

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業
(英語) Program for an Integrated Database of Clinical and Genomic Information.
- 研究開発課題名 : (日本語) 感覚器障害領域を対象とした統合型臨床ゲノム情報データストレージの構築に関する研究
(英語) Development of unified data storage (DS) of clinical and genomic information for sensory disorders.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人信州大学 学術研究院医学系 教授 宇佐美 真一
所属 役職 氏名 : (英語) Shinshu University School of Medicine Professor Shin-ichi Usami
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 感覚器障害領域を対象としたクリニカル・シーケンスの実施および統合型臨床ゲノム情報データストレージの構築に関する研究
開発課題名 : (英語) Clinical sequencing analysis for sensory disorders and development of unified data storage (DS) of clinical and genomic information for sensory disorders.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 学術研究院医学系 教授 宇佐美 真一
所属 役職 氏名 : (英語) Shinshu University School of Medicine Professor Shin-ichi Usami
- 分担研究 (日本語) 症候群性難聴のクリニカル・シーケンスの実施
開発課題名 : (英語) Clinical sequencing analysis for syndromic hearing loss.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 医学部 特任教授 野口 佳裕
所属 役職 氏名 : (英語) Shinshu University School of Medicine Specially-appointed Professor Yoshihiro Noguchi

分担研究 (日本語) 遺伝性難聴のクリニカル・シークエンスの実施
開発課題名: (英語) Clinical sequencing analysis for hereditary hearing loss.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 学術研究院医学系医学部附属病院 講師
茂木英明

所属 役職 氏名: (英語) Shinshu University Hospital Lecturer Hideaki Moteki

分担研究 (日本語) 遺伝カウンセリング支援およびデータアクセス委員会の運営
開発課題名: (英語) Supports for genetic counseling and management of data access community
for data storage of sensory disorders.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 学術研究院医学系医学部附属病院 准教授
古庄 知己

所属 役職 氏名: (英語) Shinshu University Hospital Associate professor Tomoki Kosho

分担研究 (日本語) 疾患特異的データストレージの開発およびデータマネジメント
開発課題名: (英語) Development and data management of data storage (DS)
for sensory disorders.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人信州大学 学術研究院医学系 助教 西尾信哉

所属 役職 氏名: (英語) Shinshu University School of Medicine research associate
Shin-ya Nishio

II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究では、北海道～沖縄までの全国 80 施設との共同研究ネットワークを活用することで、All Japan の研究体制で比較的希少な疾患である遺伝性難聴（非症候群性難聴および症候群性難聴）症例のリクルートを行うとともに、次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析を実施しその結果を担当医に返却するクリニカルシークエンスを行う。また、得られたゲノム情報と、詳細な臨床情報を集積し、統合的に管理を行うための疾患特異的データストレージ (DS) を構築し、データ集積を行うとともに、データシェアリングによりプロジェクト間のデータ利活用の促進を行うことを目的としており、データストレージに集積されたデータに関しては、臨床ゲノム統合データベースおよび AMED Genome group sharing Database に順次移行し、データシェアリングによる利活用を促進することを目的としている。

平成 28 年度は、研究初年度であることより感覚器障害に関するデータストレージに集積する臨床情報調査項目の選定を行うとともに、データストレージを開発するとともに試験運用を開始した。特に、本研究により構築するデータストレージは、ゲノム解析情報と詳細な臨床情報を統合的に集積するだけでなく、コントロールにおけるアレル頻度、過去の報告における病原性、コンピュータ

一予測などの各種アノテーション情報も合わせて集積し、病原性の判断を効率的に行うことが可能となるように、従来より信州大学にて開発していたデータベースシステムを基盤に必要な変更を行い、感覚器疾患全般に対応可能となるように構築した。また、近年、遺伝性疾患の病原性の判断基準のスタンダードとして用いられるようになってきた ACMG ガイドライン 2015 に準拠した形のスコアリングシステムを採用することで、客観的基準に基づいた病原性の判断を効率的に実施可能となるようにシステム開発を行った。また、本研究により構築したデータストレージの基盤システムに関して、他の疾患領域でも活用可能となるように学術論文として公開した (Nishio and Usami, *Human Mutation* 2017)

また、全国から収集された検体の次世代シーケンス解析を実施するにあたり、適切な管理体制による次世代シーケンス解析（次世代シーケンス解析の品質管理）が重要となることより、次世代シーケンス解析および各種アノテーション情報の品質管理体制の整備を行った。具体的には次世代シーケンス解析の作業手順を策定し、得られたデータの品質基準（最低平均被覆数：平均 100 depth、20x 被覆以上の領域：95%以上）を策定した。また、情報解析パイプラインが一定となるよう作業工程を定めるとともに、病原性の判断に関しても ACMG ガイドライン 2015 に準拠する形で評価基準を確定した。

