

特集

未診断の小児希少疾患の網羅的遺伝子診断

齋藤 伸治*

はじめに

小児医療において先天性疾患は重要な対象である。それらの多くは発達の遅れや知的障害を伴い、生涯にわたるケアが必要となる。先天性疾患の多くは症状の組み合わせで臨床診断され、確定診断に至らない例も多く存在する。1960年代に染色体検査が実用化され、これらの先天性疾患の中で、ダウン症候群に代表される染色体異常の診断が可能になった。しかし、染色体検査は原理的に解像度がきわめて粗く、10Mbほどの増減がなければ判別されない。そのため必然的に、染色体異常により起こる疾患は重症であり、多発外表異常を示すため、確定診断に至る遺伝性先天性疾患は、とても重症であるイメージが定着していたと思われる。

一方、染色体検査が正常な多くの疾患は、原因不明の発達遅滞、知的障害や発達障害とされ、特徴的な症候を有する場合は特定の症候群として臨床的に認識されていたが、それ以外は認識されることもなかった。そのため自然歴は不明であり、次子の遺伝相談に対応することは困難であった。特別な治療法が存在しないため、療育が唯一の対応であった。こうした状況は20世紀までは当たり前であった。

次世代シーケンシング技術は、このような光の当たらない疾患の原因を解明し、科学的な分類と治療の根拠を与えた。そして病態が明らかになることで、治療法の開発が現実となった。先天性疾患はもはや原因不明の一群ではなく、正確な診断を行い、適切な治療を行わなければならない対象なのである。

I. 次世代シーケンシング革命

次世代シーケンシング(next generation sequencing: NGS)は2000年代に開発された、同時並行的に多数の塩基配列を決定する技術である。1回の試行で1千万を超える配列の決定が可能となった。2010年以降になって急速に普及したことでコストが低下し、一般の医療の中で使用することが可能になった。現在では、エクソーム解析は1回5万円程度、ゲノム解析でも10万円ほどになっており、他の検査と比較して、もはや価格的には問題とならない。ただ、解析技術が進化することにより与えられるデータ量は膨大となり、その解析の専門家(バイオインフォマティシャン)が医療における重要な専門職となってきている。

1990年に開始されたヒトゲノム計画では、1人のゲノムを解読するために10年を費やし、莫大な予算と国際共同研究を必要とした。現在のNGSでは、1日で数名のゲノムが解読できることを考えると、技術革新がいかに革命的であったかが実感できる。

— Key words —
次世代シーケンシング, エクソーム,
未診断疾患イニシアチブ

* Shinji Saitoh: 名古屋市立大学大学院医学研究科
新生児小児医学分野

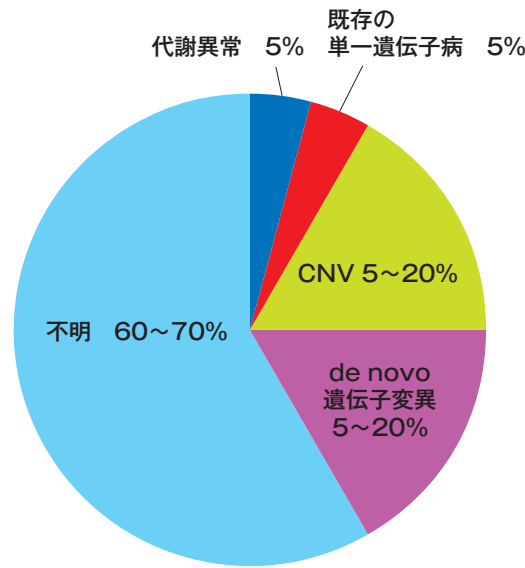


図1 自閉スペクトラム症における遺伝学的原因の頻度

CNVは染色体コピー数多型(copy number variation)であり、染色体アレイ解析で同定されるものを示す。*de novo* 遺伝子変異はNGSで同定される一塩基置換および小さな挿入欠失で、*de novo*のもの割合を示す。全体で30~40%は遺伝学的原因が同定される。

