

神戸市立医療センター中央市民病院
2019年2月12日

難病の原因遺伝子探索研究の戦略

関西医科大学附属生命医学研究所ゲノム解析部門
日笠 幸一郎

1. ゲノム医学研究体制の整備

- 希少難治性疾患の解析
 - ゲノム解析
 - 遺伝子発現解析
 - エピゲノム解析
- ゲノム情報に基づく個別化医療
 - 「がんゲノム医療」：中核拠点に紐づく連携病院として参画
 - 運用に向けた体制作り
 - 中核病院を目指した診断実績/研究成果の蓄積

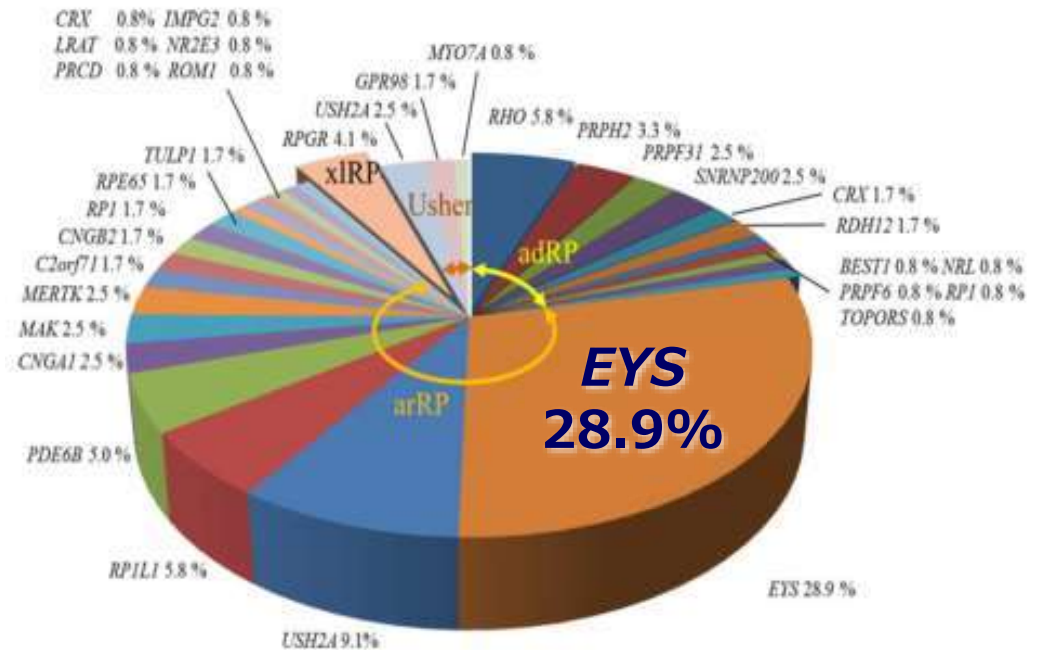
2. 画像分析ニューラルネットワークの開発

- 病理画像診断
- 細胞形態鑑別
- 脳組織・神経細胞分析
- 膜融合解析

網膜色素変性症の遺伝子診断

網膜色素変性症患者329例に対して365遺伝子のターゲット遺伝子解析を実施し、121例（36.8%）において30遺伝子に原因変異を同定。（Oishi et al., IOVS., 2014）

同パネルを用いた錐体ジストロフィー・遅視症のターゲット遺伝子解析により、43例中14例（32.6%）において9遺伝子に原因変異を同定し、合計135例（36.3%）で診断が確定。（Oishi et al., Mol. Vis., 2016）



Nightstar
THERAPEUTICS

Retinal-disease, gene-therapy
development company, UK

Program	Indication	Stage of Development	Next Milestone
NSR-REP1	Choroideremia	Phase 3	Complete Phase 3 Enrollment: 1H 2019
NSR-RPGR	X-linked Retinitis Pigmentosa	Phase 1/2	Safety/Tolerability Data: YE 2018
NSR-ABCA4	Stargardt Disease	Preclinical	
NSR-BEST1	Best Disease	Preclinical	