また、策定した作業手順に基づき、全国の共同研究施設より 1200 検体を受け入れ、そのうち 1100 検体に関して次世代シーケンス解析（候補遺伝子のパネル解析）を実施し、新規遺伝子変異を含む多数の原因遺伝子変異を同定し、学術論文として (Iwasa et al., *PLoS ONE* 2016, Kitano et al., *PLoS One* 2017 ほか)。また、耳鼻咽喉科専門医、臨床遺伝専門医、分子遺伝学の専門家からなる遺伝子診断ボードを組織し、ボード会議（毎週火曜日）を開催し結果返却を実施中である。

また、実際にクリニカル・シーケンスの結果の返却を受けた担当医が、適切に結果を解釈するための講習の場が必要であることより、2017 年 1 月 21 日、22 日に信州大学にて第 2 回次世代シーケンス解析講習会を開催し、ACMG ガイドライン 2015 に準拠した形のスコアリングシステムによる解釈方法に関して講義を行い、客観的基準に基づいた病原性の判断に関して演習を行った。

Recent advances in molecular genetic analysis, particularly in analyses using next-generation sequencing (NGS), have drastically accelerated the identification of novel genes involved in many inherited diseases and expanded the disease phenotype spectrum of known disease-causing genes. These new technologies have led to significant breakthroughs in the field of human genetics research; however, at the same time, they have also given rise to new challenges in the interpretation of the pathogenicity of an extraordinary number of newly identified genomic variants. For the efficient interpretation of identified variants, integrated database for unified management of clinical and genetic information by collecting the wide range of disease analysis results with expert interpretation is desired.

In this research program, we planned to perform clinical next generation sequencing analysis of the sensory disorders (especially for inherited hearing loss and syndromic hearing loss) and to construct unified data management storage system for clinical and genome information of these

patients. In this year, we collected over 1, 200 hearing loss patients and their family member samples from nation wide collaborators and performed targeted re-sequencing analysis (panel analysis) of these patients. As a result, we identified many novel pathogenic variants and diagnosed the genetic cause of many Japanese hearing loss patients. In addition, the parts of these results were reported as scientific papers (Iwasa et al., PLoS ONE 2016, Kitano et al., PLoS ONE 2017).

In addition to the genetic analysis, we developed original data storage system named the Clinical Next Generation Sequencing Database (Clinical NGS DB), which can be utilized for efficient clinical next-generation sequencing analysis of inherited diseases through the collection of data for a large number of variants as well as clinical information in a unified interface. Recently, new guidelines for sequence variant interpretation have been published by the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Association for Molecular Pathology (AMP). According to these guidelines, variant pathogenicity should be interpreted by gathering evidence from various sources, such as the position and type of variant, the results of family segregation analysis, the survey results of many kinds of database including control population as well as disease-specific databases, the results of *in vitro* experiments, and the results of *in silico* prediction programs. The developed database system in this research offers an efficient pathogenicity interpretation according to the ACMG guidelines by using the public control population allele frequency information, disease-specific database annotation information, *in silico* predictions and other information. We also reported the utility and benefit of the developed database software as scientific report and share for academic user to help other disease research progress (Nishio and Usami, Human Mutation 2017).

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 4 件、国際誌 9 件)

1. Kitano T, Miyagawa M, Nishio SY, Moteki H, Oda K, Ohyama K, Miyazaki H, Hidaka H, Nakamura KI, Murata T, Matsuoka R, Ohta Y, Nishiyama N, Kumakawa K, Furutate S, Iwasaki S, Yamada T, Ohta Y, Uehara N, Noguchi Y, Usami SI. *POU4F3* mutation screening in Japanese hearing loss patients: Massively parallel DNA sequencing-based analysis identified novel variants associated with autosomal dominant hearing loss. PLoS One. 2017;12:e0177636.
2. Nishio SY, Usami SI. Outcomes of cochlear implantation for the patients with specific genetic etiologies: a systematic literature review. Acta Otolaryngol.2017 in press.
3. Kitoh R, Nishio SY, Usami SI. Prognostic impact of gene polymorphisms in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss. Acta Otolaryngol.2017 in press.
4. Nishio SY, Usami SI. The Clinical Next-Generation Sequencing Database: A Tool for the Unified Management of Clinical Information and Genetic Variants to Accelerate Variant Pathogenicity Classification. Hum Mutat. 2017; 38: 252-259.