(文献3より引用改変)

II. 国際的な未診断疾患エクソームプロジェクト

NGSを用いた解析の代表がエクソーム解析である。エクソーム解析は、すべての遺伝子の蛋白翻訳領域(ゲノム全体の1%)を選択的に配列決定することで解析効率を上げる方法である。上述したNGS革命によりエクソーム解析が可能となり、遺伝性疾患の解析に用いられるようになった。

最初は遺伝性が明らかな疾患に用いられ、原因遺伝子が次々と単離された。その中でNGSの有用性が明らかになり、次に、必ずしも遺伝性が明確ではない未診断疾患に対するプロジェクトが世界中で立ち上がった。

代表的なプロジェクトが米国のUndiagnosed Diseases Program (UDP)と英国のDeciphering Developmental Disorders (DDD)である。UDPは米国国立衛生研究所(NIH)が2008年に開始したプログラムであり、小児成人を問わず、原因不明の疾患に対してエクソーム解析を中心とした

解析を実施した¹⁾。2015年からはUndiagnosed Disease Network (UDN)へ発展し、現在も継続している。DDDは2010年に英国で開始され、発達における疾患(知的障害、てんかん、発達障害、先天性疾患など)を対象とした²⁾。DDDは英国保健社会福祉省が設立したGenomics Englandにより実施されている100,000ゲノムプロジェクトに発展的に継続され、ゲノム医療を実際の医療システムに位置づける取り組みとなっている。

これらのプロジェクトにより、従来原因不明であった先天性疾患の30~40%は、遺伝子変異が原因であることが明らかにされた。また、これまでまったく知られていなかった原因遺伝子が数多く発見された^{1,2)}。図1³⁾に自閉スペクトラム症を例にして、エクソーム解析で診断できる割合を図示した。微細な染色体コピー数異常(エクソーム解析で同定可能)と、患者のみに存在する*de novo* 遺伝子変異が一定の割合を示すことがよく理解できる。

Ⅲ. IRUD の取り組みと成果

このような各国での取り組みを受けて、本邦でも 2015 年から未診断疾患イニシアチブ(Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases: IRUD)が開始され、全国に 37 の拠点病院が整備されたことにより、希少未診断疾患へのエクソーム解析が全国で利用できることになった⁴⁾。愛知県では、名古屋大学病院、名古屋市立大学病院、藤田医科大学病院が拠点として認定されている。2019 年 9 月の集計では全国で 3,634 家系が解析され、診断確定率は 44% と高い。また、その中で 35 家系は新規疾患であり、国際的にも評価されている。

このように本邦においても、これまで未診断であった疾患の約 4 割の診断が確定することが示された。その多くは小児期発症の希少疾患である。IRUD で診断が確定できた 1,593 家系の多くは異なった希少疾患であり、これまで未診断であった先天疾患は、多数の異なった遺伝子変異により発症する疾患の集合であることが明らかにされた。これらの遺伝子変異の多くは *de novo* の変異であり、両親は変異をもたない。しかし少数ではあるが、劣性遺伝変異も含まれる。また、患者もしくは両親のいずれかがモザイクの例も見つかっており、遺伝性はさまざまであることがわかる。このように、たとえば同じ重度知的障害とてんかんの表現型であっても、原因遺伝子はさまざまであり、遺伝性もさまざまであることが明らかにされた。

Ⅳ. NICU におけるエクソーム解析

これまで何年も原因不明であり、種々の検査が成されてきたが診断がつかなかった症例が、エクソーム解析で解明される経験が積み重なったことで、エクソーム解析を早めに取り組むことで、早期診断早期治療ができるのではとの考えが示された。たとえば、先天代謝異常は未診断疾患ではないが、酵素検査には時間がかかる。むしろ、遺伝子解析を先んじて行うほうが早期診断に至るのではとの考えは、特に新生児集中治療室(NICU)や小児集中治療室(PICU)のように迅速な治療介入が必要な場面でのニーズに応える考え

