仁、高橋俊明、豎山真規、長嶋剛史、舟山亮、阿部康二、中山啓子、青木正志、松原洋一 Myofibrillar myopathy の大家系における次世代シーケンサーを用いた新たな原因遺伝子の同定 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台 口演

緒方勤、田中紀子、河合昌彦、深見真紀、新堀哲也、青木洋子、松原洋一 エクソーム解析により TBX1 変異が同定された家族性の特徴的顔貌・鼻咽頭閉鎖不全・低 Ca 血症を呈する 5 例 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台 口演

井泉瑠美子、新堀哲也、青木洋子、鈴木直輝、加藤昌昭、割田仁、高橋俊明、豎山真規、長嶋剛史、舟山亮、中山啓子、松原洋一、青木正志、Myofibrillar myopathy の大家系での次世代シーケンサーを用いた原因遺伝子の同定 第 54 回日本神経学会学術大会 2013 年 5 月 29 日-5 月 1 日 仙台 口演

青木洋子、新堀哲也、井上晋一、松原洋一 次世代シーケンサーを用いたヌーナン症候群の遺伝子診断と新規原因遺伝子検索 第 116 回日本小児科学会学術集会 2013 年 4 月 19-21 日 広島 口演

齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一 Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012 年 10 月 24-27 日 東京 口演

齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一 Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析 第 115 回日本小児科学会学術集会 2012 年 4 月 20-22 日 口演

阿部裕、青木洋子、新堀哲也、呉繁夫、松原洋一 コステロ症候群・CFC 症候群の全国実態調査とその病態の解明に関する研究 第 115 回日本小児科学会学術集会 2012 年 4 月 20-22 日 久留米 口演

後藤 雄一

Matsushima Y, Hatakeyama H, Takeshita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H, Goto Y. Leigh-like syndrome associated with calcification of the bilateral basal ganglia caused

by mutations in mitochondrial Poly(A) polymerase. International Symposium on Mitochondria 2013, The 13th Conference of Japanese Society of Mitochondrial Research and Medicine (J-mit), Tokyo, 11.6-7, 2013.

齋藤 加代子

齋藤加代子, 神経筋疾患を抱える子ども達の思春期の課題, 第 116 回日本小児科学会学術集会, 2013.4.20, 広島

齋藤加代子, 遺伝の基礎知識, 第 93 回東京小児科医学会学術講演会, 2013.6.16, 東京
久保祐二、伊藤万由里、青木亮子、齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子の copy 数の解析と遺伝カウンセリング学会への応用. 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013.6.21, 川崎

渡辺基子、松尾真理、浦野真理、齋藤加代子. 発症前診断を求める理由と診断結果が人生に及ぼす影響について. 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013.6.21, 川崎

浦野真理、齋藤加代子, 出生前診断に関わる遺伝カウンセリング - 当センターの経験から -, 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 2013.6.22, 川崎

齋藤加代子, 遺伝医療の現在と将来, 第 4 回遺伝カウンセリング研修会, 2013.7.13, 京都

久保祐二、山本友人、森川悟、西尾久英、中島秀樹、大下智彦、倉重毅志、齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症患者における新たな SMN1 遺伝子単離法による新規遺伝子変異の同定. 第 20 回日本遺伝子診療学会大会, 2013.7.20, 浜松

齋藤加代子, SMA 患者登録, 稀少性疾患登録/国際ワークショップ, 2013.7.25, 東京
齋藤加代子, 調査研究シンポジウム, 日本心理臨床学会第 32 回秋季大会, 2013.8.27, 横浜

山内あけみ、浦野真理、齋藤加代子. 神経線維腫症 1 型における発達障害、知的障害 ~ 対人関係、社会への適応を中心に ~. 第 5 回日本レックリングハウゼン病学会学術集会, 2013.10.20, 東京

松尾真理、渡辺基子、小川正樹、齋藤加代子, 母体血を用いた出生前遺伝子学的検査: 遺伝カウンセリングの現状と課題, 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.21, 仙台

秋澤叔香、浦野真理、佐藤裕子、石谷健、山内あけみ、平井康夫、清水忠夫、松井英雄、齋藤加代子. 当センターにおける遺伝性乳がん卵巣がん (HBOC) の遺伝カウンセリングの検討. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.21, 仙台

山本俊至、下島圭子、島田姿野、三宮範子、松尾真理、齋藤加代子. 染色体微細 3 重複には 2 つのパターンが存在する. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.21, 仙台

岩崎直子、滝澤美保、井出理沙、尾形真規子、齋藤加代子、内潟安子. MODY Probability score calculator の日本人 MODY における有用性. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.22, 仙台

山田裕一、野村紀子、山田憲一郎、木村礼子、福士大輔、水野誠司、清水健司、松尾真理、齋藤加代子、若松延昭. Mowat-Wilson 症候群の遺伝子解析: 新たな ZEB2 遺伝子変異. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.22, 仙台

荒川玲子、久保祐二、青木亮子、齋藤加代子. 脊髄性筋萎縮症患者の SMN2 遺伝子コピー数がバルブプロ酸投与時の SMN タンパク質発現量に与える影響. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.22, 仙台

浦野真理、齋藤加代子. 神経筋疾患をもつ子どもたちの思春期の課題. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.22, 仙台

内山智貴、石谷健、尾上佳子、青木貴子、松井英雄、齋藤加代子、菅野仁. ドセタキセル治療による婦人科領域がんの予後予測 SNPs に関する研究. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.23, 仙台

宮地勇人

Miyachi H. An Approved Guideline for the Quality Management of Specimens for Molecular Methods; The Procurement, Transport, and Preparation of Specimens.

2013 JCCLS Symposium (日本臨床検査標準協議会主催). 2013 年 4 月 4 日、東京.

宮地勇人. 慢性骨髄性白血病における BCR-ABL1 の多様性と測定上の技術的課題. 第 20 回日本遺伝子診療学会学術集会. 平成 25 年 7 月 19 日 浜松市.

宮地勇人. 遺伝子関連検査による良質な個別化医療に向けて: 造血器腫瘍を中心に. 第 20 回日本遺伝子診療学会学術集会. 平成 25 年 7 月 18 日 浜松市.

宮地勇人. 造血器腫瘍 WHO 病型分類を支える先端検査. 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会、平成 25 年 11 月 2 日 神戸市

ダムディンスレン・アナラ、松下弘道、浅井さとみ、宮地勇人. The role of FLT3-ITD in the chemoresistance of AML. 第 60 回日本臨床検査医学会学術集会、平成 25 年 11 月 3 日 神戸市

Damdinsuren A, Matsushita H, Ito M, Tsukamoto H, Tanaka M, Hayashi H, Matsuzawa H, Asai S, Ando K, Miyachi H. 第 75 回日本血液学会学術集会、平成 25 年 10 月 11 日、札幌市

Miyachi H. Efforts for Global Standardization and Quality Services of Molecular-genetic Testing. 2013 JMAC Symposium (日本バイオチップコンソーシアム主催). 2013 年 11 月 6 日 東京 .

宮地 勇人. 白血病の形態と遺伝子異常. 第 11 回本検査血液学会沖縄支部学術集会 平成 25 年 12 月 8 日 浦添市

古川 洋一
古川 洋一. 「家族性腫瘍 基礎と臨床」 第 72 回日本癌学会学術総会 (2013 年 10 月 5 日 横浜)

古川 洋一「次世代シーケンサーがもたらす近未来の医療」家族性腫瘍学会 (2013 年 7 月 27 日大分)

難波 栄二
足立 香織、久村 由美子、難波 栄二. 日本における遺伝子診断システムのモデル構築. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20 日-23 日、仙台市

足立香織、中川奈保子、難波栄二. 鳥取大学における遺伝学的診断の体制について. 第 36 回日本遺伝学会学術集会 2013 年 4 月 17 日-18 日、広島市

秋山真志
秋山真志: Q I 講演 遺伝性疾患「遺伝性皮膚疾患の遺伝子診断と重症疾患の出生前診断」、第 64 回日本皮膚科学会中部支部学術大会、平成 25 年 11 月 2 日、名古屋

野口佳裕
野口佳裕、西尾綾子、武田憲昭、島田亜紀、千田いづみ、喜多村 健: 常染色体優性遺伝形式の Auditory neuropathy spectrum disorder の 1 家系. 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会、札幌、2013.5

野口佳裕、高橋正時、吉本亮一、本田圭司、川島慶之、喜多村 健: 前庭水管拡大症に関する全国調査の検討. 第 23 回日本耳鼻科学会総会、宮崎、2013.11

青木 正志
青木正志、FUS 変異による ALS 臨床病理と病態. 第 54 回日本神経学会学術大会 シンポジウム 2013 年 5 月 30 日 東京

松本 直通
臨床研究情報センター研修会・松本直通「遺

伝性難病のゲノム解析:現状と展望」平成 25 年 4 月 10 日 臨床研究情報センター・神戸

九州大学産科婦人科学講演・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 5 月 15 日.九州大学医学部臨床研究棟・福岡

The 10th International Workshop on Advanced Genomics. Naomichi Matsumoto “Mendelian Exome Analysis” National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013

順天堂大学医学部セミナー・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 6 月 26 日 順天堂大学医学部・東京

第 17 回小児分子内分分泌研究会特別講演・松本直通「次世代シーケンサーを用いてわかってきたこと」平成 25 年 7 月 7 日札幌北広島クラッセホテル

次世代解析装置を用いた難病の原因究明、治療法開発研究プロジェクトの成果発表会・松本直通「遺伝性難治疾患の網羅的エクソーム解析拠点の構築」平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京

第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム 1・松本直通「疾患ゲノム解析における次世代シーケンサーの有用性」平成 25 年 7 月 19 日アクトシティー浜松コンgresセンター・浜松

CiRA genomics epigenomics and bioinformatics seminar series VIII. 松本直通「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析」平成 25 年 8 月 23 日 CiRA 京都大学

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成 25 年度第 1 回ワークショップ 松本直通「コントロールデータベースに関する話題」平成 25 年 8 月 24 日 京都大学 (芝蘭会館)

神奈川県立循環器呼吸器病センター職員研修会 松本直通「新たな時代を迎えた遺伝性疾患解析」平成 25 年 8 月 19 日 神奈川県立循環器呼吸器病センター・横浜

現場の会第三回研究会基調講演・松本直通「NGS がもたらしたヒト疾患ゲノム解析のパラダイムシフト」平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場 神戸

第 23 回遺伝医学セミナー講義・松本直通「遺伝性疾患の責任遺伝子単離法」平成 25 年 9 月 7 日三井ガーデンホテル千葉 千葉市

第 22 回発達腎研究会・特別講演・松本直通「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム

解析：現状と限界」平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター 高槻市

第 18 回山形小児神経研究会・特別講演・松本直通「次世代シーケンス解析で分かってきたこと」平成 25 年 9 月 27 日パレスグランデール 山形市

第 58 回日本人類遺伝学会大会・シンポジスト・松本直通「ヒト疾患エクソーム解析の現状と課題」平成 25 年 11 月 23 日 江陽ランドホテル仙台

希少疾患・難病の全エクソーム解析 -現状と課題- 松本直通「希少疾患・難病の全エクソーム解析-現状と課題-」平成 25 年 12 月 3 日 日経バイオテック「希少疾患・難病の治療薬開発におけるゲノム活用」 秋葉原コンベンションホール

岡本 伸彦
日本人類遺伝学会

岡本 伸彦, 川戸 和美, 鈴木 保宏, 村上 良子, 木下 タロウ, 大場 ちひろ, 才津 浩智, 松本 直通. GPI アンカー合成異常症である PIGN 異常症の同胞例. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

岡本 伸彦, 長谷川 龍志, 池田 妙, 山崎 藍, 井本 逸勢. 次世代シーケンサー解析により診断した SENDA 小児例. 日本人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11 月 20-23 日 仙台

岡本伸彦, 林 深, 稲澤謙治. 1q41q42 欠失症候群の 1 例. 日本小児遺伝学会

山内 泰子
山内泰子. 遺伝子検査ビジネスに法規制は必要か? : 認定遺伝カウンセラーの立場から. 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 川崎市. 2013.6.20-23

峠和美, 山内泰子, 大西敬子, 升野光雄, 黒木良和. 出生後のダウン症候群の診断告知の時に、医療者が親へ伝える情報. 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 川崎市. 2013.6.20-23

山内泰子. 遺伝カウンセリングの現状と未来: あらためて遺伝カウンセリングとは. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 仙台市, 2013.11.21-2

武藤 香織
武藤香織. 改正ゲノム指針とその社会的諸問題. 第 54 回日本肺癌学会総会シンポジウム 3 「5 年後の肺癌治療」, 2013 年 11 月 21 日

趙斌, 洪賢秀, 武藤香織. 中国における「優生政策」と生命科学政策の相互作用」, 第 25

回日本生命倫理学会年次大会, 2013 年 12 月 1 日

洪賢秀, 武藤香織. 「資質遺伝子検査」に対する一般市民の意識 ~ 日韓におけるフォーカス・グループインタビューを手掛かりに. 第 25 回日本生命倫理学会年次大会, 2013 年 12 月 1 日

武藤香織. 次の『ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針』の改正にむけて. 日本遺伝子診療学会 遺伝子診断・検査技術推進フォーラム公開シンポジウム 2013, 2013 年 12 月 13 日

2) 海外
口頭発表 10 件
原著論文による発表 114 件

論文発表
辻 省次

Ishii A, Saito Y, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Arai H, Yamashita S, Kimura S, Oguni H, Morishita S, Tsuji S, Sasaki M, Hirose S. Identification of ATP1A3 mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients. *PLOS One* 8:e56120, 2013

Ichikawa Y, Ishiura H, Mitsui J, Takahashi Y, Kobayashi S, Takuma H, Kanazawa I, Doi K, Yoshimura J, Morishita S, Goto J, Tsuji S. Exome analysis reveals a Japanese family with spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 1. *J. Neurol. Sci.*;331:158-60, 2013

Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Iwata A, Goto J, Yamamoto Y, Komata M, Shirahige K, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Takashima H, Kuwano R, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Soma H, Yabe I, Sasaki H, Aoki M, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Dürr A, Brice A, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Shults CW, Tanner CM, Kukull WA, Lee V M-Y, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Trojanowski JQ, Ozelius L, Foroud T, and Tsuji S. Mutations of COQ2 in familial and sporadic multiple system atrophy. *New Engl. J. Med.* 369:233-44, 2013

Landouré G, Toro C, Zhu P-P, Johnson JO, Bricceno KV, Rinaldi C, Meilleur KG, Sangaré M, Diallo O, Pierson TM, Ishiura H, Tsuji S, Hein N,

Fink JK, Stoll M, Nicholson G, Gonzalez M, Züchner S, Dürr A, Stevanin G, Biesecker LG, Accardi J, Landis D, Gahl WA, Traynor BJ, Blackstone C, Fischbeck KH, Burnett BG. Hereditary spastic paraplegia type 43 (SPG43) is caused by mutation in C19ORF12. *Human Mutation* 34:1357-60, 2013

Isojima T, Doi K, Mitsui J, Oda Y, Tokuhiko E, Yasoda A, Yorifuji T, Horikawa R, Yoshimura J, Ishiura H, Morishita S, Tsuji S, and Kitanaka S. A recurrent de novo FAM111A mutation causes Kenny–Caffey syndrome type 2. *J Bone Mineral Res* (in press)

Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Morisada N, Iijima K, Takada S, Araki A, Tanabe Y, Arai H, Yamashita S, Ohashi T, Oda Y, Ichiseki H, Hirabayashi S, Yasuhara A, Kawawaki H, Kimura S, Shimono M, Narumiya M, Suzuki M, Yoshida T, Oyazato Y, Tsuneishi S, Ozasa S, Yokochi K, Dejima S, Akiyama T, Kishi N, Kira R, Ikeda T, Oguni H, Zhang B, Tsuji S and Hirose S. Genotype–Phenotype Correlations in Alternating Hemiplegia of Childhood. *Neurology* (in press)

Takahashi Y, Fukuda Y, Yoshimura J, Toyoda A, Kurppa K, Moritoyo H, Belzil VV, Dion PA, Higasa K, Doi K, Ishiura H, Mitsui J, Date H, Ahsan B, Matsukawa T, Ichikawa Y, Moritoyo T, Ikoma M, Hashimoto T, Kimura F, Murayama S, Onodera O, Nishizawa N, Yoshida M, Atsuta N, Sobue G, JaCALs, Fifita JA, Williams KL, Blair IP, Nicholson GA, Gonzalez-Perez P, Brown, Jr.RH, Nomoto M, Elenius K, Rouleau GA, Fujiyama A, Morishita S, Goto J and Tsuji S. ERBB4 Mutations that Disrupt the Neuregulin-ErbB4 Pathway Cause Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 19. *Am J Hum Genet* 93:900-5, 2013

Doi K, et al. Rapid detection of expanded short tandem repeats in personal genomics using hybrid sequencing. *Bioinformatics* (in press)

Yamada M, Tanaka M, Takagi M, Kobayashi S, Taguchi Y, Takashima S, Tanaka K, Touge T, Hatsuta H, Murayama S, Hayashi Y, Kaneko M, Ishiura H, Mitsui J, Astuta N, Sobue G, Shimozawa N, Inuzuka T, Tsuji S, and Hozumi I. Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan. *Neurol.* (in press)

Ishiura H, Takahashi Y, Hayashi T, Saito K, Furuya H, Watanabe M, Murata M, Suzuki M, Sugiura A, Sawai S, Shibuya K, Ueda N, Ichikawa Y, Kanazawa I, Goto J, Tsuji S. Molecular epidemiology and clinical spectrum of hereditary spastic paraplegia in the Japanese

population based on comprehensive mutational analyses. *J. Hum. Genet.* (in press)

松原 洋一

Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet* 93(1):173-80, 2013.

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet.* 58(5):259-66, 2013.

Ninomiya M, Kondo Y, Niihori T, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleos(t)ide analogue treatment detecting by deep sequencing. *Hepatol Res.* 2013 [Epub ahead of print]

Abe Y, Aoki Y, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Niihori T, Matsubara Y; Costello and CFC syndrome study group in Japan. Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: findings from a nationwide epidemiological survey. *Am J Med Genet A.* 158A(5):1083-94, 2012.

Narisawa A, Komatsuzaki S, Kikuchi A, Niihori T, Aoki Y, Fujiwara K, Tanemura M, Hata A, Suzuki Y, Relton CL, Grinham J, Leung KY, Partridge D, Robinson A, Stone V, Gustavsson P, Stanier P, Copp AJ, Greene ND, Tominaga T, Matsubara Y, Kure S. Mutations in genes encoding the glycine cleavage system predispose to neural tube defects in mice and humans. *Hum Mol Genet.* 21(7):1496-503, 2012.

Patrinos GP, Smith TD, Howard H, Al-Mulla F, Chouchane L, Hadjisavvas A, Hamed SA, Li XT, Marafie M, Ramesar RS, Ramos FJ, de Ravel T, El-Ruby MO, Shrestha TR, Sobrido MJ, Tadmouri G, Witsch-Baumgartner M, Zilfalil BA, Auerbach AD, Carpenter K, Cutting GR, Dung VC, Grody W, Hasler J, Jorde L, Kaput J, Macek M, Matsubara Y, Padilla C, Robinson H, Rojas-Martinez A, Taylor GR, Vihinen M, Weber T, Burn J, Qi M, Cotton RG, Rimoin D;

(International Confederation of Countries Advisory Council). Human variome project country nodes: Documenting genetic information within a country. *Hum Mutat.* 33(11):1513-9, 2012.

後藤雄一

Ishiyama A, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Itagaki Y, Matsuzaki K, Nakura M, Nishino I, Goto Y, Sasaki M. Unusual exocrine complication of pancreatitis in mitochondrial disease. *Brain Dev* 35:654-659, 2013

齋藤 加代子

Kato M, Yamagata T, Kubota M, Arai H, Yamashita S, Nakagawa T, Fujii T, Sugai K, Imai K, Uster T, Chitayat D, Weiss S, Kashii H, Kusano T, Matsumoto A, Nakamura K, Oyazato Y, Maeno M, Nishiyama K, Koderia H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saito K, Hayasaka K, Matsumoto N, Saitsu H. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia* 54(7): 1282-1287, 2013.

Suzuki M, Nagao K, Hatsuse H, Sasaki R, Saito K, Fujii K, Miyashita T. Molecular pathogenesis of keratocystic odontogenic tumors developing in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 116(3):348-353, 2013.

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, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 161(9):2234-2243, 2013.

Nurputra DK, Lai PS, Harahap NI, Morikawa S, Yamamoto T, Nishimura N, Kubo Y, Takeuchi A, Saito T, Takeshima Y, Tohyama Y, Tay SK, Low PS, Saito K, Nishio H. Spinal Muscular Atrophy: From gene discovery to clinical trials. *Ann Hum Genet.* 77(5):435-463, 2013.

Iwasaki N, Fukawa K, Matsuo M, Urano M, Watanabe M, Ono Y, Tanabe K, Tanizawa Y, Ogata M, Ide R, Takizawa M, Nagata S, Osawa M, Uchigata Y, Saito K. A sibling case of Wolfram syndrome with a novel mutation Y652X in WFS1. *Diabetol Int.* 2013 (in press).

Sato Y, Yamauchi A, Urano M, Kondo E, Saito K. Corticosteroid therapy for duchenne muscular dystrophy: improvement of psychomotor function. *Pediatr Neurol.* 2013 (in press)

Yamamoto T, Sato H, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takanashi J, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H. Intragenic mutations in SMN1 may contribute more significantly to clinical severity than SMN2 copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients. *Brain Dev.* 2013 (in press)

Saito K. Fukuyama congenital muscular dystrophy. (May 2012) in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2010. Available at <http://www.genetests.org>.

宮地 勇人

Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Excess treatment reduction including anthracyclines results in, higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid leukemia in children. *Leukemia* 27, 2013; 2413-16.

Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Rimbara E, Asai S, Miyachi H, Takata T, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K. Genome Sequences of multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* strains from nosocomial outbreaks in Japan. *Genome Announc.* 2013; *genomeA.00476-13*, 2013

Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Hayashi F, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Elimination of interference by lipids in the low WBC mode in the automated hematology analyzer XN-2000. *Intern J Lab Hematol*(2014,in press)

Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Evaluation of the body fluid mode of automated hematology analyzer XN-Series for extremely low peripheral White Blood Cell Counts. *Intern J Lab Hematol* (2014,in press).

Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the automated

hematology analyzers XN-series. *J Clin Lab Analysis* (2014,in press)

Localized or diffuse lesions of the submandibular glands in IgG4-related disease in association with differential organ involvement. Asai S, Okami K, Nakamura N, Shiraishi S, Sugimoto R, Damdinsuren A, Sato S, Matsushita H, Suzuki Y, Miyachi H. *J Ultrasound Med* 2013;32:731-736.

福嶋 義光

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.

Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2013 Jun;161A(6):1221-37

Keiko Tanaka, Yoshiki Sekijima, Kunihiro Yoshida, Mariko Tamai, Tomoki Kosho, Akihiro Sakurai, Keiko Wakui, Shu-ichi Ikeda, Yoshimitsu Fukushima. Follow-up nationwide survey on predictive genetic testing for late-onset hereditary neurological diseases in Japan. *Journal of Human Genetics* 58:560-563, 2013

Narumi Y, Min BJ, Shimizu K, Kazukawa I, Sameshima K, Nakamura K, Kosho T, Rhee Y, Chung YS, Kim OH, Fukushima Y, Park WY, Nishimura G. Clinical consequences in truncating mutations in exon 34 of NOTCH2: report of six patients with Hajdu-Cheney syndrome and a patient with serpentine fibula polycystic kidney syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Mar;161A(3):518-26.

Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oh-Ishi T, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y. Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Dec 19. doi: 10.1002/ajmg.a.36308.

Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J Med Genet A*. 2013 Dec 5. doi: 10.1002/ajmg.a.36294. [Epub ahead of print] PMID: 24311518 [PubMed - as supplied by publisher]

古川 洋一

Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Michizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K. Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia patient-derived pluripotent stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(8):3023-3028, 2013.

Takahashi N, Yamaguchi K, Ikenoue T, Fujii T, Furukawa Y. Identification of two Wnt-responsive elements in the intron of RING Finger Protein 43 (RNF43) gene. *PLoS ONE*, 2013 in press.

Yamaguchi K, Rui Yamaguchi R, Takahashi N, Ikenoue T, Fujii T, Shinozaki M, Tsurita G, Hata K, Niida A, Imoto S, Miyano S, Nakamura Y, Furukawa Y. Overexpression of cohesion establishment factor DSCC1 through E2F in colorectal cancer. *PLoS ONE*, 2013 in press.

難波 栄二

Adachi K. Expansion of Genetic Testing in the Division of Functional Genomics, Research Center for Bioscience and Technology, Tottori University from 2000 to 2013. *Yonago Acta Med.* (in press)

Fujimoto S, Manabe Y, Fujii D, Kozai Y, Matsuzono K, Takahashi Y, Narai H, Omori N, Adachi K, Nanba E, Nishino I, Abe K. A novel mutation of the GAA gene in a patient with adult-onset Pompe disease lacking a disease-specific pathology. *Intern Med*. 2013;52(21):2461-4.

Chiba Y, Komori H, Takei S, Hasegawa-Ishii S, Kawamura N, Adachi K, Nanba E, Hosokawa M, Enokido Y, Kouchi Z, Yoshida F, Shimada A. Niemann-Pick disease type C1 predominantly involving the frontotemporal region, with cortical and brainstem Lewy bodies: An autopsy case. *Neuropathology*. 2013 May 27.

Sekijima Y, Nakamura K, Kishida D, Narita A, Adachi K, Ohno K, Nanba E, Ikeda S. Clinical and serial MRI findings of a sialidosis type I patient with a novel missense mutation in the NEU1 gene. *Intern Med*. 2013;52(1):119-24.

秋山 真志

Kobayashi T, Sugiura K, Takeichi T, Akiyama M. The novel CTSC homozygous nonsense mutation p.Lys106X in a patient with Papillon-Lefèvre syndrome with all permanent teeth remaining at over 40 years of age. *Br J Dermatol* 169: 948-950, 2013 Oct.

Sugiura K, Teranishi M, Matsumoto Y, Akiyama M. Clouston syndrome with heterozygous GJB6

mutation p.Ala88Val and GJB2 variant p.Val27Ile reveals mild sensorineural hearing loss and photophobia. *JAMA Dermatol* 149: 1350-1351, 2013 Nov.

野口 佳裕

Nishio A, Noguchi Y*, Sato T, Naruse TK, Kimura A, Takagi A, Kitamura K. A DFNA5 mutation identified in Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. *Ann Hum Genet*, in press.

Noguchi Y*, Nishio A, Takase H, Miyagawa M, Takahashi H, Mochizuki M, Kitamura K: Audiovestibular Findings in Patients with Vogt-Koyanagi-Harada Disease. *Acta Otolaryngol*, in press.

Maruyama A, Noguchi Y*, Ito T, Narushima K, Kitamura K: Sensorineural hearing loss associated with factitious disorder. *ENT-Ear Nose Throat*, in press.

森田 啓行

Morita H. Human genomics in cardiovascular medicine; implications and perspectives. *Circ J*. 77: 876-885, 2013

Morita H, Komuro I. A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *New England Journal of Medicine* 369: 2161-2162, 2013

Morita H. Genetic variants and dilated cardiomyopathy. *Circ J*. 77: 2879-2880, 2013

青木 正志

Nishiyama S, Sugeno N, Tateyama M, Aoki M. Late-onset Charcot-Marie-Tooth disease type 1B due to a novel mutation in the extracellular disulfide bridge of MPZ gene, *Clin Neurol Neurosurg*, (2013)115: 208-9

Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, Hayasaka M, Sugawara H, Ito M, Abe-Kondo E, Shimakura N, Ibi T, Kuru S, Wakayama T, Sobue G, Fujii N, Saito T, Matsumura T, Funakawa I, Mukai E, Kawanami T, Morita M, Yamazaki M, Hasegawa T, Shimizu J, Tsuji S, Kuzuhara S, Tanaka H, Yoshioka M, Konno H, Onodera H, Itoyama Y. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B, *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, (2013) 84:433-40

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum*

Genet, (2013) 58: 259-66

梅澤 明弘

Suzuki E, Yatsuga S, Igarashi M, Miyado M, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Umezawa A, Yamada G, Ogata T, Fukami M. De novo Frameshift Mutation in Fibroblast Growth Factor 8 in a Male Patient with Gonadotropin Deficiency. *Horm Res Paediatr*. 2013. [Epub ahead of print]

Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, encoding a member of the serine protease inhibitor superfamily, cause Nagashima-type palmoplantar keratosis. *Am J Hum Genet*. 2013, 93(5):945-56.

Fukami M, Tsuchiya T, Vollbach H, Brown KA, Abe S, Ohtsu S, Wabitsch M, Burger H, Simpson ER, Umezawa A, Shihara D, Nakabayashi K, Bulun SE, Shozu M, Ogata T. Genomic Basis of Aromatase Excess Syndrome: Recombination- and Replication-Mediated Rearrangements Leading to CYP19A1 Overexpression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013,98(12):E2013-21.

松本 直通

Yamashita S, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Iai M, Aida N, Tanaka Y. Neuropathology of Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal Cord Involvement and High Lactate caused by a homozygous mutation of DARS2. *Brain Dev* 35(4):312-316, 2013.

Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. A de novo deletion at 16q24.3 involving ANKRD11 in a Japanese patient with KBG syndrome. *Am J Med Genet Part A* 161A(5): 1073-1077, 2013.

Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ohba C, Fukai R, Miyatake S, Koyano S, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Matsumoto N. A novel homozygous SCARB2 mutation causes late-onset progressive myoclonus epilepsy without renal failure. *Mov disord* 28(4): 552-553, 2013.

Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N. KDM6A point mutations cause Kabuki syndrome. *Hum Mut* 34(19): 108-110, 2013.

