

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号：2019A-4

課題名：「周産期精密医療のための体系的症例収集体制構築とクリニカルシーケンス・クリニカルメタゲノミクス基盤整備に関する研究」

主任研究者 (所属施設) 国立研究開発法人 国立成育医療研究センター  
(所属・職名 氏名) 研究所 周産期病態研究部・部長 秦 健一郎

(研究成果の要約) 周産期の疾患は多彩な病態背景を有する例が多く、体系的組織的な症例収集体制、すなわち臨床現場と研究施設が連携して継続的な試料収集体制を構築することが肝要である。また今後は、オミックス解析など多方面からのアプローチによる診断・管理が有用と考えられる。本年度は、当センター内で研究所と周産期・母性内科センターが連携し、原因不明先天異常・産科異常を体系的にリクルートし、生体試料や臨床情報を蓄積すると共に、ゲノム解析などの高度な解析支援を行う体制を確立した。また実際に、原因不明胎児異常症例の確定診断に成功した。

### 1. 研究目的

わが国では周産期領域の疾患を中心に体系的な生体試料収集を行っている施設はない。当センターはバイオバンクを併設しているため、個々の医師が疾患ごとに独自に症例収集と保管体制を構築するよりも、本計画のように連携して体系的に収集体制を構築することで、格段に低いコストで運用が可能である。またバイオバンクを利用することで、製薬企業等への分譲の際に要求される厳密な品質管理がなされ、個々の医師が収集するよりも高い付加価値を生む。海外では、孤発例、非症候性の胎児異常に共通の遺伝子異常を見出した報告もあり(N Engl J Med 2017)、本邦の周産期分野でも同様のアプローチが有用と考えられるが、そのためには体系的な臨床情報・生体試料収集体制が必要である。現時点で具体的に標的とする疾患は、胎児胸水、胎児水腫、その他の非症候性胎児異常、切迫早産、不妊・不育症等である。これらの疾患の原因遺伝子は未同定あるいは一部候補遺伝子が報告されている状況であるが、遺伝学的病態が解明されるには至っていない。また、産科異常における妊婦細菌叢の異常を解析するために必須の日本人正常妊婦細菌叢変化のデータベースは存在しない。そこで本研究計画では、周産期の包括的・体系的な生体試料と臨床情報の収集を行い、また、診療方針決定に資するクリニカルシーケ

ンス・クリニカルメタゲノミクス基盤を整備し、周産期精密医療の実現に向けた研究体制を構築する。非症候性・散発例の多い周産期の異常症例を、個々の疾患毎に収集保管体制あるいは解析体制を構築するのは非効率的である。当センターの特長を生かして貴重症例の収集体制を共同運用することで、効率化も期待される。

### 2. 研究組織

研究者	所属施設
秦 健一郎	国立成育医療研究センター
小澤 克典	国立成育医療研究センター
鈴木 朋	国立成育医療研究センター

### 3. 研究成果

非症候性の先天異常や産科合併症は、従来は遺伝学的解析の困難な疾患と考えられてきたが、一部では関連遺伝子変異候補の同定に成功している。また、炎症を伴う様々な産科異常と常在細菌叢(の破たん)との関連も知見が得られつつある。これらの周産期の異常は、成人の慢性疾患と比較して形態学的診断や遺伝学的解析が予後予測や治療に極めて有用であるものが含まれるものの、病態病像が多彩で臨床診断が難しい疾患が多く、今後はオミックス解析など多方面からのアプローチによる診断・管理が有用と考えられる。また周産期領域では出生前診断や不妊治療技術の向上も目覚ま

しく、母体血を用いた胎児疾患の診断法や、分子生物学的な胚の品質評価法の開発が世界中で行われている。一方で、前述のように周産期の疾患は多彩な病態背景を有する例が多く、体系的組織的な症例収集体制、すなわち臨床現場と研究施設が連携して継続的な試料収集体制を構築することが肝要である。本研究提案では、当センター内で研究所と周産期・母性内科センターが連携し、原因不明先天異常・産科異常を体系的にリクルートし、生体試料や臨床情報を蓄積すると共に、ゲノム解析などの高度な解析支援を行い、周産期の精密医療を目指したクリニカルシーケンスおよびクリニカルメタゲノミクスの有用性を検証することを目標とし、初年度に下図のような体制を確立した。

