

小児科診療 UP-to-DATE

2017年6月28日放送

原因不明遺伝子関連疾患の網羅的解析

国立成育医療研究センター研究所
ゲノム医療研究部長 要 匡

はじめに

現在、世界的な潮流となっている未診断の希少・難病に対する網羅的なゲノム解析のお話をしたいと思います。

遺伝子関連疾患の概要

小児の希少・難病というのはその多くが遺伝子関連疾患です。この遺伝子関連疾患については、ヒトのメンデル遺伝カタログ、(online Mendelian Inheritance in Man) OMIMの統計によると、現在、原因遺伝子が特定されているものが約5000、原因がまだ分からないものが約3500の合計約8500種類が登録されています。このように、遺伝子関連疾患は非常に種類が多く、また、それぞれの疾患についてはその多くが希少です。よって、多くの疾患について診療経験のある医師が少ないという状況があり、診断が困難なことが多いです。従って、何年にもわたって、検査などを繰り返し、診断がつかない、いろいろな医療機関を転々とする、その間、患者や家族、主治医は診療方針、今後の見通しもたたないといった闇の中をさまよってしまうような状況、いわゆる Diagnostic Odyssey という状況がしばしばみられます。実際に成育医療研究セン

小児の希少・難病の特徴

- ・ 小児希少難病の多くは遺伝性疾患(遺伝子関連疾患)
- ・ 診断が極めて難しい
何年にも渡って検査を繰り返す
医療機関を転々とする
- ・ 診断が確定するまで
診療方針を決めるための出発点にも立てない
患者とその主治医は、闇の中を彷徨う状況が続く

→それぞれのゲノムを
解析することが有効

“Diagnostic Odyssey”

ターでは、40年以上診断がつかず、苦勞されている方々の紹介を経験しております。そこで、まず原因を特定し、診断を確定するということが大切になります。

網羅的ゲノム解析

このような遺伝子関連疾患の患者に対して、原因を特定して、診断するためには、やはりゲノムを調べるのが重要になります。この場合、原因が分からないので、特定の遺伝子ではなく、ゲノム全体を調べる、つまり、網羅的にゲノムを解析するというのが原因特定、診断に重要となります。

ただ、一口に一人一人のゲノムを読むといっても、その量は膨大です。例えば、ゲノム、いわゆる ATGC といった DNA の配列を広辞苑の一文字一文字に置き換えて記載すると、人の細胞の核の中にある DNA の配列は、およそ 500 冊分になります。情報も膨大なのですが、このヒトゲノムを読む費用も最近まで問題となっていました。ヒトゲノム計画の終了宣言がなされた 2003 年の時に、ゲノム解読にかかった費用はおよそ 3000 億円といわれています。その前後で、クレイグ・ベンター博士が独自にヒトゲノム解読を行ったのですが、約 100 億円かかりました。これらは、従来の DNA 解読機、Sanger 型 DNA シーケンサを使用していて、どうしても費用を押さえるということが難しい状況でした。ところが、その後、アメリカでの研究開発によって新型シーケンサ（いわゆる今の次世代シーケンサ）が登場し、その性能の飛躍的な向上とともに、ゲノム解読の費用が格段に下がってきました。今現在、米国では、1 人のゲノム当たりの解読費用はおよそ 9 万円になっています。日本ではもう少し高く、この倍くらいです。このように一人のゲノムを解読する費用が下がり、また、同時にコンピュータの性能なども非常に向上して、膨大なデータの処理が比較的 low コストで効率よく出来るようになりましたので、一人一人に網羅的ゲノム解析を行うということが可能になりました。そこで、この次世代シーケンサを利用した網羅的ゲノム解析を遺伝子関連疾患の解明に活用しようという動きがでてまいりました。

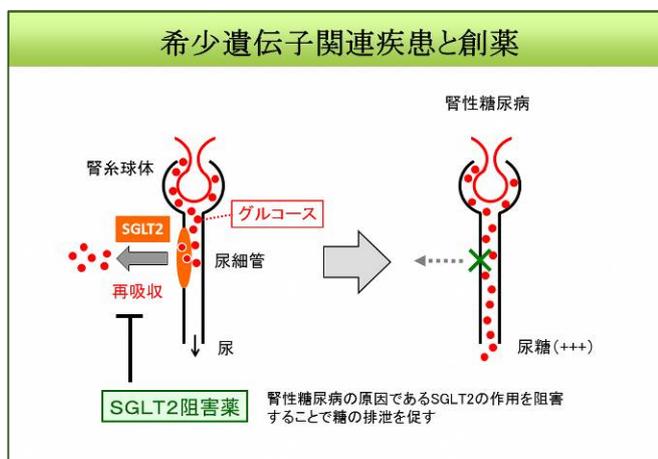
個人ゲノムを読むのにかかる期間と費用

	期間	費用
1990年～ 2003年	ヒトゲノムプロジェクト 13年	約3000億円
2003年	クレイグベンター独自に読む 5年	約100億円
2007年	次世代シーケンサー(454)使用 67日	約1.5億円
2008年	高性能次世代シーケンサー 約1か月	約3000万円
2009年	超高性能次世代シーケンサー 約1か月	約1500万円～800万円
2011年 2013年 2015年 20XX年	数週間 約100万円～ 約50~70万円 ~2週間 9万円！（米国） 数時間？ 1万円??	