Kondo Y, Koshimizu E, Megarbane A,

- Hamanoue H, Okada I, Nishiyama K, Kodera H, Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Doi H, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Whole-exome sequencing identified a homozygous FBNP4 mutation in a family with a condition Microphthalmia with Limb Anomalies-like. *Am J Med Genet Part A* 161A: 1543-1546, 2013.
- Kimura-Ohba S, Kagitani-Shimono K, Hashimoto N, Nabatame S, Okinaga T, Murakami A, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Hojo K, Tomita R, Taniike M, *Ozono K. A case of cerebral hypomyelination with spondylo-epi-metaphyseal dysplasia. *Am J Med Genet Part A* 161A(1): 203-207, 2013.
- Miyake N, Yano S, Sakai C, Hatakeyama H, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Ogata K, Goto Y, Matsumoto N. Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous UQCRC2 mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mut* 34(3): 446-452, 2013.
- Saitsu H, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera H, Kumada S, Sugai K, Kasai-Yoshida E, Sawaura N, Nishida H, Hoshino A, Ryujin F, Yoshioka S, Nishiyama K, Kondo Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Arakawa H, Kato M, Mizushima, Matsumoto N. *De novo* mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. *Nat Genet* 45(4): 445-449, 2013.
- Kurotaki D, Osato N, Nishiyama A, Yamamoto M, Sato H, Nakabayashi J, Ban T, Miyake N, Matsumoto N, Nakazawa M, Ozato K, Tamura T. Essential role of the IRF8-KLF4 transcription factor cascade in the monocyte differentiation program. *Blood* 121 (10): 1839-1849, 2013.
- Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Lee BJ, Nishiyama K, Mitsuko Nakashima, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kim JH, Yu YS, Matsumoto N. Pathogenic mutations in two families with congenital cataract identified by whole-exome sequencing. *Mol Vis* 19: 384-389, 2013
- Vergano SS, Santen G, Wiczorek D, Wollnik B, Matsumoto N, Deardorff MA: Coffin-Siris Syndrome (April 2013) in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2013. Available at <http://www.genetests.org>. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK131811/>)
- Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N. A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis. *Am J Med Genet Part A* 161(9):2291-2293, 2013
- Nakamura K, Kato M, Osaka H, Yamashita S, Nakagawa E, Haginoya K, Tohyama J, Okuda M, Wada T, Shimakawa S, Imai K, Takeshita S, Ishiwata H, Lev D, Lerman-Sagie T, Cervantes-Barragán DE, Villaruel CE, Ohfu M, Writzl K, Stražišar BG, Hirabayashi S, Chitayat D, Reid DM, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N, Saitsu H. Clinical spectrum of SCN2A mutations expanding to Ohtahara syndrome. *Neurology* 81(11):992-998, 2013
- Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Performance Comparison of Bench-top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Effective Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder. *Plos One* 8(9): e74167.
- Fukai R, Ochi N, Murakami A, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N. Co-occurrence of 22q11 deletion syndrome and HDR Syndrome. *Am J Med Genet Part A* 161(10):2576-2581, 2013.
- Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical consequences of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet Part A* 161(6):1221-1237, 2013.
- Iida A, Nobuhiko Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S. Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia. *J Hum Genet* 58(6):391-394, 2013.
- Nakajima M, Mizumoto S, Miyake N, Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, Horikawa R, Lai A, Mendoza-Londono R, Dupuis R, Chitayat D, Howard A, Ferraz-Leal G, Cavalcanti D,

- Tsurusaki Y, Saitsu H, Watanabe S, Lausch E, Unger S, Bonafé L, Superti-Furga A, Ohashi H, Matsumoto N, Sugahara K, Nishimura G, Ikegawa S. Mutations in B3GALT6, which encodes a glycosaminoglycan linker region enzyme, cause a spectrum of skeletal and connective tissue disorders. *Am J Hum Genet* 92(6):927-934, 2013.
- Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu Y, Oh EC, Miyake N, Benaglio P, Harper S, Koskiniemi-Kuendig H, Venturini G, Sharon D, Koenekoop RK, Nakamura M, Kondo M, Ueno S, Yasuma T, Beckmann JS, Ikegawa I, Matsumoto N, Terasaki H, Berson EL, Katsanis N, Rivolta C. Whole genome sequencing in patients with retinitis pigmentosa reveals pathogenic DNA structural changes and NEK2 as a new disease gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 110(40):16139-16144, 2013.
- Kodera H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G, Tohyama J, Nakamura K, Nakagawa E, Ikeda T, Ben-Zeev B, Lev D, Lerman-Sagie T, Straussberg R, Tanabe S, Ueda K, Amamoto M, Ohta S, Nododa Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, King M-C, Matsumoto N, Saitsu H. Target capture sequencing for detection of mutations and copy number changes causing early-onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia* 54(7):1262-1269, 2013.
- Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari V-L, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadurai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJN, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Laing NG. Mutations in KLHL40 are a frequent cause of severe autosomal-recessive nemaline myopathy. *Am J Hum Genet* 93(1):6-18, 2013.
- 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, Takashi 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, Yoko Hiraki, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations and their clinical consequences in Kabuki syndrome. *Am J Med Genet Part A* 161(9):2234-2243, 2013.
- Sun S-L, Horino S, Itoh-Nakadai A, Kawabe T, Asao A, Takahashi T, So T, Ryo Funayama R, Kondo M, Saitsu H, Matsumoto N, Nakayama K, Ishii N. Y-Chromosome-linked B- and NK-cell deficiency in mice. *J Immunol* 190 (12):6209-6220, 2013.
- Doi H, Ohba C, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Miyatake S, Kawamoto Y, Yoshida T, Koyano S, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Matsumoto N. Diagnostic utility of exome sequencing for autosomal recessive cerebellar ataxia and spastic paraplegia: identification of a novel homozygous SPG7 mutation. *Intern Med* 52(14):1629-1633, 2013.
- Fujita A, Suzumura H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Harada N, Matsumoto N, Miyake N. A Unique Case of de novo 5q33.3q34 Triplication with Uniparental Isodisomy of 5q34qter. *Am J Med Genet Part A* 161(8):1904-1909, 2013.
- #Nakamura K, #Kodera H, #Akita T (# denotes equal contribution), Shiina M, Kato M, Hoshino H, Terashima H, Osaka H, Nakamura S, Tohyama T, Kumada T, Furukawa T, Iwata S, Shiihara T, Kubota M, Miyatake S, Koshimizu E, Nishiyama K, Nakashima N, Tsurusaki Y, Miyake N, Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, Matsumoto N, Saitsu H. *De novo* mutations in GNAO1 encoding a Gao subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet* ;93(3):496-505, 2013.
- Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Mitsuko Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, *Matsumoto N, Saitsu H. *De novo* mutations in SLC35A2 encoding a UDP-galactose transporter cause early-onset epileptic encephalopathy. *Hum Mut* 34(12):1708-1714, 2013.
- Ohba C, Osaka H, Iai M, Yamashita S, Suzuki S, Aida N, Doi H, Tomita-Katsumoto A, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Matsumoto N, Saitsu H. Diagnostic utility of whole exome sequencing in cerebellar atrophy in childhood. *Neurogenet* 14 (3-4): 225-232, 2013.
- Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar M, Hashem A, Manton N, Muntoni F, North KN, Sandaradura S, Nishino

I, Hayashi YK, Sewry CA, Thompson EM, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJN, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH. Identification of KLHL41 mutations implicates BTB-Kelch-mediated ubiquitination as an alternate pathway to myofibrillar disruption in nemaline myopathy. *Am J Hum Genet* 93(6):1108-1017, 2013.

Nakajima J, Eminoglu TF, Vatansever G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N. A novel homozygous YARS2 mutation causes severe myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia syndrome. *J Hum Genet* 58(12):822-824, 2013.

岡本 伸彦

Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T. 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161:1465-9.

Okamoto N, Fujii T, Tanaka J, Saito K, Matsui T, Harada N. A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2. *Am J Med Genet A*. 2013 Nov 20. doi: 10.1002/ajmg.a.36217. [Epub ahead of print]

Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics*. 2013 Nov 20. [Epub ahead of print]

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet*. 2013 Jul 1. doi: 10.1111/cge.12225. [Epub ahead of print]

Wada T, Ban H, Matsufuji M, Okamoto N, Enomoto K, Kurosawa K, Aida N. Neuroradiologic Features in X-linked α -Thalassemia/Mental Retardation Syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2013 May 16. [Epub ahead of print]

Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. *Hum Mutat*. 2013;34:108-10

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: Detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet A*. 2013;161:1221-37.

Yatsuki H, Higashimoto K, Jozaki K, Koide K, Okada Jm, Watanabe Y, Okamoto N, Tsuno Y, Yoshida Y, Ueda K, Shimizu K, Ohashi H, Mukai T, Soejima H. Novel mutations of CDKN1C in Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome *Genes and Genetics* (in press)

Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Sakamoto M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. A de novo deletion at 16q24.3 involving ANKRD11 in a Japanese patient with KBG syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:1073-7.

Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:1779-85.

Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A*. 2013;161:2078-83.

Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev*. 2013;35:411-9.

Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S. Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia. *J Hum Genet*. 2013;58:391-4.

Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. *Hum Mutat*. 2013;34:108-10

Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet.* 2013;93:173-80.

Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N. A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis. *Am J Med Genet A.* 2013;161:2291-3.

Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi JI, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology.* 2012 Dec 13.

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, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013;161:2234-43.

Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Hagino Y, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitsu H. De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Hum Mutat.* 2013 ;34:1708-14.

Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder. *PLoS One.* 2013 Sep 16;8(9):e74167.

Nakajima J, Okamoto N, Shiraiishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H,

Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet.* 2013 Oct 3. doi: 10.1038/jhg.2013.104. [Epub ahead of print]

Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N. Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case. *Brain Dev.* 2013;35:586-9.

小崎健次郎

Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 2013 ;56(1):50-53.

Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A.* 2013;161(12):3057-3062.

Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K. Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. *Am J Med Genet A.* (in press)

Takenouchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K. Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation. *Am J Med Genet A* (in press)

Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T. Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: a cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study. *Orphanet J Rare Dis.* 2013;8(1):172

学会発表 辻 省次

Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Goto J, Yamamoto Y, Shirahige K, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Kondo T, Murayama S, Japan Multiple System Atrophy Consortium, Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer Disease, Japanese Parkinson Disease Susceptibility Gene Consortium, Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research, Dürr A, Brice A, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S for NAMS-SG, and Tsuj S. Mutations of COQ2 in Familial and Sporadic Multiple System Atrophy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, October

24th 2013, Boston.

松原洋一

Niihori T, Aoki Y, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Exome sequencing identifies mutations in a novel gene in patients with Noonan syndrome. American Society of Human Genetics 2013 (Boston, USA) 2013 年 10 月 22-26 日

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. A mutation in A-band titin is associated with hereditary myopathy with early respiratory failure in a Japanese family. American Society of Human Genetics 2013 (Boston, USA) 2013 年 10 月 22-26 日

Aoki Y, Niihori Y, Inoue S and Matsubara Y. Genetic syndromes associated with the Ras/MAPK pathway and the identification of mutations in a new gene, RIT1, for Noonan syndrome. Third International Meeting on Genetic Syndromes of the Ras/MAPK Pathway: Towards a Therapeutic Approach (Orland, USA) 2013 年 8 月 2-4 日

野口 佳裕

Noguchi Y, Nishio A, Takeda N, Shimada A, Chida I, Naruse T, Kimura A, Kitamura K: A Japanese family with autosomal dominant auditory neuropathy spectrum disorder. 36th Annual Midwinter Meeting of the Association for Research in Otolaryngology, Baltimore, 2013.2

Kato T, Noguchi Y, Kimura Y, Kitamura K: Comprehensive analyses for mitochondrial DNA in patients with hereditary hearing loss. Thirteenth Triennial Meeting The International Otopathology Society, Boston, 2013.6

青木 正志

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y: A mutation in A-band titin is associated with hereditary myopathy with early respiratory failure in a Japanese family. the 63rd Annual Meeting of The American Society of

Human Genetics, Boston, MA, Oct 24, 2013

松本 直通

European Conference of Human Genetic 2013. N. Matsumoto, T. Nishimura, K. Muramatsu, H. Kodera, S. Kumada, K. Sugai, E. Kasai-Yoshida, N. Sawaura, H. Nishida, A. Hoshino, F. Ryujin, S. Yoshioka, H. Arakawa, M. Kato, N. Mizushima, H. Saitsu. June 9, 2013 Palais des Congrès, Paris, France

岡本 伸彦

Nobuhiko Okamoto, Yuto Yamamoto, Kazumi Kawato. A clinical and molecular study of Pitt-Hopkins syndrome in Japan. European Society of Human Genetics (Paris) 2013

Nobuhiko Okamoto, Fuyuki Miya, Tatsuhiko Tsunoda, Mitsuhiro Kato, Shinji Saitoh, Mami Yamasaki, Yonehiro Kanemura, Kenjiro Kosaki. Application of targeted next-generation sequencing in the diagnosis of pediatric neurological disorders. American Society of Human Genetics (Boston) 2013

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

1.特許取得

松本 直通

特願 2013-252720・鶴崎美德/松本直通・Coffin-Siris 症候群の新規遺伝子診断法・平成 25 年 12 月 6 日

PCT/JP2013/71620・松本直通/三宅紀子・ミトコンドリア複合体 III 欠乏症患者又は保因者の検出方法・平成 25 年 8 月 9 日

特願 2013-157339 号 松本直通/三宅紀子・ケトン血症を伴うリー脳症患者または保因者の検出法。平成 25 年 7 月 31 日

特願 2013-123660 才津浩智/松本直通・小児期のてんかんおよび不随意運動をきたす疾患の検出方法・平成 25 年 6 月 12 日

2.実用新案登録

該当無し

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
テーマ別分担研究報告書

次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義について

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）
松田 文彦（京都大学大学院医学系研究科附属ゲノム医学センター・教授）
松原 洋一（国立成育医療センター研究所・所長）
梅澤 明弘（立成育医療センター研究所再生医療センター・センター長）
辻 省次（東京大学医学部附属病院・神経内科・教授）

要旨：大規模ゲノム解析では、従来の医学研究で経験したことがないような大規模化が研究の前提条件となる。最近になり、疾患発症との関連で注目される低頻度アレルの多くは、集団毎に固有の低頻度の機能障害性アレルが集積したことが示されており、日本人を対象とした解析拠点が必要になる。拠点整備においては、十分な規模の次世代シーケンサーを整備し、解析能力の飛躍的向上、高品質化、コスト削減の実現が重要である。さらに、ゲノム解析に最適化された計算機資源の集中整備が必要である。診断を確定するために行う遺伝子検査は、これまでのように特定の遺伝子の解析を行うのではなく、網羅的な遺伝子解析が必要になってきており、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を、クリニカルシーケンシングに応用することが必要になってきており、次世代シーケンサー解析拠点の役割・必要性・意義が格段に高まってきている。

次世代シーケンサーを用いたゲノム解析，解析拠点の必要性

拠点化することにより、次世代シーケンサーによるゲノム解析能力の大規模化、ゲノムインフォマティクスの大規模化・高度化が実現できる。このことにより、ゲノム配列解析の精度の向上、スループットの向上、スケールメリットによる試薬のコスト削減が可能になる。ゲノム解析はスケールメリットの大きい分野であり、拠点化することの意義は大きい。

高度なゲノム解析技術を担う役割

疾患毎に、解析対象に含めるべき遺伝子数は飛躍的に増大してきている。例えば、心筋症では 50-70 遺伝子、てんかんでは 53-130 遺伝子が解析対象となる (HL Rehm Nature Review Genetics (2013))。このように、クリニカルシーケンシングにおいて、網羅的な遺伝子解析が必須となってきており、次世代シーケンサーの持つ役割は大きくなっている。現在の次世代シーケンサーは一定頻度で error reads が含まれ variants を call する条件についても解析の目的に応じた最適化していく必要がある。また、見出された variants については、クリニカルシーケンシングにおいては、必ず、Sanger 法など

の標準的な塩基配列解析方法による確認作業が必要となる。また、想定される変異の種類（構造多型、リピート伸長など）によっては、array CGH, repeat-primed PCR など、他の解析を併用する必要があり、統合的かつ高度なゲノム解析能力が必要となり、クリニカルシーケンシングの技術開発研究も含め、次世代シーケンサー解析拠点の持つ役割は大きい。

ゲノムインフォマティクスの重要性

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ビッグデータの研究分野として発展する。次世代シーケンサーから産生される膨大な情報から、配列情報の抽出、ヒトゲノム参照配列への整列、variants の call などの一連の解析、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、あるいは、機能解析を加えるなど、重層的な解析が求められる。また、必要に応じて、新しいアルゴリズムの開発研究も求められる。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の分野の人材育成という点できわめて重要となり、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。特に重要な点は、新しい解析アルゴリズムの解析など、研究面で高いレベルを目指すことが大切であり、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に造詣の深い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。

医療におけるクリニカルシーケンシングの必要性

診断確定のために、遺伝子検査、特に、複数の遺伝子を対象としたクリニカルシーケンシングの必要性が医療現場で高まってきている。個別の研究室で遺伝子検査ができるところもある一方、網羅的な解析・解釈ができる研究室は限られており、このような状況において、次世代シーケンサー解析拠点が果たす役割が大きい。依頼側から見ると、どのような要件を満たせば依頼できるのかなど、依頼から結果の受け取りまでの流れが明快に示されていれば、そのようなフレームワークを利用してクリニカルシーケンシングを依頼できるメリットは大きいと考えられる。診断確定のための必要なステップとしてクリニカルシーケンシングを利用できる体制の整備と、依頼側から見て満足できる turnaround time (受け取りから結果返却までの期間) で、ゲノム解析結果を返却できるだけの体制を拠点側で整備し、透明性を確保することが重要である。また、解析結果については、依頼側が診療や臨床研究に活用できるようにすると共に、一定の猶予期間後に、データベース登録を義務づけるなどの仕組みを整備して、疾患変異データベースを充実させていくことも大切であると考えられる。近い将来、クリニカルシーケンシングが医療の中で重要な役割を果たすようになると予測され、検査の標準化、品質管理、倫理面の課題などを含め、医療制度の中でクリニカルシーケンシングを実装していく上でも、貢献することが期待される。

解析結果の解釈についての重要性

網羅的なゲノム配列解析を行うことにより、膨大な数のゲノム上の variants が見出される。例えば、全エクソン配列解析を実施すると、200-300 個の新規（データベースに登録されていないもの）の非同義置換（アミノ酸置換を伴う変異）が見出され、これらの variants について、どのように解釈を与えるかが重要となる。この解釈にあたっては、1. 大規模の日本人健常者のゲノム多様性のデータベースを用いた分析（新規の変異であるか、既知の変異であればそのアレル頻度などの分析）、2. 対象とする疾患に関して、HGMDをはじめとする疾患関連変異のデータベース、特に日本人の変異データベースの分析、3. 疾患の表現型の多様性を考慮に入れた分析（臨床側で想定していなかった遺伝子の変異であることが判明することもある）、4. 病原性変異の判断基準に基づく検討（一定の基準に基づく、病原性変異としてのランクづけ）、5. 種間の保存性などに基づく、deleterious mutation の推定のスコアリング（ランクづけ）、6. 必要に応じて、連鎖解析など家系分析を追加しての検討（候補遺伝子領域の絞り込み）、次世代シーケンサー以外の解析方法の適用などが必要になる。このように豊富な分析能力を整備するには、拠点がその開発を含めて担うことが必要であり、それを、医療コミュニティ（医師、遺伝カウンセラー、研究者など、幅広い職種）で活用していくことが望まれる。

研究面での次世代シーケンサー解析拠点の役割

次世代シーケンサー解析拠点においては、クリニカルシーケンシングの提供を行うとともに、未だ発症機構が未解明な疾患について、遺伝性疾患の病因遺伝子の解明、孤発性疾患（complex trait）の疾患感受性遺伝子の解明に対して貢献することが求められる。遺伝性疾患については、現在病因遺伝子が未解明の疾患の多くは、小家系だったり、きわめて稀であったりと、病因遺伝子の解明が困難な疾患が数多く残されており、その点で、連鎖解析、エクソーム・全ゲノムシーケンシングなど、高度かつ統合的な解析技術を投入する必要がある。また、complex trait の疾患については、サンプル数の大規模化が成果をあげる上で必須であるので、難病研究班との連携を含め、臨床側と次世代シーケンサー解析拠点で、適切な多施設共同研究体制を構築してそれぞれに役割分担をすることも求められる。このような研究は疾患ゲノムコホート研究として位置づけられ、大規模研究プロジェクトとして推進する必要があり、次世代シーケンサー解析拠点が、多施設共同研究体制のもとにこのような研究を担当する役割を果たすことが望ましい。また、その解析結果などを研究者コミュニティが広く活用でき、わが国全体のゲノム医学研究が発展するような仕組みを整備することも求められる。また、個別の研究室において行われる疾患遺伝子探索研究も数多くあり、このような研究に対しても、次世代シーケンサー拠点が必要に応じて一定枠の支援的な役割を果たすことがわが国の研究全体の発展にも貢献する。

データベースの構築・維持

上述したように、クリニカルシーケンシングにおいては、観察されたゲノム variants に対する解釈が最も重要となる。この解釈においては、健常者集団のゲノム多様性についてのデータベース、疾患毎の変異データベースが重要なリソースとなる。特に、ゲノム多様性、疾患関連変異は、民族毎に固有のもの（ethnicity-specific）が少なくないことがわかってきており、日本人集団のデータベースの持つ役割が重要な位置を占める。これまでこのような日本人に特化したデータベースは存在してい

なかったが、先に公開された 1,208 名の健常者日本人集団のゲノム多様性のデータベース (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) は、厚労科研でサポートされた次世代シーケンサー 5 拠点 が協力して構築されたものであり、次世代シーケンサー解析拠点の持つ重要な役割といえる。このようなデータベースは広く研究者がさまざまな研究、診療に活用することができ、わが国の研究の基盤的な役割を果たす。今後、生活習慣病など頻度の高い疾患の発症に対する影響度の高いゲノム variants の検索を目的に exome-association study が発展すると予測されるが、そのような研究の基盤として、多施設共同研究体制に基づいて、さらにサンプルサイズを拡大することが重要である。疾患に関連する変異データベースは、個別の疾患についていくつかの小規模データベースはわが国でも存在するが、幅広く多くの疾患を網羅したデータベースは存在していない。次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの拠点化は、このような変異データベースの構築に対しても大きく寄与すると考えられる。また、疾患関連の変異データベースの構築・維持については、拠点のみならず、個別研究で見出される疾患関連変異についても、多くの研究者の協力に基づきデータベースへの deposit を推進することも重要である。

国際的には、Human Variome Project という大きな動きがあり、全世界で、ヒトゲノムの多様性情報のデータベースの構築していくことが進められている。日本では、まだ、Japan Node が設置されておらず、Japan Node を設置し、国際的な Human Variome Project の推進に貢献していくためにも、このような次世代シーケンサー解析拠点が重要な役割を担うことが求められる。

国際的な動向

ゲノム医学分野で、国際的に activity の高い次世代シーケンサー解析拠点としては、英国 Sanger 研究所、米国 Broad 研究所、Baylor College of Medicine などあげることができる。また、ゲノム医学に特化していないが、全ての生物を対象としたゲノムシーケンシングの分野では、中国の BGI が群を抜いて活発な研究を進めている。いずれの研究所においても、資源を集中し、次世代シーケンサー、ゲノムインフォマティクスの大規模解析拠点を構築している。最近になり、米国 Broad 研究所は CLIA の認証を取得し、クリニカルシーケンシングの分野に乗り入れている、Baylor College of Medicine は早い時期から、次世代シーケンサーをクリニカルシーケンシングの分野に取り入れ、大きな成果をあげている。英国 Sanger 研究所は、ヨーロッパのゲノム解析拠点としても機能しており、多くの研究者が自らのサンプルを持って、研究を行う仕組みも整備している。このように国際的な動向は、資源の集中化と高度化、さらにその拠点を研究者コミュニティ全体が活用する仕組みも整備してきている。

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	
家族性大腸腺腫性ポリポージス	APC	
MMR 関連ポリポージス	MUTYH	
多発性大腸腺がん、FAP type 2		
毛色腫瘍を伴う常染色体劣性の大腸腺腫性ポリポージス		
Von Hippel-Lindau	VHL	
多発性内分泌腫瘍症 型	MEN1	
多発性内分泌腫瘍症 型	RET	
家族性甲状腺髄様がん	RET	
PTEN 過誤腫症候群	PTEN	
網膜芽細胞腫	RB1	
遺伝性パラガングリオーマ-褐色細胞腫症候群	SDHD, SDHAF2, SDHC, SDHB	
結節性硬化症	TSC1, TSC2	
WT1 関連 Wilms 腫瘍	WT1	
神経線維腫症 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,	
家族性胸部大動脈瘤と解離	MYLK, MYH11	
肥大型心筋症、拡張型心筋症	MYBPC3, MYH7, TNNT2, TNNT3, TPM1, MYL3,	
	ACTC1, PRKAG2, GLA, MYL2, LMNA	
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, DSC2, TMEM43, DSG2	
Romano-Ward QT 延長症候群 型、型、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

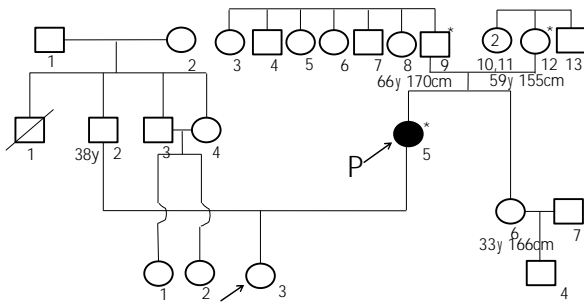
我々は、表 1 の ACMG56 に挙げられている Loeys-Dietz 症候群の女性で、遺伝子診断を受けるまで遺伝カウンセリングと診療フォローアップに 8 年を要した症例をここに報告する。

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、森崎裕子先生に深謝します)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つ
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、**想定していなかつ
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 |
|---------|----|

分担研究課題：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）

福島義光（信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座・教授）

難波栄治（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ピート解析と、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 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 (ジェノタイピング) > 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
分担研究報告書

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研究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 回次世代シーケンス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 回次世代シーケンス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 が連携して構築し、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., Saito, 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 PDSA 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医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

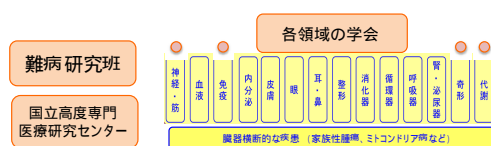
(1) 遺伝学的検査の難病診断における必要性和位置づけ

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。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。

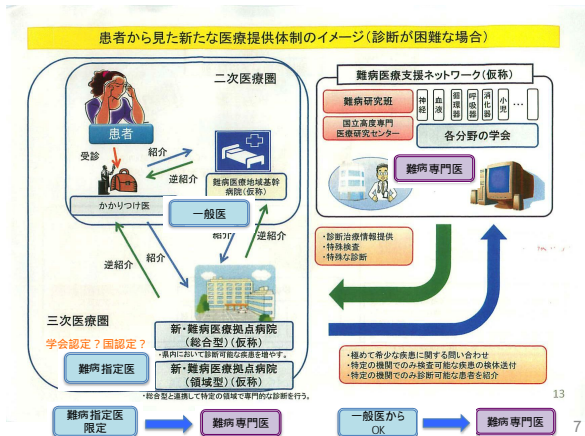
一方で、(1)でも想定した、各分野の学会、難病研究班、国立高度医療専門研究センターなどによる難病医療ネットワーク（仮称）を組織し、NGS などの特殊な遺伝学的検査を行うシステムを構築しておく構想である。

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。

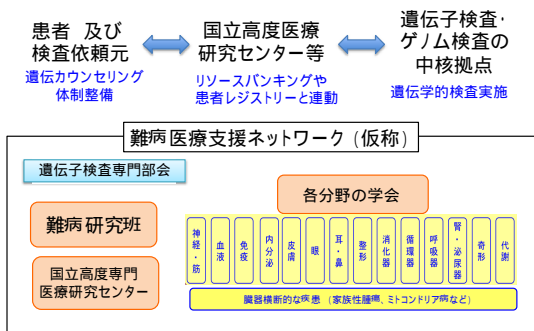


(3) 難病医療支援ネットワーク(仮称)の役割

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、研究パ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。

情報提供はネットワーク型でよいが
検体授受は実態のある施設が必要



(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 を用いたクリニカル・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等のクリニカル・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クリニカル・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パ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 などのクリニカル・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

G．研究発表

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

分担研究報告書

国立高度専門医療研究センターにおける遺伝学的検査提供に関する検討

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

遺伝性疾患に対する遺伝子検査を継続的に提供する研究機関として、国立高度専門医療研究センターを候補の一つに挙げることができる。本年度の分担研究では、小児・周産期医療を担う国立成育医療研究センターにおける遺伝子検査の実態について調査を行った。

A．研究目的

遺伝性疾患の診療においては、その診断確定や治療方針の決定、さらに家族への遺伝カウンセリングをおこなうために、遺伝学的検査が重要である。しかしながらわが国ではその提供体制が整備されていない。本研究班ではわが国全体を俯瞰する視点から、遺伝学的検査の実施拠点の在り方について検討がなされているが、その実施拠点の候補の一つとして国立高度専門医療研究センターがあげられている。

国立高度専門医療研究センターは、厚生労働省の施設等機関であった国立高度専門医療センター（略称：ナショナルセンター）の各組織が独立行政法人に移行したもので、6法人が存在している（国立がん研究センター、国立循環器病研究センター、国立精神・神経医療研究センター、国立国際医療研究センター、国立成育医療研究センター、国立長寿医療研究センター）。各法人は、国民の健康に重大な影響のある特定の疾患等に係る医療に関して、調査、研究及び技術の開発並びにこれらの業務に密接に関連する医療の提供、技術者の研修等を行うことを目的としている。

今年度の分担研究では、小児・周産期医療を担う国立成育医療研究センターにおける遺伝学的

検査の実施／提供の現状を把握するために調査を行った。

B．研究方法

国立成育医療研究センターの病院各診療科及び研究所各研究部に調査質問票を配布し、回収された質問票について集計をおこなった。回答のない部署に対しては個別に直接依頼をし、最終的な回収率は100%であった。

（倫理面への配慮）

本研究は直接遺伝子解析を行うものではなく、遺伝子解析関連の各種ガイドラインには抵触しない。

C．研究結果

調査結果の集計を表1に示す。

のべ250項目の遺伝学的検査が実施されていた。疾患名の重複があるものについてサンプル調査をしたところ、複数科で互いの連絡がなくそれぞれ独自に遺伝学的検査を実施（依頼）しているものが認められた。

各検査の年間の検体数はごく一部を除き極めて少数（10以下）であった。小児・産科領域における遺伝学的検査の多くは希少疾患対象であり、

種類が多く数が少ないということを裏付けるものであった。

検査の実施場所については病院の診療科では研究所関連部門への依頼またはセンター外部への委託が多く、一方、研究所では自らの研究室で実施するものがほとんどであった。病院各診療科と研究所の連携については、内分泌疾患、血液腫瘍、周産期胎児異常、感染症などでは緊密な研究連携が行われていたが、その他の疾患では交流が乏しかった。

センター外部への遺伝子検査提供については、分子内分泌による内分泌疾患・インプリンティング疾患、周産期病態研究部による周産期疾患のほか、臨床検査部によるリソソーム病などについて行われていた。

D．考察

本調査により、国立成育医療研究センターでは研究的な側面を有する一部の疾患について遺伝学的検査を実施しており、施設内外への検査提供を行っていることが明らかにされた。次世代シーケンサーの研究拠点としてエクソーム解析の提供も行っている。これらのサービス提供にあたっては、様々な研究費が財政基盤となっていた。一方、相当数の検査については検査提供側ではなくむしろユーザーとして外部への依頼／委託も行っていた。その理由としては、遺伝学的検査の提供を主とする部門がセンター内に存在せず、個々の診療／研究部門が、研究の一環として実施している項目についてのみ検査を実施していることがあげられる。部門相互の連携も十分ではなく、同じ検査を各部門で異なる施設に依頼しているケースもみられた。

現時点でセンターがある程度の遺伝学的検査を実施し施設内外に提供していることが明らかにされたものの、遺伝学的検査の実施拠点として全国的に広くサービスを提供することは難しいと考えられる。今後、センター内での部門相互連携を進めるとともに、研究的遺伝学的検査への依存度を減らし、臨床サービスのための遺伝子検査部門を設立して運営を行い、検査項目の拡充を図

ることが望まれる。また、このような検査提供を継続的に行うためには、人員配置と予算確保が必要である。国からの運営交付金が毎年10%削減されていく中でこの費用をセンター内部で賄うことは不可能であり、何らかの別の財源が求められる。

E．結論

小児科・産科医療における国立高度専門医療研究センターの役割を担う国立成育医療研究センターでの遺伝学的検査の実態を調査した。今後、国内医療機関への遺伝学的検査を継続的に提供するためには、センター内での抜本的な体制構築と整備、また財政基盤の確立が必要と思われる。

F．健康危険情報

特になし

G．研究発表

1．論文発表

- 1) Enosawa S, Horikawa R, Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A, Kasahara M. Hepatocyte transplantation using the living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: A novel source for hepatocytes. *Liver Transpl*. 2013 Nov 23. doi: 10.1002/lt.23800. [Epub ahead of print]
- 2) Sekiguchi K, Maeda T, Suenobu S, Kunisaki N, Shimizu M, Kiyota K, Handa YS, Akiyoshi K, Korematsu S, Aoki Y, Matsubara Y, Izumi T. A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and a germline BRAF mutation. *Am J Med Genet A*. 161(10):2600-3, 2013.
- 3) 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, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 161(9):2234-43, 2013.

4) Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in *RIT1* cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet* 93(1):173-80, 2013.

5) Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet*. 58(5):259-66, 2013.

6) Aoki Y, Matsubara Y. Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases. *Int J Hematol*. 97(1):30-6, 2013.

7) Asano M, Fujimura T, Wakusawa C, Aoki Y, Matsubara Y, Aiba S. A case of almost unilateral focal dermal hypoplasia resulting from a novel mutation in the PORCN gene. *Acta Derm Venereol*. 93(1):120-1, 2013.

