

レット症候群と類縁疾患の遺伝学的検査

研究分担者 黒澤健司 神奈川県立こども医療センター遺伝科 部長

研究要旨

レット症候群はMECP2 (Methyl-CPG-binding protein 2) 遺伝子異常を原因とする神経発達異常症である。臨床的に重度知的障害やてんかんなどが共通するFOXG1症候群とCDKL5症候群が類縁疾患として挙げられる。海外ではレット症候群の遺伝学的検査は診断の必須にないが、実際には診断確定で遺伝学的検査は極めて有用である。レット症候群の遺伝学的検査適用を視野に入れ、類縁疾患の遺伝学的検査について検討した。遺伝学的検査の保険適用、次世代シーケンス解析でのバリエーション解釈、マイクロアレイ染色体検査の活用が、これらの疾患群で重要であることが明らかになった。

A. 研究目的

レット症候群は MECP2 (Methyl-CPG-binding protein 2) 遺伝子異常を原因とする神経発達異常症である。最近では、MECP2 遺伝子異常が、レット症候群に限定されず、発達障害という共通特徴はあるものの、幅広い症状をきたすことから MECP2 関連疾患としてまとめられつつある。具体的には、女性における MECP2 関連表現型のスペクトルは、古典的レット症候群から、臨床表現型の幅が広い（古典的レット症候群よりも軽度または重度の）レット症候群、軽度の学習障害まで多岐にわたる。いっぽう、男性におけるスペクトルは、重度の新生児脳症、錐体路徴候、パーキンソン病、大脳丸症 (PPM-X) 症候群、重度の症候群性/非症候群性知的障害まで多岐にわたっている。現在用いられている国際的に認められた診断基準は 2010 年の Neul らによるものであるが、この基準は分子遺伝学的解析が著しく進歩する前の基準に作成されている (Ann Neurol. 2010;68:944-50)。そのため、この診断基準は、遺伝学的検査の有用性についてはあまり触れていない。今回、このような背景から、我が国においてレット症候群をはじめとする様々な神経疾患の遺伝学的検査の位置づけについて検討した。

また、さらに実際の遺伝学的検査の導入として、エクソーム解析の実臨床への応用と令和 4 年度から正式に保険収載となったマイクロアレイ染色体検査のレット症候群と類縁疾患への適用の有用性についても検討した。

B. 研究方法

現在まで保険収載となっている遺伝学的検査適用疾患とその基準を検討した。データ収集には、これまで

の経緯がまとめられている中央社会保険医療協議会資料等を参照した。また、各指定難病における遺伝学的検査の位置づけについては、難病情報センター (<https://www.nanbyou.or.jp/>) を、小児慢性特定疾病については小児慢性特定疾病情報センター (<https://www.shouman.jp/>) を参照した。

実際の MECP2 関連疾患およびレット症候群類縁疾患の遺伝学的検査については、全エクソンの迅速診断システムの確立が重要と考え、次世代シーケンサーを用いた変異スクリーニング体制を確立した。分析は、メンデル遺伝病疾患パネル解析 TruSight One Sequence Panel (Illumina) を用いて卓上型次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) で解析を進めた。得られたデータは、当施設でのオリジナルパイプラインを用いた。variant マッピング: BWA、重複検証: Picard、variant calling と indel realignments: GATK、機能推定: ANNOVAR を組み合わせた。データの可視化は、IGV (Integrative Genomics Viewer) を用いた。参照ゲノムデータベースは、gnomAD、jMorp、1000 Genomes Project などを用いた。また、HGMD (Human Gene Mutation Database) の最新版も参考とした。日本人データベースとして Human Genetic Variation Database (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) を参照した。さらに日本人データの不足を補うため、施設内既存データ (in-house データ) も参照する系とした。状況により、全エクソーム解析も併用した。

マイクロアレイ染色体検査は、Agilent 社製マイクロアレイシステムを使用し、解析プラットフォームは SurePrint G3 シリーズを用いた。令和 4 年度からは D006-26 染色体構造変異解析として保険収載となっ

たことから、そのプラットフォームを用いた。FISH解析で用いる BAC クローンは、CHORI 32K plate から選択し、通常法で抽出・ラベリング後、Carl Zeiss 製蛍光顕微鏡と MetaSysrwns 製 Isis で観察をおこなった。臨床症状は診療記録からまとめた。得られた結果は、hg19 に準拠した UCSC Genome Browser に従って検討した。ISCA データ、および DECIPHER データなど種々のデータベースを参照して検出された copy number variations (CNV) の意義を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝学的検査については、施設内倫理承認を得、個人情報に連結可能匿名化として解析を進めた。解析は、保護者の文書による同意を得たうえでおこなった。

C. 研究結果

指定難病 333 疾患中、遺伝学的検査適応疾患は約 6 割 (180 疾患) 程度におよぶものの、実際に保険収載となっている疾患は約 120 疾患であることを確認した。その多くが、指定難病かつ小児慢性特定疾病であった。遺伝学的検査が保険収載とされている疾患における遺伝学的検査の位置づけは、診断基準で必須項目として挙げられていた。また、遺伝学的検査の対象となる責任遺伝子が非常に多く、遺伝的異質性が高い疾患は、保険適用が難しい傾向があった。

適用として、「分析的妥当性」は「第三者による施設認証や、標準化された手順の遵守等による分析的妥当性の確認が必要」であることや、「臨床的妥当性」は「厚生労働科学研究班による調査研究を踏まえ、厚生科学審議会疾病対策部会で決定された客観的な診断基準において、当該疾患の診断のために必須の検査として位置づけられており、臨床的妥当性は確認されている」ことが必要であることがわかった。また、「臨床的有用性」については、「厚生労働大臣が指定する指定難病の診断が可能であり、臨床的有用性は確認されている」ことがあげられていた。臨床的妥当性の重視が確認できた。