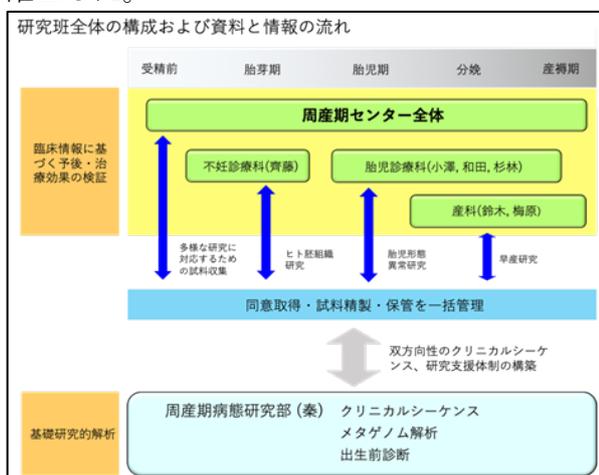


図1 本研究班で構築した同意取得・資料精製・保管の一括管理体制と解析支援体制

このような研究体制は日本ではまだ未確立で、小児、周産期医療に特化した当センターの特長を生かした成果と考える。その結果、初年度から、原因不明症例の確定診断に成功した。

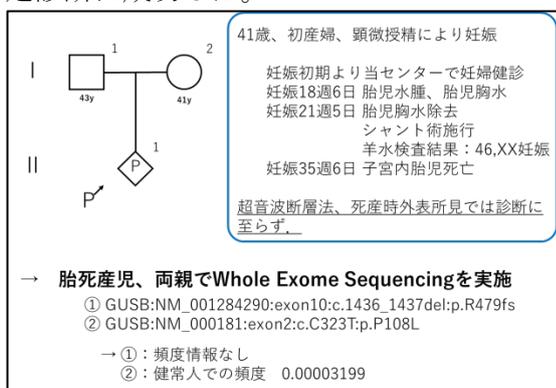


図2 確定診断に至った胎児異常例

また、母体血中の胎児由来細胞を用いた診断法の基礎技術開発や、

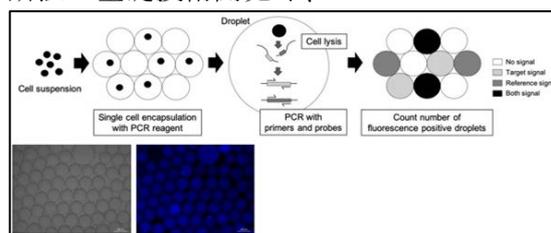


図3 母体血中の胎児由来細胞を濃縮し、得られた細胞を個々に液滴中に閉じ込め、ドロップレットデジタルPCRの手技を利用して各細胞の遺伝子型を決定した。

あるいは、胎児由来遊離核酸を用いた核型決定にも成功した。

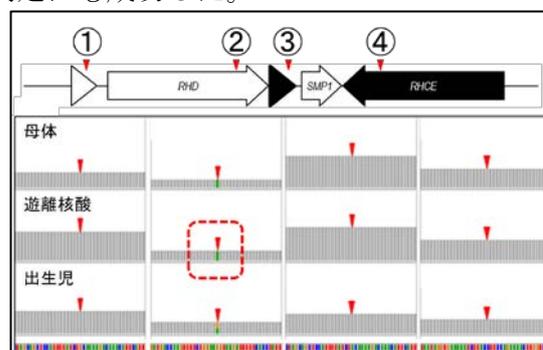


図4 母体血中の遊離核酸をPCR増幅し、次世代シーケンサーを用いて大量配列情報を取得し、多型情報を用いて胎児情報と母体情報を区別することで、胎児核型を決定した。

分担小澤らは、原発性胎児胸水に対するTASを実施した例を対象に、後方視的に胎児超音波検査を中心とした生理学的データ（妊娠週数、分娩週数、TAS前と最終TAS後1日目の総心拍出量（CCO）と、胎盤循環を表す臍静脈血流量（UVFV））を収集した。その結果、生存予後が判明している20例について、TAS施行週数の中央値は妊娠26週2日（21週4日～33週2日）であった。周産期生存群と死亡群は各々13例と7例（胎児死亡3例、新生児死亡4例）であり、CCOとUVFVは症例ごとに様々な変化を示した。周産期生存群と死亡群でTAS前後のCCOとUVFVを比較すると、CCOはTAS前  $284 \pm 109$  vs.  $281 \pm 71$  ml/min/kg、最終TAS後  $294 \pm 76$  vs.  $303 \pm 111$  ml/min/kg で両群に有意差はなく、UVFVはTAS前  $74 \pm 32$  vs.