8) Ninomiya M, Kondo Y, Niihori T, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleos(t)ide analogue treatment detecting by deep sequencing. *Hepatol Res*. 2013 [Epub ahead of print]

2 . 学会発表

1) 松原洋一 次世代シーケンサーによる遺伝性疾患研究・診療のパラダイムシフト 日本人類遺伝学会第 58 回大会、仙台、平成 25 年 11 月

H . 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|------------|----|
| 1 . 特許取得 | なし |
| 2 . 実用新案登録 | なし |
| 3 . その他 | なし |

表 1 国立成育医療研究センターで行われている遺伝学的検査

(*) 実施場所：1. 自分の研究室で 2. センター内の他の部署に依頼 3. 検査会社
4. 外部（国内）の学術機関・医療施設 5. 海外の検査会社・学術機関

< 病院 >			
所属	疾患名（または遺伝子名）	年間検査数	実施場所（*）
肝臓内科	Alagille 症候群（JAG1, Notch2）	1~2	4
	PFIC(FIC, BSEP)	1~2	
	胆汁酸代謝異常	<1	
	Wilson 病	<1	
	ヘモクロマトーシス	<1	
総合診療部	血友病 A（第 因子）	7	4
	血友病 B（第 因子）	5	
	DBA(ダイヤモンドブラックファン貧血)	1	
総合診療部	ブラダーウィリー症候群		2
	RAS/MAPK 症候群 など		
循環器科	マルファン症候群	1~2	4
消化器科	Gilbert 症候群	1	2, 4
	Alagille 症候群	1~2	
	PFIC	1~2	
呼吸器科	間質性肺炎	1	4
	細胞たんぱく症	1	
神経内科	大田原症候群	10~20	4
	West 症候群		
	乳児重症ミオクロニーてんかん		
	Charcot - Marie-Tooth 病		
	無痛無汗症		
	発作性運動誘発性ジスキネジア		
	DYT1(ジストニア)		
	瀬川病		
	急性脳症		
	ミトコンドリア病		
	Rett 症候群		
Kabuki 症候群			
腎・リウマチ科	先天性ネフローゼ	10	2, 4, 5
	補体異常症		
	のう胞性腎疾患		
遺伝診療科	21-hydroxylase deficiency (210HD)	15	1, 2, 4
	Achondroplasia	5	
	ADULT syndrome	1	

Alagille syndrome	6
Adrenoleukodystrophy (ALD)	5
alveolar capillary dysplasia	1
Beckwith-Wiedemann syndrome	1
CHARGE	2
CHILD syndrome	2
chondroplasia punctata	5
CPS1 欠損症	3
EEC syndrome	1
Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMS)	8
Focal dermal hypoplasia	1
Fraser syndrome	3
Freeman-Sheldon	1
Gorlin syndrome	2
Galen 靜脈瘤	1
Kabuki syndrome	4
LEOPARD syndrome	1
MCT8 (<i>SLC16A2</i>)	5
Metachondromatosis	3
Metachromatic leukodystrophy (MLD)	1
Nager syndrome	1
NICCD	2
oculocutaneous albinism (OCA)	3
Osteogenesis imperfect (OI)	5
Pfeiffer syndrome type 3	1
PFIC	1
polydactyly	4
Prader-Willi syndrome (PWS)	2
Rapp-Hodgkin syndrome	1
Russell-Silver syndrome (RSS)	3
Spondyloepimetaphyseal dysplasia (SEMD)	1
SGS	1
split hand/foot malformation (SHFM)	3
Stickler syndrome	1
Tay-Sachs disease	4
Trichorhinophalangeal Syndrome (TRPS)	1
Wiscott-Aldrich syndrome	1
X-linked hydrocephaly	5
X-linked severe combined immunodeficiency (XSCID)	2
Wilson disease	3

1, 2, 4

	グルタル酸尿症 型	2	
	周期性発熱	2	
	先天性巨趾症	2	
	プロテインC 欠乏症	4	
	右 Peters 奇形、左小眼球	3	
	無虹彩症	2	
内分泌代謝科	性分化疾患	30~50	1, 2, 4
	成長障害		
	奇形症候群		
	代謝性疾患 (CPS1, MMA など)		
	糖尿病		
	低血糖症		
	副腎疾患		
	甲状腺疾患		
	ホルモン受容体異常症		
アレルギー科	アトピー性皮膚炎 (フィラグリンおよびプレオマイシン水 解酵素関連遺伝子)	10	3, 4
感染症科	微生物のリアルタイムPCRを用いた検出 対象は42種類の病原体(各種病原ウイルスおよび培養困難 な細菌や真菌)	1,000	1
臓器運動器病態外科	先天性多発性外骨種症	10~20	2
	指列誘導障害 (裂手症)	5~10	
脳神経外科	先天性水頭症、 頭蓋骨縫合早期癒合症 脳腫瘍		2, 4
整形外科	Leri-Weill dyschondrosteosis Hereditary multiple exostosis Metachondromatosis		2
耳鼻咽喉科	難聴遺伝子検査 (おもに GJB2 遺伝子、SLC26A4、ミトコン ドリア 1555A G)	75	4
眼科	先天性網膜形成異常 Leber 先天黒内障 第一次硝子体過形成遺残 大家系 無虹彩症 先天性白内障 先天性緑内障 視神経形成異常 小眼球症	10 5 1 5 10 5 10 5	1, 2, 3, 4
皮膚科	先天性皮膚形成異常 (先天性魚鱗癬、先天性毛髪疾患など) 色素性乾皮症	25 1	2, 4

	白皮症	1	
	肥厚性皮膚骨膜炎	4	
手術・集中治療部	Congenital central hypoventilation syndrome (PHOX2B)	1~2	4
集中治療科	代謝異常症の原因診断として高アンモニア血症、		2, 4
	高尿酸血症など		
周産期センター	Duchenne muscular dystrophy (DMD)	5	2, 4
	Spinal muscular atrophy (SMA)	5	
	FMD	5	
	21-hydroxylase deficiency (21OHD)	2~3	
	その他	5	
新生児科	多発奇形	20	2, 3
	Small for date の児		
臓器移植センター (移植外科)	Alagille syndrome	10	2, 4, 5
	FIC-1,2	3	
	Mitochondria dysfunction	10	
	胆汁酸異常	3	
	メチルマロン酸血症 (MMA)	3	
	オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症 (OTCD)	5	
	CPSI	3	
	プロピオン酸血症 (PA)	2	
	Oxalosis	1~2	
放射線診療部	中枢神経系血管奇形	0~2	4
	endoglin		
	ACVRL1		
	RASA1 など		
臨床検査部	ムコ多糖症 I 型	3	1
	ムコ多糖症 II 型	10	
	ムコ多糖症 III 型	1	
	ムコ多糖症 IV 型	2	
	ムコ多糖症 VI 型	1	
	ゴーシェ病	3	
	ファブリ病	50	
	テイサックス病	1	
	ポンペ病	50	
	フェニルケトン尿症	0-1	
	オルニチントランスカルバミラーゼ欠損症	0-1	
	カルバミルリン酸合成酵素欠損症	0-1	
	N アセチルグルタミン酸酵素欠損症	0-1	
	メチルマロン酸血症	0-1	

	イソ吉草酸血症	0-1	
	メチルクロトニルグリシン尿症 (3-メチルクロトニル CoA カルボキシラーゼ欠損症)	0-1	
	プロピオン酸血症	0-1	
	MCAD 欠損症	0-1	
	VLCAD 欠損症	0-1	
	副腎白質ジストロフィー	3	
	異染色性白質変性症	0-1	1
	I-Cell 病(ムコリピドーシス II 型)	3	
	グルタル酸尿症 II 型	0-1	
	ニーマンピック病 C 型	2	
	軟骨無形成症 Achondroplasia	3	
	軟骨低形成症 Hypochondroplasia	0-1	
	Apert 症候群	0-1	
	Pfeiffer 症候群	0-1	
病理診断部	小児がん：横紋筋肉腫	40	2, 5
	神経芽腫		
	Ewing 肉腫		
	Burkitt リンパ腫		
	髄芽腫		
教育研修部	Diamond-Blackfan anemia	1~3	4
	Fanconi anemia	1~2	
	Transient myeloproliferative syndrome (TAM)	2~3	
	Thalassemia	1~2	
	先天性血小板異常症	1~3	
< 研究所 >			
周産期病態研究部	原因不明流産・死産 (センター他)	190	1
	早産 (センター他)	500	
	妊娠糖尿病 (センター他)	200	
	妊娠高血圧症候群 (センター他)	20	
	原因不明胎児異常・先天奇形・精神発達遅延 (センター他)	180	
	家族性早発閉経 (他施設)	20	
	他エピゲノム解析等	100	
	眼形成異常	6	
	家族性腎疾患	10	
	胆道閉鎖症兄弟例	6	
	先天性免疫異常	7	

	ベクター挿入部位固定	5	
	遺伝子治療用レトロウイルス	6	
	非定形的EBV感染症	15	
	小児白血病	100	
	川崎病	20	
	腎腫瘍	24	
	先天異常	20	
	先天性免疫異常	3	
	アレルギー疾患	3	
	肝細胞	8	
	サイトメガロウイルス	2	
	モデルマウス	2	
	iPS細胞	200	
	先天奇形症候群	70	
小児血液・腫瘍研究部	急性リンパ芽球性白血病	30	1
分子内分泌研究部	小児内分泌疾患	533	1
	先天性奇形症候群		
	成長障害		
	インプリンティング疾患(疑い例を含む)		
(ゲノムコピー数異常解析)	四肢短縮型低身長	(上記の内訳)	
	Campomelic dysplasia		
	Silver Russell 症候群		
	女性化乳房症・乳がん		
	性成熟疾患		
	NSIADH		
	対象遺伝子不明の疾患		
	レリーワイル症候群		
	先天性副腎過形成		
	性成熟疾患		
	下垂体機能低下症・眼球形成異常		
性分化疾患			
(変異スクリーニング)	先天性甲状腺機能低下症		
	成長障害		
	性成熟疾患		
	非閉塞性精子形成障害		
	1型糖尿病		
	性分化疾患		
	性成熟疾患		
	成長障害		

	性分化疾患		
	1 型糖尿病		
	POR 欠損症		
	偽性副甲状腺機能低下症		
	エクソーム解析 (対象遺伝子不明の疾患)		
	既知遺伝子が決定された単一遺伝子疾患 (多種類)		
分子内内分泌研究部	Transient neonatal diabetes mellitus (TNDM)	100	1
	Beckwith-Wiedemann syndrome		
	Russell-Silver syndrome (RSS)		
	14 番染色体父親性ダイソミー症候群		
	14 番染色体母親性ダイソミー症候群		
	Prader-Willi syndrome (PWS)		
	Angelman syndrome (AS)		
	PHP		
	原因不明成長障害		
	IMAGe syndrome		
	染色体異常症		
分子内内分泌研究部	先天性副腎機能低下症	25	1
	先天性甲状腺機能低下症	2	
成育遺伝研究部	無原発性免疫不全症 (Wiskot-Aldrich)	10 ~ 15	1, 2
	慢性肉芽腫症		
	分類不能型免疫不全		
	X連鎖重症複合免疫不全など...)		
	次世代シーケンス	1 ~ 2	1, 2
母子感染研究部	(a)乾燥臍帯におけるサイトメガロウイルスゲノムの有無に関する解析	20	1, 4
	(b)先天性サイトメガロウイルス感染児における自然免疫関連遺伝子の遺伝子多型に関する解析	5 ~ 10	1, 4
成育社会医学研究部	オキシトシン受容体関連遺伝子	300	2, 4

小児希少遺伝性難病に対する遺伝学的検査の開発と全国展開

研究分担者 奥山虎之¹

1) 国立成育医療研究センター臨床検査部

小児希少難病、特に先天代謝異常症の中には発症前あるいは発症早期に治療を導入しない限り、望ましい効果は期待できない疾患が多く存在し、積極的な依頼を促せるような簡便で安価な診断法の確立が必要である。我々は、ライソゾーム病の中でも特に早期発見・早期治療が必須であるポンペ病を対象として、乾燥ろ紙血検体を用いた酸性グルコシダーゼ活性測定による遺伝学的検査の全国展開を開始した。2013年1月から2013年12月までに何らかのポンペ病症状を有する疑い患者288症例を対象に、酸性グルコシダーゼ活性の測定を行った結果、3例（1.04%）のポンペ病患者を診断した。また pseudodeficiency（偽欠損）を19例（6.6%）で認めた。乾燥ろ紙血を用いた酵素活性定量による診断法は、ポンペ病や他のライソゾーム病の早期診断として有用な遺伝学的検査と考えられる。

A. 研究目的

早期診断、早期治療が、予後を劇的に改善する先天代謝異常症としてライソゾーム病が注目されている。酵素補充療法により全身症状の改善が達成できるが、さらに中枢神経症状に有効性が期待できる遺伝子治療、髄腔内酵素補充療法、ケミカルシャペロン療法などの開発が進み、その有効性が報告されている。しかし、どんなに優れた治療法が開発されても、発症前あるいは発症早期に治療を導入しない限り、望ましい効果は期待できない。上記の事情を考慮し、本研究ではライソゾーム病の早期あるいは発症前診断を可能にする乾燥ろ紙血サンプルを用いた遺伝学的検査を開発、臨床応用しその有用性を検証する。

B. 研究方法

ポンペ病は、ライソゾーム酵素のひとつである酸性グルコシダーゼの先天性欠損を原因とする常染色体劣性遺伝病であり、乳児型の心筋肥大や小児・成人期の近位筋の筋力低下、呼吸筋の障害

で発症する。本病は、発症前もしくは早期に酵素補充療法を開始することにより、生命予後やQOLの改善が期待できる。本年度は、ライソゾーム病の中でも、特に早期発見が重要なポンペ病について、乾燥ろ紙血を用いた遺伝学的検査法を開発、全国展開によるポンペ病の早期診断を試みた。

1. 遺伝学的検査法の確立

採取や輸送が簡便で侵襲の少ない乾燥ろ紙血検体を用いて酸性グルコシダーゼ活性を測定する方法を確立した。蛍光人工基質としては、4メチルウンベリフェリルグルコシドを用いた。その際、非特異的なグルコシダーゼの活性を除去するために、アカルボースを反応液に添加することにより、ポンペ病の欠損酵素である酸性グルコシダーゼ活性を特異的に検出できる方法が確立した。

2. ポンペ病診断の実践

上記の診断技術を関連学会等を通じて全国的に周知して、原因不明の心筋肥大や筋力低下を呈す

る症例でポンペ病の可能性が指摘された症例の検査を受託した。なお、活性低値を呈した症例については、pseudodeficiency (偽欠損) の可能性を考慮して、G576S 多型の検出するための遺伝子検査も同時に施行した。

(倫理面への配慮)

本研究は、国立成育医療研究センター倫理委員会の承認を受けて行った。

C. 研究結果

288 症例の解析から、3 例の新しいポンペ病患者を同定しえた。また、G576S 多型を有する pseudodeficiency は 19 名で全体の 6.6%であった。

D. 考察

ポンペ病は、従来、筋生検による病理学的診断や皮膚線維芽細胞を用いた酵素活性測定により診断されてきた。しかし、いずれの方法も侵襲を伴う検査であり、検査の適応に限られてきたため、非侵襲的な検査による診断が望まれてきた。

今回、我々は、乾燥ろ紙血検体を用いた遺伝学的検査でポンペ病を生化学的に診断し、血中の白血球を用いた遺伝子検査で確定診断する方法を確立した。これにより、筋生検や皮膚生検という侵襲的な検査をすることなく、ポンペ病が診断できるようになった。また、検査に要する時間が短縮され、費用も削減できることにより、医師が検査を積極的にオーダーするようになり、ポンペ病と診断される患者が増加した。同様の方法は、他の多くのライソゾーム病の診断に応用可能であり、今後ライソゾーム病の診断目的での遺伝学的検査として開発し全国展開する予定である。

E. 結論

乾燥ろ紙血を用いた遺伝学的検査は、ライソゾーム病の早期発見に有用である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. Okuyama T, Yotsumoto J, Funato Y. Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan. J Obstet Gynaecol Res. 39:942-947,2013.
2. Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M. Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings. Mol Genet Metab. 108: 172-177, 2013.
3. Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J. The novel SLC02A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype. Br J Dermatol. doi:10.1111/bjd.12790. 2013 Dec 16.
4. 後藤由紀、柿島裕樹、藤直子、渡辺靖、小関満、松林守、木田和宏、小須賀基通、奥山虎之。ポンペ病を対象とした新生児マススクリーニングの運用、日本マススクリーニング学会誌、23:51-55,2013。

2. 学会発表

1. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Hamazaki T, Kosuga M, Sawada T, Yabe H, Ishige M, Mugishima H, Kato S : EFFICACY OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY VERSUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION ON BRAIN INVOLVEMENT IN MPS II, 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September .4.

- 2013.
2. M.Kosuga, K.Kida, H.Nakajima, J.Fujimoto, T.Okuyama: Development of a new method for diagnosis of adrenoleukodystrophy using liquid chromatography-mass spectrometry. 12th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Barcelona, Spain, September. 4. 2013.
 3. 奥山虎之: 患者登録と新規治療の開発法(シンポジウム: 先天性希少疾患の治療の進歩と患者会の役割). 第 116 回 日本小児科学会学術集会学会、広島、2013.4.19.
 4. 小須賀基通、木田和宏、藤直子、奥山虎之: 5つのライソゾーム酵素同時測定によるライソゾーム病の新たなスクリーニング法. 第 116 回 日本小児科学会学術集会学会、広島、2013.4.19.
 5. 田中あけみ、鈴木健、奥山虎之、濱崎孝史、藤川研人、坂口知子、小田絵里、藤直子、齋藤三佳、澤田智 北川照男: 三施設共同によるライソゾーム病スクリーニング・パイロットスタディ 2年6か月のまとめ. 第 40 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、大阪、2013.8.24.
 6. 奥山虎之: ライソゾーム病に対する新生児マス・スクリーニングの現状と今後の課題(シンポジウム). 第 40 回日本マス・スクリーニング学会学術集会、大阪、2013.8.24.
 7. M.Kosuga, H.Nakajima, K.Kida, J.Fujimoto, T.Okuyama. Diagnosis of adrenoleukodystrophy using liquid chromatography-mass spectrometry. American Society of Human Genetics 63rd Annual meeting. Boston, USA. 2013, October 24.
 8. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Hamazaki T, Kosuga M. Sawada T, Yabe H, Ishige M, Mugishima H, Kato S. EFFICACY OF ENZYME REPLACEMENT THERAPY VERSUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION ON BRAIN INVOLVEMENT IN MPS II. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)/The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Chiba, 2013.Nov.27.
 9. A.Wakiyama, Y.Oda, Y.Yamada, H.Fujisawa, M.Yotsuya, H.Tsuda, M.Furujo, T.Kubo, T.Okuyama. Application of clinical path in enzyme therapy for uniformization of nurse operations. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases (ACIMD)/The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases (JSIMD). Maihama, Chiba, 2013.Nov.28.
 10. 田中あけみ、濱崎孝史、桜庭均、齋藤静司、鈴木健、奥山虎之、門野千穂、坂口知子、工藤聡志、藤川研人、小田絵里、藤直子、澤田智、齋藤三佳、北川照男
Iduronate-2-sulfatase の pseudodeficiency allele は意外に多く存在する? 日本人類遺伝学会第 58 回大会、仙台市、2013.11.23.

H.知的所有権の取得状況(予定を含む)

特になし。

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okuyama T, Yotsumoto J, Funato Y	Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan.	J Obstet Gynaecol Res.	39	942-947	2013
Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M.	Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings.	Mol Genet Metab.	108	172-177	2013
Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J.	The novel SLC02A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype.	Br J Dermatol.		Dec16.doi:10.1111/bjd.12790.	2013
後藤由紀、柿島裕樹、藤直子、渡辺靖、小関満、松林守、木田和宏、小須賀基通、奥山虎之	ポンペ病を対象とした新生児マススクリーニングの運用	日本マススクリーニング学会誌	23	251-55	2013

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）
分担研究報告書

Leigh 脳症 64 例における原因遺伝子の検討

分担研究者 後藤 雄一 国立精神・神経センター神経研究所 部長

Leigh 脳症 64 例の原因遺伝子を検討した。ミトコンドリア遺伝子変異を約 30%（過去に報告のある病的変異 18 例（28%），新規変異あるいは病的意義が不明の変異 9 例（14%））に同定し，核遺伝子では PDHC 遺伝子変異を 6%（PDHA1 変異 3 例（5%），PDHX 変異 1 例（1%））に認めた。Leigh 脳症では筋病理の異常所見に乏しい例が多く，原因の検索にはミトコンドリア遺伝子の全周シーケンス法による全塩基配列決定とともに，核遺伝子解析をスクリーニングとして行える体制を早急に整備する必要がある。

A．研究目的

Leigh 脳症は、幼児期以前に発症する進行性の知的・運動発達の障害、血中・髄液の乳酸・ピルビン酸高値、大脳基底核・脳幹の両側対称性の壊死性病変を特徴とする。原因には、ミトコンドリア遺伝子変異、核遺伝子変異がある。Leigh 脳症における原因遺伝子を検討する。

B．研究方法

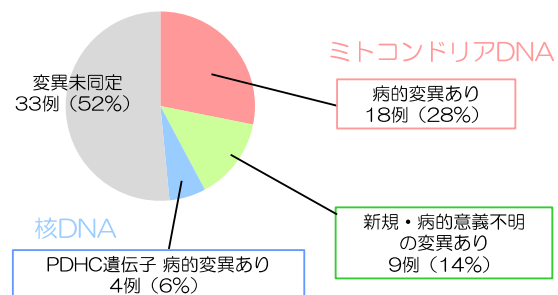
対象は、2006～2013 年に遺伝子解析を行った Leigh 脳症患者 64 例（男性 30 例、女性 34 例、検査時年齢 1 カ月～13 歳 4 カ月）。血液または筋からミトコンドリア DNA を抽出し、long PCR 法、サザンプロット法、全周シーケンス法による解析を行った。ピルビン酸脱水素酵素複合体（PDHC）欠損症を疑った 16 例は、さらに血液ゲノム DNA を用いて PDHA1、PDXB、PDHX のシーケンス解析を行った。50 例では筋病理の検討も行った。

C．研究結果

long PCR 法、サザンプロット法で欠失を認めた例はいなかった。全周シーケンス法では、過去に報告のある病的変異を 18 例（28%）、新規変異あるいは病的意義が不明の変異を 9 例（14%）に認めた。また、PDHA1 変異を 3 例（5%）、PDHX 変

異を 1 例（1%）に認めた。筋病理では、ミトコンドリアと関連する異常を 6 例（9%）（COX 欠損 3 例、SSV2 例、SDH 欠損 1 例）に認めた。

Leigh 脳症 64 例の遺伝子検査の内訳



PDHC遺伝子
＜病的変異 4例, 5変異＞

遺伝子	変異	アミノ酸
PDHA1	c.514C>A	p.P172T
PDHA1	c.508C>T	p.Q170*
PDHA1	c.787C>G	p.R263G
	c.1336C>T	p.R466*
PDHX	c.690_696dupGTCCAGA	p.P233Vfs*279

D．考察

Leigh 脳症の原因として、ミトコンドリア遺伝

子変異を約 30%に同定し、好発部位だけでなく全周シーケンス法による全塩基配列決定が重要であった。一方で新規変異の病的意義の確定には、生化学検査などの更なる追及が必要であった。また、PDHC 遺伝子変異による Leigh 脳症が 6%を占めた。Leigh 脳症では筋病理の異常所見に乏しい例が多く、原因の検索にはスクリーニングとしてミトコンドリア遺伝子および PDHC 遺伝子をはじめとする核遺伝子解析が必要であった。

E. 結論

Leigh 脳症の原因としてミトコンドリア遺伝子変異が同定されるのは約 30%であり、核遺伝子解析をスクリーニングとして行える体制を早急に整備する必要がある。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene. Brain Dev. 36:180-182, 2014

(著書)

後藤雄一：ミトコンドリア病，2339 -2342 (内科学、第 10 版、朝倉書店、東京) 2013

(総説)

後藤雄一：ミトコンドリア病の診断と治療．内分泌・糖尿病・代謝内科 37:481-486, 2013

2. 学会発表

(国際学会)

Takeshita E, Mimaki M, Ishii T, Awazu M, Shinjoh M, Hasegawa T, Miki J, Hidaka Y, Motobayashi M, Kumagai E, Goto Y. Novel mitochondrial point mutation (m.9155A>G) in two patients with chronic renal failure caused

by focal glomerular sclerosis. International Congress of Pediatrics 2013, the 27th Congress of the International Pediatric Association, Melbourne, Australia, 8.24-29, 2013

(国内学会)

根岸豊、服部文子、竹下絵里、安藤直樹、伊藤哲也、後藤雄一、齋藤伸治：ミトコンドリア DNA3697G>A ホモプラスミー変異を認めた Leigh 脳症の 3 同胞例．第 58 回日本人類遺伝学会大会．11.23, 2013, 仙台

三宅紀子、矢野正三、後藤雄一、松本直通．UQCR2 ホモ接合性変異による新規ミトコンドリア呼吸鎖複合体 欠損症．第 58 回日本人類遺伝学会大会．11.23, 2013, 仙台

竹下絵里、三牧正和、吉田寿美子、西野一三、後藤雄一．Leigh 脳症 64 例における原因遺伝子の検討．第 58 回日本人類遺伝学会大会．11.23, 2013, 仙台

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班
分担研究報告書

遺伝性神経筋疾患におけるゲノム解析研究

研究分担者 齋藤加代子¹⁾²⁾

研究協力者 北村裕梨¹⁾²⁾, 近藤恵里¹⁾, 青木亮子¹⁾ 浦野真理¹⁾

- 1) 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター
2) 東京女子医科大学大学院先端生命医科学系専攻遺伝子医学分野

研究要旨

Genetic heterogeneity が存在する遺伝性神経筋疾患に対して、次世代シーケンサー (SOLiD, Ion Torrent ; ABI 社) を用いたターゲット遺伝子群の網羅的な解析により、従来の遺伝子解析にて原因遺伝子が未確定の症例 31

これらのターゲット遺伝子の網羅的解析にて遺伝子変

A. 研究目的

先天性ミオパチー、先天性筋ジストロフィーなど、Genetic heterogeneity が存在する遺伝性神経筋疾患に対して、次世代シーケンサーを用いたターゲット遺伝子群の迅速かつ網羅的な解析により、効果的に原因遺伝子を同定し、確定診断を実現する。

B. 研究方法

対象)

従来の遺伝子解析検査にて原因遺伝子が未確定、あるいは候補病型が多数のため解析に時間を要し、確定診断が滞っている症例、計 31 症例。

(先天性ミオパチー ; 7 例、SMA ; 6 例、FCMD ; 5 例、CMD ; 5 例、メロシン欠損症 2 例、BMD/LGMD ; 5 例、Pena Shokeir 症候群 ; 1 例)

方法)

次世代シーケンサー (ABI 社 ; SOLiD) によるターゲット遺伝子 (筋ジストロフィー関連 : 4 種類、先天性筋ジストロフィー : 10 種類、肢帯型筋ジストロフィー関連 : 10 種類、脊髄性筋萎縮症 : 1 種類、先天性ミオパチー関連 : 17 種類) 計 42 種類、さらにこ

異が検出されなかった症例のうち、floppy infant の臨床症状を示す 8 例において、新たに 15 種類の floppy infant を呈する遺伝子群 (筋ジストロフィー : 1 種類、先天性筋ジストロフィー 関連 : 5 種類、先天性ミオパチー関連 : 4 種類、脊髄性筋萎縮症関連 : 2 種類、先天性筋無力症 : 2 種類、CMT : 1 種類) について、次世代シーケンサー (ABI 社 ; Ion Torrent) を用いて網羅的解析を行った。

C. 研究結果

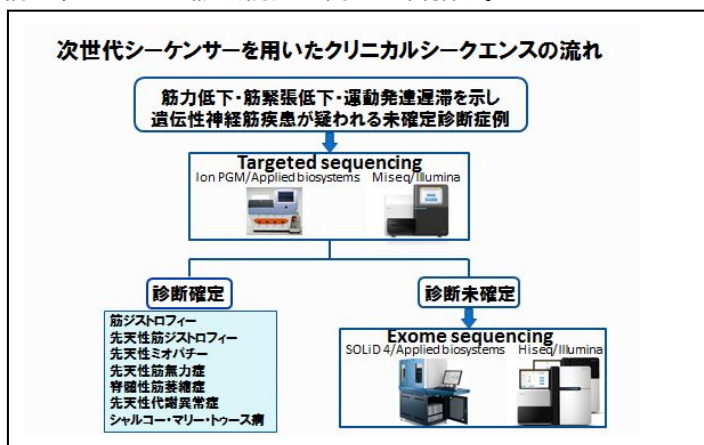
case	age	sex	clinical diagnosis	sequence results			genetic diagnosis
				gene	mutation	mutation	
1	0y9m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	c.647+2084G>T	(SVA)	FCMD
3	3y0m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	p.R47X	(SVA)	FCMD
5	6y6m	M	FCMD	<i>FKTN</i>	p.H172R	(SVA)	FCMD
6	4y7m	F	メロシン欠損症	<i>LAMA2</i>	p.R1350X	p.R1350X (homo)	MDC1A
7	13y7m	M	メロシン欠損症	<i>LAMA2</i>	p.R1549X		MDC1A
12	16y11m	F	CMD	<i>POMT2</i>	p.Y141S	p.L187F	LGMD2N (MDDGC2)
13	2y9m	M	BMD/LGMD	<i>POMT2</i>	p.D380A	p.H416Q	LGMD
14	5y5m	M	BMD+FCMD?	<i>FKTN</i>	R47X, splicing mosaic	mRNAで124bp挿入 + BMD exon45-53欠失	BMD+FCMD
15	9y9m	M	BMD/LGMD	<i>DMD</i>	p.R3345X, somatic mosaic		DMD somatic mosaic
18	2y1m	M	ネマリンミオパチー	<i>RYR1</i>	p.1573 P>L	p.2529 D>N	*NEM by <i>RYR1</i> mutations
19	13y0m	M	ネマリンミオパチー	<i>NEB</i>	p.D497R fs X2	?	NEM2
21	2y6m	M	先天性ミオパチー	<i>CCDC78</i>	p.R103X		CNM4
29	1y6m	M	SMA-like	<i>ISPD</i>	p.L407S	?	MDDG A7
31	3y1m	M	Pena Shokeir 症候群	<i>RAPSN</i>	p.A246V	p.I335S	CMS

SOLiD により 11 例 (*FKTN* ; 3 例、*DMD* ; 1 例、*LAMA2* ; 2 例、*POMT2* ; 2 例、*RYR1* ; 1 例、*DMD+FKTN* ; 1 例、

NEB ; 1 例)、Ion Torrent により 3 例 (RAPSN ; 1 例、CCDC78 ; 1 例、ISPD ; 1 例) 合計 14 例において変異を同定し、臨床情報と併せて診断を確定、あるいはインシリコ解析により原因遺伝子である可能性が高いと判断した。

D. 考察

臨床的・病理学的に共通性を有する遺伝性神経筋疾患において、次世代シーケンサーを用いたターゲット遺伝子解析により、迅速に遺伝子変異同定が可能になってきた。今回の解析で原因遺伝子が同定されなかった症例においては、エクソーム解析の検討、候補遺伝子群の新たなプラットフォームの構築も検討し、さらなる診断能力の向上を目指す。



E. 結論

Genetic heterogeneity を示す遺伝性神経筋疾患において、従来の遺伝子解析にて原因遺伝子が未確定の症例 31 例中 14 例 (45%) で、次世代シーケンサーを用いた原因遺伝子の網羅的解析を行うことにより、迅速かつ効率的に原因遺伝子を確定できた。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Kondo E, Nishimura T, Kosho T, Inaba Y, Matsushashi S, Ishida T, Baba A, Koike K, Nishino I, Nonaka I, Furukawa T, Saito K. Recessive RYR1 Mutations in a Patient With Severe Congenital

Nemaline Myopathy With Ophthalmoplegia Identified Through Massively Parallel Sequencing. Am J Med Genet A 2012;158(A): 772-778.

