

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： ゲノム情報で規定される超高リスク群の診断と、層別化・個別化予防のためのエビデンス構築をめざした臨床観察研究

2. 研究開発代表者： 吉田 輝彦

### 3. 研究開発の成果

本研究開発においては、適確ながんの遺伝カウンセリングを実施している施設を中核とした多施設共同臨床観察研究を、症例の同定・集積と、遺伝子診断情報提供のそれぞれの要素が円滑に動く体制を構築して推進する。具体的には、i) 我が国における遺伝子型-表現型関連に関する情報の集積・分析と、ii) ゲノム網羅的解析による未知の原因遺伝子・修飾遺伝子の探索を行う。これらの知見に基づき、iii) 個々の遺伝性腫瘍あるいはそれが疑われる症例・家系を的確に捕捉・診断・説明（遺伝カウンセリング）する方法と、iv) 遺伝子診断の提供を通じて個別化された予防医療の全国的な実現に貢献することが最終的な目標である。

1) 多施設共同研究実施における、共通性の高いプロトコール（汎用プロトコール）「家族性・若年性のがん及び遺伝性腫瘍に関する診断と研究」を策定し、主たる共同研究機関である国立がん研究センターで承認を得た後、平成28年5月現在で参加予定17施設中16施設でIRB承認が得られ、症例登録が開始されている。

2) 次世代シーケンサー（以下、NGS）を用いた Multigene panel による原因遺伝子解析の基礎的検討として、次世代シーケンサーを用い、capture によるパネルと、multiplex PCR によるパネルを構築し、これまでの研究で集積された遺伝子変異既知の検体を用いた遺伝子変異検出についての検証実験を進めた。その結果、十分な精度を示すことと、実際の運用の効率性・発展性・他のクリニカルシーケンスのシステムとの整合性を考え、最終的に capture によるパネルを選択した。

3) リンチ症候群の原因遺伝子である MLH1・MSH2 等の解析では、10%以上の症例で一つ以上のエクソンを含む領域の遺伝子欠失あるいは重複等の遺伝子再構成を生じることがあり、通常のエクソン毎のシーケンズ解析では変異が見落とされる可能性がある。エクソーム解析あるいはターゲットシーケンズ解析ではこのような遺伝子再構成が見落とされる可能性があり、ターゲットシーケンズ解析の各エクソン毎のリード数から遺伝子再構成の有無をスクリーニングする方法についての技術開発を行った。これまでの解析で MLPA 法によりゲノム欠失あるいは重複の有無が既知の症例を用いて Illumina MiSeq によるターゲットシーケンズ解析を行い、各エクソン毎のリード数の変化から、各遺伝子の全エクソンの全リード数の中で、各エクソンのリード数の占める割合を計算し、この比率の変化を比較検討した。各エクソンのリード数の増加あるいは減少は MLPA 法で得られた結果と比較可能であり、各エクソンのコピー数を半定量的に予測することが可能であったが、高い GC 含量を示す領域、あるいは出力されたリード数が少ないエクソンではデータの変動が大きく、解析の精度が低下する傾向が認められた。

4) 遺伝性びまん性胃がんの原因遺伝子である CDH1 遺伝子の生殖細胞系列変異およびコピー数異常が見つからなかった遺伝性びまん性胃がんと疑われる6家系を CytoScan HD アレイ（アフィメトリクス社）を用いて網羅的に染色体コピー数変化を調べた。発端者と血縁者の DNA が得られた3家系のコピー数変化から優性遺伝形式を考慮し発症要因となる染色体コピー数変化の絞り込みを行った結果、各家系で20~30領域のコピー数変化を抽出した。コピー数変化の見られた領域にはアポトーシス関連遺伝子やがん抑制遺伝子に関与する遺伝子などが含まれていた。