作成／更新日：令和６年７月 12 日

日本医療研究開発機構　成育疾患克服等総合研究事業
事後評価報告書

公開

Ⅰ．基本情報

研究開発課題名：　（日本語）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

（英　語）Precise and rapid genetic diagnosis and treatability for Infants

研究開発実施期間：令和元年４月15日～令和６年３月 31 日

研究開発代表者　氏名：（日本語）武内俊樹

（英　語）Toshiki Takenouchi

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：

（日本語）学校法人慶應義塾・慶應義塾大学医学部・専任講師

（英　語）Keio University, School of Medicine, Assistant Professor of Pediatrics

II. 研究開発の概要

（和文）　２ページ以上

１．研究開発の概要

出生直後に新生児集中治療室に入院する早産、低出生体重児を含めた重症新生児の中には、遺伝的背景によるものが一定数含まれている。これらの重症新生児は、活気不良、けいれん、原因不明のアシドーシス等の非特異的な症状を呈することが多く、表現型からの臨床診断が難しいことが課題であった。これまでの新生児医療では、このような重症新生児の急性期には、まず、児の重症度や緊急度を把握する必要性から、必ずしも原因究明を目的としない検査や、非特異的治療が先行して行われてきた。原因検索を目的とする検査が行われる場合であっても、出生からかなり時間が経過していることが多く、特異的治療が開始された場合の効果が期待しにくいことが課題であった。そこで、早産、低出生体重児を含めた重症新生児の予後を改善するためには、新生児集中治療室への入院する重症新生児のうちで遺伝的背景の要因を要するものについて、的確な診断に基づく治療の開始が喫緊の課題であった。そこで、非特異的な症状を呈する新生児集中治療室に入院を要する程度の重症新生児・乳児に対して網羅的遺伝子解析を行い、新生児期発症の遺伝性疾患を迅速に診断し、薬物療法の可能性等について情報を臨床診療にフィードバックすることを目的として研究を行った。

2019-2020 年度は、わが国の都道府県別新生児出生数の上位である東京都、大阪府、神奈川県、埼玉県、愛知県の都市圏の総合および地域周産期母子医療センターと小児専門医療施設およびその関連施設において、新生児期に発症する神経代謝疾患約 300 疾患を含め、ヒト疾患原因遺伝子である約 5,000 遺伝子につき、メタボローム解析やトランスクリプトーム解析も組み合わせて診断の実用性を検証した。

2019 年度および 2020 年度に登録された重症新生児 85 名に対して、網羅的遺伝子解析（疾患パネル解析、全エキソン解析、全ゲノム解析）を行った結果、48%（41/85 名）で遺伝学的診断が得られた。症状によって診断率に差があり、特に診断率が高かったのは、肝脾腫などの代謝性疾患を示唆する症状やけいれん等の神経症状を契機に研究参加した症例であった。遺伝学的診断が得られた 41 名のうち、49%（20/41 名）において、診断結果が実際の診療方針の決定（治療方針や検査方法の変更）に有用であった。より適切な医療管理の実現のために遺伝子診断結果が活用された事例としては、嚢胞性線維症の診断が確定し、早期から薬物治療が開始された。この他に、遺伝学的診断結果に基づき、生体肝移植の中止や小腸移植への登録がなされた例もあった。分子遺伝学的診断が確定した症例のうち、4 名（5%）の患者では、全ゲノム解析によってのみ検出可能な 3.8～38.4 kb の微細な染色体部分欠失が発症原因であった。本結果を、小児科学の国際学術誌である The Journal of Pediatrics に報告した（Suzuki et al, Genome Analysis in Sick Neonates and Infants: High-yield Phenotypes and Contribution of Small Copy Number Variations. J Pediatr. 2022 May; 244:38-48.e1. ）。

人工知能と集積回路化した超高速開発系を組み合わせた解析手法の進歩として、全ゲノム解析による病的なゲノム構造異常（Structural Variation; SV）の検出が挙げられる。2020 年度からは、表現型に合わせて、効率的にゲノム構造異常を検出できるアルゴリズムを実装し、これまでの患者全件について見直しを行ったところ、４名の患者よりエクソーム解析では検出困難な病的なゲノム構造異常を同定し、診断に結びつけることができた。この患者の中には申請突然変異のゲノム構造異常のみではなく、劣性遺伝性疾患の片アレルの病的なゲノム構造異常検出も含まれていた。さらに、2021 年度には集積回路化された超高速解析系および人工知能を活用することにより、疾患の原因の候補となるバリアントを短期間で絞り込むことができた。研究計画に従って、DNA 抽出、次世代シーケンサーによる粗データの回収までの院内検査体制を構築し、検体受付から解析結果の返却までの期間は平均 31 日（21-63 日）であり、半年から 1 年を要していた従来の網羅的遺伝子解析に比して大きく短縮された。