H. 知的所有権の取得状況 (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
難知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

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

研究分担者 東海大学医学部基盤診療学系臨床検査学 宮地勇人

研究要旨

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（サービス）の品質確保のための方策を検討することを目的とした。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。

A．研究目的

近年、遺伝学的検査は、保険診療への導入に加え、保険診療外の医療またはヘルスケアの領域、すなわち自由診療、健診、DTC/OTC においても検査サービスが開始され、社会浸透が見られる。日本医学会は、遺伝医学の専門医を介さない遺伝子検査により、体質や子どもの能力や適性などを調べる「遺伝子検査ビジネス」の拡大を懸念して、国として監視・監督する体制の確立と法整備を求める提言を 2012 年に発表した。その一方、検査サービスの提供と利用は拡大を続け、その対象は、肥満遺伝子など体質検査に加え、生活習慣病やがん等に対する疾患感受性さらには単一遺伝子疾患の遺伝学的検査にまで及ぶようになった。しかしながら、これら保険診療外の医療またはヘルスケアの領域における検査サービスにおいて、精度確保や適正利用に関して、規制や監督指導、第三者評価の義務づけはない。

希少疾患の検査は、大学などの研究室で行われていることが多い。そのような研究検査において、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の検査実施と結果報告が求められる。遺伝学的検査が適正に利用され普及するには、実践可能な検査の継続的な実施体制を前提として質保証の確保を可能とするしくみが必要である。また、遺伝学的検査の実施体制の中核となる実施拠点の構築において、新たな技術応用と分子病態診断で大きな役割を担う大学などの研究室における検査の質確保が重要となる。そこで、25 年度の「遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究」分担研究では、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について検討し、具体的な提案

を行うことを目的とした。

B．研究方法

2013 年から国内での検査提供が開始された無侵襲的出生前遺伝学的検査における精度保証の取り組みについて調査し、課題を整理した。

遺伝学的検査の利用拡大における精度保証における精度保証の取り組みについて国内の状況を調査し、課題を整理した。

大学など研究室で行う遺伝学的検査について、継続的な実施体制を前提として、質確保のための具体的な方策について提言としてまとめた。

C．研究結果

1) 無侵襲的出生前遺伝学的検査における精度保証の取り組み

次世代シーケンサーを始めとする近年の技術革新の結果、遺伝学的検査のサービスの新たな分野が次々と登場している。その 1 つとして、出生前遺伝学的検査の開発と実用化は急速な展開を示している。近年、妊婦の末梢血（母体血）を用いた出生前遺伝学的検査が開発され、海外に続き、わが国においても利用が開始された。無侵襲的出生前遺伝学的検査（Non-invasive prenatal genetic testing: NIPT）は、採血のみで検査が受けられるなどアクセスが容易であるため、急速な普及が予想され、そこで十分な理解をもたずに実施される懸念など倫理的課題が指摘されている。日本医学会をはじめとする関係 5 団体による協議の結果、NIPT には倫理的に考慮されるべき点のあること、試料を分析する検査会社が未だ国内にはないこと、わが国独自の解析経験とデータの蓄積が存在しないなどから、その検査の利用実施は、まず臨床研

究として、認定・登録された施設において開始されることとなった（2013年）。その実施においては、他の遺伝子関連検査と同様に、施設によらず良質な診療の遂行のために、検査の精度保証に基づき適正な利用が求められる。本検査の実施においては、採血後血漿中の遊離 DNA の割合が不安定であること、海外での検査機関への搬送に長時間必要なこと、海外での検査機関の精度保証について国際的な枠組みでの運用評価が必要なことなど技術的な検討課題がある。

一般に遺伝子関連検査の精度は測定前プロセス特に検体の品質に大きく左右される。本検査では、測定の再現性など分析的妥当性を確保する上で、血漿の検体品質の確保が必要となる。EDTA採血の場合、血漿中の胎児由来DNAの割合は8時間まで安定で、その後、低下するとされる。このため、検体処理まで保存や搬送時間により検体の品質が劣化し測定の信頼性が低下する懸念がある。

特に、本検査の利用では、国外（米国）の検査機関（米国シーケノム分子センター）に検体を搬送して測定実施するため、検体の品質確保は重要な課題である。本検査を受託する米国の当該検査センターでは、検体の精度保証について米国臨床検査室改善法（Clinical Laboratory Improvement Amendments：CLIA）に準拠し、検査の精度保証を行う能力を有すると評価された米国病理医協会（College of American Pathologists：CAP）による認定施設であることが文書証明されている。CAP認定施設としての要件を満たす過程において、検体の品質を確保するため、検体の取り扱いに関する工夫がなされている。まず、検体採取にあたり、EDTA採血に替わり、ヌクレアーゼ阻害剤と保存剤入りの特殊採血管を採用している。専用の採血管にて、過度の陰圧による細胞破壊の影響を避けるため、採取法など手順が明確化されている。米国の検査機関への搬送は、集荷から配達まで検体温

度管理が確保された専用輸送箱にて行われる。休日等の関係で搬送が所定時間（72時間）を超える場合は都内の施設（登録衛生検査所）にて分離・凍結（-80℃）を行う。血漿分離の作業は、当該検査センターの提示する標準作業書に従って実施される。

検査の精度保証を確認する上で、新たな技術であるための課題がある。すなわち、独自開発の検査について特異的な標準物質、精度管理、技能試験、監査の方法は開発されていない。今後、NIPTは複数の検査機関から独自に開発した方法にて受託が行われると想定される。また、性染色体検査など検査サービス提供の対象が拡大する可能性がある。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。

2) 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PDSA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（プロセス要件以降）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。

3) 保険診療外の遺伝学的検査サービスの品質の確保

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。

4) 大学などの研究室での検査の品質管理

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 1) 2) 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。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）精度管理の手順は文書化（SOP）し、関連スタッフが作業場で利用できるよう整備し、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。

D．考察

24年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業「遺伝学的手法における診断の効果的な実施体制に関する研究」において、現行の保険医療制度の中で、遺伝学的検査の質確保と継続的な実施体制に向けて具体的な提言を行った。そこでは、品質の確保を指標とした評価を保険償還に組み込む上で、診断薬（製品）とサービスのそれぞれで品質保証の指標を設定する必要があるとした。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が提供される場合、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。

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は、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に関する情報公開が望まれる。

大学などの研究室で研究検査として行われている遺伝学的検査の中で、臨床的有用性が明らかで、医療機関はじめヘルスケアの枠組みで行われる場合は、上記のごとく一定の品質確保の体制のもとでの検査実施と結果報告が求められる。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とした。

大学などの研究室での検査に関して、品質確保と継続的な実施体制の両立のための選択肢として、同じ施設（医療機関）の臨床検査室との連携が挙げられる。これは、技術移転や結果解釈等の連携においてより現実的である。また、検体検査管理加算など施設加算を運用することで、検査実施の財政的、人的な基盤が確保可能である。

将来的には、検査（サービス）の品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対して、認可、認証、認定のしくみが必要で、また保険医療制度の中での規制や保険診療上の報酬等のインセンティブと連動することが望まれる。

国のリーダーシップのもと、産官学が連携して、現行の保険医療制度の中で、品質確保と継続的な実施体制の両立のための施策を推進することが望まれる。

E．結論

近年、遺伝子関連検査は、保険診療への導入に加え、保険診療外の医療またはヘルスケアの領域、

においても検査サービスが開始され、社会浸透が見られる。さらに次世代シーケンサーを始めとする近年の技術革新の結果、遺伝学的検査のサービスの新たな分野が次々と登場している。このような状況を鑑み、本研究では、医療・ヘルスケアで利用される遺伝子関連検査の品質確保に向けた考え方を整理し、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品質確保のための方策を検討することを目的とした。検査実施に関する提言を以下のごとくまとめた。

1. 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が提供される場合及びは、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、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は、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。

F . 健康危険情報 該当なし

G . 研究発表 なし

I. 論文発表

1. Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Excess treatment reduction including anthracyclines results in, higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid, leukemia in children. *Leukemia* 27, 2013; 2413-16.
2. Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Hayashi F, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Elimination of interference by lipids in the low WBC mode in the automated hematology analyzer XN-2000. *Intern J Lab Hematol* (2014, in press)
3. Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Miyachi H. Evaluation of the body fluid mode of automated hematology analyzer XN-Series for extremely low peripheral White Blood Cell Counts. *Intern J Lab Hematol* (2014, in press).
4. Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H. Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the automated hematology analyzers XN-series. *J Clin Lab*

Analysis (2014, in press)

5. Asai S, Okami K, Nakamura N, Shiraishi S, Sugimoto R, Damdinsuren A, Sato S, Matsushita H, Suzuki Y, Miyachi H. Localized or diffuse lesions of the submandibular glands in IgG4-related disease in association with differential organ involvement. J Ultrasound Med 2013;32 : 731-736.

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

[ここに入力]

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

細胞遺伝学的検査の提供体制の研究

研究分担者 福嶋義光 信州大学医学部 遺伝医学・予防医学講座 教授

研究要旨

遺伝学的検査の実施拠点の在り方のうち、細胞遺伝学の立場からみた技術的課題、および全ゲノムを対象に実施する遺伝学的検査における倫理的課題を中心に検討した。マイクロアレイ染色体検査で検出されるコピー数変化は、塩基配列解析において検出される変異と同様、それが病的な変異か、症状に影響しない多型か、症状との関連を現時点で確定できないものかについて専門家の判断を必要とする。先進諸外国においては、マイクロアレイ染色体検査がすでに臨床検査として実施されており、これにより得られるCNVs (copy number variations) データが、蓄積され、結果解釈の評価法についても検討が進んでいる。CNVsデータは、今後全ゲノムを対象に実施する次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の結果解釈にも必要となる。偶発的所見を検出しうることにしても共通する課題がある。次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析、全ゲノム解析の体制整備だけでなく、マイクロアレイ染色体検査を含めた包括的な遺伝学的検査の体制整備について考えておく必要がある。

研究協力者

大橋博文・清水健司（埼玉県立小児医療センター）、倉橋浩樹（藤田保健衛生大学）、黒澤健司（神奈川県立こども医療センター）、小崎健次郎（慶応大学）、小崎里華（国立医療研究センター）、後藤雄一・井上健（国立精神・神経医療研究センター）、原田直樹（三菱化学メディエンス）、山本俊至（東京女子医科大学）、涌井敬子（信州大学）

A．研究目的

先進諸外国において遺伝学的検査は、遺伝生化学的検査、細胞遺伝学的検査、および分子遺伝学的検査を包含した体制のもとで実施されている。遺伝子全体を含む領域のコピー数が変化するコピー数変化 (Copy number variations; CNVs) や、サイズの大きい挿入・欠失変異など、構造変異として分類される変異もDNA variants のひとつである。諸外国ではすでに、マイクロアレイ染色体検査 (cytogenomic microarray) が臨床検査として実施されている。

遺伝学的検査の実施拠点の在り方のうち、細胞遺伝学の立場からみた技術的課題、および

全ゲノムを対象に実施する遺伝学的検査における倫理的課題を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

(1) 先進諸外国の細胞遺伝学的検査体制

マイクロアレイ染色体検査を含めた細胞遺伝学的検査の診療への導入の状況等について、2013年6月にパリで開催された欧州人類遺伝学会 (European Human Genetics Conference 2013)、および同10月にボストンで開催された米国人類遺伝学会 (The American Society of Human Genetics) 第63回大会における講演、一般発表、企業セミナー、機器展示など、およびマイクロアレイ染色体検査の国際コンソーシアムとして活動している ISCA (International Standard Cytogenomic Array Consortium) が提供している情報、その他インターネットに掲載されている細胞遺伝学的検査に関する情報、さらに国内外の細胞遺伝学的研究者との私信等により情報収集を行った。

(2) わが国の細胞遺伝学的検査に関する検討

2013年12月14日(土)に、マイクロアレイ染色体検査を実施している主な施設の責任者等が集まり、細胞遺伝学的検査、特にマイクロアレイ染色体検査の提供体制を中心に、課題と解決方法について討議した。

(倫理面への配慮)

本研究は、遺伝学的検査の実施体制のあり方について検討することを目的とする研究である。各種倫理指針を遵守した上で実施した。

C. 研究結果、および D. 考察

(1)細胞遺伝学的検査体制について

先進諸外国ではマイクロアレイ染色体検査は、原因不明の先天異常患者に対して実施すべき最初の遺伝学的検査として普及しており、従来の染色体検査は臨床診断可能な異数性異常の確認や、マイクロアレイで検出されたコピー数異常に伴う構造変化の確認、マイクロアレイでは検出が困難な均衡型構造異常やモザイクの確認などの目的のため補完的に用いられる傾向が強くなっていることがわかった。

マイクロアレイ染色体検査で病的なCNVsを認めなかった原因不明の先天異常患者に対し、次世代シーケンサー(Next Generation Sequencing; NGS)を用いた全エクソーム解析(Whole Exome Sequencing; WES)を実施した研究発表が増えており、米国Baylor医科大学においては、臨床検査としてのWESも開始されていた。英国においても、遺伝学的検査は他の臨床検査と同様、National Health ServiceのGenetic Servicesとして、基幹施設の遺伝学的検査室において、従来の染色体検査からマイクロアレイ染色体検査、NGSを用いたWES解析までを総合的に実施している。すなわち遺伝学的検査は国際的に、遺伝生化学的検査、細胞遺伝学的検査、分子遺伝学的検査を総合的に実施する体制が整備されている。

各遺伝学的検査費用は、米国では日本のように材料費のみでなく、解析精度を保証するための精度管理費、解析担当者の人件費、さらに結果解釈も重要であるため、結果解釈を含む報告書作成の責任を担う専門家の人件費も含まれている。わが国では、従来の染色体検査および36種の単一遺伝性疾患についての遺伝学的検査が保険適用となっているが、結果解釈にかかる費用は考慮されていないこともあり、診療報酬は米国で提示されている費用

より大幅に低い。わが国の遺伝学的検査の診療報酬に、結果解釈に相応の費用も考慮される必要がある。NGSを用いたWES解析、およびマイクロアレイ染色体検査においても、臨床検査として実施する際には、既知の病的変異以外の変異が検出された場合の結果の解釈が最大の課題となり、その責任を担う専門家の育成が求められる。

わが国においてもマイクロアレイ染色体検査を臨床検査として実施できるようにするため、検査を実施している主な施設の責任者等で、正常日本人のCNVsデータベース情報の共有、解析方法・結果解釈についての標準化ガイドライン作成、専門家育成、実施施設の要件について検討を進め、一部具体化にむけた準備を開始している。

(2)マイクロアレイ染色体検査の課題
結果解釈

マイクロアレイ染色体検査で課題となっていることのひとつが、検出されたCNVsが、患者の疾患や症状と関連している(pathogenic CNVs: pCNVs)か、関連がない(benign CNVs: bCNVs)か、現時点では明らかでない(Variants of Unknown Clinical Significance; VOUS)かの判断が必要ということがある。DGV(Database of Genomic Variants)、DECIPHER(Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources)、ISCAなどの海外のデータベースに解析症例のデータが蓄積されてきており、各CNVsの結果解釈の評価法についても検討が進んでいる(ER Riggs et al. Towards an evidence-based process for the clinical interpretation of copy number variation. Clin Genet 81:403-12,2012 など)。ISCAはこれまでマイクロアレイ解析で得られたCNVsを登録対象としていたが、International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG)として、シーケンスレベルの変異も含めたDNA variationを登録する体制に移行した。この動きは、例えばDuchenne型/Becker型Muscular Dystrophy症のようにDMD遺伝子内あるいは周辺遺伝子も含むゲノムコピー数異常でもDMD遺伝子の塩基置換でも発症する疾患の診断に有用となり、新規の原因遺伝子探索研究への応用も期待される。

NGSによるWES解析で検出される塩基置換などの変異に、人種差があることが報告されているが、CNVsにおいても同様であり、さらなるデータ蓄積が必要である。

当施設でこれまでマイクロアレイ染色体解析した症状のない患者の親等健常成人約100名、他施設の約50名の解析結果を、国内で先天異常患者の診断目的にマイクロアレイ染色体検査を実施している主な8施設間で、領域情報について共有する試みを開始した。現在推奨されている条件で当施設で解析したデータの概要は、ひとりにつき5~10個のCNVsが検出され、集計すると185領域にCNVsを検出し、そのうち5名以上に検出された領域が約11%、約75%は1例のみに検出したCNVsであった。2010年時のDGVとの比較では、85領域の約40%が類似の登録がない領域だった。また、185領域のうち70%以上が既知の遺伝子とオーバーラップしており、そのうち23領域(全体の12.4%)は疾患との関連について報告のある遺伝子を含む領域であった。2013年11月に追加・公表されたHuman Genetic Variation Database (HGVD)の1,208名の健常日本人のWES結果からも日本人特有なSNPsが多数あることが示されたように、CNVsでも同様のことが示唆され、健常日本人CNVsのデータベースもSNPsデータベースと関連して構築することが求められる。

偶発的所見

全ゲノムを対象として実施する遺伝学的検査において検出される可能性のある偶発的所見(Incidental Findings; IF)に関する議論は、2013年に米国から Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues として公表された「Anticipate and Communicate. Ethical Management of Incidental and Secondary Findings in the Clinical, Research and Direct-to-Consumer Context. Presidential Commission for the Study of Bioethical Issues」をはじめ、ESHG や ASHG で議論が活発になってきている。

IFについては、2013年3月に米国臨床遺伝・ゲノム学会米国臨床遺伝・ゲノム学会(American College of Medical Genetics and Genomics; ACMG)のワーキンググループが、臨床検査として実施されるWES解析において、被験者にその結果を開示すべき24疾患、56遺伝子を公表した(Green RC et al, 2013)。

主な疾患としては、遺伝性乳がん卵巣癌症候群(HBOC)などの遺伝性腫瘍(16疾患)、Marfan症候群や遺伝性不整脈などの循環器疾患(7疾患)および悪性高熱症が含まれている。主にNGSを用いた解析を想定しているが、マイクロアレイ染色体検査で検出されうる疾患もあり、同様に留意する必要がある。これらの疾患・遺伝子は、変異が明らかになった場合には、浸透率が高くほぼ間違いなくその疾患に罹患すること、および診断された場合に、治療法・予防法があり、被験者・血縁者にとって健康上のメリットがあることから、IFが見出される可能性をあらかじめ認識しておくことと、被験者への十分な情報提供と意思疎通を行うことが必要としている。

しかしながら、このACMGガイドラインには、検査サイドに過度の負担がかかること、拒否する権利が認められていないこと、子どもの人権が守られていないこと、結果報告が健康の保持に役立つという根拠が十分ではないことなどの批判があり、ACMGでは再度、会員に対してアンケート調査を行っているところである。

わが国においても、早急に偶発的所見についての対応策についての議論を深化させておく必要がある。

臨床応用

現在最も汎用されている次世代シーケンサーは、100-150bp程度の短い断片の塩基配列決定を基本としているため、遺伝子全体を含むCNVsや、サイズの大きい欠失や挿入などゲノム構造の変化を伴う変異の検出は困難である。DGVは、健常者について50bp以上のDNA断片のゲノム変異を登録・公開しているが、現時点で22300を超えるゲノムから250万以上登録されたゲノム変異の断片の大きさは50bpから3Mbにおよび、44%は数十kb以上のCNVs検出を目的とするマイクロアレイ解析による結果であることが示されている。この結果は、特に小児の原因不明の遺伝性難治疾患の原因遺伝子探索に際しては、WES解析の前にマイクロアレイ染色体解析によりpCNVsを否定しておくことが現時点では有用であることを示している。

また、英国Sanger研究所では、Deciphering Developmental Disorders (DDD) studyとして、発達障害患者の診断と医療対応の向上を目的に、患者とその両親に研究参加を呼びかけ、

12000 トリオについてマイクロアレイ染色体検査と WES 解析を実施し、得られた情報を DECIPHER に登録するプロジェクトを進めている。このプロジェクトを通じて得られる正常成人としての両親のデータの蓄積の重要性も大きい。

マイクロアレイ染色体検査が従来の分染法と大きく異なるところは、マイクロアレイ染色体検査の結果が、サイズは大きいがシーケンススペースで示されることである。NGS のデータから CNVs を検出する解析ソフトも開発されつつあり、将来的には CNVs の検出も NGS により解析可能となるであろうこと、諸外国で遺伝学的検査が総合的に実施されていることを考慮すると、マイクロアレイ染色体検査の実施体制は NGS を用いた塩基配列決定解析とともに体制整備されることが望まれる。臨床的に確定診断が困難な小児の先天異常疾患においては、全ゲノムを対象としたマイクロアレイ染色体検査が広く普及しており、わが国でも早急にこの解析法を遺伝学的検査として実施できる体制を構築する必要がある。

日本人ゲノムに固有の CNVs も多くあり、健常日本人集団で観察される CNVs、疾患に関連して観察される CNVs についてデータベースを構築し、症例的に NGS 解析による遺伝学的検査の解釈にも繋がる情報基盤として整備を進める必要がある。

これまでにマイクロアレイ染色体解析および網羅的エクソーム解析を実施したものの VUS という評価で原因の特定に至らなかった症例については、さらなる症例の蓄積と症状の再評価が求められる。各患者の臨床データと CNVs/SNPs データを融合させたデータベースがますます重要となると考えた。

原因不明の先天異常患者への応用に際しては、さまざまなデータベースを参照しながら、疾患との関連性の高い変異を絞り込む作業を担当する専門家、当該疾患の診療と変異による評価を判断する専門家の関与が必要なことは、NGS 解析と共通している。CNVs 領域の解析結果の解釈には、さらに染色体転座などゲノムワイドな構造変化を考慮できる臨床細胞遺伝学の専門知識と技術も不可欠であり、人材育成も大きな課題である。

E. 結論

マイクロアレイ染色体検査により得られる CNVs データは DNA variants のひとつであり、

CNVs データおよび結果解釈データの蓄積は、今後の NGS の結果解釈にも必要となる。偶発的所見を検出する課題も共通する。遺伝学的検査は、分子遺伝学的検査による塩基配列決定だけでなく、マイクロアレイ染色体検査を含む細胞遺伝学的検査も総合的に実施される必要がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Narumi Y, Min BJ, Shimizu K, Kazukawa I, Sameshima K, Nakamura K, Kosho T, Rhee Y, Chung YS, Kim OH, Fukushima Y, Park WY, Nishimura G. Clinical consequences in truncating mutations in exon 34 of NOTCH2: report of six patients with Hajdu-Cheney syndrome and a patient with serpentine fibula polycystic kidney syndrome. *Am J Med Genet A*, 161A:518-526, 2013

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saito H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet A*. 161A:1221-1237, 2013

Tanaka K, Sekijima Y, Yoshida K, Tamai M, Kosho T, Sakurai A, Wakui K, Ikeda S, Fukushima Y. Follow-up nationwide survey on predictive genetic testing for late-onset hereditary neurological diseases in Japan. *J Hum Genet*, 58: 560-563, 2013

Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J*

Med Genet A, 164A: 324-330, 2014

Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oh-Ishi T, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y. Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. Am J Med Genet A, 164(3): 597-609, 2014

2. 学会発表

涌井敬子, 古庄知己, 鳴海洋子, 福嶋義光. CGHアレイ解析のピットフォール - 稀な benign CNV の影響で正確な欠失/重複範囲の特定ができない場合がある 日本小児遺伝学会学術集会第 36 回日本小児遺伝学会学術集会, 2013 年 4 月, 広島

Nishi E, Mizuno S, Aoki Y, Saito Y, Fukushima Y, Matsubara Y, Kosho T. A Novel MEK1 Mutation in a Patient with LEOPARD Syndrome. 欧州人類遺伝学会 2013, 2013 年 6 月, パリ

涌井敬子, 古庄知己, 福嶋義光. マイクロアレイ染色体検査結果解釈の留意点 - ゲノムコピー数変化の結果のみから正確な染色体再構成が確定できない染色体異常例 - . 第 20 回日本遺伝子診療学会大会, 2013 年 7 月, 浜松

涌井敬子, 山口智美, 古庄知己, 福嶋義光. マイクロアレイ染色体解析により検出された日本人成人のゲノムコピー数変化(CNVs). 次世代シーケンサー現場の会第三回研究会, 2013 年 9 月, 神戸

Nishi E, Takasugi M, Hiroma T, Nakamura T, Fukushima Y, Kosho T. Neonatal Management of Trisomy 13: Clinical Details of 12 Patients Receiving Intensive Treatment. 米国人類遺伝学会 2013, 2013 年 10 月, ボストン

Narumi Y, Nishina S, Tokimitsu M, Aoki Y, Kosaki R, Kosho T, Murata T, Takada F, Fukushima Y. Missense mutation of MAF in

a Japanese family with congenital cataract. 米国人類遺伝学会 2013, 2013 年 10 月, ボストン

涌井 敬子, 水野 誠司, 佐村修, 古庄 知己, 大橋 博文, 清水 健司, 福嶋 義光. 異なる 2 種類の 4 番染色体短腕構造異常のモザイクが認められた Wolf-Hirschhorn(4p-)症候群の 2 例, 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013 年 11 月, 仙台

H. 知的財産権の出願・登録状況
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
分担研究報告書

家族性腫瘍の遺伝学的検査の提供体制の研究

研究分担者 古川 洋一 東京大学医科学研究所教授

研究要旨

家族性腫瘍の遺伝子検査は、その必要性は高いが保険収載されているものはまだない。リンチ症候群や家族性大腸腺腫症などの遺伝性大腸がん、遺伝性乳がん卵巣がん症候群、家族性甲状腺がんや多発性内分泌腺腫症などの遺伝子検査は企業により提供されている。しかしその結果の解釈について、まだ十分な体制が整っているわけではない。また検査の感度が十分とは言えないものもある。家族性大腸腺腫症(FAP)は、約7~8の患者に原因遺伝子APCに異常が認められるが、異常が認められない患者もいる。そこで我々は、APCに異常を認めない家族性大腸腺腫症の全ゲノム解析を行い、病気の原因となる変異が同定できるかどうか試みた。

A．研究目的

現在、家族性腫瘍に対する遺伝学的検査は、企業あるいは大学の研究室等により提供されている。これらの検査は、それぞれの疾患の原因遺伝子に絞って、主にPCRダイレクトシーケンス法などで塩基配列を調べるものである。しかし次世代シーケンス解析装置の出現により、一度に全ての遺伝子について調べることが可能となった。全ゲノム解析やエクソーム解析により、これまで原因遺伝子に異常が見つからない家族性腫瘍の原因が明らかとなる可能性が高い。

家族性大腸腺腫症は、大腸を中心に多数のポリープが発生する遺伝性の疾患である。原因遺伝子としてAPC遺伝子が同定され、患者の7~8割に病気の原因となる異常が存在するが、APCに異常を認めない例も存在する。さらにAPC以外の原因遺伝子として、MUTYHやPOLD1、POLE 遺伝子の異常も報告されている。したがって、APC遺伝子に異常を認めなかった場合には、これらの原因遺伝子の検査も必要であるとともに、未同定の新たな原因遺伝子異常が関与する可能性がある。そこで我々は、PCRダイレクトシーケンス法でAPCに異常を認めなかった家族性大腸腺腫症の患者のDNAを用いて、全ゲノム解析を行い、病気の原因となる変異の同定を試みた。

本研究は、これまでの原因遺伝子のみを調べる遺伝子検査で同定できない、家族性腫瘍の原因を明らかにするための解析方法の基盤を構築することを目的としている。

B．研究方法

共同研究機関で治療を受けた家族性大腸腺腫症患者のうち、遺伝カウンセリングを受けて遺伝子検査の説明と同意を得、PCRダイレクトシーケンス法による解析でAPC遺伝子に異常を認めない患者1名を対象とした。

血液から抽出したDNAを用いて、illumina HiSeq 2000により全ゲノム解析(WGS)を行った。得られたデータは、本研究所ヒトゲノム解析センターのDNA情報解析分野にてMappingを行い、さらにヒトゲノム標準配列と比較した。（倫理面への配慮）

本研究は、共同研究施設および当研究所の倫理審査委員会の承認のもとに行われた。研究参加者には、ゲノム解析を含む研究の説明を行い、研究参加の任意性などを説明し、インフォームドコンセントを得て行われた。連結可能匿名化後に、試料を受領し解析が行われた。

C．研究結果

1. 変異の同定
今回の解析では、約400万か所の変異を同定した。これらの変異の中で、エクソンおよびスプライスサイトの変異は約3万か所であった。
2. 原因となる変異の同定
まず、APC遺伝子に着目してエクソン内の変異の検討を行った。その結果8つのsingle nucleotide variants (SNVs)が同定された。

このうち、7つはPCRダイレクトシーケンシング (Sanger法)でも同定されていた。残る1つは同定されていなかった。この変異の頻度は6/50 (12%)であった。

3. Deep Sequencingによる変異アレルの検討

上記変異について再度Sanger法により変異を確認したが、変異とは判定不可能であった。そこで変異のある細胞頻度が少ない可能性を考え、IonPGMシーケンサーを用いて変異頻度を検討した結果、coverage=3726にて12%の変異を認めた。

D . 考察

上記APC遺伝子の変異は、ナンセンス変異でありタンパクの機能を喪失する変異であった。しかし、血液細胞から抽出したDNAの中で約12%であったため、体細胞モザイクの状態が強く疑われた。体細胞モザイクでは、臓器毎にその変異細胞の割合が異なる可能性がある。他の正常臓器 (特に大腸) での変異の検出が必要である。また両親の血液を調べ、変異の有無を検討することが望まれる。本症例では両親がポリポーシスではないことが分かっているため、患者受精卵に起こった*De novo*変異である可能性は十分に考えられる。

E . 結論

本研究ではAPC以外の遺伝子の病的変異を予想して研究を行ったが、予想に反してSanger法のシーケンシングでは同定できないAPC変異を同定した。本変異が受精卵に起こった新生変異であること、病気の原因となっていることを確認する必要があるが、次世代シーケンサー

による解析法が、感度の点で従来の検査法より優れていることを示唆するものである。

G . 研究発表

1. 論文発表

- Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, Kawakita T, Kato S, Ooi J, Tojo A, Yusa N, Furukawa Y, Oyaizu N, Watanabe J, Sato K, Kimura F, and Tsuji K. Quantitative PCR detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 syndrome. *Leukemia & Lymphoma*, 54(9): 2068-9, 2013.
- Shigeyasu K, Tanakaya K, Nagasaka T, Aoki H, Fujiwara T, Sugano K, Ishikawa H, Yoshida T, Moriya Y, Furukawa Y, Goel A, Takeuchi H. Early detection of metachronous bile duct cancer in Lynch syndrome: report of a case. *Surg Today*. Jul 31, Epub, 2013.

2. 学会発表

次世代シーケンサーがもたらす近未来の医療
(第19回日本家族性腫瘍学会学術集会 2013年7月27日 大分)

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamamoto, S., Ebihara, Y., Mochizuki, S., Kawakita, T., Kato, S., Ooi, J., Tojo, A., Yusa, N., Furukawa, Y., Oyaizu, N., Watanabe, J., Saito, K., Kimura, F., and Tsuji, K.	Quantitative PCR detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 syndrome.	Leukemia & Lymphoma	54(9).	2068-2069	2013
Shigeyasu K, Tanaka K, Nagasaka T, Aoki H, Fujiwara T, Sugano K, Ishikawa H, Yoshida T, Moriyama Y, Furukawa Y, Goel A, Takeuchi H.	Early detection of metachronous bile duct cancer in Lynch syndrome: report of a case.	Surgery Today	Jul 31	Epub	2013

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班
分担研究報告書

遺伝性疾患の遺伝学的検査の提供体制に関する研究

研究分担者 難波 栄二¹⁾²⁾³⁾

研究協力者 足立 香織¹⁾

- 1) 鳥取大学生命機能研究支援センター、2) 鳥取大学医学部附属病院 遺伝子診療科
3) 鳥取大学医学部附属病院 次世代高度医療推進センターゲノム医療部門

研究要旨： 小児神経疾患を中心に、より多くの遺伝性疾患の遺伝学的検査に対応できるよう、その解析体制について検討した。従来のキャピラリーシークエンサーを用いた遺伝子解析に加え、次世代シークエンサーを用いた遺伝子解析についても検討を行った。
鳥取大学医学部附属病院 次世代高度医療推進センターを窓口とし、院内・院外の遺伝学的検査の依頼に対応可能となった。

A．研究目的

遺伝性疾患は数千種類を超えるが、現在、保険収載されている遺伝性疾患の遺伝学的検査は、そのうちわずか 35 疾患にとどまっている。また、これら疾患の中には、物理的に臨床検査会社では実施不可能なものもあり、依然、研究ベースで実施されている場合が多い。

遺伝学的検査を実施する新たな体制の構築を検討するため、より多くの疾患に対応できる体制の検討を行った。

B．研究方法

遺伝子診断体制の効率化を図るため、以下を実施した。

1) 検査依頼窓口の設置

鳥取大学医学部附属病院次世代高度医療推進センターを受付窓口とし、院内・院外すべての受付を一本化した。検体は「遺伝学的検査に関するガイドライン」に従って

採取し、受け付けた。

2) キャピラリーシークエンサーによる遺伝子解析

独自に PCR プライマー設計を行って PCR を実施した後、ABI Genetic Analyzer 3130xl で泳動を行った。データ解析には Variant reporter ソフトウェア (ABI)、Sequence Scanner (ABI)、Genetyx ソフトウェアを使用した。また、見つかった変異については HGMD (The Human Genome Mutation Database,

<https://portal.biobase-international.com/cgi-bin/portal/login.cgi>(有料版)、dbSNP (NCBI)、PolyPhen (prediction of functional effect of human nsSNPs)

<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/> 等による解析結果も参考として報告書に記載した。

3) 遺伝学的診断の体制

鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野では、遺伝学的診断を含めた遺伝子解析を臨床遺伝専門医・指導医 1 名、助教 1 名、8 時間非常勤職員 2 名、6 時間非常勤職員 2 名、アルバイト職員 3 名の体制で構築した。

また、鳥取大学医学部附属病院次世代高度医療推進センターでは認定遺伝カウンセラー 1 名、6 時間非常勤職員 2 名を配置し、院内・院外の遺伝学的検査の依頼に対応した。

各疾患の遺伝子解析は、DNA 分離、PCR、DNA シークエンス、データ分析、報告書作成、など各ステップに分け、それぞれのステップごとに担当者を決める体制を構築した。情報はオンライン上でファイルを共有し、データの蓄積にはオンラインストレージを利用した。

4) 次世代シーケンサー利用の検討

本年度、生命機能研究支援センターに設置された次世代シーケンサー（Illumina Miseq、Life Technologies Ion PGM、Ion Proton）を遺伝子診断に使用できるよう、検討を開始した。従来法で既に変異が見つかった検体及び市販の Human Genomic DNA（タカラバイオ）を用いて、遺伝性疾患パネルによる解析を行った。

（倫理面への配慮）

次世代シーケンサーを用いたヒト単一遺伝子病の原因遺伝子探索システム構築の研究は、鳥取大学医学部倫理委員会の審査を経て、承認を得てから開始した。（承認番号 G138）

C. 研究結果

本年度はキャピラリーシーケンサーを用いて、下記 25 疾患 35 遺伝子、97 件の遺伝学的検査を実施した。

疾患名	遺伝子	件数
Myotonic Dystrophy	<i>DMPK</i>	28
Niemann-Pick Disease type C	<i>NPC1</i>	20
Gaucher disease	<i>GBA</i>	9
Fabry disease	<i>GLA</i>	4
Porphyria	<i>PPOX, AIP</i>	4
Enlarged Parietal Foramina	<i>ALX4, MSX2</i>	3
GM1 gangliosidosis	<i>GLB1</i>	3
Mowat-Wilson syndrome	<i>ZEB2</i>	3
Von Hippel-Lindau disease	<i>VHL</i>	3
Duchenne muscular dystrophy	<i>DMD</i>	2
Greig cephalopolydactyly syndrome	<i>GLI3</i>	2
Joubert syndrome	<i>AHI1</i>	2
小児良性腫瘍	<i>GNAS, CDC73</i>	2
Benign hereditary chorea	<i>NKX2-1</i>	1
Galactosialidosis	<i>CTSA</i>	1
Gardner's syndrome	<i>AXIN1</i>	1
Gelatinous drop-like corneal dystrophy	<i>TACSTD2</i>	1
Melanoma	<i>CDKN2A</i>	1
Metachromatic Leukodystrophy	<i>ARSA</i>	1
Niemann-Pick disease, type C2	<i>NPC2</i>	1
Rett syndrome/ MECP2-Related Disorders	<i>MECP2</i>	1

Sialidosis	<i>NEU1</i>	1
Spinal muscular atrophy	<i>SMN1</i>	1
Tay-Sachs disease	<i>HEXA</i>	1
Tuberous sclerosis	<i>TSC1, TSC2</i>	1

D . 考察

キャピラリーシーケンサーを用いた遺伝子解析では、工程を細分化し、担当者を割り振ることにより、多くの遺伝子解析に対応した。

原因遺伝子（解析エクソン数）が多数ある疾患については、PCR シークエンス法では限界があり、次世代シーケンサーでの解析システムの構築を開始した。メーカー等から解析ソフトウェアが提供されているものの、現状ではデータ解析に詳しい者が必須となっており、鳥取大学では技術部の協力を得ながらシステム構築を進めている。

検体受付及び結果返却の窓口を鳥取大学医学部附属病院次世代高度医療推進センターへ一本化し、院内のみならず、院外からの遺伝学的検査の依頼に対応した。料金体系についても整備を行ったが、混合診療の問題が課題として残っており、引き続き今後の検討が必要である。

E . 結論

1. 効率的な遺伝学的検査の方法について検討した。
2. DNA 分離、PCR、DNA シークエンス、データ分析、報告書作成、など各ステップに分け、それぞれのステップごとに担当者を決める体制を構築し、効率化を図った。
3. 次世代シーケンサーを用いた解析システムの構築を開始した。
4. 受付窓口を一本化し、院内・院外の遺伝学的検査に対応できる体制を整えた。

混合診療の問題については、引き続きの検討が必要と思われた。

F . 健康危険情報 なし

G . 研究発表

1. 論文発表

1. Adachi K. Expansion of Genetic Testing in the Division of Functional Genomics, Research Center for Bioscience and Technology, Tottori University from 2000 to 2013. *Yonago Acta Med.* in press.
2. Chiba Y, Komori H, Takei S, Hasegawa-Ishii S, Kawamura N, Adachi K, Nanba E, Hosokawa M, Enokido Y, Kouchi Z, Yoshida F, Shimada A. Niemann-Pick disease type C1 predominantly involving the frontotemporal region, with cortical and brainstem Lewy bodies: An autopsy case. *Neuropathology.* 2014 Feb;34(1):49-57.
3. Fujimoto S, Manabe Y, Fujii D, Kozai Y, Matsuzono K, Takahashi Y, Narai H, Omori N, Adachi K, Nanba E, Nishino I, Abe K. A novel mutation of the GAA gene in a patient with adult-onset Pompe disease lacking a disease-specific pathology. *Intern Med.* 2013;52(21):2461-4.
4. Sekijima Y, Nakamura K, Kishida D, Narita A, Adachi K, Ohno K, Nanba E, Ikeda S. Clinical and serial MRI findings of a sialidosis type I patient with a novel missense mutation in the *NEU1* gene. *Intern Med.* 2013;52(1):119-24.

