

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究
2. 研究開発代表者：松本直通（横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学）
3. 研究開発の成果

本研究は申請者が研究代表を務めた H22-24 年度障害者対策総合研究事業の発展研究である。H22-24 年度研究費で染色体微細異常を基軸として、複数の発達障害責任遺伝子を決定した。しかし染色体微細異常に関連した遺伝子異常は一部で、多くは点変異が原因であった。H25-27 で進めた研究は、点変異と遺伝子の構造異常の両方を効率的・安価に検出する新たな統合的遺伝子解析システムを確立し、ヒト発達障害関連の遺伝子異常の同定に応用することを目的とした。

発達障害の中でも重要なてんかんおよび知的障害を対象に、I~III の研究を進めた。

### I. 既知責任遺伝子を集約した疾患特異的診断パネルの構築を行い、全エクソームシーケンス (whole exome sequencing, WES) との、診断率・コスト・効率性における比較検討

初年度（平成 25 年度）研究で大田原症候群を含む年齢依存性てんかん群では、責任遺伝子 *ARX*・*STXBPI*・*CASK*・*KCNQ2* と新規に同定した遺伝子 *SCN2A*・*GNAO1*・*SLC35A2*、他のてんかん関連疾患で同定されている既知遺伝子を加えて 35 個および拡大版 50 個の遺伝子解析パネルを作成し、それぞれで遺伝子変異検出率を明らかにした (28.3%と 18.9%)。さらに Coffin-Siris 症候群で変異を見出した *SWI/SNF* 複合体遺伝子 22 個の解析パネルも作成、同疾患での変異検出率を明らかにした (25%)。陰性例では、バックアップ解析として全エクソーム解析を追加することになるが、この時点で、遺伝子パネル+全エクソーム解析とパネルを用いず全エクソーム解析のみを行うこととの価格の比較検討を行った。この結果遺伝子パネル/全エクソーム解析の消耗品価格比 (3.5 万円/11 万円=31.8%) を超える変異検出率をパネルで超えない限り、全エクソーム解析を第一選択とする方が安価で迅速であるとの結論に至った。よって明らかに検出率が 32%を大きく超えることが期待できる疾患は疾患特異的パネル作成を考慮するがそれ以外は全エクソーム解析を選択することとした。

### II. 産出した次世代シーケンスデータを用いて遺伝子特異的コピー数解析・全ゲノム俯瞰的コピー数解析の確立

Miseq によるターゲットシーケンスデータ（各ゲノムポジション毎数百リード程度の読み取り深度）を用いて、NORD プログラムで CNV（を効率的に検出する検出が可能である。全エクソーム解析ではリード数は、80 X 程度であるため、NORD プログラムで効率的な CNV 解析が可能かの検討を進めた。この結果、少なくとも 1 遺伝子丸ごとを含むような CNV 解析は、感度よく検出できることが判明した。NGS データが良質な場合は、単一エクソンの欠失等も検出可能である。一方 NORD プログラムは、注目する遺伝子リストを作成しないと CNV 解析ができない。遺伝子領域を特化せず、シンプルに全エクソームデータで CNV を俯瞰する XHMM プログラムを用いて、既に高密度マイクロアレイで解析したデータを有する症例における CNV 検出精度の検討を行った。この結果、CNV サイズが 200 Kb 以上の検出率は、92%と高率であった。

### III. 確立したシステムの発達障害症例の診断における有用性を検討と症例解析をすすめる。

難治性てんかんの 889 例の全エクソーム解析中、CNV 以上が原因の症例が 16 例（全体の 1.8%）で同定され、難治性てんかんでは点変異のみならず CNV が重要な原因となりうることが明らかとなった。難治性てんかんの新規原因遺伝子として *SCN2A* (Neurology, 2013)・*GNAO1* (Am J Hum Genet, 2013)・*SLC35A2* (Hum Mut, 2013)・*PIGA* (Neurology, 2014 表紙を飾る)・*SCN8A* (Epilepsia, 2014) 等の同定に成功した。