である。このような問題意識から、NICU や PICU での危急的な小児を対象として、迅速なエクソーム解析やゲノム解析を実施することが世界中で試みられている⁵⁾。これらは rapid genome sequencing と呼ばれ、この場合には検査時間が重要になる。検査を提出してから結果が得られるまでの時間は turn-around time と呼ばれ、米国の企業などでは 48 時間以内を謳うものも出現してきている。

本邦でも日本医療研究開発機構(AMED)の支援を受けて、「新生児集中治療室における精緻・迅速な遺伝子診断に関する研究開発」研究が 2019 年から開始されている。名古屋市立大学も研究班のメンバーとして参加している。私たちの施設では、危急的な新生児 13 例にエクソーム解析を実施し、そのうち 7 例(54%)の診断を確定することができた。その中には、拡張型心筋症、重症型高アンモニア血症、先天性ミオパチーなどが含まれ、患者の管理に直結するだけでなく、遺伝カウンセリングからも有用であった(表 1)。従来の方法では確定診断に数カ月は有すると考えられ、エクソーム解析の有用性を実感する。

Ⅴ. ゲノム医療の展望と課題

NGS が普及してから約 10 年、本邦で IRUD が始まって約 5 年(IRUD は 2015 年～)しか経っていない。しかし前述したように、エクソーム解析は未診断先天性疾患の約 40% を診断し、従来法では数カ月かかる診断を数日に短縮する。小児領域での有用性は明白である。有用性を超えて、小児医療のパラダイムシフトとすることができる。適切な診断を早期にできることの意義は論を待たない。本邦でも原因不明の小児難治性てんかんのエクソーム解析で、ビタミン B6 感受性てんかんの確定診断が散見される。これらの疾患は稀であるが、適切なビタミン B6 の投与で治療可能な疾患であり、予後を左右する。

私たち自身の経験でも、複数の先天代謝異常がエクソーム解析で診断されている。これらはすべて希少疾患であり、専門家は少なく、経験が積み重なることもない。また未診断疾患の多くは、知

表1 当院 NICU のエクソーム解析にて診断された症例

症例番号	月齢	臨床診断・症状・疑い病名	責任遺伝子	最終診断
1	0	特発性拡張型心筋症	<i>MYH7</i>	拡張型心筋症
2	0	歌舞伎症候群疑い	<i>KMT2D</i>	歌舞伎症候群
3	0	先天性代謝性疾患疑い	<i>CPS1</i>	カルバミルリン酸合成酵素欠損症
4	0	小頭症, てんかん, 髄鞘化不全	<i>AIMP1</i>	hypomyelinating leukodystrophy-3
5	0	食道閉鎖, 口蓋裂, 耳介低形成	<i>CHD7</i>	CHARGE 症候群
6	0	筋緊張低下, 幽門狭窄	<i>MTM1</i>	ミオチューブラーミオパチー
7	1	大頭症, 高身長	<i>NSD1</i>	Sotos 症候群

(筆者作成)

的障害, 発達障害, てんかんなどの common disease である。これまで脳性麻痺と診断されていた中に多くの遺伝性疾患が同定されている⁶⁾。脳性麻痺は診断ではなく, 症状に過ぎず, 本来の原因がわからなかっただけである。正確な診断により対応は自ずと異なる。これまでの小児医療では対応できないのである。パラダイムシフトはすでに現実であり, 小児医療はゲノム医療の下で再編成が必要である。それは正確な診断に基づく先行治療であり, 予防医療である。長期にわたるプログラムされた適切で個別なエビデンスに基づく健康管理である。

エクソーム解析で現在診断されるのは単一遺伝子病のみであるが, それでもこれだけの影響がある。すでにゲノム解析にシフトした現在の遺伝研究は, 多因子遺伝をターゲットとして成果を示している。その最たるものが, polygenic risk score (PRS) である。全ゲノム解析と多数例の関連解析を組み合わせたことで, 従来体質と呼ばれていたものを実体として示すことが可能になっている。