ゲノム医学研究の必要性和問題点

背景（パラダイムシフト：ゲノム検査がルーチンの時代に）

【これまでの医療】

臓器に応じた
治療法の選択

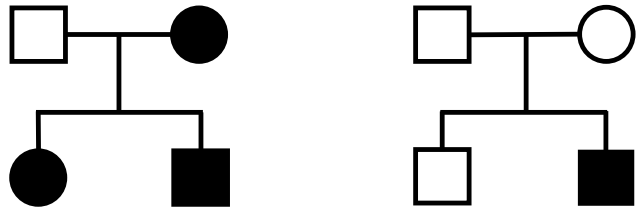


【これからの医療】

遺伝子変異（ゲノム情報）
に基づく治療法の選択

斜視を伴う巣状糸球体硬化症家系の解析
（第二内科との共同研究）

全く同一の臨床症状を呈する2家系



家系に共通する原因遺伝子は存在するか？
原因遺伝子の変異にパターンはあるのか？
原因変異の頻度（保因者）はどれぐらいか？

- ・ ヒトゲノム解析
- ・ ウイルスゲノム解析
- ・ バクテリアゲノム解析
- ・ 遺伝子発現解析
- ・ メチル化解析

問題点

- ① どのようなデザインをして検討するか？
- ② どれぐらいのコストがかかるか？
- ③ 得られたデータをどのように解析するか？



共同研究

ゲノム解析部門

- ・ 研究デザインの提案
- ・ 網羅的ゲノム解析
- ・ ゲノム情報処理支援

解析規模に応じたゲノム解析環境の構築

関西医科大学

大規模解析（全ゲノム/エクソーム）

- ・ 京大の設備利用が儉約かつ効率的
- ・ 初期導入費や維持費が不要

小規模解析（パネル/ターゲット遺伝子）

- ・ 条件検討や検体数等細かい調整が必要
- ・ がんゲノム医療体制の整備

MiSeq

総合研究施設



臨床・基礎
の各研究室



生命医学研究所ゲノム解析部門

目的に応じた解析パイプライン構築支援
解析結果の迅速なフィードバック

京都大学

（ゲノム医学センター）

Macrogen-京大 共同ゲノム解析ユニット



CPU: ~400 cores

HDD: ~4PB

DGX-1 for AI

ゲノム解析クラスターサーバー



全ゲノム: 3,000検体

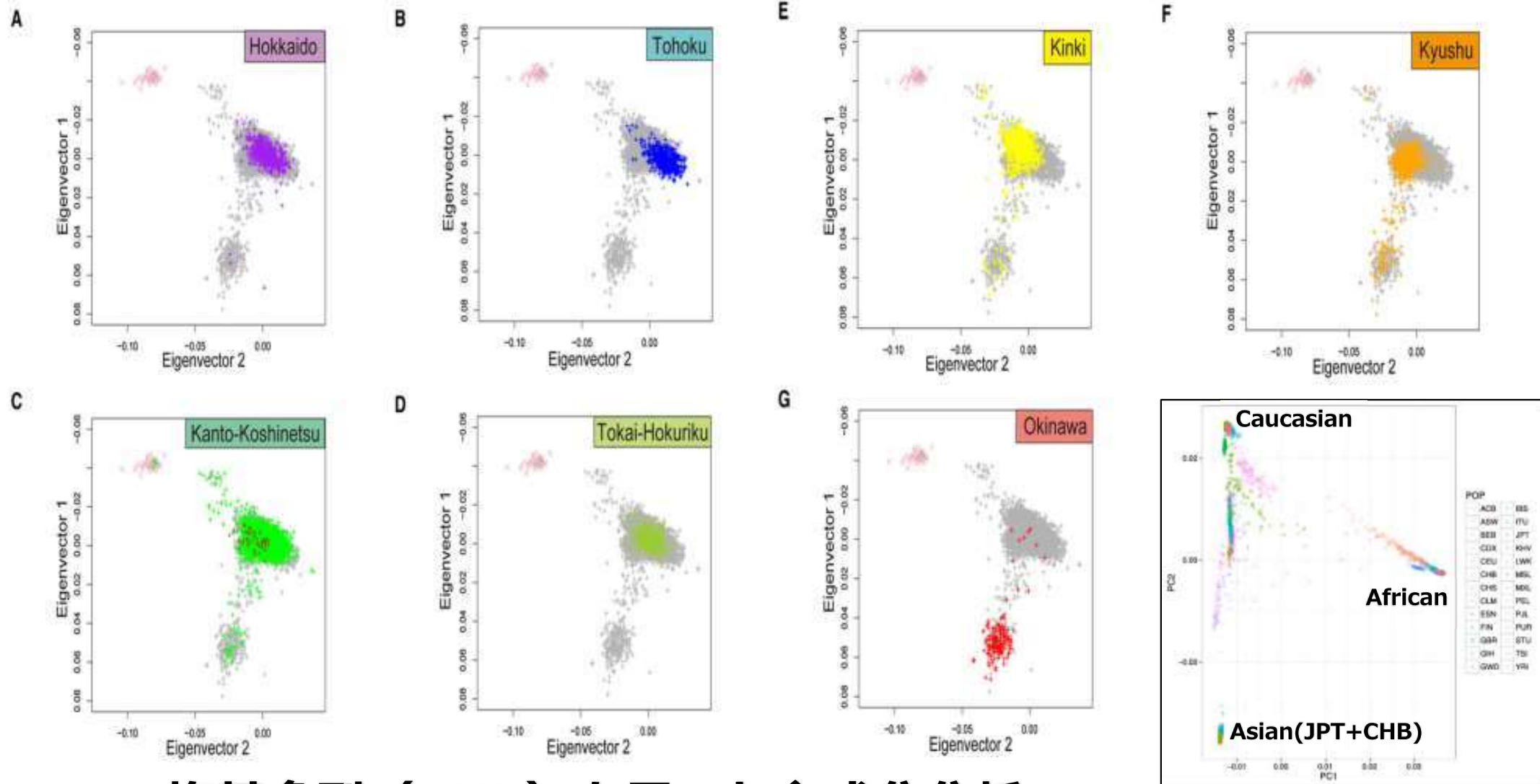
エクソーム: 1,200検体

長浜コホート: 10,000検体

ゲノム情報データベース

参照

日本人の遺伝的多様性