2. 学会発表

足立香織、難波栄二．日本における遺
伝子診断システムのモデル構築．日本
人類遺伝学会第 58 回大会 2013 年 11
月 20 日-23 日、仙台

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
分担研究報告書

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

研究分担者 秋山 真志 名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学分野

研究要旨： 本研究の目的は、我が国において最適な遺伝性皮膚疾患の遺伝子診断体制の提供と、皮膚科領域における遺伝学的検査の実施拠点の在り方についての提言を行うことである。本研究班会議において、他診療科領域の研究分担者との連携を形成し、皮膚科領域の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の実施拠点の在り方と、次世代シーケンサーの実用化についての、検討課題の具体化を図ってきた。本研究では、皮膚科領域における遺伝学的検査実施拠点の在り方を明らかにし、本邦での皮膚科領域での次世代シーケンサーの実用化のための施策の検討を行った。次世代シーケンサーによるゲノム解析拠点は、皮膚科領域でも高度なゲノム解析技術を担う役割を果たす必要がある。皮膚疾患についても、診断確定のために、遺伝子検査、特に、複数の遺伝子を対象としたクリニカルシーケンシングの必要性が医療現場で高まってきている。クリニカルシーケンシングにおいて、網羅的な遺伝子解析が必須となっており、次世代シーケンサーの持つ役割は大きくなっている。

A. 研究目的

本研究の目的は、我が国において最適な遺伝性皮膚疾患の遺伝子診断体制の提供と、遺伝学的検査の実施拠点の在り方についての提言を行うことである。本年度においては、皮膚科領域の遺伝性疾患に対する遺伝学的検査の実施拠点の在り方と、次世代シーケンサーの実用化について、我が国の現状を把握し、適切な遺伝学的検査の提供体制についての提言を行い、方策を具体化することを目標として研究を行った。

B. 研究方法

本研究班会議において、他診療科領域の研究分担者との連携を形成し、皮膚科領域の遺伝性疾患に対

する遺伝学的検査の実施拠点の在り方と、次世代シーケンサーの実用化についての、検討課題の具体化を図ってきた。本研究では、皮膚科領域における

遺伝学的検査実施拠点の在り方を明らかにし、本邦での皮膚科領域での遺伝学的検査提供体制の整備と次世代シーケンサーの実用化のための施策の検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト遺伝子解析結果等の情報を含む可能性があるため、倫理的配慮と研究対象者に対する十分なインフォームドコンセントの下、施行した。

C. 研究結果

皮膚科領域においても次世代シーケンサーによるゲノム解析、解析拠点の必要性を再認識した。次世代シーケンサーによるゲノム解析拠点は、皮膚科領域でも高度なゲノム解析技術を担う役割を果たす必要がある。皮膚科領域でも、クリニカルシーケンシングにおいて、網羅的な遺伝子解析が必須となってきたおり、次世代シーケンサーの持つ役割は大きくなっている。また、皮膚科領域でも、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いることが、明らかとなった。さらに、皮膚疾患についても、診断確定のために、遺伝子検査、特に、複数の遺伝子を対象としたクリニカルシーケンシングの必要性が医療現場で高まってきている。

D. 考察

皮膚科領域において、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析は、診断確定のために、非常に強力なツールであり、クリニカルシーケンシングとして、診療において必須のものとなってきた。従って、次世代シーケンサーを用いた解析拠点の整備、充実は皮膚科領域でも、喫緊の課題となっている。皮膚疾患に対するクリニカルシーケンシングとしての次世代シーケンシングの過程においては、次世代シーケンサーから産生される膨大な変異データをいかに適切に解釈するか、という点が最大の課題であり、この機能は、皮膚科領域においても、次世代シーケンサーの解析拠点の機能として強化する必要がある。

E. 結論

皮膚科領域での次世代シーケンサーを用いたクリニカルシーケンシングの実施に向けて、検討すべき課題を抽出し、実施体制について具体的な提言を行った。稀少難治性皮膚疾患調査研究班を始

めとして、難病研究班との連携によるクリニカルシーケンシング実施体制のネットワーク化を、皮膚科領域においても、今後目指す。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

論文 1) Sugiura K, Takemoto A, Yamaguchi M, Takahashi H, Shoda Y, Mitsuma T, Tsuda K, Nishida E, Togawa Y, Nakajima K, Sakakibara A, Kawachi S, Shimizu M, Ito Y, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Muro Y, Ishida-Yamamoto A, Sano S, Matsue H, Morita A, Mizutani H, Iizuka H, Muto M, **Akiyama M**

The majority of generalized pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36 receptor antagonist.

J Invest Dermatol 133: 2514-2521, 2013.

論文 2) Kono M, Sugiura K, Suganuma M, Hayashi M, Takama H, Suzuki T, Matsunaga K, Tomita Y, **Akiyama M**

Whole-exome sequencing identifies ADAM10 mutations as a cause of reticulate acropigmentation of Kitamura, a clinical entity distinct from Dowling-Degos disease.

Hum Mol Genet 22: 3524-3533, 2013.

論文 3) Ogawa Y, Takeichi T, Kono M, Hamajima N, Yamamoto T, Sugiura K, **Akiyama M**

Revertant mutation releases confined lethal mutation, opening Pandora's box: a novel genetic pathogenesis.

PLoS Genetics (in press)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特に無し。

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
分担研究報告書

遺伝学的検査による難聴の分子病態の解明

研究分担者 野口 佳裕 東京医科歯科大学耳鼻咽喉科 講師

研究要旨

頻度の高い内耳奇形である前庭水管拡大症では、難聴の変動や反復性めまい発作が特徴とされてきた。前庭水管拡大症に伴う *SLC26A4* 変異例、*ATP6V1B1* 変異例、*SIX1* 変異例の検討では、これらの特徴は前庭水管拡大という形態的特徴ではなく内リンパ pH ホメオスタシスの破綻が関与する可能性が考えられた。一方、常染色体優性遺伝性難聴家系において日本人初の *DFNA5* 変異を同定し、その変異が東アジアにおける創始者変異であることが示唆された。

A.研究目的

難聴は、生活の質を著しく低下させる感覚器障害である。難聴は先天性もしくは後天性に発症するが、先天性難聴においては早期発見と早期療育が児の将来的なコミュニケーション能力の獲得を左右する。先天性難聴の半数以上がメンデル遺伝病としての遺伝性難聴であるため、早期診断や難聴病態解明のための遺伝学的検査の重要性は高い。本研究では、前庭水管拡大症(enlargement of the vestibular aqueduct、以下 EVA)を合併する遺伝性難聴例における genotype-phenotype correlation、日本人常染色体優性遺伝性難聴における *DFNA5* 変異を明らかとすることを目的とした。

B.研究方法

当施設を受診した遺伝性難聴家系に対して、表現型と遺伝型との関連を解析する。

(倫理面への配慮)

難聴の遺伝学的検査は、当施設の倫理審査委員会の承認のもと文書による同意取得の後に行っ

C.研究結果

(1) EVA における genotype-phenotype correlation

EVA は頻度の高い内耳奇形であり、*DFNB4*/*Pendred* 症候群、*BOR*/*BO* 症候群、遠位尿細管性アシドーシスなどの多彩な疾患群に合併しうる。今回われわれは、前庭水管拡大症を伴う *SLC26A4* 変異 5 例、*ATP6V1B1* 変異 1 例、*SIX1* 変異 2 例の聴平衡覚所見を検討した。これまで EVA の臨床的特徴として、難聴の進行や変動、反復性の発作性回転性めまいが報告されてきた。しかし、難聴の変動や反復性めまい発作は *SIX1* 変異例にのみ認められなかった。

(2) 日本人常染色体優性遺伝性難聴における *DFNA5* 変異

DFNA5 は常染色体優性の非症候群性遺伝性難聴の原因遺伝子であり、現在までに 4 つの異なる変異が報告されている。このうち、3 塩基欠失変異(c.991-15_991-13 del)は中国人と韓国人の常染色体優性の非症候群性遺伝性難聴家系に同定さ

れている。今回の研究では、常染色体優性の非症候群性遺伝性難聴を有する日本人患者 65 人に対して、*DFNA5* のイントロン 6 からエクソン 9 までの範囲における変異検索を行い、前述の 3 塩基欠失変異を 2 人に同定した。さらに、変異を認めた日本人家系にハプロタイプ解析を行い、過去の報告にある中国人および韓国家系のハプロタイプと比較したところ、41,874 塩基に及ぶ共有領域が認められた。

D. 考察

EVA において、*SLC26A4* 変異例、*ATP6V1B1* 変異例が呈した難聴の変動や反復性めまいは *SIX1* 変異例では認められなかった。*SIX1* は転写因子であり内耳発生に關与する。一方、*SLC26A4* がコードする pendrin は $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 交換体として働き、*ATP6V1B1* は H^+ -ATPase のサブユニットの 1 つをコードする。EVA における難聴の変動やめまいは前庭水管拡大という解剖学的特徴に起因するのではなく、*SLC26A4* や *ATP6V1B1* が担う内リンパ pH ホメオスタシスの破綻が關与する可能性が考えられた。

常染色体優性遺伝性難聴において、我々は日本人で初めての *DFNA5* 変異家系を同定した。同定された 3 塩基欠失変異は中国人と韓国家系で認められている既知の変異であり、本変異が東アジアにおける創始者変異である可能性が考えられた。

E. 結論

難聴の遺伝学的検査は、難聴の分子病態の解明に有用であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishio A, Noguchi Y, Sato T, Naruse TK,

Kimura A, Kitamura K. A *DFNA5* mutation identified in Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. *Ann Hum Genet* 78: 83-91, 2014.

- 2) 野口佳裕, 伊藤 卓, 川島慶之, 西尾綾子, 本田圭司, 喜多村 健: 前庭水管拡大症を伴う *SLC26A4*, *ATP6V1B1*, *SIX1* 変異例の聴平衡覚所見の検討. *Equilibrium Research* 72 : 97-106, 2013 .

2. 学会発表

- 1) Kitamura K, Sato T, Noguchi Y, Ayako N, Naruse T, Kimura A, Takagi A. Round Table 8 “Congenital risk factors in sensorineural hearing loss and autoimmune hearing loss” A *DFNA5* Mutation in two Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss. 29th Politzer Society Meeting, Antalya, 2013.11
- 2) 野口佳裕, 西尾綾子, 武田憲昭, 島田亜紀, 千田いづみ, 喜多村 健: 常染色体優性遺伝形式の Auditory neuropathy spectrum disorder の 1 家系 . 第 114 回日本耳鼻咽喉科学会総会, 札幌, 2013.5
- 3) Kato T, Noguchi Y, Kimura Y, Kitamura K: Comprehensive analyses for mitochondrial DNA in patients with hereditary hearing loss. Thirteenth Triennial Meeting The International Otopathology Society, Boston, 2013.6

H. 知的所有権の取得状況 (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

循環器領域への次世代型シーケンス遺伝学的検査導入に かかる問題点に関する研究

研究分担者 森田 啓行¹⁾
研究協力者 山田 奈美恵²⁾

1) 東京大学大学院医学系研究科健康医科学創造講座, 2) 同研究科総合研修センター

研究要旨

次世代シーケンサーにより全エクソーム・全ゲノム解析検査をおこなうと diagnostic result だけではなく、incidental findings (secondary findings) も得られる。本分担研究では、incidental findings をめぐる問題をメインテーマに、次世代シーケンサー遺伝学的検査を循環器領域の診療に導入する際の問題点に関して検討した。incidental findings が診療に与える影響、それらを解決するための方策を考察することにより、次世代シーケンサー遺伝学的検査を循環器領域の診療に実装する前には克服すべき課題が山積していることが確認された。遺伝子解析研究推進による変異データ確立は大前提である。さらに、結果解釈の確実性向上、告知をめぐる倫理的問題、告知後のコンサルテーション整備、説明される側への遺伝教育などに関しても方策を早急に議論すべきと考える。

A. 研究目的

次世代シーケンサー技術の飛躍的な進歩にともない、診療において次世代シーケンサー遺伝学的検査を実施することが「技術的には」可能になった。本研究班では、「研究目的の次世代シーケンサー遺伝子解析」ではなく、「診療目的の次世代シーケンサー遺伝学的検査」に焦点をあて、その実装にあたって考慮すべき諸問題を挙げ、対応策を考察してきた。本分担研究では、次世代シーケンサー遺伝学的検査を循環器領域の診療に導入する際の問題点に関して検討した。

一般に、次世代シーケンサーにより全エクソーム・全ゲノム解析検査をおこなうと diagnostic result だけではなく、incidental findings (secondary findings) も得られる。診療において次世代シーケンサー遺伝学的検査をおこなった際に incidental findings を解釈して患者に告知すべき疾患・遺伝子のミニマムリスト (ACMG56) が 2013 年に ACMG (The American College of Medical Genetics and Genomics) から提唱された[1]が、リストの中身は、がん関連遺伝子以外ほとんどが循環器疾患関連遺伝子で構成されている。循環器領域への

次世代型シーケンサー遺伝学的検査導入にともない発生しうる問題、特に incidental findings の扱いなど倫理的問題に関して考察することは臨床的にきわめて有用と考えられる。

B. 研究方法

肥大型心筋症、拡張型心筋症、不整脈原性右室心筋症、QT 延長症候群、Brugada 症候群、Marfan 症候群などに関して、診療に次世代シーケンサー遺伝学的検査を導入する際の問題点を挙げ、対応策を考察した。

(倫理面への配慮)

本分担研究遂行において該当なし。

C. 研究結果

次世代シーケンサーによる遺伝学的検査に限らず、診療において遺伝学的検査をおこなう際の問題点として、「すべての変異が同定されているわけではない」、「変異が陽性だからといって必ずしも発症するわけではない (浸透率が低い)」、「private variant (他の家系にはみられない)/de novo variant (親から遺伝したわけではない、その個人に発生した)が多く、

未報 variant の場合にはその variant の意義解釈にあたってデータベースやアルゴリズムに頼ることになる。しかしながら、多くの場合、データベース・アルゴリズムは未整備なので因果関係確定が困難となり variant of unknown significance (VUS)にとどまることが多い。「曖昧な結果を患者に返してしまうと不必要な不安を煽る可能性がある」、「変異と予後・最適治療連関が確立していないのでたとえ変異がわかったとしても患者に適切な対策を指示できない」などがあり、それらに対する方策に関しては以前に議論したとおりである[2]。次世代シーケンサーによりターゲットになる遺伝子群だけを検査する(ターゲットリシーケンスをおこなう)場合には変異検出感度・特異度やコスト以外に新たな問題が生じる可能性は低いが、全エクソーム解析をおこなった場合にはこれまでに経験しなかった問題が発生することが予想される。そのひとつが incidental findings (secondary findings)である。

全エクソーム解析における incidental findings は diagnostic results 以外に判明した、将来のリスクを示唆する variant を指す。incidental findings を説明する際にはCT検査など画像検査にしばしば例えられる(腎臓の画像検査をおこなったところ副腎に腫瘍が見つかった、など)が、決定的に違う点がある。画像検査で判明する incidental findings は「疾患そのもの」であるのに対し、全エクソーム解析における incidental findings は「疾患のリスク」とどまる、という点である。解釈、患者説明の局面でこの違いを十分に考慮する必要がある。「あくまでリスクにすぎない」という捉え方に加え、遺伝学的検査結果の特殊性(不変性、予見性、共有性、危害性)にも注意を払う必要がある。ここでは、議論をわかりやすいものにするために incidental findings の範囲を既報変異だけに限定する。

ACMG は clinical sequence に関する policy statement を 2012 年に発出し、その中で incidental findings に関して検査前に患者と議論し同意を得るべきである、検査すべきである、検査結果を告知すべきであると述べている[3]。どのような遺伝子が検査され告知の対象になるのか、たとえば、未だ研究段階であり意義づけがはっきりしていない variant は対象にしない、など「検査前に」決め同意を得るべき、としている。さらに ACMG Working Group は、germline の全エクソーム・全ゲノム解析検査を診療でおこなった場合に、最低限でもどの遺伝子において変異を同定し告知すべ

きかそのミニマムリスト (ACMG56) を発表した[1]。これは年次改訂の予定ということであるが、がん関連以外では、Ehlers-Danlos 症候群 vascular type、Marfan 症候群・Loeys-Dietz 症候群・家族性胸部大動脈瘤解離症候群、肥大型心筋症、カテコラミン誘発多形性心室頻拍、不整脈原性右室心筋症、QT 延長症候群、家族性高コレステロール血症の遺伝子群において変異を同定し、年齢を問わず、告知すべきとしている。予め incidental finding 同定のための範囲を決めてしまいその範囲に関する完全な告知を望まない患者はシーケンス検査そのものを受けるべきでないとするこのミニマムリストに対しては、自己決定権 autonomy を否定するものだとする強い反論も見られ[4]、どのような年次改訂がおこなわれるかが注目されている。

D. 考察

ACMG56(2013)が適正か否かはさらに議論が必要であるが、全エクソーム解析検査をおこなった後の incidental findings の扱いに関して予め決めておくことは重要と考える。incidental findings を解釈し告知すべきターゲット領域一覧を検査前に決めておく(本邦の各専門領域の学会がワーキンググループを作りターゲット領域一覧の妥当性を検証する必要がある)のが理想的であるが、それが整備されるまでは incidental findings が偶然得られる可能性があることを事前説明したうえで遺伝学的検査の同意を取得することが必要である。ターゲット領域一覧があるにせよ、偶然見つかったときに個別対応するにせよ、一般の医師が一連のハンドリングをおこなうのは現実的に困難である。incidental findings が得られた時の紹介ルールを検査前に決めておくことが重要であろう。医師は「incidental findings が見つかりましたが、確定および今後のコンサルテーション方針に関しては～を受診してください」と患者に説明する、各専門領域ごとに拠点医療機関を設置する、あるいは、各専門領域の学会に臨床遺伝専門医からなるワーキンググループを作りそこで判断する、など対策を講じる必要がある。

ゲノム研究は日進月歩であり、1-3年後には incidental findings 解釈の根拠になるデータが替わることが予想されるので、アップデート解釈を定期的におこない、患者説明を定期的に行い直すべきである。variant のカテゴリーをアップデートし、各カテゴリーに関して患者にリスクベネフィットをわかりやすく提供し、患

者自身が範囲を選び、結果が「アップデート解釈」「アップデート対応策」とともに返されるのが理想である。また、従来型シーケンスの時代は当該疾患と遺伝子の関係だけを知っていれば事足りたが、次世代シーケンサー時代にはこのような incidental findings の意味も理解しなくてはならない。従来型の遺伝学的検査に比べて理解が難しいので国民に対する遺伝教育と医療者に対するさらなる遺伝医療教育が必要とされる。

ACMG56 で incidental findings を解釈し告知すべきとされている肥大型心筋症、拡張型心筋症、不整脈原性右室心筋症、QT 延長症候群、Brugada 症候群、Marfan 症候群、Loeys-Dietz 症候群の遺伝子診療の現況を疾患別に概観し、実現可能性、可能にするための方策を考察する。

肥大型心筋症 (Hypertrophic Cardiomyopathy; HCM)

循環器領域の単一遺伝子疾患(常染色体優性遺伝疾患)として最多である。軽度の左室肥大をきたすが無症状で診断には至らないという症例も多い。心不全、心房細動の合併、塞栓症・脳卒中以外に突然死発症には特に注意を払う必要がある。HCM は若年者突然死の主因である。心筋細胞内にある筋原線維サルコメアを構成するタンパクの遺伝子変異が現在までに 1000 種類以上報告されている。肥大型心筋症患者の 60%程度に原因変異が同定されている。

diagnostic result として既報変異が同定された場合にも下記のような留意点がある[5]。

- 1) 診断確定の「補助」診断として有用である、遺伝学的検査による変異同定は診断に必須ではない、ただし、原因変異と確定すれば血縁者の遺伝子スクリーニングにも有用である。
- 2) 浸透率が低いので既報変異がみつかったも必ず発症するとは言い切れない。
- 3) private variant が多いので既報変異以外であってもその家系においてのみ原因変異としてはたらく variant である可能性を否定できない。
- 4) 「既報変異」データベース自体の信憑性も再精査する必要がある。大規模シーケンス解析が可能になった昨今、健常者であってもサルコメア遺伝子に rare variant を持っていることがわかってきた。3600 名のコホートで、8 サルコメアタンパク遺伝子を調べたところ[6]、402 名(全体の 11.2%)がアミノ酸置換をきたす rare variant を有しており、そのうち pathogenic と判定されるのは 22 名(全体の 0.6%)であった。このように rare variant は健

常者にも相当数見られることから、HCM 患者で見つかったサルコメア遺伝子の rare variant をそのまま「既報変異」として変異データベースにリストアップしてはいけないことがわかる。本来は家系内での co-segregation(発症者はすべて変異陽性者)を確認して初めて原因変異と断定できる。変異データベースにリストアップする際に、どの程度 HCM との因果関係が証明された variant が注釈をつける必要があると考える。したがって、遺伝学的検査時も「既報変異」が見つかったからといって、それが HCM の原因であると即断してはいけない。どの程度検証された後に報告された変異なのかを個別に吟味する必要がある。さらに、家系内の co-segregation を確認し原因変異を確かなものにするようつとめる。

5) 「この遺伝子変異がある」とこのような病態になる」という対応関係がはっきりしない、遺伝子解析結果を ICD 植込みによる一次予防有効例選別に使用できれば理想的であるが、実現していない。

incidental findings として HCM 既報変異が検出された場合、その症例は genotype(+)phenotype(-)ということになる。genotype(+)phenotype(-)例の予後、治療反応性は未解明なので、年一回の心エコーフォローアップを勧め、早期発見につとめるのが現実的である。

拡張型心筋症 (Dilated Cardiomyopathy; DCM)

DCM 患者の約 30%に原因変異が同定されているにとどまる。各家系で個別的に発生しその家系で受け継がれている private variant がほとんどで、原因遺伝子は約 40 遺伝子と多岐に渡る。一般に浸透率は低く、variant 陽性でも若年期には発症しないことも多い。小家系から候補遺伝子アプローチにより同定されたものが多く、それらの中で co-segregation が十分確認されていない variant は、厳密には「原因変異」というよりも pathogenic variant にとどまる。遺伝学的検査時に既報変異リストを参照するにはこの点に大いに注意する必要がある。タイチンを例に挙げる。タイチンはサルコメアの Z 帯から M 帯までをつなぐ巨大弾性タンパク(35991 アミノ酸)であり、タイチン遺伝子(TTN)の変異は DCM をきたすことが知られる。短いタイチンタンパクの生成を惹起する TTN 遺伝子の truncating variant が家族性 DCM の 25%、孤発性 DCM の 18%にみられることが報告された[7]。そもそも truncating variant は

タンパク機能に影響を及ぼすので原因変異と考えられてもよさそうであるが、浸透率は低く、co-segregationを示せないものもある[8]。健常者の3%にみられること[7]も明らかになり、たとえ *TTN* の truncating variant が見つかったとしても原因変異と即断はできないようである。このように、原因変異かどうかあいまいな variant もあるので、遺伝学的検査時も「既報変異」が見つかったからといって、それが DCM の原因であると即断してはいけない。どの程度検証された後に報告された変異なのかを個別に吟味する必要がある。さらに、家系内の co-segregation を確認し原因変異を確かなものにするようつとめる。原因変異と確定すれば血縁者の遺伝子スクリーニングにも有用である。

incidental findings として *MYH7*, *TNNT2*, *TPM1*, *ACTC1*, *LMNA* に DCM 既報変異が検出された場合、その症例は genotype(+)phenotype(-) ということになる。genotype(+)phenotype(-) 例の予後、治療反応性は未解明なので、年一回の心エコーフォローアップを勧め、早期発見につとめるのが現実的である。

不整脈原性右室心筋症 (Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy; ARVC)

心筋の脱落、脂肪変性、線維化をきたす心筋症であり、若年者突然死の原因として注意すべき疾患である。30%-50%の症例に、細胞間接着に関与するデスモソーム構成タンパクの遺伝子変化が検出される。プラコフィリン-2 遺伝子 (*PKP2*) の variant が最も多く(検出されるデスモソーム構成タンパク遺伝子異常の70%以上)見られるが、2つ以上の variant がみられる (*PKP2* の別の variant、あるいは他のデスモソーム構成タンパク遺伝子の variant を伴う)ものが多く、単独の *PKP2* variant で原因になっていると断定できるものは少ない[9]。そもそも健常者の16%にデスモソーム構成タンパク遺伝子異常(ほとんどがミスセンス)が検出されることから[10]、「原因変異」と解釈する際にはかなりの注意が必要である。diagnostic results としても incidental findings としても遺伝学的検査の有用性は現時点では疑問である。

QT 延長症候群 (Long QT syndrome)

家族性 QT 延長症候群とは、心電図上の QT 部分(心筋の再分極過程)の延長を呈し、心室性(多形性)頻拍発作(torsade de pointes)による失神発作や突然死を高率にきたす疾患

である(Schwartz 診断基準 1993)。頻度は5000人に1人。乳幼児突然死症候群(SIDS)と診断されているケースの約10%は本症候群とされる。

QT 延長症候群患者の約70%で原因変異が判明している。LQT1、LQT2、LQT3 をあわせると原因変異が判明しているケースの90%を上回る(LQT1 > LQT2 > LQT3)。心臓突然死は LQT1 1%、LQT2 7%、LQT3 14%である。浸透率は LQT1 < LQT2 < LQT3 であるが、全体では約60%である。逆に言うと約40%では QTc は正常範囲ということになる。これらいわゆる無症候性キャリアーに対して QT 延長をきたしやすい薬剤(キニジン、プロカインアミド、ジソピラミド、三環系抗うつ薬、テルフェナジン、エリスロマイシンなど)を投与する際には慎重でなくてはならない。LQT1 は運動など交感神経活性化状態で発作が起こりやすく[11]、それに対して LQT3 は安静時に発作が起こりやすい。LQT1 では遮断薬が有効という事実と符合する[12]。一般に QTc が長いものは高リスクであるが、遺伝子型との組み合わせで判断すべきである。LQT1、LQT2 では QTc が短いものについては低リスクであるが、LQT3 では QTc と無関係にリスクは高い[13]。本症候群の遺伝子検査および遺伝カウンセリングは既に保険収載されている。遺伝子変異データベースがかなり整備されているので、既報変異が検出されればそれによるリスク分類、治療選択がある程度可能である。さらに、家系内の co-segregation を確認し原因変異を確かなものにするようつとめる。原因変異と確定すれば血縁者の遺伝子スクリーニングにも有用である。

incidental findings として *KCNQ1* (LQT1)、*KCNH2* (LQT2)、*SCN5A* (LQT3) に QT 延長症候群既報変異が検出された場合、その症例は無症候性キャリアーということになるので、心電図フォローアップをおこない、QT 延長をきたしやすい薬剤を避けるなどの指導もおこなう。

Brugada 症候群

Brugada 症候群では体表面心電図上、V1~V3 誘導で特異な ST 上昇(coved型、saddleback型)を呈し、心室細動により突然死をきたす。40歳前後の男性に多い。ナトリウムチャネルサブユニットをコードする *SCN5A* 遺伝子の変異が原因である。ただし *SCN5A* 遺伝子に変異が見つかるケースは全体の数%~15%であり、他にも多くの原因遺伝子が報告されているがそれらの頻度はきわめて低い。既報変異が検出される確率は低い上に、検出されたとして

モリスク分類、治療選択には貢献しない。原因変異と確定すれば血縁者の遺伝子スクリーニングに有用である。

incidental findings として *SCN5A* に Brugada 症候群既報変異が検出された場合、その症例は無症候性キャリアーということになるので、定期的な心電図フォローアップを勧めるのが現実的である。

Marfan 症候群・Loeys-Dietz 症候群

Marfan 症候群は、高身長、漏斗胸、くも指趾、水晶体亜脱臼、脊柱変形、硬膜拡張、気胸、萎縮皮膚線条、僧帽弁逸脱症、大動脈瘤、大動脈基部(弁輪)拡張症などをきたす常染色体優性遺伝疾患であるが、約 25%は孤発性である。3,000~5,000 人に 1 人の頻度。大動脈解離など心血管系異常は本症候群患者の生命予後を著しく左右する(本症候群死因の 95%)。きめ細かいスクリーニングと早めの大動脈手術、遮断薬や ARB による血圧降下が必要である。本症候群の原因は、microfibril の主要構成成分である fibrillin-1 の異常であり、fibrillin-1 をコードする *FBN1* 遺伝子の変異が主因であるが、TGF- β 受容体をコードする *TGFBR1*、*TGFBR2* 遺伝子の変異も報告されている。改訂 Ghent 基準[14]では大動脈拡大、水晶体亜脱臼、遺伝性が重視されている。Loeys-Dietz 症候群では頭蓋骨早期癒合症、眼間開離、口蓋垂裂、口蓋裂、内反足、くも指趾、硬膜拡張、動脈管開存症、上行大動脈拡張、大動脈蛇行などをみる。大動脈解離を起こしやすい。*TGFBR1*、*TGFBR2*、*SMAD3*、*TGFBR2* 遺伝子の変異による。最近では *FBN1* 遺伝子変異によるものを Marfan 症候群、TGF- β シグナル系の遺伝子変異によるものを Loeys-Dietz 症候群と捉える傾向にある。既報変異が検出されれば診断に有用である。家族歴がない Marfan 症候群の場合、*FBN1* 変異陽性は診断基準の一要件である[14]。さらに、家系内の co-segregation を確認し原因変異を確かなものにするようつとめる。原因変異と確定すれば血縁者の遺伝子スクリーニングにも有用である。

incidental findings として *FBN1* などに Marfan 症候群既報変異が検出された場合はどうであろうか。無症候性キャリアーの予後・治療反応性などに関するデータは少ないが、定期的なフォローアップを勧めるのが現実的である。

このように、肥大型心筋症、QT 延長症候群、Marfan 症候群、一部の拡張型心筋症に関して

は遺伝子解析研究が比較的進んでおり基礎となる変異データが蓄積されているのである程度に対応は可能と考える。しかしながら、それ以外の疾患に関しては現時点の既報変異だけを調べ incidental findings の有無を判断することが診療に貢献できるか否かは疑問であり、むしろ「変異陰性」という誤った解釈が依頼医・患者をミスリードすることを危惧する。遺伝子解析研究をさらに進め既報変異データベースを充実させることが先決である[15]。

incidental findings は「フェノタイプ陰性の時点で見つかるリスク」という観点から、究極の予防医療を可能にする各個人固有のデータと考えられる。incidental findings を診療に活かすためには、遺伝子解析研究推進による変異データの整備および予後・最適治療との対応関係確立、結果解釈の確実性向上、告知を受ける受けない権利の明確化、持続可能性のある判定範囲の設定と受益者による選択、カウンセリングや告知後のコンサルテーション整備、責任の所在と費用負担の明確化、膨大なデータを患者に説明する方法の確立、説明される側の遺伝知識向上など課題がきわめて多い。

E. 結論

incidental findings が診療に与える影響、それらを解決するための方策を考察することにより、次世代シーケンサー遺伝学的検査を循環器領域の診療に実装する前には克服すべき課題が山積していることが確認された。遺伝子解析研究推進による変異データ確立は大前提である。さらに、結果解釈の確実性向上、告知をめぐる倫理的問題、告知後のコンサルテーション整備、説明される側への遺伝教育などに関しても方策を早急に議論すべきと考える。

G. 研究発表

Morita H: Human genomics in cardiovascular medicine-implications and perspectives- *Circ J* 2013; 77(4): 876-885.

