

(別紙1)

総括研究報告書

課題番号：2020C-19

課題名：健康成人検体のゲノムテータ再解析による病的意義陰性変異の収集とデータベース化

主任研究者 (所属施設) 国立成育医療研究センター
(所属・職名 氏名) メディカルゲノムセンター 青砥早希

エクソーム解析ではヒト1人あたり約20～30万個のバリエントを得ることができる。クリニカルシーケンシングでは、これから1～数個の原因変異を特定するのだが、原因遺伝子が明確な遺伝性疾患であっても数十個程度の原因変異候補が残る。このような変異は全く同一の変異の病的意義がデータベースに登録されていない場合、病的意義不明変異(VUS)とされ、原因遺伝子上に多型があった事すら患者や臨床医に伝えないのが一般的である。この問題は30億塩基対のヒトゲノムに対し、病的意義を収載したデータベースとして最も有名なClinVarであっても総登録数が95万個程度しかなく、見つかるバリエントの多くが未登録である現状に起因する。理想的には分子生物学的実験を実施し、疾患症状を引き起こすものを特定すべきであるが、時間とコストの面から検出した全てのバリエントに対して行うには現実的ではない。そこで本申請では健康成人検体を用い、明らかに小児期発症疾患と関係しないバリエントを抽出することで、小児期発症の疾患に着目した病的意義陰性バリエントのデータベースの作成を行なった。

1. 研究目的

本センターではIRUDの中央解析センターとして年間約1000検体のエクソーム解析を実施している。シーケンス技術の向上に比例しエクソームシーケンシングにより得られる多型数は増大しており、本センターでは1検体当たり20万個を超える多型を得ている。これから1～数個の原因変異を特定しなくてはならないが、原因遺伝子が明確な遺伝性疾患であっても数十個程度の原因変異候補が残ってしまう。このような変異は全く同一の変異がpathogenicとデータベースに登録されていない場合、病的意義不明変異(VUS)とされ、原因遺伝子上に多型があったことすら患者や臨床医に伝えないのが一般的である。

一方で公共のデータベースに登録された多くの多型は疾患をはじめとした特徴のある表現型を持つ人を解析したものから検出された多型が多く、病的意義陰性変異、いわゆる正常多型の公共データベースでの登録数は15万個以下にとどまる。30億対あるヒトゲノム配列を考えれば、百億以上の登録があっても不思議ではない。これらの健康な人が持っている多型が登録されていれば、原因変異候補から疾患と関連しないそ

れらの多型を除くことが可能であり、より精度の高い遺伝学的検査が可能である。

本来先天性遺伝性疾患の原因変異の特定は患者のリクルート、症状の把握、分子生物学実験と多大な労力とコストを要する。しかし、NGS技術による遺伝子検査のNIPTへの応用を控えた今、多型情報の拡充は急務である。そこで本研究では原因遺伝子が明らかで小児期に発症する先天性遺伝性疾患の多型を健康成人検体から収集し、病的変異ではなく病的意義陰性変異を収集することで、診断を困難にする病的意義不明変異の減少を目指した。

2. 研究組織

研究者	所属施設
青砥 早希	国立成育医療研究センター メディカルゲノムセンター
右田 王介	国立成育医療研究センター 研究所 周産期病態研究部 ／筑波大学 医学医療系

3. 研究成果

本年度の研究では、以下の項目について実施し、その結果、本研究成果を利用して得た成果を文献として発表することができ

た。

- 1) 解析対象となる小児期発症の常染色体優性遺伝性疾患、およびその原因遺伝子をリストアップによる効率的な病的意義陰性多型の検出
様々な遺伝性疾患があるが、本研究では小児の遺伝性疾患をターゲットとし、解析対象となる成人検体が保因者とはなり得ないような疾患を選出した。具体的には小児常染色体優性遺伝性疾患を対象とし、浸透度が高く、発症年齢が低い常染色体優性遺伝形式の遺伝性疾患に限定することで成育疾患の特徴を満たす疾患に絞ることで候補を 100 疾患程度に絞った。
- 2) 既存ゲノムデータを利用した病的意義陰性バリエーションを顕出・収集
IRUD をはじめとした既存エクソームシーケンシングプロジェクトのゲノムデータから、データの公開と二次利用について同意を得た健常な成人検体のゲノムデータのみ収集し、解析対象となるゲノムデータセットを作成し、これから対象とする遺伝性疾患の原因遺伝子上の多型の検出を行った。検出した多型はデータセット内の集団内頻度、および公共データベースでの登録情報を調べ、公共データベースにないものはデータ登録を行い、1 万カ所近くの病的意義陰性多型を取得した。このうち 118 多型を完全に新規の病的陰性変異として取得した。
- 3) 未報告と考えられた多型 118 多型は臨床ゲノム情報統合データベース MGeND および本センター・メディカル

ゲノムセンターで運用する Seiiku MutDB における病的意義陰性多型の Web 公開を行なった。

成果報告等

1, 査読付き雑誌

Saki Aoto, Mayu Fushimi, Kei Yura, Kohji Okamura

“Diversification of CpG-Island Promoters Revealed by Comparative Analysis Between Human and Rhesus Monkey Genomes”

Mammalian Genome 31, 240-251 (2020)

2, 関連学会での成果報告

本研究は第 43 回日本分子生物学会年会において以下の題目で発表した。

「ヒトおよびアカゲザルの比較解析による CpG アイランドプロモータの多様化」

4. 研究内容の倫理面への配慮

本提案では文献やデータベースなどで公開されているヒトエクソームデータを用いて多型検出を進めた。つまり、すでにデータの利用と公開の同意を取得し、匿名化された既存のゲノムデータを二次的に利用し、新たな知見を得ようとするものであったため、データを利用するに際し新規の研究対象者に対する人権擁護上の配慮は不要であった。公開情報であるゲノムデータの再利用についても当該ウェブサイトの方針に従って適切に行なった。また新規に検出された多型は頻度情報としてデータベースに登録し、個人とは結びつかない形で航海を行なった。