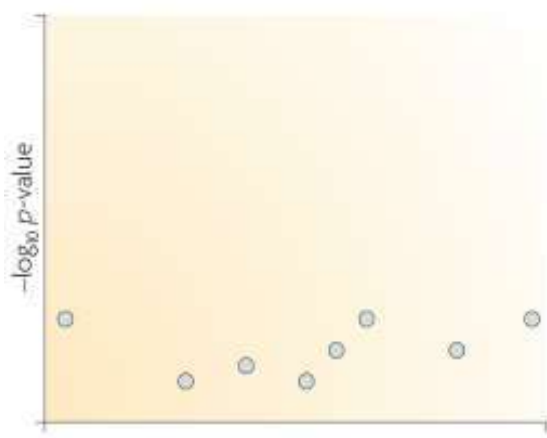
一塩基多型 (SNP) を用いた主成分分析

Yamaguchi *et al.*, 2008 *AJHG*

The 1000 genomes project, 2015 *Nat.*

ジェノタイプ推定

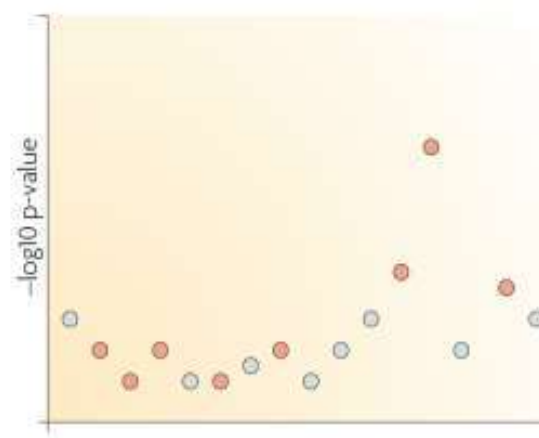
b Testing association at typed SNPs may not lead to a clear signal



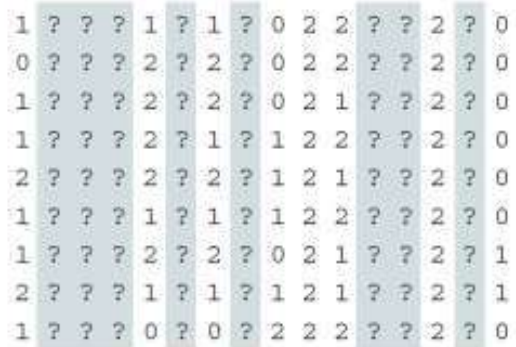
d Reference set of haplotypes, for example, HapMap



f Testing association at imputed SNPs may boost the signal



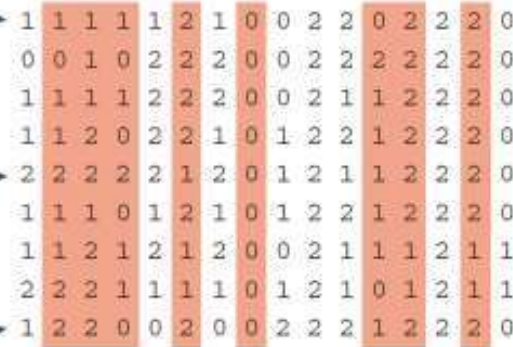
a Genotype data with missing data at untyped SNPs (grey question marks)



c Each sample is phased and the haplotypes are modelled as a mosaic of those in the haplotype reference panel



e The reference haplotypes are used to impute alleles into the samples to create imputed genotypes (orange)



新たにタイピングを実施した検体のジェノタイプをリファレンスを参照しながら推定

日本人ゲノム情報のデータベース化

日本人の遺伝子リファレンスデータベース

1,208名のExome解析から得られた頻度情報および遺伝子発現との関連情報を集約

Higasa et al., 2016 J. Hum. Genet.