5. Moteki H, Nishio SY, Miyagawa M, Tsukada K, Iwasaki S, Usami SI. Long-term results of hearing preservation cochlear implant surgery in patients with residual low frequency hearing. *Acta Otolaryngol.* 2017;137(5):516-521.
6. Nishio SY, Takumi Y, Usami SI. Laser-capture micro dissection combined with next-generation sequencing analysis of cell type-specific deafness gene expression in the mouse cochlea. *Hear Res.* 2017;348:87-97.
7. Iwasa YI, Nishio SY, Usami SI. Comprehensive Genetic Analysis of Japanese Autosomal Dominant Sensorineural Hearing Loss Patients. *PLoS One.* 2016;11:e0166781.
8. Ueyama T, Ninoyu Y, Nishio S, Miyoshi T, Torii H, Nishimura K, Sugahara K, Sakata H, Thumkeo D, Sakaguchi H, Watanabe N, Usami S, Saito N, Kitajiri S. Constitutive activation of DIA1 (DIAPH1) via C-terminal truncation causes human sensorineural hearing loss. *EMBO Molecular Medicine* 2016; 8: 1310-1324.
9. Mori K, Moteki H, Miyagawa M, Nishio SY, Usami S. Social Health Insurance-Based Simultaneous Screening for 154 Mutations in 19 Deafness Genes Efficiently Identified Causative Mutations in Japanese Hearing Loss Patients. *PLoS ONE* 2016; 11: e0162230.
10. 宇佐美真一:聴覚障害と遺伝. *Medical Science Digest.* 2016; 42:166-169.
11. 西尾信哉、宇佐美真一:難聴の遺伝子診断とその臨床応用. *耳鼻臨床.* 2016; 109: 828-829.
12. 西尾信哉、宇佐美真一:難聴の遺伝学的検査の現状と展望. *医学のあゆみ.* 2017; 261: 337-339.
13. 宇佐美真一、塚田景大:進行性難聴、変動する難聴. *MB ENT.* 2017; 205: 1-5.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 日常診療における遺伝子診断—診療の手引きをふまえて、口頭、野口佳裕，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
2. *HOXA2* 変異によるアブミ骨奇形を呈する常染色体優性遺伝性混合性難聴，口頭，野口佳裕、西尾信哉、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
3. 先天性難聴の遺伝学的検査—次世代シーケンサーの臨床応用—，口頭，茂木英明、西尾信哉、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
4. 難聴に対する遺伝学的診断の検討，口頭，佐久間直子、茂木英明、高橋優宏、荒井康裕、西尾信哉、折館伸彦、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
5. 当科データベースにおける次世代シーケンサーを用いた *OTOF* 遺伝子の変異解析，口頭，岩佐陽一郎、西尾信哉、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
6. 全エクソーム解析で見出された新規難聴原因遺伝子と考えられる *CDC14A* 遺伝子変異症例，口頭，吉村豪兼、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
7. 残存聴力活用型人工内耳 (EAS: Electric Acoustic Stimulation) における残存聴力と聴取成績，口頭，茂木英明、宮川麻衣子、西尾信哉、塚田景大、工 穰、岩崎聡、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
8. 突発性難聴の治療効果と関連する遺伝子多型の検討～難治性内耳疾患の遺伝子バンクプロジェクト～，口頭，鬼頭良輔、西尾信哉、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.
9. 人工内耳装用患者の遺伝学的背景とその装用成績，口頭，宮川麻衣子、西尾信哉、宇佐美真一，第 26 回日本耳科学会，2016.10.5-8，国内.

10. 次世代シーケンサーをベースにした 19 遺伝子 154 変異の難聴遺伝学的検査, ポスター, 森健太郎、西尾信哉、宇佐美真一, 第 26 回日本耳科学会, 2016.10.5-8, 国内
11. 次世代シーケンサーにより見出された *POU4F3* 遺伝子変異症例の臨床像, ポスター, 北野友裕、宮川麻衣子、西尾信哉、茂木英明、野口佳裕、宇佐美真一, 第 26 回日本耳科学会, 2016.10.5-8, 国内.
12. 次世代シーケンサーを用いた日本人症候群性難聴の遺伝子解析, ポスター, 出浦美智恵、西尾信哉、宇佐美真一, 第 26 回日本耳科学会, 2016.10.5-8, 国内.
13. 難聴医療従事者に必要な遺伝子診断の知識, 口頭, 宇佐美真一, 第 61 回日本聴覚医学会総会, 2016.10.19-21, 国内
14. 当科で施行した先天性難聴の遺伝学的検査に関する検討, 口頭、藤原敬三、内藤泰、宇佐美真一、道田哲彦, 第 61 回日本聴覚医学会総会, 2016.10.19-21, 国内.
15. *SLC26A4* 遺伝子変異症例における平衡障害の検討, 口頭, 塚田景大、小林正史、森健太郎、宮川麻衣子、宇佐美真一, 第 75 回日本めまい平衡医学会総会, 2016.10.27-28, 国内.
16. 次世代シーケンサーにより見出された *POU4F3* 遺伝子変異症例の臨床, 口頭, 北野友裕、西尾信哉、茂木英明、野口佳裕、宇佐美真一, 第 5 回 耳鼻咽喉科フロンティアカンファレンス, 2016.11.19, 国内
17. 次世代シーケンサーによって見出された日本人難聴患者における *WFS1* 遺伝子変異の検討, 口頭, 小林正史、野口佳裕、宮川麻衣子、西尾信哉、宇佐美真一, 第 5 回 耳鼻咽喉科フロンティアカンファレンス, 2016/11/19, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 難聴の診断と治療の最前線, 宇佐美真一, 信州医学振興財団 夜間健康講座シリーズ 第 4 回 2017.03.08, 国内.

(4) 特許出願

該当なし