原因不明遺伝子関連疾患を解析する意義

ここで、少し遺伝子関連疾患の原因を解析する意義について簡単に触れたいと思います。当然、患児の原因を特定、診断し、患者家族へ還元することは非常に大きな目的、意義となりますが、もう一つ、大きな意義があります。これは創薬ターゲットの発見に繋がるということです。この遺伝子関連疾患は、一つの遺伝子の変化で症状がでるということ

なので、一つの遺伝子の作用が大きいということが言えます、なので、そこをターゲットとすると創薬に結びつく可能性が高いといえます。例えば、腎性糖尿病の原因である、SGLT2 (sodium glucose transporter) の蛋白は近位尿細管でのグルコースの再吸収を行います、この遺伝子の変化でトランスポーターの機能が障害されると、グルコースの再吸収ができなくなるために、尿への糖の排泄が増加するという症状を呈します。これに着目して、SGLT2の阻害剤を開発することで、ご存知のように一般的な糖尿病の新しい薬が登場しております。これらは糖尿病の有効な治療薬として現に使用されています。



全国的小児希少未診断疾患イニシアチブ

このように個々のゲノムが解析可能となったこと、それに伴って、遺伝子関連疾患の患者さんを解析することで、希少・難病の診断を提供できること、そしてそれに加えて、それらが創薬の研究にもつながるということから、網羅的ゲノム解析を活用した遺伝子関連疾患の解明、診断というのは世界的な潮流となっています。例えば、米国では UDP (undiagnosed diseases Program) というのが 2008 年に始まり、現在 UDN (undiagnosed diseases network) へと発展しています。他に、英国では DDD (Deciphering Developmental Disorders), Genomics England, カナダは FORGE (Finding of Rare Disease Genes) (いずれも 2011 年スタート) といったように、全国規模プロジェクトとして進んでいます。最近中国でもこのようなプロジェクトが始まっています。

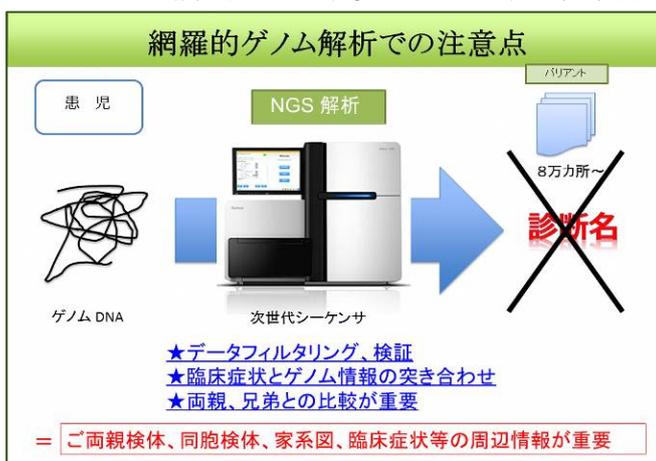
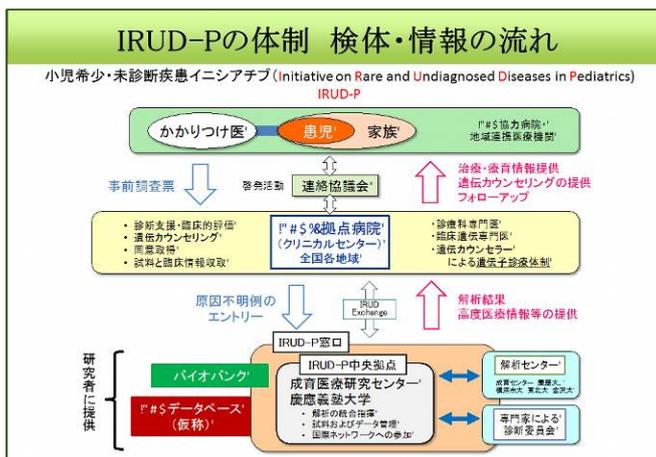
わが国においても、2015 年夏に 日本医療研究開発機構、AMED のプロジェクトとして未診断疾患イニシアチブ、Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases in Pediatrics, IRUD-P, アイラッドピーが始まりました。ちなみに 2016 年に成人の IRUD, IRUD-A も始まっております。ここでは IRUD-P のお話をいたします。IRUD-P は、未知の疾患の原因同定、新しい疾患概念の確立などを目的とした研究プロジェクトなのですが、同時に診療にも活用できる成果を得る、ということも目的の一つとしているところが特徴です。IRUD-P は、国立成育医療研究センター、慶応義塾大学を中央拠点として、各地域に地域拠点病院 (別名クリニカルセンター)、協力病院が設定されており、かかりつけ医から拠点病院を介して、種々の検査検討によっても診断が困難な患児とその家族の検体を中央拠点へと届け、中央拠点では 4 つの解析センターを中心にゲノム解析を行い、そのゲノムデータと各拠点からの臨床情報などを総合して原因となる遺伝子バリエーションを見つけて、診断、遺伝子情報、疾患情報などを、各拠点を通じて患者さんまで届けるといったことを

