

# 稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究 (研究代表者:小島勢二・名古屋大学大学院医学系研究科・教授)

## 対象疾患に係る 現状と課題

対象とする疾患

- ・Fanconi貧血 (FA)
- ・先天性赤芽球ろう (DBA)
- ・先天性角化不全症(DKC)
- ・遺伝性鉄芽球性貧血(SA)
- ・先天性好中球減少症(SCN)
- ・先天性顆粒放出異常症 (HLH)
- ・毛細血管拡張性小脳失調症 (AT)
- ・一過性骨髄異常増殖症 (TAM)
- ・Congenital dyserythropoietic anemia(CDA)
- ・Shwachman-Diamond syndrome(SBDS)
- ・先天性血小板減少症
- ・先天性溶血性貧血

現状と課題

上記のうち先天性血小板減少症、先天性溶血性貧血を除く10疾患については、厚労省難治性疾患研究事業による研究班が存在し、全国疫学調査、臨床データの収集、既知責任遺伝子の遺伝子解析が行われている。先天性血小板減少症、先天性溶血性貧血に関しても、研究班班員の施設に臨床データや検体が保存されている。当研究班内の施設に収集された1070検体のうち、736検体については既知の遺伝子の解析がおこなわれたが、578検体では原因不明で遺伝子解析で確定診断されたのは20%にすぎない。診断の精度をあげるには、各疾患において、新規遺伝子変異の発見が必要である。

国際的な研究状況

遺伝性血液疾患の原因遺伝子の多くは、ここ数年で発見されたものである。DBAを例にとると、これまでRPS19遺伝子の変異が25%の患者に認められていたのみであったが、ここ数年に、RPS24,RPS17,RPL5,RPL11、RPL35aなどの新規原因遺伝子が発見された。それでも、DBA患者のうち、原因遺伝子が発見されるのは、欧米でも50%、本邦では30%であり、欧米では、現在遺伝性血液疾患の登録制度と検体収集システムを確立し、新規原因遺伝子の探索が精力的におこなわれている。

## 本研究の実施項目

原因遺伝子の同定が比較的容易と考えられる家族内発症例を解析対象とする。これまでに、研究班内に原因遺伝子が不明で家族内に複数罹患者がいる108例の検体を収集した。まず、SNPアレイを用いて片アレル欠失の有無を解析する。この解析によっても、原因遺伝子が不明な臨床検体についてエクソーム解析を行う。各症例より抽出したゲノムDNAを超音波破碎により断片化し、常法に従って液相ハイブリダイゼーションにより全エクソン配列を濃縮する。得られた混合試料を、Illumina社HiSeq2000シーケンサーにより平均読み取り深度x200を目標として、全エクソン配列の解析を行う。SNPデータベースおよび1000personal genomeデータベースに登録済みのSNPを除去したのち、家族内罹患者と陰性コントロール(非罹患者同胞や両親)の全エクソン解析データとを比較検討することにより、責任変異の候補となるSNV原因遺伝子の候補を絞り込み、必要に応じて全ゲノムリシーケンスを併用しつつ、機能的な推定と併せて、新規原因遺伝子を同定する。各研究班では、候補遺伝子のサンガー法によるバリデーション、マウスモデルによる機能解析をおこなう。

## 期待される成果と 国際的な意義

3年間で期待される成果

すでに収集済みの稀少血液疾患検体を保存し、病態研究や遺伝子解析に実績がある個々の研究班施設が次世代シーケンサーを所有する施設と共同研究をおこなうことで個々の疾患において短期間での新規原因遺伝子の発見が十分期待される。

中長期的に期待される成果

小児遺伝性血液疾患の診断には、原因遺伝子の確定が必須であるが、今日でも、臨床的には、遺伝性血液疾患が疑われながら、既知の原因遺伝子の変異が検出されず、確定診断に至らない症例は、疑い症例の半数にも達する。各疾患の新規原因遺伝子が同定されれば、稀少難病の診断に格段の進歩をもたらすことが期待できる。とりわけ、一部の遺伝性血液疾患では、臨床症状が典型的でない不全型が存在するが、不全型の診断は、遺伝子診断のみが可能である。また、これまでの研究で、同一の診断名でも、原因遺伝子によって、臨床症状、治療への反応性が異なることが判明している。本研究により、未知の原因遺伝子の同定が進めば、原因遺伝子別の合併臨床症状、治療への反応性が明らかとなり、個々の症例に対して、より適切な治療の選択が可能となる。原因遺伝子の同定が進めば、疾患の発症機構の解明が進み、病態を標的とした新規治療法の開発も期待できる。

国際的な意義

当研究班での研究成果を国際的なジャーナルや会議で発表することにより、得られた成果はわが国のみでなく、全世界において、遺伝性血液疾患の診断や治療に貢献するであろう。現在、アジア地区において再生不良性貧血の研究グループが組織され共同研究が始まっている。人種の相同性が高いアジア諸国において、当研究班で得られた知見はとりわけ有用であろう。

# 稀少小児遺伝性血液疾患領域の次世代シーケンサー臨床応用研究ロードマップ