新生児の場合、研究参加したときから表現型が変化している場合もあるので、研究参加者の担当医療機関と緊密な連携を取りながら、慎重に解析結果が返却した。また、上記 85 名の解析では、診断が確定した 41 名のうち、56%（23/41）が常染色体顕性遺伝（優性遺伝）性疾患であり、29%（12/41）が常染色体潜性遺伝（劣性遺伝）性疾患であった。潜性疾患においては、親が保因者であることの説明や次子罹患確率なども含めた適切な遺伝カウンセリング体制が重要であることが改めて確認された。そのため、全国ネットワークを構築する際に、遠隔遺伝カウンセリングシステムを積極的に活用し、当該医療機関に遺伝医療専門部門や遺伝専門の医師がいない場合でも、主治医・患者家族が不安なく研究参加できるよう、解析施設の専門医によるオンラインの研究参加説明・同意取得や、表現型と遺伝子型の確認のために主治医とのディスカッションを行える体制を構築した。

当初の研究計画に沿って、2022 年からは全国の医療機関に対して提供するための全国ネットワークの構築を開始した。研究協力施設から研究参加する場合、両親からの同意取得および解析結果についての主治医とのディスカッション、および両親への解析結果の説明は、D to P with D（Doctor to Patient with Doctor）形式のオンラインで行った。この方式では、担当医が両親と医療機関で面談するところに、解析機関（慶應義塾大学など）の臨床遺伝専門医および認定遺伝カウンセラーがオンラインで参加する形式とした。オンライン通信の安全性を担保するため、また、米国の個人情報保護の国家基準である HIPAA（Health Insurance Portability and Accountability Act）に準拠する形で遠隔カンファレンスシステムを導入した。iPad の貸し出しも行うことにより、通信機器に依存せず通信環境を安定さえることで、臨床遺伝専門医不在の遠隔地の医療機関に対しても、患者家族に研究内容や解析結果を説明する遺伝カウンセリングが提供される体制を構築することができた。さらに、面談時の効率的な時間の活用と遠隔な進行のため、研究概要をまとめた動画を作成し、研究参加前に両親にあらかじめ視聴してもらうことで、研究内容に関する質問に答える時間を多くするようにした。さらに、両親のスマートフォンを用いた説明同意書への記入できるシステムを構築し導入した。これにより、記入漏れを防ぐとともに、同意書の郵送の手間を省略し効率化した。

重症の新生児で出生後からすぐに新生児集中治療室に入院している場合、小児期以降の外来通院ベースの患者とは異なり、遠方から特定の医療機関を受診することが難しいことが想定された。そのため、出生・入院医療機関からの研究参加できる体制が必要と考えられた。2020 年からの新型コロナウイルス感染症の世界的蔓延により、研究班の活動を一時期停止せざるを得なかった一方で、パンデミックを通じて、オンラインでの診療が急速に発達した。並行して、2021 年から施行された「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に基づいた対応を行った。すなわち、倫理委員会の承認を得て、総合周産期母子医療センター、地域周産期母子医療センター、中核病院小児科、小児科センターであれば、研究協力施設として登録し、施設長の許可のもと、網羅的遺伝子解析のための検体の提出が可能となった。その結果、2024 年 3 月までに、わが国の新生児集中治療室の全病床数 3,289 床のうち 1509 床（46%）を本研究ネットワークがカバーする体制を構築した。研究期間を通じて、北海道から沖縄まで全国 41 都道府県に渡る計 118 の医療機関が参加し、そのうち 75 施設が研究協力施設として、43 施設が共同研究施設として本研究に登録した。分担研究者の所属施設を中心として各地域における診断ネットワークの構築をさらに推進した。具体的には、神奈川県立こども医療センターでは、新生児科と遺伝科と共同で周産期医療センターに入院した 401 名に対して、本研究の対象となりうる症例リクルートに努めるとともに、本研究グループの研究成果を神奈川県内の周産期施設とのネットワーク構築を推進した。その他にも、名古屋市立大学が関連病院入院中の新生児例に出張遺伝カウンセリングを行い、愛知県における新生児施設との連携による実施体制を構築した。新生児期発症の肝疾患については、筑波大学および済生会横浜市東部病院を中心に乳児黄疸ネットで新生児期発症の肝臓病態の診療方針について全国からの相談を引き受け、網羅的遺伝子解析が診断や治療方針に役立つと判断される症例を本研究にリクルートした。

２．顕著な成果

（１）解析時間の短縮

概要：(200 字程度)

ゲノム解析工程の効率化と人工知能の活用により、遺伝子変異の情報と患者表現型とに基づいて、候補となる病的バリアントを短期間に絞り込む系を確立した。これら集積回路化した遺伝子解析システムの導入により、次世代シーケンサー粗データ回収後の解析期間を１か月程度に短縮した。さらに、対象となる重症新生児のうち、経過から超緊急に診断確定を要すると考えられる症例に対して、次世代シーケンサーから粗データ回収後 2 週間程度で、暫定診断を提供できる枠組みを構築した。