行っています。具体的な流れ、紹介用紙、必要な情報、手順、などについては、「IRUD-P」で検索いただくとホームページが出てきますので、そちらをご参照下さい。また、いくつか総説がでておりますので、そちらもご参照いただければと思います。

ゲノム解析は、現在、遺伝子全て

を解析する、全エクソームシーケンスを中心に行っています。そして先程のべましたが、個々のゲノムデータと詳細な臨床症状、検査結果、ご両親のゲノム情報などを比較して総合的に原因となっている遺伝子のバリエントを特定します。今までに、全体で1700家系以上（患者とその両親のトリオで検体をいただくことが多いので、検体数としては5000を越える検体）が集まっています。網羅的ゲノム解析による827家系の詳細な解析の結果では、271家系、32.8%で診断が確定しています。この診断が確定した中には、先程の40年以上診断がつかなかった方も含まれています、また、全く新しい疾患の原因も見つかっています。

この未診断疾患に対して網羅的ゲノム解析を行う、IRUD-Pですが、いくつかの注意すべきことがあります。まず、次世代シーケンサでゲノム配列を解読するのですが、直接診断名が出てくる訳ではないということです。次世代シーケンサはゲノム配列を出力するのみです。一般的に出力されるゲノム配列と標準のヒトゲノム配列と異なる部分、バリエントは、遺伝子部分だけでおよそ8万から10万カ所出てきます。これらの中で、原因となるバリエントを絞り込んでいく必要があります。この絞り込みや病気の原因であるという判定を行う際に必要な情報が、詳細な臨床情報、検査情報、家系図とご両親などゲノム情報などになります。特にご両親のゲノムは、比較することで突然変異などが明確になるので、非常に重要です。よって、依頼される場合は、これらの情報をどれだけ収集できるかということが原因確定の一つの鍵となります。あと、先程の診断率32.8%のように、全ての患児で診断が確定するという訳ではないということです。また、診断が出来たとしても希少疾患ということで、必ずしも全ての患児ですぐに治療が可能になるというわけではないということです。



ただすぐに治療が出来る訳ではないですが、原因が分かることで、長年妊娠中の出来事が原因ではといった不安が解消される場合もありますし、診療方針の見直しなど次のステップへ進むことができます。また治療へ向けた研究には重要な情報となります。

次世代シーケンサを活用した網羅的ゲノム解析は、たとえばIRUD-Pの271家系など、実際に今まで全く不明であった患児の診断が可能となりました。ただ、現在の網羅的ゲノム解析で、全てがすぐに診断が確定する訳ではありません。その理由としては、現在の次世代シーケンサの技術的問題、データ解析精度の問題、患者一人にしか原因が見つからず確定できない、いわゆる N-of-1 という問題などさまざまな要因が考えられます。しかし、

これらについては現在、新しい機器や技術も登場しており、また、プロジェクトがさらに進み、患者情報が蓄積することで、今後、診断率はさらに向上していくと思われま

す。この網羅的ゲノム解析のプロジェクトなどが進むことで、少しでも原因不明の遺伝子関連疾患の原因が明らかとなり、今後、多くの患者さんに光がとどけられるよう期待してお話を終わりにしたいと思います。

現在の次世代シーケンサによる網羅的解析の成果と課題

- ・NGSは今まで診断困難・不明であった患児に新しい道を拓いている
多くの診断不明の患児の原因が分かっている
 - ・現在のNGSは万能ではない
WES解析で全ての患児の原因が分かる訳ではない
(診断に至る率 35%前後)
 - ・その理由は様々であると考えられるが、解決に向け進歩している
 - 技術の問題 → 新しいタイプの機器、解析法の開発
 - 情報の問題 → 情報の集積
 - 疾患の問題
- 理由の例
- ・現在のNGSでは検出できないものがある
 - ・全てのバリエーションの意味が分かっているわけではない
 - ・たった1人の患児では因果関係を証明するのは難しい

「小児科診療 UP-to-DATE」

<http://medical.radionikkei.jp/uptodate/>