遺伝学的検査では、研究期間に102例の重度知的障害症例をスクリーニングし、1例にMECP2遺伝子既報告変異例の診断ができた。また、CDKL5遺伝子異常症では1例の診断が可能であった。今年度の解析では、明らかなCNVによるレット症候群類縁疾患例は検出されなかったが、これまでもFOXG1遺伝子欠失例などはレット症候群類似の臨床症状を呈する例としてこれまで検出している。

D. 考察

遺伝学的検査の適用拡大は、ゲノム医療の発展にとっ

ては不可欠な要素であることから、厚生労働科学研究費による難病研究班や関連学会から多くの意見が寄せられていた。2020年度の社会保険診療報酬改定では、こうした流れを反映して新たに65疾患が保険適用となり、全部で140疾患となった。遺伝医療の充実には大きな前進といえる。今後、保険収載となる遺伝学的検査はさらに拡大が期待される。疾患ごとの遺伝的異質性やアレルの異質性を考慮すると、次世代シーケンスの希少難病遺伝学的診断への導入は避けがたい。検出精度、網羅性、コスト、労力、あらゆる面で優れていることは示されている。しかし、網羅的であるからこそ、十分注意が必要である。次世代シーケンスの遺伝学的検査として実施する際の留意事項も公表されつつある。希少難病の医療を進めるうえでそれは不可避の問題である。遺伝学的診断は、保険収載の有無に関わらず高い専門性が求められる医療である。遺伝学的検査の拡大に合わせて、検査・診断を行うためのあるべき体制を各医療機関でも整備してゆくことが重要である。

レット症候群の臨床症状は、年齢とともに変化し、早期の診断や晩期の診断は困難となることがある。今後、早期治療を視野に、こうした遺伝学的検査体制が期待される。一方、網羅的であることから、留意点も上げられ、既に網羅的遺伝学的検査については、小杉班「ゲノム医療における情報伝達プロセスに関する提言—その2:次世代シーケンサーを用いた生殖細胞系列網羅的遺伝学的検査における具体的方針(改定版)」が提出されている。基本的な対処事項は記載あるが、個別の具体的なバリエーション解釈のマニュアルとは異なる。今後、遺伝学的検査として導入する際には、施設設備、人材、報告書のありかた、バリエーション解釈の手順書、なども必要かもしれない。

E. 結論

レット症候群の遺伝学的検査適用を視野に入れ、神経疾患の保険収載の状況を検討した。その結果、遺伝学的検査の診断基準の位置づけが明確であり、日本医学会のガイドラインを満たすことが必要と思われた。医療の均てん化のために、遺伝学的検査の診断基準における位置づけの明確化が重要と思われた。今後、レット症候群の保険適用が課題と考えられた。また、実際の網羅的解析がレット症候群および類縁疾患の診断に有用であることを確認した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nishimura N, Murakami H, Hayashi T, Sato H, Kurosawa K. Multiple craniosynostosis and facial dysmorphisms with homozygous IL11RA variant caused by maternal uniparental isodisomy of chromosome 9. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2020;60:153-155.
2. 黒澤健司 熊木達郎 遺伝情報を小児科診療に役立てよう *小児内科* 2020;5(8): 1004-1009
3. 黒澤健司 保険収載されている遺伝学的検査 *小児内科* 2022;54(2):319-324.
4. Murakami, H., Uehara, T., Enomoto, Y., Nishimura, N., Kumaki, T., Kuroda, Y., Asano, M., Aida, N., Kosaki, K., & Kurosawa, K. (2022). Persistent Hyperplastic Primary Vitreous with Microphthalmia and Coloboma in a Patient with Okur-Chung Neurodevelopmental Syndrome. *Molecular syndromology*, 13(1), 75–79.
5. Nishimura N, Enomoto Y, Kumaki T, Murakami H, Ikeda A, Goto T, Kurosawa K. Delineation of a Phenotype Caused by a KAT6B Missense Variant Not Resembling Say-Barber-Biesecker-Young-Simpson and Genitopatellar Syndromes. *Mol Syndromol*. 2022 May;13(3):221-225.
6. 黒澤健司 顔貌の異常—顔貌でわかる主な症候群 *周産期医学* 2022;52:1334-1337.
7. Shono K, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Kumaki T, Masuno M, Kurosawa K. Further delineation of

SET-related intellectual disability syndrome. *Am J Med Genet A*. 2022 May;188(5):1595-1599.

8. 黒澤健司 アレイ CGH モダンメディア 2022;68:470-473.
9. Nishimura Y, Kurosawa K. Analysis of Gene-Environment Interactions Related to Developmental Disorders. *Front Pharmacol*. 2022;13:863664.

2. 学会発表

1. 黒澤健司 先天異常の診かたと考え方 第29回日本形成外科学会基礎学術集会 2020.10.8-9. 横浜
2. 上原健史、関衛順、榎本友美、黒澤健司 メンデル遺伝病シーケンスパネル解析により診断された TRRAP 遺伝子変異の2例. 第368回日本小児科学会神奈川県地方会 2022.2.12 横浜 ウェブ
3. 村上博昭、榎本友美、熊木達郎、黒澤健司 De novo の3q腕内逆位を有し、Gomez-Lopez-Hernandez 症候群を疑った男児におけるナノポア長鎖シーケンサーによる切断点解析 日本人類遺伝学会第67回大会 2022.12.14-17 横浜
4. 成戸卓也、関衛順、黒田友紀子、齋藤洋子、榎本友美、黒澤健司 KMT2D 遺伝子内のエクソン欠失による歌舞伎症候群の一例 日本人類遺伝学会第67回大会 2022.12.14-17 横浜

H. 知的財産権

該当なし。

