

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：

小児科・産科領域疾患の大規模遺伝子解析ネットワークとエピゲノム解析拠点整備

2. 研究開発代表者： 松原洋一（国立研究開発法人 国立成育医療研究センター）

3. 研究開発の成果

研究開発の目的と概要

これまでに研究代表者および分担研究者らが行ってきた小児科・産科領域の難病研究成果を融合してさらに発展させることに加え、本研究で構築する次世代シーケンサーを用いた解析体制を効率的系統的に応用し、未知病態の解明と、小児科・産科領域疾患のゲノム医療の実装化に向けた取り組みを進める。

具体的には、様々な小児疾患と周産期疾患を対象に、主にエクソームあるいはターゲットリシーケンスによる遺伝子解析を進めるが、これらの解析においては、解析拠点が①ライブラリー作製プロトコルの最適化・自動化・効率化、②長鎖ゲノム DNA ライブラリーの簡便作製プロトコルの検討、③微量ゲノム DNA、FFPE 由来ゲノム DNA および total RNA からの NGS ライブラリー作製条件の検討、④次世代シーケンサーを用いたエピゲノム解析のためのプロトコルの構築と解析支援、を行い、各分担研究の解析目的に合わせたきめ細かな解析体制運用を行っている。また、ゲノム解析拠点として、今後著しく増大すると予想されるデータ量に対応すべく、ハードウェアの強化も含め、解析インフラの整備、開発を進めている。

研究開発成果の概要

新規・未知病因遺伝子の同定

班全体で、合計 8,000 症例以上の対象希少疾患症例をリクルートし、そこから約 2,000 症例の解析を本研究班で行った。これらに対し、遺伝子診断パネル、Amplicon Seq など、ターゲットリシーケンスによる網羅的解析を行い、診断を試みた。特に、すでに責任遺伝子が明らかとなっている疾患については、遺伝子診断の結果を、主治医を通して患者に報告すると共に、日本人患者の変異情報を、疾患研究グループ内のデータベースに登録した。解析データは、各疾患研究グループ内でフィードバックし、遺伝子診断システムの精度向上と効率化を進めた。独自の試みとして、希少疾患の診断では、地域集団におけるアリル頻度の偏りがしばしば問題となるため、CHARGE 症候群、Muenke 症候群、Beals 症候群、ARC 症候群、Waardenburg 症候群など 20 疾患の解析、診断において、等モル混合による DNA プールをリファレンスとして利用できる系を構築し、集団頻度 1%以上の variation の検出および検証に利用する診断システムを開発した。

また、本研究拠点のエクソーム解析パイプラインには、小児・産科疾患の解析に最適化されたリファレンスデータ（生殖異常を有さない健常者コントロール）を実装化し、網羅的エピゲノム解析（6 種類のヒストン修飾に対する ChIP-Seq、メチローム解析）体制を構築した。

これらの解析体制を利用し、性分化疾患を招く新規 MAMLD1 変異、生殖機能障害を招く新規性染色体微細重複、無巨核球性血小板減少症を伴う橈尺骨癒合症、Inclusion body myopathy、Schimmelpenning 症候群、mosaic RASopathies、等について新規の遺伝子変異に関する知見が得られた。