2019 年の Khera らの論文では, 肥満に関する PRS の有用性が示された⁷⁾。この論文では, 肥満や body mass index (BMI) が出生時のゲノム解析のみで正確に予測できることが報告された。その精度は驚くほどである。こうした取り組みが, 肥満だけでなく, がん発症や, そして発達障害に応用されることは容易に予想される。

このようにゲノム医療はすでに現実である。し

かし, 現在の医療システムにどのように組み込むのかには多くの課題が存在し, 本邦での取り組みは遅い。そもそも, ゲノム医療は予防や先行治療を目指す新しいパラダイムであり, すでに発症した疾患を治療する現行のパラダイムでは対応できない。

IRUD はすでに開始から 6 年経過し, 第三期に入る。しかし, エクソーム解析を現行の医療システムで実施するには課題が多く, 保険収載はまだ見えてこない。莫大なゲノム情報の解釈や管理には, 従来の検査にはない問題が多数存在する。対象とする疾患以外の情報が必然的に存在し, 二次的所見と呼ばれる問題がある。二次的所見の代表は, 気づかれていない不整脈やがん関連遺伝子の情報であり, 場合によっては遅発性神経難病の情報となる。また, 薬剤感受性遺伝子情報なども存在する。さらに, 本質的にゲノム情報は確率を規定するのみで, 必ずしも確定診断とはならない。単一遺伝子病であっても疾患の表現型には幅があり, また環境に大きく影響される。このような不確実性は, これまでの診断方法とは大きく異なり, 対応に困惑する情報である。

その中で, 前述した英国の取り組みは示唆的である。英国では, DDD の成果からゲノム解析の意義が高いことを知り, 現行の保険医療システム (public health service : PHS) の枠組みでどのように位置づけるかを明らかにする目的で, 100,000 ゲノムプロジェクトを開始した。多数の方に参加

していただき、エクソーム解析ではなく、ゲノム解析を実施する。そして、それを医療にどのように位置づけるのかを今後の 10 年で明らかにし、世界をリードするゲノム医療を実現するとの試みである。英国の PHS は保険医療システムそのものであり、現実の医療実装を具体的に目的にしている点で注目される。

最近の COVID-19 の流行の中で、100,000 ゲノムプロジェクトのデータと COVID-19 罹患リスクとの関連の解析が実施されている。英国では COVID-19 の患者数が多いが、感染感受性が明らかになれば、ワクチン接種の順番などの施策に反映することが可能となる。本邦の国民皆保険システムは英国との共通性もあり、このような具体的なゴールを設定した取り組みの実施が期待される。

利益相反

本論文に関して、筆者が開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Splinter K, et al : Effect of genetic diagnosis on patients with previously undiagnosed diseases. *N Eng J Med* 2018 ; **379** : 2131-2139.
- 2) The Deciphering developmental Disorders Study : Large-scale discovery of novel genetic causes of developmental disorders. *Nature* 2015 ; **519** : 223-228.
- 3) Schaaf CP, et al : Solving the autism puzzle a few pieces at a time. *Neuron* 2011 ; **70** : 806-808.
- 4) Adachi T, et al : Japan's initiative on rare and undiagnosed diseases (IRUD) : towards an end to the diagnostic odyssey. *Eur J Hum Genet* 2017 ; **25** : 1025-1028.
- 5) Meng L, et al : Use of exome sequencing for infants in intensive care units : ascertainment of severe single-Gene disorders and effect on medical management. *JAMA Pediatr* 2017 ; **171** : e173438.
- 6) Takezawa Y, et al : Genomic analysis identifies masqueraders of full-term cerebral palsy. *Ann Clin Transl Neurol*. 2018 ; **5** : 538-551.
- 7) Khera AV, et al : Polygenic prediction of weight and obesity trajectories from birth to adulthood. *Cell* 2019 ; **177** : 587-596.e9.