

小児遺伝性血液疾患の包括的な遺伝子診断システムを確立

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英）小児科学の小島勢二（こじませいじ）名誉教授、村松秀城（むらまつひでき）助教、名古屋大学医学部附属病院先端医療・臨床研究支援センターの奥野友介（おくのゆうすけ）特任講師、京都大学大学院医学研究科 腫瘍生物学の小川誠司（おがわせいし）教授、吉田健一（よしだけんいち）助教、東京大学医科学研究所 ヒトゲノム解析センター 宮野 悟（みやのさとる）教授・白石友一（しらいしゆういち）助教らの研究グループは、小児遺伝性血液疾患における包括的な遺伝子診断のシステムを確立しました。

小児遺伝性血液疾患とは、生まれながらにして血液を作る働きに異常があり、貧血や、白血球の減少、血小板の減少といった症状を来す病気の一群を指します。非常に稀な病気の集まりであり、一番患者の多いファンconi貧血という病気でも、日本における患者数は年間 10 人程度です。この病気の結果として貧血などが起こることは共通しているのですが、その原因は様々です。そして、その原因によって治療法が全く異なるため、正しい診断を行うことが非常に重要です。

小児遺伝性血液疾患は、両親から引き継がれた遺伝子の異常か、あるいは患者本人に新たに生じた遺伝子の異常によって起こります。そのため、もっとも直接的な診断法は、遺伝子を検査することです。しかしながら、小児遺伝性血液疾患の原因となる遺伝子は、数が多く、それぞれの遺伝子も平均的な遺伝子よりとても大きいため、従来の方法（キャピラリーシーケンス法）を用いた検査は非常に困難でした。

本研究グループは、次世代シーケンサーという新たな機器を用いて、小児遺伝性血液疾患の原因となる 100 以上の遺伝子を一度に解析が可能となる、遺伝子診断システムを構築しました。実際の患者の検体を用いて検討を行ったところ、解析した 371 人のうち、33%に当たる 121 人の患者の遺伝子診断を確定できました。また、遺伝子診断が得られた患者の約 1 割では、主治医が考えた診断（臨床診断）と遺伝子診断が一致しないことが明らかとなり、この検査が小児遺伝性血液疾患の正確な診断に貢献する可能性が示されました。

本研究成果は、米国臨床遺伝学会 (American College of Medical Genetics) より発行されている科学誌『Genetics in Medicine』（米国東部標準時間 2017 年 1 月 19 日付の電子版）に掲載されました。

小児遺伝性血液疾患の包括的な遺伝子診断システムを確立

ポイント

- すべての小児遺伝性血液疾患の遺伝子診断が可能なシステムを確立しました。
- 371人中121人(33%)について、遺伝子診断を確定することができました。
- この遺伝子診断システムは正確な診断と、それに基づいた適切な治療に貢献します。

1. 背景

小児遺伝性血液疾患とは、生まれながらにして血液を作る働き(造血系)に異常があり、貧血や、白血球の減少、血小板の減少といった症状を来す病気の一群を指します。非常に稀な病気の集まりであり、一番患者の多いファンconi貧血という病気でも、日本における患者数は年間10人程度です。ダイヤモンドブラックファン貧血や、先天性角化不全症、重症好中球減少症といった病気はさらに患者数が少ないと考えられます。小児遺伝性血液疾患に含まれる10種類以上の病気をすべて合わせても、患者数は年間100人未満と推定されます。

小児遺伝性血液疾患に共通することは、造血系に何らかの異常があつて、結果として貧血などの症状が生じることです。しかしながら、それが起こる原因は病気ごとに全く異なります。例えば、ファンconi貧血では、細胞が分裂するときに遺伝子に生じる傷(DNAの2本鎖切断)を修復する仕組みに異常があり、血液を作る細胞が正常に働けないため、貧血が生じます。ダイヤモンドブラックファン貧血では、遺伝子の情報からたんぱく質を作る仕組み(リボソーム)に異常があり、貧血が生じます。原因が異なることで、病気ごとの治療法は全く異なります。

治療法が全く異なるため、それぞれの患者について、正しい診断を行うことが非常に重要です。その名前が示すように、小児遺伝性血液疾患は、両親から引き継がれた遺伝子の異常か、あるいは患者本人に新たに生じた遺伝子の異常によって起こります。そのため、もっとも直接的な診断法は、遺伝子を検査することです。しかしながら、小児遺伝性血液疾患の原因となる遺伝子は、100種類以上が知られており、従来の方法(キャピラリーシーケンス法)を用いた検査は非常に困難でした。例えば、従来の方法でファンconi貧血の原因となる遺伝子を調べるには、1人分の検査を行うために、熟練した技術者でも1週間以上の時間がかかります。2つ以上の病気に関わる遺伝子の検査をすることは、労力的にもさらに困難です。そのため、患者の症状や検査結果から病気が絞り込めないときには、遺伝子の検査を行うことは事実上できませんでした。