森田啓行、山田奈美恵、小室一成: 肥大型心筋症の遺伝子診断: 推進に向けての方策. *日内学誌* 2013; 102(5): 1233-1242.

Morita H, Komuro I: A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension. *New England Journal of Medicine* 2013; 369(22): 2161-2162.

Morita H: Genetic variants and dilated cardiomyopathy - To be or not to be causative: Is that the question? - *Circ J* 2013; 77(12): 2879-2880.

森田啓行: 遺伝子から心筋症をみる. *日内会誌* 2014; 103(2): 285-292.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

参考文献

1. Green RC, et al: ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genet Med* 2013; 15(7): 565-574.
2. 森田啓行、山田奈美恵、小室一成: 肥大型心筋症の遺伝子診断: 推進に向けての方策. *日内学誌* 2013; 102(5): 1233-1242.
3. ACMG Board of Directors: Points to consider in the clinical application of genomic sequencing. *Genet Med* 2012; 14(8): 759-761.
4. Wolf SM, et al: Point-counterpoint. Patient autonomy and incidental findings in clinical genomics. *Science* 2013; 340(6136): 1049-1050.
5. Morita H: Human genomics in cardiovascular medicine-implications and perspectives- *Circ J* 2013; 77(4): 876-885.
6. Bick AG, et al: Burden of rare sarcomere gene variants in the Framingham and Jackson Heart Study cohorts. *Am J Hum Genet* 2012; 91(3): 513-519.
7. Herman DS, et al: Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2012; 366(7): 619-628.
8. Norton N, et al: Exome sequencing and genome-wide linkage analysis in 17 families illustrate the complex contribution of TTN truncating variants to dilated cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Genet* 2013; 6(2): 144-153.
9. Xu T, et al: Compound and digenic heterozygosity contributes to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55(6): 587-597.
10. Kapplinger JD, et al: Distinguishing arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia-associated mutations from background genetic noise. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57(23): 2317-2327.
11. Schwartz PJ, et al: Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias. *Circulation* 2001; 103(1): 89-95.
12. Priori SG, et al: Association of long QT syndrome loci and cardiac events among patients treated with beta-blockers. *JAMA* 2004; 292(11): 1341-1344.
13. Priori SG, et al: Risk stratification in the long-QT syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348(19): 1866-1874.
14. Loeys BL, et al: The revised Ghent nosology for the Marfan syndrome. *J Med Genet* 2010; 47(7): 476-485.
15. 森田啓行: 遺伝子から心筋症をみる. *日内会誌* 2014; 103 (2): 285-292.

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
分担研究報告書

海外の状況・動向に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

次世代シーケンサーの臨床応用は、わが国では欧米にて比して進展している現況である、そこで、海外の状況・動向について調査を行い、わが国における今後のあり方を考える上で参考とした。これまでの厚生労働省の研究班活動を通じて、英国UKGTNのMark Kroese博士、フランスOrphanetのAyme博士と定期的な情報交換を行っている。欧州の状況については、両博士から原資料やウェブサイトを等を通じて把握した。米国状況については、米国の臨床遺伝専門医の団体であるAmerican College of Medical Geneticsの内部資料等から情報を得た。英国においては近年の次世代シーケンサー技術の発達を受けて、臨床応用が積極的に推進されている。特に、臨床応用が進んでいるのは、数個から数十個の遺伝子を纏めて分析するパネル検査である。パネル検査と並行して、発達遅滞のある小児の遺伝子診断を中心に、患者本人・父・母の三つ組みでの全エクソーム解析（すべての遺伝子の翻訳領域の検査）が英国の公的医療制度（NHS）の枠組みを介して実施されている。ヨーロッパにおける診断用遺伝子診断のデータ情報センターであるEuroGenetestの情報によればEuropean Commission（EC）内の25の検査室が、776の次世代シーケンサーを用いたパネル検査を臨床検査として実施されている。デスクトップ型シーケンサーのMiSeq（MiSEQ DX）はヨーロッパにおけるCEマーク（検査機器の質保証）と米国におけるFDAの承認を受けている。米国のハーバード大学とMITが共同で運営しているBroad Instituteはマサチューセッツ州にて臨床検査所としての登録を終え、CLIAによる認証も受けている。ベラー医科大学では既に臨床検査としてWhole exomeの検査を開始して個人加入の医療保険からの支払いも行われている。米国では疾患の原因である遺伝子変異の国家レベルでの集積が推進され、Clinvarデータベースとして集積されている。検査技術の高度化に伴い、多数の遺伝子の解析が可能となると、一回の検査で多数の病的意義が不明な遺伝子多型ないし変異が同定されるようになる。これらの結果を判定するためには、遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースの作成が必須である。

研究協力者

鳥居千春 慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター

A. 研究目的

欧米を中心に次世代シーケンサーを用いて、遺伝子診断を効果的に実施する体制が整備されつつある。本研究班の目的は、わが国における体制整備のあり方を考えることにあるが、次世代シーケンサーの臨床応用は、わが国では欧米にて比して進展している現況である、そこで、海外の状況・動向について調査を行い、わが国における今後のあり方を考える上で参考とした。

資料等から情報を得た。

（倫理面への配慮）

施設の倫理委員会の承認を受け、ゲノム指針に従い研究を遂行した。

C. 研究結果

英国における次世代シーケンサーの臨床応用の現況

B. 研究方法

これまでの厚生労働省の研究班活動を通じて、英国UKGTNのMark Kroese博士、フランスOrphanetのAyme博士と定期的な情報交換を行っている。欧州の状況については、両博士から原資料やウェブサイトを等を通じて把握した。米国状況については、研究分担者が所属するAmerican College of Medical Geneticsの内部

英国の公的医療制度であるNHSの下に遺伝子診断の臨床応用が進められている。これらの遺伝子群の検査を担当する施設として、30の診断センターが存在する。2011年の報告では、英国においてNHSの制度下に行われている検査の件数は人口10万人あたり140件（700人に1名）であると報告されている。ゲノムデータの臨床応用については、英国首相が将来的に経済

的な観点からも国益になる事業として勧奨している。予算措置を行っており、来る5年間のうちに10万人の全ゲノムの配列を決定する計画が立案されている。

これまでは、歴史的な経緯から遺伝子毎に遺伝子検査が開発され、579疾患、726遺伝子がNHSが実施する検査の対象となっている。このうち、313遺伝子・255疾患について遺伝子診断の適応や検査実施時の注意点に関する情報が文書化され、公開されている。毎年、適応が認められている疾患が、40疾患から50疾患ずつ増加している。

近年の次世代シーケンサー技術の発達を受けて、臨床応用が積極的に推進されている。特に、臨床応用が進んでいるのは、数個から数十個の遺伝子を纏めて分析するパネル検査である。具体例としては、先天性ミオパチー、滑脳症、全ミトコンドリアシーケンスなどがパネル検査として利用され始めている。パネル検査と並行して、発達遅滞のある小児の遺伝子診断を中心に、患者本人・父・母の三つ組みでの全エクソーム解析(すべての遺伝子の翻訳領域の検査)がNHSの枠組みを介して実施されている。この臨床応用を目指したエクソーム解析プロジェクトから明らかになったことは、下記の5点とされる。

個人のゲノムには単体では解釈困難な遺伝子変異/多型が多数存在し、その病的意義の判断には両親の検体が極めて重要である。

標的を決めた遺伝子解析の臨床的有用性は高い。エクソーム解析は網羅性が魅力であるが、コストの面ではパネル検査の方が安価となる。また、疾患原因と直接に関係の無い遺伝子変異(偶発的所見)の問題に関わる可能性が少ない。

遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースの作成は必須である。上述のごとく単体では解釈が困難なことが少なくないが日本人の遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースが充実するにつれて、確定診断可能な事例が増加すると期待される。

表現型と家族歴に関する情報は、分析結果の解釈のために必須である。

最新の情報を参照して、アノテーションを繰り返して行う事が重要である。現状では、遺伝子診断を行う場合、診断時に最新のデータベース等を参照して最終報告とすることが多い。今日、多型・変異に関するデータ量は急速に拡大しつつあり、複数回にわたりアノテーションを繰り返す必要があると思われる。

ヨーロッパにおける次世代シーケンサーの臨床

応用の現況

ヨーロッパにおける診断用遺伝子診断のデータ情報センターであるEuroGenetestの情報によれば2013年の10月の時点で、European Commission(EC)内の25の検査室が、776の次世代シーケンサーを用いたパネル検査を臨床検査として実施しており、このパネルでカバーされる遺伝子の総数は2236、疾患の総数は1114種である。

(<http://www.eurogentest.org/index.php?id=668>)

デスクトップ型シーケンサーのMiSeq(MiSEQ DX)はヨーロッパにおけるCEマーク(検査機器の質保証)と米国におけるFDAの承認を受けている。

米国における次世代シーケンサーの臨床応用の現況

米国のハーバード大学とMITが共同で運営している世界を代表する次世代シーケンサーのBroad Instituteはマサチューセッツ州にて臨床検査所としての登録を終え、CLIAによる認証も受けている。ベラー医科大学では既に臨床検査としてWhole exomeの検査を開始しており、15週間で結果を返すとしており、個人加入の医療保険からの支払いも行われている。

ベラー医科大学が属する米国ヒューストンエリアでは、多型データの共有が行われており、基盤になるソフトウェアとしてはvariant toolsが用いられている。これまで世界各地で下記のような種々の多型や変異に関するデータベースが編纂されているが、歴史的な経緯から少しずつフォーマットが異なっており、統一的な利用が妨げられてきた。variant toolsはこれらのリソースを統一的に使用することを目的に設計され、しかも代表的なコンピューターオペレーティングシステム間でのデータベースファイルの相互利用が保証された、画期的なデータベースである。

Exome Variant Server (EVS):

dbNSFP: non-synonymous variants of CCDS genes.

dbSNP: NCBI's variant database.

1000 Genomes: 1000 Genomes variants deposited in dbSNP

1000 Genomes (provided through the European Bioinformatics Institute):

COSMIC (Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer) Project

gwasCatalog:
keggPathway:
CancerGeneCensus:

米国では疾患の原因である遺伝子変異の国家レベルでの集積が推進され、Clinvar データベースとして集積されている。Clinvar における、病的意義の分類は下記の通りである。

Pathogenic, Likely pathogenic, Uncertain significance, Likely benign, Benign, association, drug response, confers sensitivity, protective, risk factor

である。Clinvar はウェブブラウザから検索可能であるが、一本のテキストファイル（正確には vcf ファイル）としてダウンロード可能となっている。

D. 考察

次世代シーケンサーの遺伝子変異解析の用途のためには、品質がある程度、安定していると考えられている。たとえばイルミナ社のデスクトップシーケンサー MiSEQDX は欧州および米国の両方で、臨床検査機器としての承認を受けるに至っている。

ソフトウェアの使用方法についても米国で、BWA/GATK を基本としたソフトウェアパイプラインを使用している検査室が CLIA の認証を受けるに至っている。

全遺伝子ではない多数の遺伝子を同時に解析する「パネル」が英国を含む欧州で盛んに使用されている。一方で、全遺伝子の解析を診療に用いようとする試みも英国、米国で行われている。また、遺伝子あたりの解析単価の低下に伴い、既知のヒト疾患遺伝子をすべて網羅するパネル等の市販も開始されている。これらのパネルは、いわば all-in-one の製品であり国際的な標準化や検査の質の保証につながるものと期待される。

検査技術の高度化に伴い、多数の遺伝子の解析が可能となると、一回の検査で多数の病的意義が不明な遺伝子多型ないし変異が同定されるようになる。これらの結果を判定するためには、遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースの作成が必須である。日本人の遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースが充実するにつれて、確定診断可能な事例が増加すると期待される。全国的にこのようなデータを集積し、共有するための枠組みの整備が急がれる。上述した、オープンソースソフトウェア variant tools はデータベースの実体を、単一のファイルとして配布かのうであり、全国におけるデータ共有の手段としては優れていると考えられる。

E. 結論

全遺伝子ではない多数の遺伝子を同時に解析する「パネル」が英国を含む欧州で盛んに使用されている。一方で、全遺伝子の解析を診療に用いようとする試みも英国・米国で行われている。検査技術の高度化に伴い、多数の遺伝子の解析が可能となると、一回の検査で多数の病的意義が不明な遺伝子多型ないし変異が同定されるようになる。これらの結果を判定するためには、遺伝子型と表現型の関連に関するデータベースの作成が必須である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 2013 ;56(1):50-53.
2. Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Tsuruta T, Banno K, Makita K, Susumu N, Jinno H, Kitagawa Y, Sugano K, Kosaki K, Aoki D. Experience of Risk-reducing Salpingo-oophorectomy for a BRCA1 Mutation Carrier and Establishment of a System Performing a Preventive Surgery for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome in Japan: Our Challenges for the Future. *Jpn J Clin Oncol.* 2013;43(5):515-519.
3. Yamazaki F, Osumi T, Kosaki K, Mikami S, Hirato J, Shimada H. Large Congenital Melanocytic Nevi With Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor. *Pediatr Blood Cancer.* 2013.;60(7):1240-1241
4. Ueda K, Awazu M, Konishi Y, Takenouchi T, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Persistent hypertension despite successful dilation of a stenotic renal artery in a boy with neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet A.* 2013 ;161(5):1154-1157.
5. Komoike Y, Matsuoka M, Kosaki K. Potential Teratogenicity of Methimazole: Exposure of zebrafish embryos to Methimazole causes similar developmental Anomalies to Human Methimazole Embryopathy. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2013.;98(3):222-229.
6. Takenouchi T, Kosaki R, Torii C, Kosaki K. Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome *American Journal of Medical Genetics .*

- 2013;161(7):1803-1805.
7. Takenouchi T, Saito H, Maruoka R, Oishi N, Torii C, Maeda J, Takahashi T, Kosaki K. Severe obstructive sleep apnea in Loeys-Dietz syndrome successfully treated using continuous positive airway pressure. *Am J Med Genet A*. 2013 ;161(7):1733-1736.
 8. Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, Kosaki K, Tanigawara Y, Aoki D. Polymorphisms in the UGT1A1 gene predict adverse effects of irinotecan in the treatment of gynecologic cancer in Japanese patients. *J Hum Genet*. 2013;58(12):794-798.
 9. Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A*. 2013;161(12):3057-3062.
 10. Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K. Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. (in press)
 11. Takenouchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K. Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation. *Am J Med Genet A*. 2014 ;164(2):392-396.
 12. Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T. Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: a cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8(1):172.
 13. Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Ueki A, Yokota M, Tsuruta T, Nomura H, Kataoka F, Tominaga E, Banno K, Makita K, Susumu N, Sugano K, Kosaki K, Kameyama K, Aoki D. Family History and BRCA1/BRCA2 Status Among Japanese Ovarian Cancer Patients and Occult Cancer in a BRCA1 Mutant Case. *Jpn J Clin Oncol*. 2014 ;44(1):49-56
 14. Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsunashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis. *Am J Hum Genet*. 2013 ;93(5):945-956.
 15. Takagi M, Ishii T, Torii C, Kosaki K, Hasegawa T. A novel mutation in SOX3 polyalanine tract: a case of kabuki syndrome with combined pituitary hormone deficiency harboring double mutations in MLL2 and SOX3. *Pituitary*. 2013(in press)
 16. Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. *Am J Med Genet A*. 2014 ;164(2):456-60

2.学会発表

1. 小崎健次郎. 臨床応用を念頭においた最新のゲノム解析：全ゲノムからエクソーム、ターゲットシーケンスまで 日本人類遺伝学会第58回大会 2013年11月、仙台

G.知的所有権の取得状況（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（難治性疾患等克服研究事業）
遺伝学的検査の実施拠点のあり方に関する研究
分担研究報告書

神経疾患における遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

研究分担者 青木 正志
東北大学大学院医学系研究科 神経内科 教授

研究要旨

遺伝性神経・筋疾患の、特に症例数の少ない希少疾患の遺伝学的検査提供体制の必要性・重要性及び附帯する課題について検討した。主に成人期に発症する遺伝性筋疾患の中には、種々の筋変性疾患、代謝性疾患、ミトコンドリア関連疾患などが含まれるが、筋疾患関連遺伝子は、複数の巨大遺伝子を含め少なくとも 40 以上存在するため、変異の有無を網羅的に解析することは従来困難であった。このような問題に対して、次世代シーケンサーを利用し、既知の筋疾患関連遺伝子を網羅的に解析することで診断率の向上を得ることが可能である。Dysferlinopathy が疑われるものの診断が未確定の症例で 20 例においてターゲットリシーケンス解析を行った。従来の解析方法で検出できていなかった DYSF 遺伝子の変異の検出や、遠位型ミオパチーと類似の臨床・病理像をとる他の筋関連遺伝子での変異が検出された。今後、サンガー法に相当する結果を得るためにサンプル当たりどの程度のデータを得る必要があるかについては検討が必要である。

研究協力者

井泉瑠美子

（東北大学神経内科、遺伝病学分野）

青木洋子（東北大学遺伝病学分野）

松原洋一（国立成育医療研究センター研究所）

A．研究目的

神経内科領域においては、遺伝性疾患の診療を行う機会は比較的多く、対象とする疾患の種類も多い。遺伝性疾患の診断において常に病因となっている突然変異を同定すること（遺伝子診断）が必須というわけではないが、遺伝子診断により確定診断のつくことは、診療の根本をなすもので、その臨床的有用性は基本的に疑問の余地はない。

主に成人期に発症する遺伝性筋疾患の中には、種々の筋変性疾患、代謝性疾患、ミトコンドリア関連疾患、一部の炎症性疾患が含まれるが、筋疾患関連遺伝子は、複数の巨大遺

伝子を含め少なくとも 40 以上存在するため、変異の有無を網羅的に解析することは従来困難であった。このような問題に対して、次世代シーケンサーは網羅的な遺伝子配列決定を可能とすることから、既知の筋疾患関連遺伝子を網羅的に解析することで診断率の向上を得ることが第一の目的である。また、既知の筋疾患関連遺伝子に変異を認めない場合や、非典型的で原因不明の遺伝性筋疾患に対し、全エクソン解析（エクソーム解析）を行うことで新たな疾患原因遺伝子を特定することが第二の目的である。遺伝性筋疾患の多くは、原因不明で有効な治療法がないため新たな遺伝子変異を明らかにすることは病態解明につながり、将来的な治療法開発への端緒ともなりうる。

B．研究方法

1．既知の筋疾患関連遺伝子の解析

次世代シーケンサーを用いてターゲットリシーケンス解析を行う。解析対象としては、既知の筋疾患関連遺伝子である以下の42遺伝子の検索を行う。新規遺伝子の報告があった場合には随時追加を行う。

2. エクソーム解析

既知の筋疾患関連遺伝子に変異を認めない場合に行う。罹患者についてエクソキャッチャー法を用いて抽出した全エクソン領域を、次世代シーケンサーにて配列解析する。家系内の非罹患者を解析する場合、罹患者と比較することで疾患に関連した変異のみを抽出する。必要に応じて以下のアレイ CGH や連鎖解析を行い、照合することで候補遺伝子を絞り込む。次世代シーケンサーは HiSeq 2000 (Illumina)を用いて 101 塩基のペアエンド解析を行った。得られたデータは、BWA でマッピングを行い、GATK v1.5 で変異の一塩基置換や欠失挿入の抽出を行った。変異のアノテーションには、ANNOVAR を使用した。

(倫理面への配慮)

患者からの臨床情報の取得および DNA の採取に関しては「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、最初に東北大学医学部のヒトゲノム委員会および倫理委員会に研究計画書を提出し、承認を得ている。

C. 研究結果

当科では、1995年より臨床的に Dysferlinopathy (三好型遠位型筋ジストロフィーもしくは肢帯型筋ジストロフィー 2B 型) の疑われる患者に対する *DYSF* 遺伝子の変異スクリーニングを SSCP 法により行ってきたが(Takahashi T, et al. 2003, 2013)、発端者 169 例の約 40% で診断が未確定である。これらの症例を対象に、ターゲットリシーケンス解析による既知の筋疾患関連遺伝子の解析を行った。

現在までに、20 例のターゲットリシーケンス解析を行った。12 サンプル毎のターゲッ

トリシーケンス解析を行った結果、解析対象とした全標的領域の約 90% 以上が、目標としている最低 Depth 30 以上でカバーされた。SSCP 法で片アレルにのみ *DYSF* の病的変異を検出していた 9 例中、6 例に病因となりうるホモ接合もしくは複合ヘテロ接合の *DYSF* 遺伝子変異を検出した。全く *DYSF* に変異を検出していなかった 11 例では、*DYSF* には病的変異を認めなかったものの、3 例でその他の筋疾患関連遺伝子に原因の可能性のある変異を検出した。

D. 考察

既に解析した症例で、従来の解析方法で検出できていなかった *DYSF* 遺伝子の変異の検出や、遠位型ミオパチーと類似の臨床・病理像をとる他の筋関連遺伝子での変異が検出されてきている。今後、サンガー法に相当する結果を得るためにサンプル当たりどの程度のデータを得る必要があるかについては検討が必要である。また、変異の病的意義を考える上では、解析症例の蓄積やデータベース化も重要である。

E. 結論

Dysferlinopathy の疑われる患者に対する *DYSF* 遺伝子の変異スクリーニングは、国内外から依頼が継続されており、これらの症例に対し、今回有用性を確認したターゲットリシーケンス解析による既知の筋疾患関連遺伝子の解析を今後継続することは、筋疾患の診断率向上に寄与する。

さらに神経疾患の遺伝子診断をどのような実施体制で行うか、その費用負担をどうするのか、検査体制の質の評価・遺伝子検査結果の解釈をどのように担保するかなどの課題を検討して行く必要がある。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y.: Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet.* 2013; 58(5):259-66

Takahashi T, Aoki M, et al., Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2013; 84: 433-40

2 . 学会発表

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y: A mutation in A-band titin is associated with hereditary myopathy with early respiratory failure in a Japanese family. the 63rd Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, Boston, MA, Oct 24, 2013

H . 知的財産権の出願・登録状況

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
分担研究報告書

次世代シーケンサー時代に予想される神経変性疾患遺伝子解析

研究分担者 小野寺理 新潟大学脳研究所分子神経疾患資源解析

研究要旨

次世代シーケンサーの時代に入り、神経変性疾患の遺伝子診断は大きく変わる可能性がある。しかし、医療の目的が患者の利益にあることから考えると、その導入が無意味な混乱を招かないように最大限の注意をもって進める必要がある。特に成人の神経変性疾患で一見、家族例がないように見える致死性疾患、認知症に対して、本検査が導入された場合、その混乱が危惧される。それを回避するためには、孤発性疾患に対する検査指針の設定、症状毎の検査遺伝子パネルの設定、全国規模のデータベースの設置の3点について、解決すべきである。そして何よりも診断できる疾患は、企業が可能なコスト設定での保険収載を強く期待する。加えて、当該疾患を診療する医師は、当然のこととして、遺伝性疾患に対する十分な知識を持つことように、学会の専門医認定時に留意し、遺伝性疾患医療の逆差別を防ぐ手立てが強く望まれる。

A. 研究目的

次世代シーケンサーの時代に入り、神経変性疾患では遺伝子レベルで理解される事例が増えることが推定される。しかし、腫瘍性疾患において、遺伝子解析が治療方法の選択に大きく寄与しているのに比して、神経変性疾患では、その結果が治療方法の選択に繋がる例は少ない。また遺伝性疾患を疑っていなかった家系症例に対し、あらたな問題を提示する事に繋がる可能性がある。本研究では、この問題について考察する。

B, C. 研究結果および考察

医療における最大の目的は治療である。しかし、神経変性疾患の場合、それが必ずしも成功していない。現在の治療方法は症状に対する介入療法であり、原因に対する治療方法は選択さ

れていない。この点が、近年の分子標的療法による腫瘍性疾患との相異である。本来は、神経変性疾患でも分子病態に沿った治療方法が提案されるべきである。本症での遺伝子診断の持つ混乱の大きな理由は、この治療方法が提案できないという点に由来する。

それではどのような混乱が想定されるのであろうか。まず、遺伝性疾患を考慮していなかった症例に対して、遺伝性疾患であることが提示される可能性がある。これらの検査は患者の同意の下に遂行されるが、かなりの理解力を持った方でも、現在の遺伝性疾患の変異の持つ意義を正確に把握できるとは言い難い。つまり検査前に、その検査が陽性であった場合のもたらす種々の影響について、必ずしも正確に理解できていない可能性がある。問題となるのは成人で家族歴が明らかでない孤発性の症例で、子孫が

いる場合の遺伝子診断の是非である。小児とは明らかに異なる問題がここには内在する。高齢者の場合、両親での検索、家系内検索は不可能であることが多く、孤発性症例に対して、見出された変異の病的意義につき正確に提示することは困難である。さらに、その事実、子孫に対し、同様の疾患に罹患するかもしれないという漠然とした不安感を植え付けることになる。特に認知症や、致死的な疾患の場合、その持つ意味は大きい。

また認知症の場合、誰から同意を取得し、誰にその事実を伝えるのかという問題がある。本来遺伝子診断はパーソナルな物であり、あくまでも本人の意志の元に本人に伝えるべき物である。しかし、認知症の場合、発端者はその持つ意味を理解できないと考えられる。一方、子孫は at risk にあたるため、このような対象としては相応しくない。配偶者は、その関係を清算する権利を有している個人であり、この極めてパーソナルな事象を伝えることに適しているかどうか状況により判断する必要がある。若年であれば離婚する可能性を内在するし、高齢であれば、ただでさえ配偶者の疾病に苦しんでいるところに新たな悩みをもたらすことになる。明らかに家族歴がある物であれば、そのことに対する準備もできている可能性があるが、孤発性の物に対して、介入方法が大きく異なるのであれば、現時点で余計な混乱を招くだけではないかと考える。この面からは、医療としては、次世代シーケンサーによる診断は、対象とする疾患、家系の条件を設定すべきであると考えられる。現時点では、子孫がある場合の孤発症例の次世代シーケンサーによる遺伝子診断は行うべきではないように思う。

次に、得られた結果の意義の解釈であるが、今後は、判断に迷う変異が集積することが予想される。国費でこのような研究が行われる以上、その結果について、第三者機関の要望に添った

形での結果の開示、データベース化を進め、症例の集積の上に、その意義につき判定できる土壌を作っていくべきであると考えられる。得られた結果を無駄にしない取り組みが何よりも大切である。研究者コミュニティへの信頼が失われつつある現在において、その扱いは厳に律すべきであり、解析とは関係のない機関がデータを収集していくべきであろう。このような国家規模の疾患ゲノムセンターをデータ解析部門のみでも作っていくことが望ましい。これは大学レベルで行う物ではなく、基本的には国管轄の研究組織で恒久的な予算措置により行われるべきである。このようなデータベースなしでは、次世代シーケンサーの多くの結果は不要な混乱をもたらす。

最後に本検査を保険収載に載せるスキームは重要ではあるが、まだまだ解決すべき医学的問題が多い。それよりも、確実に現在の医療知識で診断が可能な疾患についての保険収載を確実に進めることが重要である。その方法として、コスト面から次世代シーケンサーを用いる時代になるかもしれない。その場合は、便宜的に、医療として検査する遺伝子と、検査はするが伝えない遺伝子に明確に分けた上で、進める方向性が望まれる。

E. 結論

次世代シーケンサーによる遺伝子診断には、孤発性疾患に対する検査指針の設定、症状毎の検査遺伝子パネルの設定、全国規模のデータベースの設置の3点について、解決すべきである。そして何よりも診断できる疾患は、企業が可能なコスト設定での保険収載を強く期待する。加えて、当該疾患を診療する医師は、当然のこととして、遺伝性疾患に対する十分な知識を持つことように、学会の専門医認定時に留意し、遺伝性疾患医療の逆差別を防ぐ手立てが強く望まれる。

以下は昨年の報告書に記載した物であるが、これらの進歩が垣間見えない、もはや論議ではなく行動の時代と考える。

1. 神経疾患は遺伝性難治性希少疾患が多い、しかし、遺伝子検査の多くは保険収載されておらず、それ故に、その診断体制が極めて貧弱である。本邦なりの診断体制の構築が望まれる

2. 神経分野における遺伝性難治性希少疾患は、臨床症状が極めて酷似し、かつ特定の生化学異常をもたない。そのため、その確定診断は遺伝子検査に委ねられる。

3. 患者サイドから見れば、遺伝情報の提供を求めれば与えられるシステムの構築が要望される。

4. 基本理念は診断可能な疾患は、保険診療内で診断可能とする道筋をつけ、それに十分な報酬体系を構築する。

(ア) 民間検査会社が検査を行っているにも拘わらず、その保険収載がなされていない疾患群に関して保険収載すること、

(イ) 民間検査会社が検査を行っていない疾患群に体して、その診断体制を担保する。

5. 下記の事項について、全ての医師が十分に認識するような教育体制が必要

(ア) 優性遺伝性疾患の検査は十分に理解した上で、検査の可否を決定することが必要である。

(イ) 発端者に認知症がある場合の検査の同意の取得について論議する必要がある。

(ウ) 伴性劣性遺伝性に関しては、発端者の娘に体して、その児への影響を示唆する。

(エ) 出生前診断の可否について明確な共通のガイドラインが必要。

6. インターネットや電話を用いた受カウ

ンセリングを認めるべきである。

G. 研究発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

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
分担研究報告書

日本人の遺伝子変異データベースの構築

研究分担者 松田 文彦 京都大学大学院医学研究科・教授

研究要旨

ヒト疾患の解析に全ゲノムシーケンスが利用可能となったことで、稀少難治性疾患の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられるが、効率的な研究の実施、医学的価値の高い成果の創出、患者の適切な診断治療においては、疾患原因遺伝子情報を共有するシステムの構築が不可欠である。本課題では、稀少難治性疾患研究拠点が連携し、日本人遺伝子リファレンス情報（3,248人の健常者のSNP頻度情報、1,208検体のエクソーム解析情報）稀少難治性疾患の遺伝子変異情報をデータベースに集約し公開した。本データベースが難病研究の中核として機能することは疑いなく、疾患遺伝子情報を手がかりとして当該疾患領域の医療・研究が加速され、難病研究領域の全体的なレベルアップに繋がるとともに、希少難治性疾患の遺伝子診断における標準化が進むなど、臨床に直結する基盤情報が提供される。

A. 研究目的

難病の研究や診断治療において、全ゲノムシーケンスを利用した原因遺伝子の探索は極めて強力なアプローチである。平成23年度より「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」が開始されたことで、従来とは比較にならない量の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられる。そういった情報を公開・共有することは、重複を回避した効率的な研究の実施と、さらなる医学的価値の高い成果の創出に不可欠であり、患者の適切な診断治療にも欠かせない。しかし、疾患遺伝子解析研究で収集した臨床情報や解析された遺伝子情報を全国で統一的に管理・運用するナショナルデータベースは、これまでに構築されていない。そこで、稀少難治性疾患研究拠点間の連携で、難病の発症や予後等に関連する遺伝子変異情報を集約したデータベースを構築し、蓄積した情報を広く公開することで、科学的価値の高い成果を創造し、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」の実現に資することを目標とする。