（２）解析手法の開発

概要：(200 字程度)

確立されたヒト関連疾患約 5,000 疾患を網羅する遺伝子解析パネルを活用し、新生児期に発症する可能性がありかつ、治療可能な神経代謝疾患である約 300 疾患については、ゲノム解析のシステムに疾患リストによって絞り込みを行うことで、効率的かつ迅速に病的バリアントを検出できることを実証した。また、トランスクリプトームやメタボロームも含めて統合的に解釈できる解析系の開発に加えて、粗データからのデータ処理を集積回路化することで計算速度が格段に向上した解析系である解析システムを導入した。

（３）対象疾患の拡大

概要：(200 字程度)

2019 年度から治療可能な神経代謝疾患である約 300 疾患を中心とした遺伝子解析について実証性を確認した。2020 年度からは、ヒト関連疾患約 5,000 疾患全体について、2021 年度以降は新生児期に発症する遺伝性肝疾患についても対象に含めた。さらに、「乳児黄疸ネット」の拠点である済生会横浜市東部病院および茨城県立こども病院・筑波大学と連携し、全国的に新生児の黄疸や肝疾患の症例を集積した。実際に肝生検で得られた検体のトランスクリプトーム解析や、メタボローム解析を組み合わせた診断を行った。

（４）ネットワークの構築

概要：(200 字程度)

2019 年度から総合周産期母子医療センターと小児専門病院からなる本研究参加施設における迅速な遺伝子解析の体制構築を進めた。2021 年度以降からは、改定された「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」で定義された「研究協力機関」の枠組みを活用し、全国の総合周産期母子医療センター、地域周産期母子医療センター、中核病院小児科、小児科センターから研究参加可能な体制整備を推進した。2023 年度末の研究終了時には、全国 41 都道府県、118 施設が参加し、全国 NICU 全病床数の 46% をカバーする体制を構築した。

(英文)　1ページ

A substantial portion of critically ill neonates have monogenic diseases. These critically ill infants often present with nonspecific symptoms such as poor feeding, seizures, and unexplained acidosis, making clinical diagnosis based on phenotype difficult. In the first stage of conventional neonatal care for ill infants, laboratory tests and nonspecific treatments that do not necessarily aim to find the cause of the disease have been performed. Even when diagnostic tests are performed to search for the cause of the problem, it is often long after the birth. Therefore, in order to improve the prognosis of critically ill infants, there was an urgent need to initiate treatment based on precise molecular diagnosis. To achieve this, we conducted a comprehensive genetic analysis of neonates and infants with non-specific symptoms that are severe enough to require admission to a neonatal intensive care unit. The aim of the study was to provide molecular diagnosis and to provide information on the possibility of effective interventions.

In the 2019-2020 fiscal year, we conducted pilot research focused on genetic disorders that manifest in the neonatal infantile periods. This was conducted at comprehensive and regional perinatal maternal and child health care centers, pediatric specialized medical facilities, and related facilities in the metropolitan areas of Tokyo, Osaka, Kanagawa, Saitama, and Aichi prefectures. These areas are the largest number of newborn births by prefecture in Japan. Comprehensive genomic analysis (using gene panel analysis, whole exome sequencing, and whole genome sequencing) was performed on 85 critically ill newborns enrolled in FY 2019 and FY 2020. This resulted in a diagnostic rate of 48% (41/85). The diagnosis rate varied according to symptoms, and was particularly high in cases who had symptoms suggestive of metabolic diseases such as hepatosplenomegaly or neurological symptoms such as convulsions. In 49% (20/41) of the 41 patients who had final molecular diagnosis, the results of the diagnosis were useful in determining the actions of medical care (i.e., changing the course of treatment or testing procedures). There were several cases where genetic diagnosis results led to better medical management. In a patient with poor weight gain, the prompt molecular diagnosis of cystic fibrosis led to medical treatment at an early stage. In other patients, the results of genetic diagnosis led to the cancellation of living donor liver transplantation or enrollment in small bowel transplantation. Of the cases with a confirmed molecular genetic diagnosis, four patients (5%) had "small" chromosomal deletions ranging from 3.8 to 38.4 kb, which appeared detectable only by whole genome sequencing. These results were published in an international journal of pediatrics, i.e., The Journal of Pediatrics (Suzuki et al, Genome Analysis in Sick Neonates and Infants: High-yield Phenotypes and J Pediatr. 2022 May; 244:38-48.e1.).

A nationwide diagnostic network as implemented from February 2022 in collaboration with perinatal facilities participating in the study. Throughout the study period, a total of 118 medical institutions across 41 prefectures from Hokkaido to Okinawa participated in the study. By March 2024, the diagnostic network was expanded to cover 1509 beds (46%) of the total 3,289 beds in neonatal intensive care units in Japan.