近年実用化がすすんでいる、次世代シーケンサーと呼ばれる遺伝子解析の機器は、従来の方法と比べて1億倍近い解析量の増加を達成しています。この機器を用いることで、小児遺伝性血液疾患に関連する100以上の遺伝子を一度に解析することが可能と考えられます。本研究グループは、次世代シーケンサーを用いて、小児遺伝性血液疾患の遺伝子診断を行うシステムを構築し、その臨床的な有用性について検討を行いました。

2. 研究成果

本研究グループは、小児遺伝性血液疾患に関連する184の遺伝子を選定して、次世代シーケンサーを使って一度に解析できるシステムを設計しました。得られたデータから、遺伝子の異常が生じている部位(変異)を特定し、その異常が病気と関連しているかを自動的に分析するシステム(ターゲットシーケンス

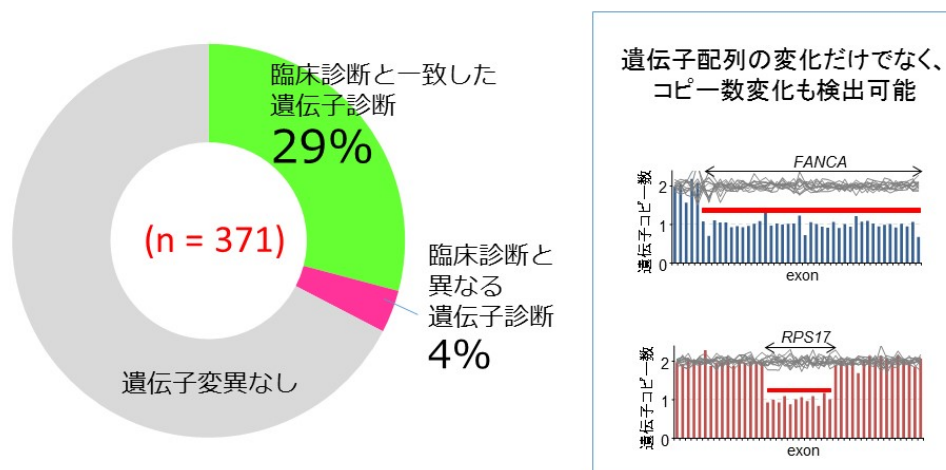
解析)を構築しました。

このシステムが、実際の患者において、どれくらいの効率で遺伝子診断を行えるかの検討を行いました。121人の患者について検討したところ、結果として44%にあたる53人の遺伝子診断を確定することが可能でした。この遺伝子診断は、過去の論文などに報告されている、病気に関係があることが確認されている変異に基づいて行われました。言い換えると、次世代シーケンサーを用いて関係のある遺伝子をすべて調べることで、蓄積された医学の知識を有効に活用することができ、患者の正しい診断に貢献することができた、ということもできます。

次に、従来の遺伝子検査に加えて、この遺伝子検査のシステムがどれだけ遺伝子診断を確定できるか、ということを検討しました。先の121人は従来の遺伝子検査がまだ行われていない時点で次世代シーケンサーによる解析が行われましたが、それとは別の、従来の遺伝子検査を行ったけれども遺伝子診断が確定しなかった小児遺伝性血液疾患の患者250人を調べました。その結果、この250人のうち、68人(27%)について、新たに遺伝子診断を確定することができました。これは、次世代シーケンサーを用いた新たな遺伝子診断のシステムが、従来の遺伝子検査よりも効率よく遺伝子診断を確定できる可能性を示しています。