B. 研究方法

拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、

厚労省「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）」の各研究班に集積された難病患者の検体の遺伝子解析情報を対象に、遺伝子リファレンスライブラリーの構築を実施する。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都大学倫理委員会の承認を得て実施する。エクソーム解析や全ゲノムシーケンスなど網羅性の高いデータを扱うことから、データの公開・共有にあたっては、インフォームドコンセントで同意が得られているもののみとし、それに応じて公開レベルを設けるなど、十分に配慮する。共同研究機関においては、各機関の倫理委員会で承認を得たプロトコールに基づいた解析情報のみを利用し、データベースへは、匿名化された情報のみを受領する。

C. 研究結果

データベース構築

データベース設計に先立ち、各班から疾患基礎情報項目一覧の提供を受け、構築に必要なデータ構造を考案した。また、変異情報の授受に必要なデータフォーマットの定義、及び、それに則した遺伝子データベースの設計と構築を実施した。データ閲覧用インターフェイスの開発と全データエン

トリー登録を完了した 2013 年 11 月 12 日に、遺伝子リファレンスライブラリーデータベース (Human Genetic Variation Database : HGVD) を公開し、情報の配信を開始した。

(<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/index.html>)

データエントリ

日本人集団のゲノム変異情報の集約を実施した。具体的には、SNP アレイを用いたゲノムスキャンニング法により得られた約 3,248 人の健常者の一塩基多型頻度情報の標準化を行い、データベースに蓄積した。次世代シーケンサーによる日本人ゲノム変異情報については、研究分担者から提供されたデータも含め、計 1,208 検体のエクソームシーケンス情報より多種多様なゲノム変異情報を抽出し、それらの頻度情報を集約してデータベースへ蓄積した。

京都大学でエクソーム解析を実施した DNA 検体 300 例については、ゲノムスキャンニング法による一塩基多型解析、及び、発現解析アレイによる末梢血 RNA からの遺伝子発現解析も実施した。これらの情報をもとに、遺伝子多型と発現量との関連解析 (eQTL 解析) を実施し、結果をデータベースに登録した。エクソーム解析で見出された新規のゲノム変異の機能的役割を解釈する上で有用な情報となることが期待される。

ゲノム解析によって同定された難病の原因となる日本人特異的な遺伝子変異の情報提供を受けてデータベースに蓄積し、12 疾患、215 変異の登録を完了した。また、変異データ登録システムを設計・構築・公開し、様々な研究施設からのデータ受け入れ態勢を整えた。本年度中にさらに 35 遺伝子、600 変異のデータが登録される予定である。

情報の発信

データベースの公開に先立ち、本事業のウェブページを立ち上げ、プロジェクトの概要・目的・研究計画、及び、各研究班の研究内容に関する情報を発信した (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/IntractableDiseases>)。データベース公開時には、記者会見をおこない、情報の周知に努めた。また、研究代表者、研究分担者および一般研究班の連携協力者の参加による

研究成果進捗報告を兼ねた一般公開ワークショップを開催し、研究内容・意義についての幅広い普及を行った。

・「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成 24 年度第 1 回ワークショップ

2012 年 9 月 6 日、京都大学芝蘭会館稲盛ホール

平成 24 年度第 2 回ワークショップ

2013 年 3 月 23 日、東京国際フォーラム

平成 25 年度第 1 回ワークショップ

2013 年 8 月 24 日、京都大学芝蘭会館稲盛ホール

D. 考察

本研究事業が提供する日本人固有のゲノム変異情報は、希少難治性疾患の研究に携わる研究者のみならず、多くのヒト疾患研究者にとって極めて価値の高いものである。日本人の遺伝子変異情報、および、多種の希少難治性疾患の関連遺伝子変異を集積した本データベースが難病研究の中核として機能することは疑いなく、疾患遺伝子情報を手がかりとして当該疾患領域の医療・研究が加速され難病研究領域の全体的なレベルアップに繋がるとともに、希少難治性疾患の患者の遺伝子診断における標準化が進むなど、臨床に直結する基盤情報が提供される。本データベースを研究者が利活用することによって、日本人での遺伝病の原因遺伝子の発見や、見出された変異が疾患発症に関わる可能性の評価・解釈、種々の病気になるやすい遺伝的体質の解明が大きく進展するものと期待される。

E. 結論

運営委員会で策定された事業計画と制度設計に沿って計画通りに事業を推進し、2013 年 11 月 12 日に遺伝子リファレンスライブラリーデータベースを公開した。本データベースの利活用により、疾患の原因変異究明のプロセスが飛躍的に向上することが期待できる。将来に向けて、本事業で得られた成果やバイオリソースなどを、研究者コミュニティが広く活用できるような仕組みを今後さらに発展させることが重要である。今後は、日本人ゲノム変異データベースの検体数を増やすとともに、難病の遺伝子変異のデータベース登録を難病研究班にうながし、新たなデータの蓄積、機能の向上、維持管理などを継続的におこない、より充実したデータベースとすることが重

要である。本事業によっておこなわれた大規模研究成果のデータベース化と公開により、難病研究、ゲノム医学研究が今後大きく発展する礎になれば幸いである。

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.

【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

遺伝的検査の実施拠点のあり方に関する研究

分担研究者 梅澤明弘 独立行政法人国立成育医療研究センター研究所・副所長

研究要旨：

「成育医療における次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査のミッション」的な事を書く。

遺伝学的解析手法の発展により、多くの疾患で原因遺伝子が同定されている一方で、小児先天性疾患や異常妊娠は、稀少性に加えて従来の遺伝学的手法では同定が困難である。今後、次世代シーケンサーやマイクロアレイ技術を利用した小児科・産科疾患の原因遺伝子同定への応用例は少なく、ゲノム・エピゲノム解析体制の整備が喫緊の課題である。精度の高い解析体制の均てん化には、これらの遺伝学的検査の集約化と体系的な運用規約の作成が必要であると考えられる。

A．研究目的

遺伝学的解析手法の発展により、多くの疾患で原因遺伝子が同定されている一方で、小児先天性疾患や異常妊娠は、稀少性に加えて従来の遺伝学的手法では同定が困難な微細なゲノム変異やエピゲノム変異、あるいは細菌叢の異常を有すると考えられており、次世代シーケンサーやマイクロアレイ技術による網羅的配列解析が必須かつ極めて有効と期待される。実際に、すでに様々な疾患で、これらの配列解析技術を利用し、多くの画期的研究成果が上げられている。しかし、小児科・産科疾患の原因遺伝子同定への応用例は少なく、ゲノム・エピゲノム解析体制の整備が喫緊の課題である。

小児科・産科領域でこのような解析が進みにくい主因の一つとして、希少疾患が多いことや、厳密なコントロール群の準備が難しいことが挙げられる。本研究では、これまでの国内の難治性疾患克服研究事業研究班との連携による新規・未知病因遺伝子探索研究で培われた難病研究拠点としての機能を基に、遺伝子検査支援体制の運用・検証を考察した。

B．研究方法

申請者らはすでに、難治性疾患克服研究事業研究班を中心に、様々な小児科・産科疾患の遺伝子解析ネットワーク体制を構築している。現在もこれらの連携を利用し、精度の高い臨床情

報を伴った症例の収集と解析を進めているその実際の運用から明らかになった問題点や望まれる改善点を考察した。

【解析手法】

全エクソン解析による *de novo* 変異同定

約 60 Mb の全エクソン配列を網羅したオリゴキャプチャーで、ゲノム DNA からエクソン領域を選択的に捕捉回収し、次世代シーケンサー（HiSeq）で網羅的に解読する（冗長度 100-200 X）。情報解析は、BWA による Mapping、dbSNP との異同比較、変異の及ぼすアミノ酸置換程度の評価、KEGG パスウェイなどの一連のアノテーションパイプラインにより行う。また、シーケンサーメーカー仕様の各種ソフト

（Mapping, CNV, Inversion, SNPs, Large Indel, Small Indel 等）も活用する。さらに、タンパク質機能への影響予測（SHFT、PolyPhen2）や、これまでの研究成果で得られた独自の日本人集団の多型データベース（Human Variation Genome Browser）迅速な責任遺伝子候補の同定とその生物学的機能注釈を行う。なお、454 等を用いた変異の validation を行う。

ターゲットリシーケンスによる既知・未知変異同定

すでに疾患責任領域が同定・推定さ

れている疾患では、責任領域の任意配列を網羅したオリゴプローブを設計し、疾患責任領域を選択的に回収し、次世代シーケンサーで網羅的に配列解析する。

網羅的一塩基多型解析

マイクロアレイ技術を用い、全ゲノム関連解析、未知微細欠失同定を含む染色体構造解析を行った。

既知疾患関連多型の大量並列解析

マイクロアレイ技術およびマスアレイ技術を用い、既知の遺伝子多型を多数検体で効率的に解析した。

【解析体制】

解析チームに博士研究員一名、技術補助員一名を配置し、次世代シーケンサーを中心とした大規模高速配列解析を、年間合計約 500 例を目標に行った。全エクソン配列解析では、解析症例とマッチングさせた対照群の配列情報も併せて取得し、変異アレルの出現頻度、アミノ酸置換を伴う *de novo* 変異についてフィルタリングを行い、疾患原因候補を絞り込むまでを行った。

データベース構築は、特に、疾患とゲノム変異との相関性の観点に注意し、OMIM や種々の疾患データベースへのリンクを念頭に入れてデザインを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、ヒト由来のゲノム解析・遺伝子解析研究であるためヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針をはじめとする関連法令と指針を遵守して計画され、本センターおよび連携研究者の所属する機関の倫理委員会の承認を得て行っている。すべての検体は、書面で患者本人もしくは代諾者からインフォームドコンセントを得た後に採取され、採取時に各医療機関で匿名化が実施された。網羅的遺伝子解析については、説明書・同意書を用いて同意を取得した。次世代配列解析を行うに当たっては、網羅的配列解析に対する包括的同意を得る必要があるが、加えて本研究の検体提供者は、ほとんどが未成年者であり、代諾により同意を得るといった特異性を伴う。この点に関しては、特段の配慮と検討を行い、決

して拙速な結論に至らぬよう、十分な社会的合意のもとに研究を進めていく必要がある。成育バイオバンクではすでに、これらの倫理的問題を考慮した未成年者検体の取り扱いを進めており、これらの作業と協調し、適正かつ厳格な倫理面の運用の枠組みを作成した。また国立成育医療研究センターでは、定期的(年2回以上)に生命倫理に関する講演を開催し、申請者のみならず関連する医師・研究者の受講を最大限促した。

C . 研究結果

本事業に参加している分担研究者から提供された検体合計 1,450 症例の解析を行った。そのうち特に臨床診断を目的としたのは約 500 症例で、そのうち 100 例程度(25%程度)が確定診断に至った。

D. 考察

本研究では、これまでのゲノム解析拠点としての実績に基づき、難治性疾患克服研究事業で選定されている様々な研究班と連携して疾患を収集解析し、原因不明とされてきた難治性疾患、稀少疾患の関連遺伝子変異および関連遺伝子多型の効率的な同定を目指した。また前述のように、請け負った解析のおよそ三分の一は、分子遺伝学的確定診断を目的とした、ある程度候補病因遺伝子や分子遺伝学的病態が知られている症例であった。

本研究では、先進的解析技術の提供と研究の推進と併せ、遺伝子検査的な側面を持つ解析支援も行った。次世代シーケンサー等を用いた網羅的包括的な遺伝子解析にあたっては、倫理的問題への対応の十分な検討が必要である。特に小児疾患においては代諾による解析が避けられず、社会的合意を踏まえた慎重な運用が望まれる。その結果、遺伝子解析対背運用には多くのコストがかかるため、集約化と共に公正公平な運用基準を定める必要がある。

E . 結論

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の均てん化には、解析を集約して技術面での安定性や効率化を図ることが有効である。また、

特に成育疾患の解析では代諾等の特殊な状況が存在し、倫理面に十分な注意を払った解析が必要である。「予期せぬ結果」を含むこれらの対応にはコストがかかり、網羅的な遺伝子解析を広く提供するにはある程度拠点化して対応することが有効であると予想される。一方で、これらの解析支援を集約化・拠点化しつつ広く還元するには、公正公平な運用基準の作成も重要と考えられる。

F．研究発表

1．論文発表

Migita O, Maehara K, Kamura H, Miyakoshi K, Tanaka M, Morokuma S, Fukushima K, Shimamoto T, Saito S, Sago H, Nishihama K, Abe K, Nakabayashi K, Umezawa A, Okamura K, and Hata K
Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women.:
Journal of Human Genetics in press (2014)

2．学会発表

なし

H．知的財産権の出願・登録状況

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
分担研究報告書

全エクソーム解析により解決できた原因不明の周産期異常家系

分田研究者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学・
教授

原因不明の3回の胎児異常と4回の稽留流産を経験した1家系の原因解明にむけて母・健常児・異常胎児の3例のDNAを用いて全エクソーム解析を行い、IFT122遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を同定した。1例の稽留流産絨毛からDNAを採取し、同変異の有無を確認したところ同じく複合ヘテロ接合性変異を同定した。以上から本家系で認められた頻回の周産期異常の原因がIFT122の変異によると考えられた。

1. 研究目的

原因不明の周産期異常が繰り返す家系に、産科医が遭遇することは稀ではない。本研究は、3回の胎児異常（胎児水腫で13週で中期中絶1例、13週で子宮内胎児死亡1例、骨系統疾患で21週で中期中絶）、及び6-8週で4回繰り返した稽留流産を経験した一家系の原因を全エクソーム解析で明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

1. 検体収集

母、健常児、中絶胎児のそれぞれより血液を採取ゲノムDNAを抽出した。

2. 次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析

それぞれから3μgのゲノムDNAを用いてSureselect V4でエクソン領域を抽出後、HiSeq 2000を用いてペアエンドシーケンスを行い、Novoalign>GATK>Annovarによる変異候補絞り込みを行った。同胞発症が多発していることを考慮し常染色体劣性遺伝形式を特に重視してvariant探索を行った。

3. 稽留流産物の検討

変異を発見した場合、稽留流産絨毛（パラフィン固定）からもDNAを抽出して変異の有無を確認する。

3. 研究結果

3例の全エクソーム解析から1125バリエーションを抽出、症例のみに認められる劣性変異に着目すると、IFT122の複合ヘテロ接合性変異

c.622delG(p.Glu208Serfs*51)/

c.1636G>A(Gly546Arg)を認めた。

c.622delG(p.Glu208Serfs*51)は母親由来であった。

c.1636G>A(Gly546Arg)は未解析の父由来と考えられた。

4回目の稽留流産絨毛からDNAを抽出後

PCR-cloningシーケンスを行い同2個の変異が認められることを確認した。

4. 考察

IFT122はSensenbrenner症候群の責任遺伝子で骨系統疾患を呈していた中絶胎児の表現型と矛盾なかった。よって妊娠中期に胎児死亡や胎児異常で中絶した胎児の遺伝的原因はIFT122の複合ヘテロ接合性変異が原因であると判断した。4回の稽留流産のうち少なくとも1回の流産物に同複合ヘテロ接合性変異を認めたため、同変異が稽留流産の原因である可能性がある。

5. 結論

原因不明の多発する周産期異常家系の原因解明に全エクソーム解析が有用であった。

6. 研究発表

1. 論文発表

Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Saito S, and Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed causative biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. Clin Genet (in press)

2. 学会発表等

平成 24 年度東京医科歯科大学大学院特別講義・松本直通「神経発達異常のエクソーム解析」平成 25 年 1 月 15 日・東京医科歯科大学・東京

市民・研究者シンポジウム 第 3 回「難病研究と創薬」松本直通「希少疾患ゲノム研究の現状と将来」平成 25 年 1 月 27 日千里ライフサイエンスセンター・豊中

NSFC-JST Workshop on Genomics for Clinical Studies. Naomichi Matsumoto, “Mendelian Exome”, Le Meridien She Shan Shanghai, Shenshan, Shanghai, China, Feb 4, 2013

大分大学医学系研究科・特別講義・松本直通「ヒト遺伝性疾患の最前線」平成 25 年 2 月 18 日・大分大学医学部・大分

福島県立医大・平成 24 年度次世代医学セミナー・シンポジウム「ダイナミックなゲノム-遺伝子解析の最前線-」松本直通・招聘講演「ヒト疾患エクソーム」平成 25 年 2 月 28 日福島県立医大・福島

第 4 回福岡胎児医療フォーラム・松本直通(特別講演)「ゲノム解析の技術革新と医学」平成 25 年 3 月 1 日・天神ビル・福岡

第 4 回 Pediatric Blood Master Conference・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患解析」平成 25 年 3 月 5 日・名古屋大学医学部付属病院・名古屋

臨床研究情報センター研修会・松本直通「遺伝性難病のゲノム解析：現状と展望」平成 25 年 4 月 10 日@臨床研究情報センター・神戸

九州大学産科婦人科学講演・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 5 月 15 日@九州大学医学部臨床研究棟・福岡

The 10th International Workshop on Advanced Genomics. Naomichi Matsumoto “Mendelian Exome Analysis” @ National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013

European Conference of Human Genetic 2013. N. Matsumoto, T. Nishimura, K. Muramatsu, H. Kodera, S. Kumada, K. Sugai, E. Kasai-Yoshida, N. Sawaura, H. Nishida, A. Hoshino, F. Ryujin, S. Yoshioka, H. Arakawa, M. Kato, N. Mizushima, H. Saito. De novo mutations in the autophagy gene encoding WDR45 (WIPI4) cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood June 9, 2013 @Palais des Congrès, Paris, France

順天堂大学医学部セミナー・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 6 月 26 日@順天堂大学医学部・東京

第 17 回小児分子内分泌研究会特別講演・松本直通「次世代シーケンサーを用いてわかってきたこと」平成 25 年 7 月 7 日札幌北広島クラッセホテル

次世代解析装置を用いた難病の原因究明、治療法開発研究プロジェクトの成果発表会・松本直通「遺伝性難病治療の網羅的エクソーム解析拠点の構築」平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京

第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム
1・松本直通「疾患ゲノム解析における次世代シー
ケンサーの有用性」平成 25 年 7 月 19 日アクトシテ
ィ 浜松コンgresセンター・浜松

CiRA genomics epigenomics and bioinformatics
seminar series VIII. 松本直通「次世代シーケン
サーを用いた疾患ゲノム解析」平成 25 年 8 月 23
日@CiRA 京都大学

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究
事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平
成 25 年度第 1 回ワークショップ 松本直通「コン
トロールデータベースに関する話題」平成 25 年 8
月 24 日@京都大学（芝蘭会館）

神奈川県立循環器呼吸器病センター職員研修会
松本直通「新たな時代を迎えた遺伝性疾患解析」平
成 25 年 8 月 19 日@神奈川県立循環器呼吸器病セン
ター・横浜

現場の会第三回研究会基調講演・松本直通「NGS が
もたらしたヒト疾患ゲノム解析のパラダイムシフ
ト」平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場@神戸

第 23 回遺伝医学セミナー講義・松本直通「遺伝性
疾患の責任遺伝子単離法」平成 25 年 9 月 7 日三井
ガーデンホテル千葉@千葉市

第 22 回発達腎研究会・特別講演・松本直通「次世
代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析:現状と限
界」平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター@
高槻市

第 18 回山形小児神経研究会・特別講演・松本直通
「次世代シーケンス解析で分かってきたこと」平成
25 年 9 月 27 日パレスグランデール@山形市

第 58 回日本人類遺伝学会大会・シンポジスト・松

本直通「ヒト疾患エクソーム解析の現状と課題」平
成 25 年 11 月 23 日@江陽グランドホテル仙台
希少疾患・難病の全エクソーム解析 -現状と課題-
松本直通「希少疾患・難病の全エクソーム解析-現
状と課題-」平成 25 年 12 月 3 日日経バイオテック「希
少疾患・難病の治療薬開発におけるゲノム活用」@
秋葉原コンベンションホール

東京大学大学院人類遺伝学特論 II・Naomichi
Matsumoto「Rare Variants in Human Diseases」平
成 25 年 12 月 4 日@東京大学

7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得
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
分担研究報告書

小児病院におけるマイクロアレイ染色体検査実施状況

研究分担者 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科 本伸彦

研究要旨

小児科領域では原因不明の知的障害や自閉症、多発先天異常において、染色体検査が実施される。従来のG分染法では異常の検出率は3%程度である。マイクロアレイ染色体検査はG分染法で同定困難な微細な染色体の欠失や重複（CNV）を件出可能である。15～20%の検出率といわれている。最近大阪府立母子保健総合医療センター受診症例で実施したマイクロアレイ染色体検査の実施状況をまとめた。最近100例で31例の異常が同定された。適切な症例の選択により、従来言われているよりも高率の異常CNVの同定が可能であった。実施にあたっては慎重な臨床的評価と遺伝カウンセリング実施体制が重要と考えられた。

A．研究目的

臨床的に確定診断が困難な小児の知的障害、自閉症や先天異常などにおいては、マイクロアレイ染色体検査が推奨されている。従来のG分染法では異常の検出率は3%程度である。マイクロアレイ染色体検査はG分染法で同定困難な微細な染色体の欠失や重複（CNVs：copy number variations）を件出可能である。15～20%の検出率といわれている。わが国でもマイクロアレイ染色体検査の普及が望まれる。しかし、保険収載がないために、高額検査（10-15万円）である。あるいは研究所レベルの解析となっている。CNVs領域の解析結果の解釈については、臨床遺伝学に精通した専門家の関与が必要である。実施にあたっては遺伝カウンセリングが必須である。大阪府立母子保健総合医療センターでは関西地域の小児医療の中核的医療機関であり、多くの先天異常症例が集積する。他の医療機関で診断がつかなかった症例が多数紹介され

る。

大阪府立母子保健総合医療センターでのマイクロアレイ染色体検査の実施状況をまとめた。

B．研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で最近マイクロアレイ染色体検査を実施した知的障害と先天異常を合併する100例について結果をまとめた。

症例は全例、G分染法で異常がない症例か、異常核型があってもそれだけで病状を説明できない症例である。事前に詳細な臨床的評価を行い、単一遺伝子病や環境要因による疾患を極力排除し、マイクロアレイ染色体検査で異常が検出されそうな症例を選択している。

マイクロアレイ染色体検査は、東京医科歯科大学分子細胞遺伝学教室（林深先生、稲澤譲治先生）、東京女子医科大学統合医科学研究所（山本俊至先生）、（株）三菱化学メディエンスで行った。マイクロアレイで異常が見つからなかった症例の一部について、単一遺伝子疾患の解

析を大阪府立母子保健総合医療センター内で実施した。あるいは次世代シーケンサー解析を横浜市立大学遺伝学教室（松本直通先生）に依頼した。

（倫理面への配慮）マイクロアレイ染色体検査および遺伝子解析にあたり、保護者の代諾により書面で同意を得た。実施前後に認定遺伝カウンセラーによるカウンセリングを実施した。

C. 研究結果

最近100例では31例（31%）で病的なコピー数変化を同定した。この検出率は過去のマイクロアレイでの異常検出率（15 - 20%）よりも多かった。異常例では両親の検査を行ってde novoの確認を行うように努めているが、一部の例は今後確認予定である。しかし、欠失範囲の大きなや過去のデータベースとの比較から、これら31例は全例有意な変化と考えている。

事前に既知の症候群は十分鑑別を行っているが、Williams症候群、Smith-Magenis症候群が各1例診断された。この2例は事前にG分染法は行っていたが、FISHは行っておらず、マイクロアレイ染色体後に診断にいたった。症状的にはやや非典型例であった。

SNPアレイ実施例ではLOH領域がひろく、特定の劣性遺伝病がホモ接合になっていることが判明した例があった。

解析結果から、特定の原因遺伝子が同定され、病態の解明に有用なデータが得られた例が存在した。均衡型転座と思われたが、転座領域に微細欠失を認める例が複数あった。一方、均衡型転座であるが、転座に関与する染色体に欠失がなく、別の領域に欠失を認める例があった。このような所見はマイクロアレイ染色体検査を行

わなければ同定困難と考えられた。

D. 考察

マイクロアレイ染色体検査は従来の方法で同定されない染色体異常の検出に非常に有力な検査である。後出の関連論文にあるように、マイクロアレイ染色体検査を用いた研究論文も多数発表している。

マイクロアレイ染色体検査実施にあたっては事前の臨床的な評価が重要である。ダウン症候群や22q11.2欠失症候群のような従来の染色体検査で診断できる疾患、単一遺伝子病を事前に極力排除した。そこではDysmorphology的考察が重要であった。詳細な評価を行えば、30%の症例で有意なCNVを検出することができる可能性がある。

実施にあたっては事前に遺伝カウンセリングを行った。これは主治医とともに非医師の認定遺伝カウンセラーも担当した。結果の解釈に際しても、遺伝カウンセラーが医師の診断後のカウンセリングを行った。遺伝カウンセラーはマイクロアレイ染色体や次世代シーケンサーに関する知識も要求される。マイクロアレイ染色体検査の普及にあたっては、こうした専門職種の養成も重要課題である。

複数のCNVsが出現する例も少なくなかった。両親の検査を行い、比較する必要があった。マイクロアレイ染色体検査実施にあたっては、両親の検査が必要になる可能性について、事前に説明が必要である。

今回の解析で異常を認めなかった症例の一部について、次世代シーケンサー解析を行った結果、現時点において2症例でSWI/SNF系の遺伝子変異とてんかん関連遺伝子変異を同定した。さ

らに解析を継続予定である。次世代シーケンサー解析にあたっては、事前のマイクロアレイ解析で病的CNVsを把握しておくことは重要と考えられる。

マイクロアレイ染色体検査の実施にあたっては結果の専門的解釈を行い、遺伝カウンセリングを行う体制が必須と考えられた。一般の医療機関で行う場合も、適宜コンサルトできる体制が必要であろう。

E . 結論

マイクロアレイ染色体は非常に有用性の高い検査であり、さらなる普及が望まれる。しかし、実施にあたっては臨床遺伝学的な詳細な検討が必要である。遺伝カウンセリング体制の充実が必要と考えられた。

F . 研究発表

Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T. 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome *Am J Med Genet A.* 2013;161:1465-9.

Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics.* 2013 Nov 20. [Epub ahead of print]

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet.* 2013 Jul 1. doi: 10.1111/cge.12225. [Epub ahead of print]

Wada T, Ban H, Matsufuji M, Okamoto N, Enomoto K, Kurosawa K, Aida N. Neuroradiologic Features in X-linked α -Thalassemia/Mental Retardation Syndrome. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2013;34:

2034-8.

Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. *Hum Mutat.* 2013;34:108-10

Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: Detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2013;161:1221-37.

Hitomi Yatsuki, Ken Higashimoto, Kosuke Jozaki, Kayoko Koide, Junichiro Okada, Yoriko Watanabe, Nobuhiko Okamoto, Yoshinobu Tsuno, Yoko Yoshida, Kazutoshi Ueda, Kenji Shimizu, Hirofumi Ohashi, Tsunehiro Mukai, Hidenobu Soejima Novel mutations of CDKN1C in Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Genes and Genetics*

Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Sakamoto M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. A de novo deletion at 16q24.3 involving ANKRD11 in a Japanese patient with KBG syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013;161A:1073-7.

Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients. *Am J Med Genet A.* 2013;161A:1779-85.

Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A.* 2013;161:2078-83.

Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev.* 2013;35:411-9.

Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G,

Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S. Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia. *J Hum Genet.* 2013;58:391-4.

Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y.

Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet.* 2013;93:173-80.

Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N. A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis. *Am J Med Genet A.* 2013;161:2291-3.

Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi JI, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T. Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology.* 2013;33:553-60.

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, Saitu H, Yoshiura K,

Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013;161:2234-43.

Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitu H. De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Hum Mutat.* 2013 ;34:1708-14.

Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitu H, Matsumoto N. Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder. *PLoS One.* 2013;8:e74167.

Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet.* 2013 ;58:822-4.

Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N. Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case. *Brain Dev.* 2013;35:586-9.

G . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
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
分担研究報告書

遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究

研究分担者 山内泰子 川崎医療福祉大学

研究要旨：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に関する指針（incidental findings：IFや結果の開示）に関して検討した。ACMGレポート（2013年3月）の方針を基準に、遺伝カウンセリングの立場から遺伝学的検査実施前に被験者に伝えるべきことなど倫理的問題点を検討した。

遺伝情報を適切に医療の場で生かす遺伝医療では、被検者の理解が遺伝情報を扱う上で不可欠である。さらに、本人ばかりでなく、影響が及ぶ現在および将来の家族にも遺伝カウンセリングが必要になる可能性がある。

A．研究目的

次世代シーケンサーを用いる遺伝学検査の実施に伴い生じる、本来の目的とする遺伝子以外のincidental findingsがに関する倫理的問題について検討する。

B．研究方法

ACMG Recommendations for Reporting Of Incidental Findings in Clinical Exome and Genome Sequencing, Genet Med. 2013July; 15(7): 565-574を参考に、次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査に関し、遺伝カウンセリングの観点から倫理的問題点を抽出・検討した。

C．研究結果および考察

次世代シーケンサーを用いる遺伝学検査は疾患を限定して、被検者に偶発的な所見を結果として伝えるべきであろうか。塩基配列の意味づけがなければその価値はない。医療とはいえ、被検者が希望していないことまで調べるべきだろうか。特に、疾患との関連が明らかになっていない変異型の解釈を含めた被験者へ対応は、遺伝医療に生かされたといえるか。遺伝医療は被検者の自律的意思決定に基づくべきではないだろうか。研究と臨床では目的が異なるが、検査目的と限界、予想される結果と医療適応を被検者が理解・承諾していることが検査実施に必須である。

E．結論

次世代シーケンサーを用いる遺伝学的検査によるには被検者の理解不可欠で、必要に応じた遺伝カウンセリングが必要。

G．研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

- ・遺伝子検査ビジネスに法規制は必要か：認定遺伝カウンセラーの立場から、山内泰子、第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会、於川崎市、2013.6.20-23
- ・出生後のダウン症候群の診断告知の時に医療者が親へ伝える情報、峠和美、山内泰子、大西敬子、升野光雄、黒木良和、第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会、於川崎市、2013.6.20-23
- ・遺伝カウンセリングの現状と未来：あらためて遺伝カウンセリングとは、山内泰子、日本人類遺伝学会第 58 回大会、於仙台市、2013.11.21-2

H．知的財産権の出願・登録状況

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
分担研究報告書

次世代シーケンサーを用いた遺伝学的検査の倫理的課題の研究

分担研究者 武藤香織 東京大学医科学研究所

研究要旨

次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子解析は、疾患の診断・治療法の選択等にとって必要不可欠な手続きとなりつつあり、今後ますます増加することが予想されている。

しかしながら、クリニカルシーケンシングの時代が到来することによる倫理的な課題の洗い出しは十分ではない。そこで、本研究では、偶発的所見への対応、データ公開に関する対応、インフォームド・コンセントへの対応に関する倫理的な課題の論点を整理した。

A. 研究目的

次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子解析は、疾患の診断・治療法の選択等にとって必要不可欠な手続きとなりつつあり、今後ますます増加することが予想されている。

しかしながら、クリニカルシーケンシングの時代が到来することによる倫理的な課題の洗い出しは十分ではなく、患者が当初受診した病院から解析拠点に至るまで、どのような準備をすべきか、検討されていない。

そこで、本研究では、クリニカルシーケンシング時代を目前に控えた現在、倫理的な課題として解決すべき論点を整理することを目的とする。

B. 研究方法

網羅的な文献調査および過去に実施した一般意識調査のデータセットを用いた分析。

（倫理面への配慮）

人を対象とした介入研究ではないため、該当しない。

C. 研究結果

（1）偶発的所見をめぐる論点整理

ここでは、クリニカルシーケンシングを、患者の診断・治療に資する情報を得ることを目的とした解析として定義し、研究目的のシーケンスを除外して検討する。解析結果は、「本来的知見」(pertinent findings)と、意図していない「偶発的所見」(incidental findings)に大別される(Knoppers & Dam 2001)。クリニカルシーケンシングの場合、「本来的知見」は、もともと得ることを目的としていた結果であり、何らかの対処が可能なものとして解析されていることが前提となる。したがって、患者に対しては、診療上の意思決定につながるように説明されるべきであり、専門医と協議されるべき内容として扱うことを原則とすべきである。専門医は、ただ単に変異箇所を伝達するだけでなく、現時点で共有されている科学的な解釈、取りうる選択肢についての説明を伴うべきである。また、遺

伝性的変異と関連する所見であった場合や、患者自身が遺伝的な不安を抱いた場合には、速やかに遺伝カウンセリングを提供すべきである。

他方、「偶発的所見」とは、一般的に「最初に行われた研究や処置の目的とは別に得られる結果」である。2013年7月に米国臨床遺伝・ゲノム学会（American College of Medical Genetics and Genomics; ACMG）のワーキンググループが、臨床検査として実施される全エクソシーケンス解析において、被験者にその結果を開示すべき24疾患、56遺伝子を公表している（Green RC et al, AJMG 15: 565-574, 2013）。このワーキンググループでリストアップしたのは、遺伝性乳がん卵巣癌症候群（HBOC）などの家族性腫瘍（16疾患）、Marfan症候群や遺伝性不整脈などの循環器疾患（7疾患）および悪性高熱症が含まれている。これらの疾患・遺伝子は、変異が明らかになった場合には、浸透率が高くほぼ間違いなくその疾患に罹患すること、および診断された場合に治療法・予防法があり、被験者・血縁者にとって健康上のメリットがあるため、被検者への十分な情報提供と意思疎通を行うことが必要だと結論づけている。

しかしながら、このACMGガイドラインには、検査サイドに過度の負担がかかること、拒否する権利が認められていないこと、子どもの人権が守られていないこと、結果報告が健康の保持に役立つという根拠が十分ではないことなどの批判があり、ACMGでは再度、会員に対してアンケート調査を行っているところである。

日本では、これまでのところ、クリニカルシーケンシングに伴う「偶発的所見」について、学术界からの声明は出されていない。なお、研究を遂行するうえで発見されうる「偶

発的所見」については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」（以下、三省指針）では、平成23年度の改正時において、新たに「偶発的所見の開示に関する方針に関する細則」を設け、「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・コンセントを受ける際には、その方針を説明し、理解を得るように努めることとする」と定めたところである。

この細則を参考にして、クリニカルシーケンシング導入の現場でも、事前の方針決定をすべきであると考えられるが、いくつか留意すべき点があると考えられる。クリニカルシーケンシングを伴う現場は、本来、患者の診断・治療を行う場であり、「偶発的所見」への対応は副次的にならざるを得ない。対応方針を検討するにあたっては、診療の進め方との関連を十分考慮し、本来の診療を妨げないこと、現場を混乱させないような対応が求められる。

（２）データ公開に関する論点整理

近年、ヒトゲノム解析研究においては、解析されたデータを公的データベースで公開ないし制限つき公開することが強く求められており、日本でも科学技術振興機構（JST）がナショナル・バイオサイエンス・データベース・センター（NBDC）等を通じてデータの利活用を促進している。

クリニカルシーケンシングで得られたデータは、解析実施時点では診断・治療の目的のために行われているが、他方、現在のヒトゲノム解析研究の現状を考慮すると、研究的価

値のある情報でもある。

その点では、インフォームド・コンセント取得時に、データ公開の可能性がある旨を説明し、同意を得ておくべきである。

なお、公開にあたっての選択肢をオープンとするか、制限アクセスとするかについては、個人識別可能性やセキュリティの観点から様々な議論がある。データベース側の審査委員会でも議論されるところではあるが、解析した者の意向は尊重されるため、データ公開の手続き時点で十分考慮する必要がある。

特に、稀少疾患の場合には、個人識別性が高まることから、公開方針について、患者自身の意向についても再度確認できることが望ましい。

(3) インフォームド・コンセントに関する留意事項

インフォームド・コンセントに関しては、通常の遺伝学的検査で説明すべき内容に加えて、以下のような項目に関する説明を追記することになると考えられる。想定される項目を例示する。

クリニカルシーケンシングの目的

実際の作業内容について、通常の遺伝学的検査と同様の説明部分に加え、クリニカルシーケンシング特有の作業についても、できるだけ具体的な説明

がんの場合、がん細胞と正常細胞の両方でおこなわれること及びその内容の違い

得られたデータは、その後も診療や研究に幅広く利活用されること

院内でのデータ保管方法、セキュリティ、アクセスできる人員の制限状況

得られたデータは、さらなる研究の進展のため、公開される可能性があること、データを管理するデータベースとはどのような

ものか。データベース寄託後の患者の権利（同意撤回の可否）など。

偶発的所見については、本人の希望がない場合の通知はおこなわないこと

偶発的所見については、通知する価値があるかどうかを、誰がどのように判断・情報を共有し、誰から連絡がくる可能性があるのか。また、一定の年月を経過してから、突然、連絡がやってくる可能性があること。通知されることの利益と不利益。

[予め同意を得ておく場合のみ該当] 意思変更の申し出方法

費用負担

不安が生じた場合の相談先

その他

D. 考察

クリニカルシーケンシングに関する倫理的な課題をいくつか整理したが、日本では安心して診療・研究に利用するための基盤となる法整備が遅れており、重過失や悪用に関する法的な手当はなされていない。個人情報保護法では、個人遺伝情報の取り扱いを断念しており、同法の対応は診療や研究で取り扱う遺伝情報の対応としては不十分である。

我々が実施した一般意識調査（2014, n=7,540）では、個人遺伝資源の無断採取（72.1%）、個人遺伝情報の無断利用（70.8%）、個人遺伝情報の第三者への無断提供や転売（68.2%）に関する法規制を求める声が高く、これらは個人遺伝情報に基づく雇用・就労での処遇決定（66.6%）、保険加入上の差別（59.7%）最も高かった。今後は個人遺伝情報の利活用と保護に関する法整備が急がれる。

E. 結論

クリニカルシーケンシングに関する倫理的な課題について、偶発的所見への対応、データの長期利用、インフォームド・コンセントにおける留意点に絞って論点を整理した。しかし、日本では個人遺伝情報を安心して診療・研究に利用するための基盤となる法整備が遅れているため、今後議論が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

荒内貴子，井上悠輔，磯部太一，武藤香織.
ゲノム解析技術の進展と課題：巨大化する
医学・生命科学分野の技術. 社会技術研究論
文集、Vol.11, in press.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

辻 省次

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishii A, Saito Y, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Arai H, Yamashita S, Kimura S, Oguni H, Morishita S, Tsuji S, Sasaki M, Hirose S.	Identification of ATP1A3 mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients.	<i>PLOS One</i>	8	e56120	2013
Ichikawa Y, Ishiura H, Mitsui J, Takahashi Y, Kobayashi S, Takuma H, Kanazawa I, Doi K, Yoshimura J, Morishita S, Goto J, Tsuji S.	Exome analysis reveals a Japanese family with spinocerebellar ataxia, autosomal recessive 1.	<i>J. Neurol. Sci.</i>	331	158-60	2013
Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, Fukuda Y, Ichikawa Y, Date H, Ahsan B, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Iwata A, Goto J, Yamamoto Y, Komata M, Shirahige K, Hara K, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Takashima H, Kuwano R, Watanabe H, Ito M, Sobue G, Soma H, Yabe I, Sasaki H, Aoki M, Ishikawa K, Mizusawa H, Kanai K, Hattori T, Kuwabara S, Arai K, Koyano S, Kuroiwa Y, Hasegawa K, Yuasa T, Yasui K, Nakashima K, Ito H, Izumi Y, Kaji R, Kato T, Kusunoki S, Osaki Y, Horiuchi M, Kondo T, Murayama S, Hattori N, Yamamoto M, Murata M, Satake W, Toda T, Dürr A, Brice A, Filla A, Klockgether T, Wüllner U, Nicholson G, Gilman S, Shults CW, Tanner CM, Kukull WA, Lee V M-Y, Masliah E, Low PA, Sandroni P, Trojanowski JQ, Ozelius L, Foroud T, and Tsuji S.	Mutations of COQ2 in familial and sporadic multiple system atrophy.	<i>New Engl. J. Med.</i>	369	233-44	2013

<p>Landouré G, Toro C, Z hu P-P, Johnson JO, Br icceno KV, Rinaldi C, Meilleur KG, Sangaré M, Diallo O, Pierson T M, Ishiura H, Tsuji S, Hein N, Fink JK, Stoll M, Nicholson G, Gon zalez M, Züchner S, D ürr A, Stevanin G, Bie secker LG, Accardi J, Landis D, Gahl WA, T raynor BJ, Blackstone C, Fischbeck KH, Burn ett BG.</p>	<p>Hereditary spastic paraplegia typ e 43 (SPG43) is caused by mutation in C19ORF12.</p>	<p>Human Mu tation</p>	<p>34</p>	<p>1357-60</p>	<p>2013</p>
<p>Isojima T, Doi K, Mits ui J, Oda Y, Tokuhiro E, Yasoda A, Yorifuji T, Horikawa R, Yoshimura J, Ishiura H, Morishita S, Tsuji S, and Kitanaka S.</p>	<p>A recurrent de novo FAM111A mutation causes Kenny–Caffey syndrome type 2.</p>	<p>J Bone Mi neral Res</p>			<p>in press</p>
<p>Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Morisada N, Iijima K, Takada S, Araki A, Tanabe Y, Arai H, Yamashita S, Ohashi T, Oda Y, Ichiseki H, Hirabayashi S, Yasuhara A, Kawawaki H, Kimura S, Shimono M, Narumiya M, Suzuki M, Yoshida T, Oyazato Y, Tsuneishi S, Ozasa S, Yokochi K, Dejima S, Akiyama T, Kishi N, Kira R, Ikeda T, Oguni H, Zhang B, Tsuji S and Hirose S.</p>	<p>Genotype–Phenotype Correlations in Alternating Hemiplegia of Childhood.</p>	<p>Neurology</p>			<p>in press</p>

<p>Takahashi Y, Fukuda Y, Yoshimura J, Toyoda A, Kurppa K, Moritoyo H, Belzil VV, Dion PA, Higasa K, Doi K, Ishiura H, Mitsui J, Date H, Ahsan B, Matsukawa T, Ichikawa Y, Moritoyo T, Ikoma M, Hashimoto T, Kimura F, Murayama S, Onodera O, Nishizawa N, Yoshida M, Atsuta N, Sobue G, JaCALS, Fifita JA, Williams KL, Blair IP, Nicholson GA, Gonzalez-Perez P, Brown, Jr.RH, Nomoto M, Elenius K, Rouleau GA, Fujiyama A, Morishita S, Goto J and Tsuji S.</p>	<p>ERBB4 Mutations that Disrupt the Neuregulin-ErbB4 Pathway Cause Amyotrophic Lateral Sclerosis Type 19.</p>	<p><i>Am J Hum Genet</i></p>	<p>93</p>	<p>900-5</p>	<p>2013</p>
<p>Doi K, et al.</p>	<p>Rapid detection of expanded short tandem repeats in personal genomics using hybrid sequencing.</p>	<p><i>Bioinformatics</i></p>			<p>in press</p>
<p>Yamada M, Tanaka M, Takagi M, Kobayashi S, Taguchi Y, Takashima S, Tanaka K, Touge T, Hatsuta H, Murayama S, Hayashi Y, Kaneko M, Ishiura H, Mitsui J, Astuta N, Sobue G, Shimozawa N, Inuzuka T, Tsuji S, and Hozumi I.</p>	<p>Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan.</p>	<p><i>Neurol</i></p>			<p>in press</p>
<p>Ishiura H, Takahashi Y, Hayashi T, Saito K, Furuya H, Watanabe M, Murata M, Suzuki M, Sugiura A, Sawai S, Shibuya K, Ueda N, Ichikawa Y, Kanazawa I, Goto J, Tsuji S.</p>	<p>Molecular epidemiology and clinical spectrum of hereditary spastic paraplegia in the Japanese population based on comprehensive mutational analyses.</p>	<p><i>J. Hum. Genet.</i></p>			<p>in press</p>

松原洋一

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sekiguchi K, Maeda T, Suenobu S, Kunisaki N, Shimizu M, Kiyota K, Handa YS, Akiyoshi K, Korematsu S, Aoki Y, Matsubara Y, Izumi T.	A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome and a germline BRAF mutation	<i>Am J Med Genet A</i>	161(10)	2600-3	2013
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, Harata T, Tonoki H, Ohtatsuma 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, Niikawa N	MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	161(9)	2234-43	2013
Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshikawa T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y.	Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome.	<i>Am J Hum Genet</i>	93(1)	173-80	2013

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y.	Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure.	<i>J Hum Genet.</i>	58(5)	259-66	2013
Aoki Y, Matsubara Y.	Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases.	<i>Int J Hematol.</i>	97(1)	30-6	2013
Asano M, Fujimura T, Wakusawa C, Aoki Y, Matsubara Y, Aiba S.	A case of almost unilateral focal dermal hypoplasia resulting from a novel mutation in the PORCN gene.	<i>Acta Derm Venereol.</i>	93(1)	120-1	2013

奥山虎之

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okuyama T, Yotsumoto J, Funato Y.	Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan.	<i>J Obstet Gynaecol Res.</i>	39	942-947	2013
Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M	Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings.	<i>Mol Genet Metab.</i>	108	172-177	2013
Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishihiko A, Amagai M, Kikudoh J	The novel SLC02A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype.	<i>Br J Dermatol.</i>	doi:10.1111/bjd.12790.		2013
Okuyama T, Yotsumoto J, Funato Y	Survey of second-trimester maternal serum screening in Japan.	<i>J Obstet Gynaecol Res.</i>	39	942-947	2013
Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M.	Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for Mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings.	<i>Mol Genet Metab.</i>	108	172-177	2013

Niizeki H, Shiohama A, Sasaki T, Seki A, Kabashima K, Otsuka A, Takeshita M, Hirakiyama A, Okuyama T, Tanese K, Ishiko A, Amagai M, Kudoh J.	The novel SLC02A1 heterozygous missense mutation p.E427K and nonsense mutation p.R603* in a female patient with pachydermoperiostosis with an atypical phenotype.	<i>Br J Dermatol.</i>		Dec16.doi:10.1111/bjd.12790.	2013
後藤由紀、柿島裕樹、藤直子、渡辺靖、小関満、松林守、木田和宏、小須賀基通、奥山虎之	ポンペ病を対象とした新生児マススクリーニングの運用	日本マス.スクリーニング学会誌	23	251-55	2013

後藤雄一

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y.	MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA(Leu(UUR)) gene.	<i>Brain Dev.</i>	36	180-182	2014
後藤雄一	ミトコンドリア病の診断と治療	内分泌・糖尿病・代謝内科	37	481-486	2013

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
後藤雄一	ミトコンドリア病		内科学、第10版	朝倉書店	東京	2013	2339-2342

斎藤加代子

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kondo E, Nishimura T, Kosho T, Inaba Y, Matsuhashi S, Ishida T, Baba A, Koike K, Nishino I, Nonaka I, Furukawa T, Saito K.	Recessive <i>RYR1</i> Mutations in a Patient With Severe Congenital Nemaline Myopathy With Ophthalmoplegia Identified Through Massively Parallel Sequencing.	<i>Am J Med Genet A</i>	158(A)	772-778	2012

宮地勇人

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tomizawa D, Tawa A, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Kigasawa H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S.	Excess treatment reduction including anthracycline results in, higher incidence of relapse in core binding factor acute myeloid, leukemia in children.	<i>Leukemia</i>	27	2413-16	2013
Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Hayashi F, Kondo T, Asai S, Miyachi H.	Elimination of interference by lipids in the low WBC mode in the automated hematology analyzer XN-2000.	<i>Intern J Lab Hematol</i>		in press	2014
Tanaka Y, Matsushita H, Tanaka Y, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Miyachi H.	Evaluation of the body fluid mode of automated hematology analyzer XN-Series for extremely low peripheral White Blood Cell Counts.	<i>Intern J Lab Hematol</i>		in press	2014
Tanaka Y, Tanaka Y, Gondo K, Maruki Y, Kondo T, Asai S, Matsushita H, Miyachi H.	Performance evaluation of platelet counting by novel fluorescent dye staining in the automated hematology analyzers XN-series.	<i>J Clin Lab Analysis</i>		in press	2014
Asai S, Okami K, Nakamura N, Shiraishi S, Sugimoto R, Dandinsuren A, Sato S, Matsushita H, Suzuki Y. Miyachi H.	Localized or diffuse lesions of the submandibular glands in IgG4-related disease in association with differential organ involvement.	<i>J Ultrasound Med</i>	32	731-736	2013

福島義光

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
-------	---------	------	----	-----	-----

Narumi Y, Min BJ, Shimizu K, Kazukawa I, Sameshima K, Nakamura K, Kosho T, Rhee Y, Chung Y S, Kim OH, Fukushima Y, Park WY, Nishimura G.	Clinical consequences in truncating mutations in exon 34 of NOTCH2: report of six patients with Hajdu-Cheney syndrome and a patient with serpentine fibula polycystic kidney syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	161A	518-526	2013
Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.	Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature.	<i>Am J Med Genet A.</i>	161A	1221-1237	2013
Tanaka K, Sekijima Y, Yoshida K, Tamai M, Kosho T, Sakurai A, Wakui K, Ikeda S, Fukushima Y..	Follow-up nationwide survey on predictive genetic testing for late-onset hereditary neurological diseases in Japan.	<i>J Hum Genet</i>	58	560-563	2013
Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T..	Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18.	<i>Am J Med Genet A</i>	164A	324-330	2014
Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Ito mi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oh-Ishii T, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y.	Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	164 (3)	597-609	2014

古川洋一

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
-------	---------	------	----	-----	-----

Yamamoto S, Ebihara Y, Mochizuki S, Kawakita T, Kato S, Ooi J, Tojo A, Yusa N, <u>Furukawa Y</u> , Oyaizu N, Watanabe J, Sato K, Kimura F, and Tsuji K.	Quantitative PCR detection of CEP110-FGFR1 fusion gene in a patient with 8p11 syndrome.	<i>Leukemia & Lymphoma</i> ,	54(9)	2068-9	2013
Shigeyasu K, Tanakaya K, Nagasaka T, Aoki H, Fujiwara T, Sugano K, Ishikawa H, Yoshida T, Moriya Y, <u>Furukawa Y</u> , Goel A, Takeuchi H.	Early detection of metachronous bile duct cancer in Lynch syndrome: report of a case.	<i>Surg Today</i>	Jul 31	Epub	2013

難波栄二

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Adachi K	Expansion of Genetic Testing in the Division of Functional Genomics, Research Center for Bioscience and Technology, Tottori University from 2000 to 2013	<i>Yonago Acta Med</i>			in press
Chiba Y, Komori H, Takei S, Hasegawa-Ishii S, Kawamura N, Adachi K, Nanba E, Hosokawa M, Enokido Y, Kouchi Z, Yoshida F, Shimada A	Niemann-Pick disease type C1 predominantly involving the frontotemporal region, with cortical and brainstem Lewy bodies: An autopsy case	<i>Neuropathology</i>	34(1)	49-57	2014
Fujimoto S, Manabe Y, Fujii D, Kozai Y, Matsuzono K, Takahashi Y, Narai H, Omori N, Adachi K, Nanba E, Nishino I, Abe K	A novel mutation of the GAA gene in a patient with adult-onset Pompe disease lacking a disease-specific pathology	<i>Intern Med</i>	52(21)	2461-4	2013
Sekijima Y, Nakamura K, Kishida D, Narita A, Adachi K, Ohno K, Nanba E, Ikeda S	Clinical and serial MRI findings of a sialidosis type I patient with a novel missense mutation in the NEU1 gene	<i>Intern Med</i>	52(1)	119-24	2013

秋山真志

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sugiura K, Takemoto	The majority of generalize	<i>J Invest D</i>	133巻11	2514-2521	2013

A, Yamaguchi M, Takahashi H, Shoda Y, Mitsuma T, Tsuda K, Nishida E, Togawa Y, Nakajima K, Sakakibara A, Kawachi S, Shimizu M, Ito Y, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Muro Y, Ishida-Yamamoto A, Sano S, Matsue H, Morita A, Mizutani H, Iizuka H, Muto M, Akiyama M.	d pustular psoriasis without psoriasis vulgaris is caused by deficiency of interleukin-36 receptor antagonist.	<i>ermatol</i>	号		
Kono M, Sugiura K, Suganuma M, Hayashi M, Takama H, Suzuki T, Matsunaga K, Tomita Y, Akiyama M.	Whole-exome sequencing identifies ADAM10 mutations as a cause of reticulate acropigmentation of Kitamura, a clinical entity distinct from Dowling-Degos disease.	<i>Hum Mol Genet</i>	22巻17号	3524-3533	2013
Ogawa Y, Takeichi T, Kono M, Hamajima N, Yamamoto T, Sugiura K, Akiyama M.	Revertant mutation releases confined lethal mutation, opening Pandora's box: a novel genetic pathogenesis.	<i>PLoS Genetics</i>	In press		2014

野口佳裕

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishio A, <u>Noguchi Y</u> , Sato T, Naruse TK, Kimura A, Takagi A, Kitamura K	A <i>DFNA5</i> mutation identified in Japanese families with autosomal dominant hereditary hearing loss	<i>Annals of Human Genetics</i>	78	83-91	2014
野口佳裕、伊藤 卓、川島慶之、西尾綾子、本田圭司、喜多村 健	前庭水管拡大症を伴う <i>SLC26A4</i> , <i>ATP6V1B1</i> , <i>SIX1</i> 変異例の聴平衡覚所見の検討	<i>Equilibrium Research</i>	72	97-106	2013
川島慶之、野口佳裕	平衡覚と遺伝子	<i>JOHNS</i>			印刷中
本田圭司、野口佳裕、加藤智史、奥野秀次、喜多村 健	網羅的解析により診断された耳小骨奇形を合併したミトコンドリア3243変異例	<i>Otology Japan</i>	23	227-232	2013

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
------	---------	-----------	-----	------	-----	-----	-----

野口佳裕	感覚器疾患 難聴	29 .	泉孝英	ガイドライ ン外来診療2 014	日経メディ カル開発	東京		印刷中
------	-------------	------	-----	------------------------	---------------	----	--	-----

森田啓行

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Morita H	Human genomics in cardiovascular medicine-implications and perspectives-	<i>Circ J</i>	77(4)	876-885	2013
森田啓行、山田奈美 恵、小室一成	肥大型心筋症の遺伝子診断：推進に向けての方策.	<i>日内学誌</i>	102(5)	1233-1242	2013
Morita H, Komuro I	A novel channelopathy in pulmonary arterial hypertension.	<i>N Engl J Med</i>	369(22)	2161-2162	2013
Morita H	Genetic variants and dilated cardiomyopathy - To be or not to be causative: Is that the question? -	<i>Circ J</i>	77(12)	2879-2880	2013
森田啓行	遺伝子から心筋症をみる.	<i>日内会誌</i>	103(2)	285-292	2014

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
森田啓行	心筋症	矢崎義雄 総編集	内科学第10 版	朝倉書店	東京	2013	422-424
森田啓行、 永井良三	循環器疾患と遺 伝子異常	小川聡総 編集	内科学書改 訂第8版	中山書店	東京	2013	293-296

小崎健次郎

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
-------	---------	------	----	-----	-----

<p>Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis.</p>	<p><i>Eur J Med Genet</i></p>	<p>56(1)</p>	<p>50-53</p>	<p>2013</p>
<p>Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Tsuruta T, Banno K, Makita K, Susumu N, Jinno H, Kitagawa Y, Sugano K, <u>Kosaki K</u>, Aoki D.</p>	<p>Experience of Risk-reducing Salpingo-oophorectomy for a BRCA1 Mutation Carrier and Establishment of a System Performing a Preventive Surgery for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Syndrome in Japan: Our Challenges for the Future.</p>	<p><i>Jpn J Clin Oncol</i></p>	<p>43(5)</p>	<p>515-519</p>	<p>2013</p>
<p>Yamazaki F, Osumi T, <u>Kosaki K</u>, Mikami S, Hirato J, Shimada H.</p>	<p>Large Congenital Melanocytic Nevi With Atypical Teratoid/Rhabdoid Tumor.</p>	<p><i>Pediatr Blood Cancer</i></p>	<p>60(7)</p>	<p>1240-1241</p>	<p>2013</p>
<p>Ueda K, Awazu M, Konishi Y, Takenouchi T, Shimosato S, Kosaki K, Takahashi T.</p>	<p>Persistent hypertension despite successful dilation of a stenotic renal artery in a boy with neurofibromatosis type 1.</p>	<p><i>Am J Med Genet A</i></p>	<p>161(5)</p>	<p>1154-1157</p>	<p>2013</p>
<p>Komoiike Y, Matsuoaka M, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Potential Teratogenicity of Methimazole: Exposure of zebrafish embryos to Methimazole causes similar developmental Anomalies to Human Methimazole Embryopathy.</p>	<p><i>Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol</i></p>	<p>98(3)</p>	<p>222-229</p>	<p>2013</p>
<p>Takenouchi T, Kosaki R, Torii C, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome</p>	<p><i>Am J Med Genet</i></p>	<p>161(7)</p>	<p>1803-1805</p>	<p>2013</p>
<p>Takenouchi T, Saito H, Maruoka R, Oishi N, Torii C, Maeda J, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Severe obstructive sleep apnea in Loays-Dietz syndrome successfully treated using continuous positive airway pressure.</p>	<p><i>Am J Med Genet A</i></p>	<p>161(7)</p>	<p>1733-1736</p>	<p>2013</p>
<p>Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, <u>Kosaki K</u>, Tanigawara Y, Aoki D.</p>	<p>Polymorphisms in the UGT1A1 gene predict adverse effects of irinotecan in the treatment of gynecologic cancer in Japanese patients.</p>	<p><i>J Hum Genet</i></p>	<p>58(12)</p>	<p>794-798</p>	<p>2013</p>

<p>Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype.</p>	<p><i>Am J Med Genet A</i></p>	<p>161(12)</p>	<p>3057-3062</p>	<p>2013</p>
<p>Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation.</p>			<p>In press</p>	
<p>Takenouchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K.</p>	<p>Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation.</p>	<p><i>Am J Med Genet A</i></p>	<p>164(2)</p>	<p>392-396</p>	<p>2014</p>
<p>Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T.</p>	<p>Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: a cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study.</p>	<p><i>Orphanet J Rare Dis</i></p>	<p>8(1)</p>	<p>172</p>	<p>2014</p>
<p>Hirasawa A, Masuda K, Akahane T, Ueki A, Yokota M, Tsuruta T, Nomura H, Kataoka F, Tomimaga E, Banno K, Makita K, Susumu N, Sugano K, Kosaki K, Kameyama K, Aoki D.</p>	<p>Family History and BRCA1/BRCA2 Status Among Japanese Ovarian Cancer Patients and Occult Cancer in a BRCA1 Mutant Case.</p>	<p><i>Jpn J Clin Oncol</i></p>	<p>44(1)</p>	<p>49-56</p>	<p>2014</p>
<p>Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Nii zeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M.</p>	<p>Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis.</p>	<p><i>Am J Med Genet</i></p>	<p>93(5)</p>	<p>945-956</p>	<p>2013</p>

Takagi M, Ishii T, Torii C, Kosaki K, Hasegawa T.	A novel mutation in SOX3 polyalanine tract: a case of kabuki syndrome with combined pituitary hormone deficiency harboring double mutations in MLL2 and SOX3.Pituitary.			in press	2013
Takenouchi T, Hahida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K.	1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay.	<i>Am J Med Genet A.</i>	164(2)	456-60	2014

青木正志

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y.	Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure	<i>J Hum Genet</i>	58(5)	259-66	2013
Takahashi T, Aoki M, et al.,	Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B.	<i>J Neurol Neurosurg Psychiatry</i>	84	433-40	2013

松田文彦

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
-------	---------	------	----	-----	-----

<p>Plenge, R. M., Greenberg, J. D., Manganavite, 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.</p>	<p>Crowdsourcing genetic prediction of clinical utility in the Rheumatoid Arthritis Responder Challenge.</p>	<p><i>Nat. Genet.</i></p>	<p>45</p>	<p>468-469</p>	<p>2013</p>
<p>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.</p>	<p>Two susceptibility loci to Takayasu arteritis reveal a synergistic role of the IL12B and HLA-B regions in a Japanese population.</p>	<p><i>Am. J. Hum. Genet.</i></p>	<p>93</p>	<p>289-297</p>	<p>2013</p>
<p>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,</p>	<p>Association of Takayasu arteritis with HLA-B*67:01 and two amino acids in HLA-B protein.</p>	<p><i>Rheumatology</i> (Oxford)</p>	<p>52</p>	<p>1769-1774</p>	<p>2013</p>

H., Mimori, T. and <u>Matsuda, F.</u>					
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., <u>Matsuda, F.</u> and Keavney, B. D.	Quantitative variation in plasma angiotensin-I converting enzyme activities shows allelic heterogeneity in the ABO blood group locus.	<i>Ann. Hum. Genet</i>	77	465-471	2013
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., <u>Matsuda, F.</u> , Haga, H. and Mimori, T.	A clinical, pathological and genetic characterization of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders.	<i>J. Rheumatol.</i>	41	293-299	2014
Tanaka, K., Terao, C., Ohmura, K., Takahashi, M., Nakashima, R., Imura, Y., Yoshifuji, H., Yukawa, N., Usui, T., Fujii, T., Mimori, T. and <u>Matsuda, F.</u>	Significant association between <i>CYP3A5</i> polymorphism and blood concentration of tacrolimus in patients with connective tissue diseases.	<i>J. Hum. Genet.</i>	59	107-109	2014

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.,Kawaguchi, T.,Kamata ni, Y.,Taniguchi, A., Yamada, R., Kubo, M.,De Jager, P. L., Franke, L., Visscher, P. M., Brown, M. A., Yamana, H., Mimori, T., Takahashi, A., Xu, H., Behrens, T. W., Siminovitch, K. A., Momohara, S., <u>Matsuda, F.</u> , Yamamoto, K. and Plenge, R. M.	Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery.	<i>Nature</i>	506	376-381	2014
---	---	---------------	-----	---------	------

梅澤明弘

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Migita O, Maehara K, Kamura H, Miyakoshi K, Tanaka M, Morokuma S, Fukushima K, Shimamoto T, Saito S, Sago H, Nishihama K, Abe K, Nakabayashi K, Umezawa A, Okamura K, Hata K	Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women	<i>J Hum Genets</i>		in press	2014

松本直道

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
-------	---------	------	----	-----	-----

Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Poo h RK, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Saito S, and Matsumoto N.	Whole exome sequencing revealed causative biallelic IF T122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss.	<i>Clin Genet</i>		in press	
--	---	-------------------	--	----------	--

岡本伸彦

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T.	109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome	<i>Am J Med Genet A</i>	161	1465-9	2013
Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H.	PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy.	<i>Neurogenetics</i>		Nov 20. [Epub ahead of print]	2013
Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.	Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder.	<i>Clin Genet</i>		Jul 1. doi: 10.1111/cge.12225. [Epub ahead of print]	2013
Wada T, Ban H, Matsufuji M, Okamoto N, Enomoto K, Kurosawa K, Aida N.	Neuroradiologic Features in X-linked -Thalassaemia/Mental Retardation Syndrome.	<i>AJNR Am J Neuroradiol.</i>	34	2034-8	2013
Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N.	KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome	<i>Hum Mutat</i>	34	108-10	2013
Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hi	Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/S	<i>Am J Med Genet A.</i>	161	1221-37	2013

bi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.	NF complex: Detailed description of 21 patients and a review of the literature.				
Hitomi Yatsuki, Ken Higashimoto, Kosuke Jozaki, Kayoko Koide, Junichiro Okada, Yoriko Watanabe, Nobuhiko Okamoto, Yoshinobu Tsuno, Yoko Yoshida, Kazutoshi Ueda, Kenji Shimizu, Hirofumi Ohashi, Tsubehiro Mukai, Hidenobu Soejima	Novel mutations of CDKN1C in Japanese patients with Beckwith-Wiedemann syndrome.	<i>Genes and Genetics</i>			
Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Sakamoto M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N.	A de novo deletion at 16q24.3 involving ANKRD11 in a Japanese patient with KBG syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	161A	1073-7	2013
Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T.	Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients.	<i>Am J Med Genet A</i>	161A	1179-85	2013
Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T.	Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism.	<i>Am J Med Genet A</i>	161	2078-83	2013
Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T.	MECP2 duplication syndrome in both genders.	<i>Brain Dev</i>	35	411-9	2013
Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y,	Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia.	<i>J Hum Genet</i>	58	391-4	2013

Saitsu H, Shiina M, Ogata K, Watana be S, Ohashi H, Ma tsumoto N, Ikegawa S.					
Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y.	Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome.	<i>Am J Hum Genet.</i>	93	173-80	2013
Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chuj oh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsum oto N, Okamoto N.	A case of Toriello-Carey syndrome with severe co ngenital tracheal stenosis.	<i>Am J Med Genet A</i>	161	2291-3	2013
Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi JI, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T.	Whole-exome sequencing of a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria and mid brain tectal hyperplasia.	<i>Neuropathology. Neuropathology</i>	33	533-60	2013
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, Mat	MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome.	<i>Am J Med Genet A</i>	161	2234-43	2013

subara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N.					
Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yusa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitsu H.	De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy.	<i>Hum Mutat</i>	34	1708-14	2013
Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N.	Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder.	<i>PLoS One</i>	8	e74167	2013
Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N.	Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome.	<i>J Hum Genet</i>	58	822-4	2013
Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N.	Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case.	<i>Brain Dev</i>	35	586-9	2013

