

足立香織 学位論文審査要旨

主 査 難 波 栄 二
副主査 久 留 一 郎
同 二 宮 治 明

主論文

Expansion of genetic testing in the division of functional genomics, research center for bioscience and technology, Tottori University from 2000 to 2013

(2000年から2013年の間に鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野において行った遺伝学的検査の拡充)

(著者：足立香織)

平成26年 Yonago Acta medica 掲載予定

参考論文

1. Clinical and serial MRI findings of a sialidosis type I patient with a novel missense mutation in the *NEUI* gene

(*NEUI*遺伝子に新規ミスセンス変異を持つシアリドーシスI型患者の臨床所見及び長期MRI所見)

(著者： 関島良樹、中村勝哉、岸田大、成田綾、足立香織、大野耕策、難波栄二、池田修一)

平成25年 Internal Medicine 52巻 119頁～124頁

2. A novel mutation of the *GAA* gene in a patient with adult-onset pompe disease lacking a disease-specific pathology

(特長的な病理所見を欠いた成人発症ポンペ病患者における*GAA*遺伝子の新規変異)

(著者： 藤本将平、真邊泰宏、藤井大樹、香西由子、松藺構佑、高橋義秋、奈良井恒、大森信彦、足立香織、難波栄二、西野一三、阿部康二)

平成25年 Internal Medicine 52巻 2461頁～2464頁

学 位 論 文 要 旨

Expansion of genetic testing in the division of functional genomics, research center for bioscience and technology, Tottori University from 2000 to 2013

(2000年から2013年の間に鳥取大学生命機能研究支援センター遺伝子探索分野において行った遺伝学的検査の拡充)

現在、GeneTestsには2,000種類を超える遺伝子に対しての検査法が登録されているが、日本で保険収載されている遺伝学的検査は36疾患にとどまる。研究ベースで実施されている検査も多く、遺伝学的検査を安定して提供できる体制を構築することが緊急の課題となっている。鳥取大学生命機能研究支援センターでは遺伝学的検査を充実させ、日本だけではなく世界中から検査依頼を受け付けており、現在では62種類の遺伝病の検査が可能である。本論文では、2000年1月から2013年9月までに実施した診断システムの構築と改良について報告する。

方 法

点変異、微小欠失および微小挿入の確認には、PCR産物の直接シーケンス法を主な方法とした。トリプレットリピート病では、キャピラリーシーケンサーを用いてリピート長の確認を行った。大きな欠失や挿入の検出にはmultiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法、あるいはリアルタイムPCR法を用いた。2010年以降はPrimer3ソフトウェアを用い、ターゲット領域をエクソンの外側70 bpに設定する、アニーリング温度を高め設定する等、独自の方法でPCRプライマーを設計した。ターゲット領域がGCリッチの場合にはPCR酵素にTaKaRa LA Taqを用い、それ以外ではAmpliTaq Goldを用いた。データ解析にはSequence scanner、Genetyx、Variant reporter、Peak scanner、coffalyzerソフトウェアを用い、さらにhuman genome mutation database、SNPデータベースを参照して既報の変異かどうかの確認を行った。新規変異の場合にはprediction of functional effect of human nsSNPs (*PolyPhen*) を用いて機能変化の予測を行った。すべての作業を3時間単位のステップに分け、6名のスタッフで分担して作業が出来るようにした。

結 果

2000年1月から2013年9月までの期間に計62疾患、1,006検体の遺伝学的検査を行った。依頼元は国内43都道府県の病院と海外11ヶ国であった。変異は1,006検体のうち287検体

(28.5%)に見つかった。また、13疾患、77検体の出生前診断を行った。2010年以降、遺伝学的検査にかかる日数は2週間程度であった。新規に解析システムを構築するには、更に10日程度の日数が必要であった。

考 察

日本において遺伝学的検査を実施している機関は限られており、全国から多くの解析依頼があった。この背景としては、筋緊張性ジストロフィーは鳥取大学医学部附属病院で高度先進医療が認められていること、脆弱X症候群、ニーマン・ピック病C型、GM1-ガングリオシドーシス、ライソゾーム病などの疾患は鳥取大学で精力的に研究が行われてきたことなどが挙げられる。診断方法は主には直接シーケンス法を用いたが、Joubert症候群のように多くの原因遺伝子が存在する場合、長い時間と多大な労力がかかるため、従来はsingle strand conformation polymorphism (SSCP) 法やdenaturing high performance liquid chromatography (DHPLC) 法をスクリーニングとして実施していたが、これらの方法では変異は十分に検出されない。これを解決するためには、鳥取大学生命機能研究支援センターに2013年度導入された次世代シーケンサーによる解析システムを構築していくことが必要と考えられる。日本において、多くの遺伝学的検査は診療ではなく研究として実施され、その検査費用も研究費から捻出されている。鳥取大学医学部附属病院での諸料金規則を設定し、この検査費用を研究費ではなく医療費として位置づけた。アメリカやヨーロッパでは、Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 認定によって遺伝学的検査の質的保障がなされているが、日本ではまだそのようなガイドラインがない。生命機能研究支援センターでは標準作業手順書を整備し、スタッフの技術を共有することにより、遺伝学的検査の効率化と質の向上を図っている。

結 論

生命機能研究支援センターでは、検査費用を医療費として位置づけ、遺伝学的検査の効率化と質の向上を図ることにより、2000年1月から2013年9月までの間に国内外の病院などに1,000検体を超える多くの遺伝学的検査を提供し、遺伝医療に大きく貢献した。