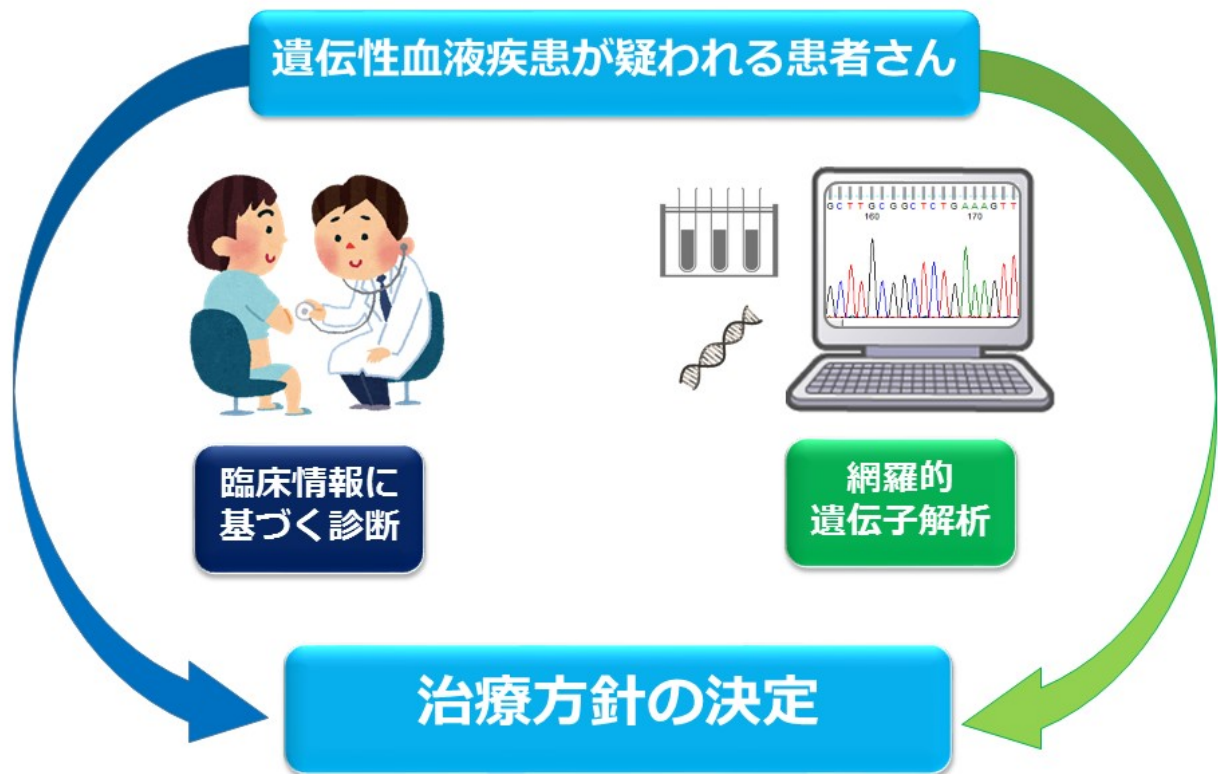
主治医が考えた診断(臨床診断)と遺伝子診断は、ほとんどの患者において一致していました。しかしながら、遺伝子診断が得られた患者の約1割では、臨床診断と遺伝子診断が一致しないことが明らかになりました。例えば、特発性血小板減少性紫斑病という、血小板が減少する良性の病気と考えられていた患者について、*RUNX1* 遺伝子に異常が見つかり、家族性血小板異常症(FPD/AML)という、将来的に血液がんを発症する可能性がある悪性の病気であることが明らかになりました。先天性溶血性貧血と診断されていた患者には、先天性赤血球異形成貧血の遺伝子に異常が見つかったり、逆に先天性赤血球異形成貧血の患者に、先天性溶血性貧血の遺伝子変異が見つかったりしました。この2つの疾患は治療方針が異なるため、この遺伝子診断は正しい治療に貢献すると考えられます。また、小児遺伝性血液疾患には分類されるけれども、どの病気と特定することはできないような患者についても、3人について遺伝子診断から病気を特定することができました。

(図1) 本遺伝子診断システムの性能



稀少小児遺伝性血液疾患の効果的な
遺伝子診断システムの確立に成功

(図2) 稀少小児遺伝性血液疾患の新たな診断アプローチ



従来の臨床情報に基づく診断に加え、網羅的な遺伝子解析を行うことでより適切な診断と治療方針の決定が可能になります。

今後の展開

これらの結果によって、次世代シーケンサーを用いた新しい遺伝子検査システムは、小児遺伝性血液疾患の正確な診断に貢献できることが示されました。日本全国で継続的にこの新しい検査システムを行っていくことで、個々の患者について正確な診断を行うことに加えて、遺伝子の異常が明らかになること、新たな遺伝子の異常や新たな病気の存在が判明することなど、科学への貢献も期待されます。

4. 用語説明

- ・シーケンサー: DNA などの塩基配列を読み取る装置。
- ・次世代シーケンサー: 従来の蛍光キャピラリーシーケンサーである「第 1 世代シーケンサー」と対比させて使われる用語。DNA 断片を並列して解析し、既存のゲノム配置と比較して再構築する手法を用いており、従来のシーケンサーに比べ、大量の塩基配列を低コストで迅速に解析可能。

5. 発表雑誌:

Hideki Muramatsu, Yusuke Okuno, Kenichi Yoshida, Yuichi Shiraishi, Sayoko Doisaki, Atsushi Narita, Hirotohi Sakaguchi, Nozomu Kawashima, Xinan Wang, Yinyan Xu, Kenichi Chiba, Hiroko Tanaka, Asahito Hama, Masashi Sanada, Yoshiyuki Takahashi, Hitoshi Kanno, Hiroki Yamaguchi, Shouichi Ohga, Atsushi Manabe, Hideo Harigae, Shinji Kunishima, Eiichi Ishii, Masao Kobayashi, Kenichi Koike, Kenichiro Watanabe, Etsuro Ito, Minoru Takata, Miharu

Yabe, Seishi Ogawa, Satoru Miyano, and Seiji Kojima. Clinical Utility of Next-generation Sequencing for Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*. (米国東部時間 2017 年 1 月 19 日付けの電子版) .