<http://www.hgvd.genome.med.kyoto-u.ac.jp/>
Human Genetic Variation Database

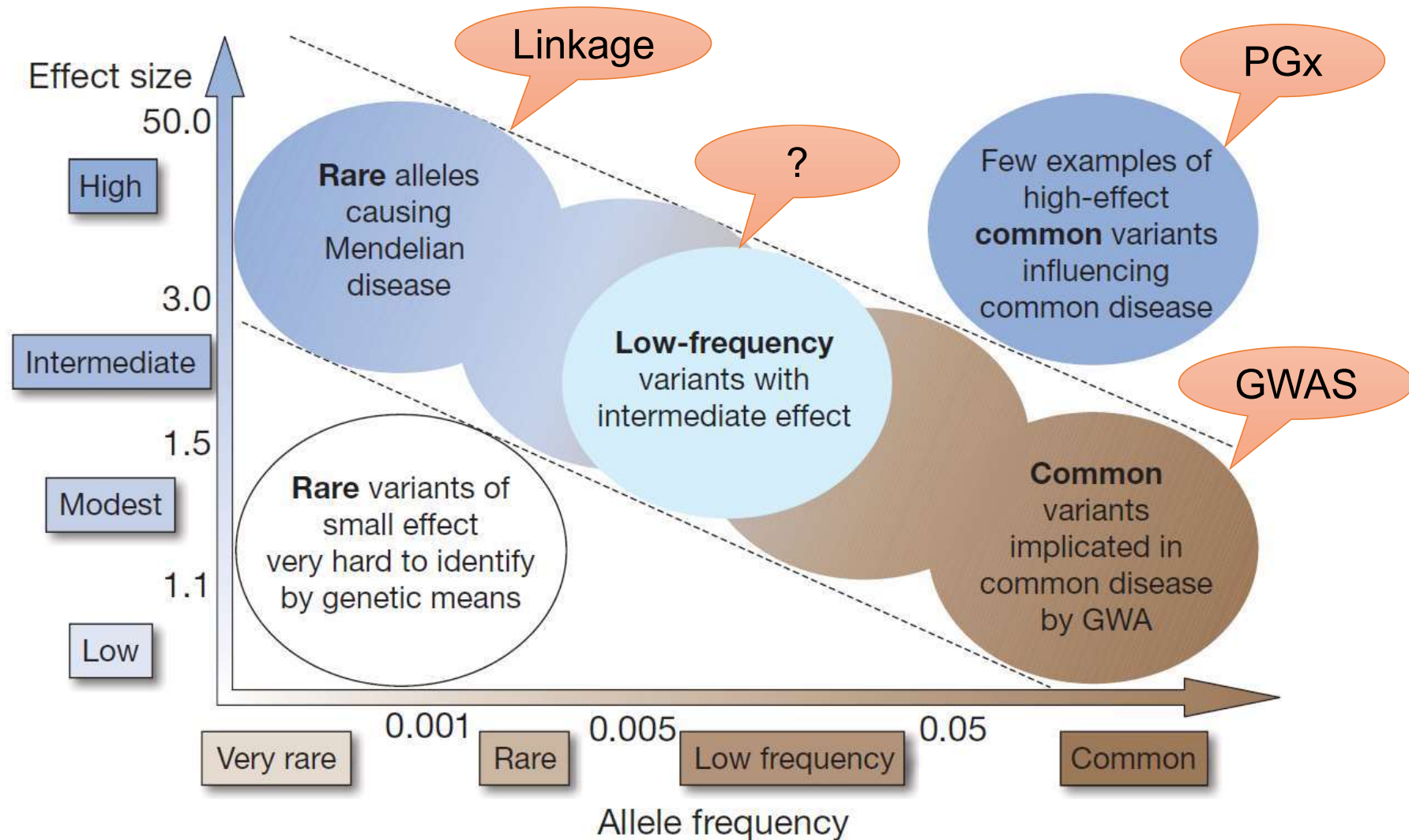
Home About Statistics Link Download Repository Contact How to Use Login



エクソーム配列情報

研究施設	検体数
国立成育医療研究センター	6 8
東京大学	3 7 3
東北大学	3 8
横浜市立大学	4 2 9
京都大学 (+遺伝子発現情報)	3 0 0
小 計	1,2 0 8
全ゲノム配列情報	3,0 0 0
合 計	4,2 0 8

アレル頻度と効果サイズ



Asian Screening Array (ASA)

アジア人特有の多因子疾患・未病の解明に挑むAsian Screening Arrayコンソーシアム

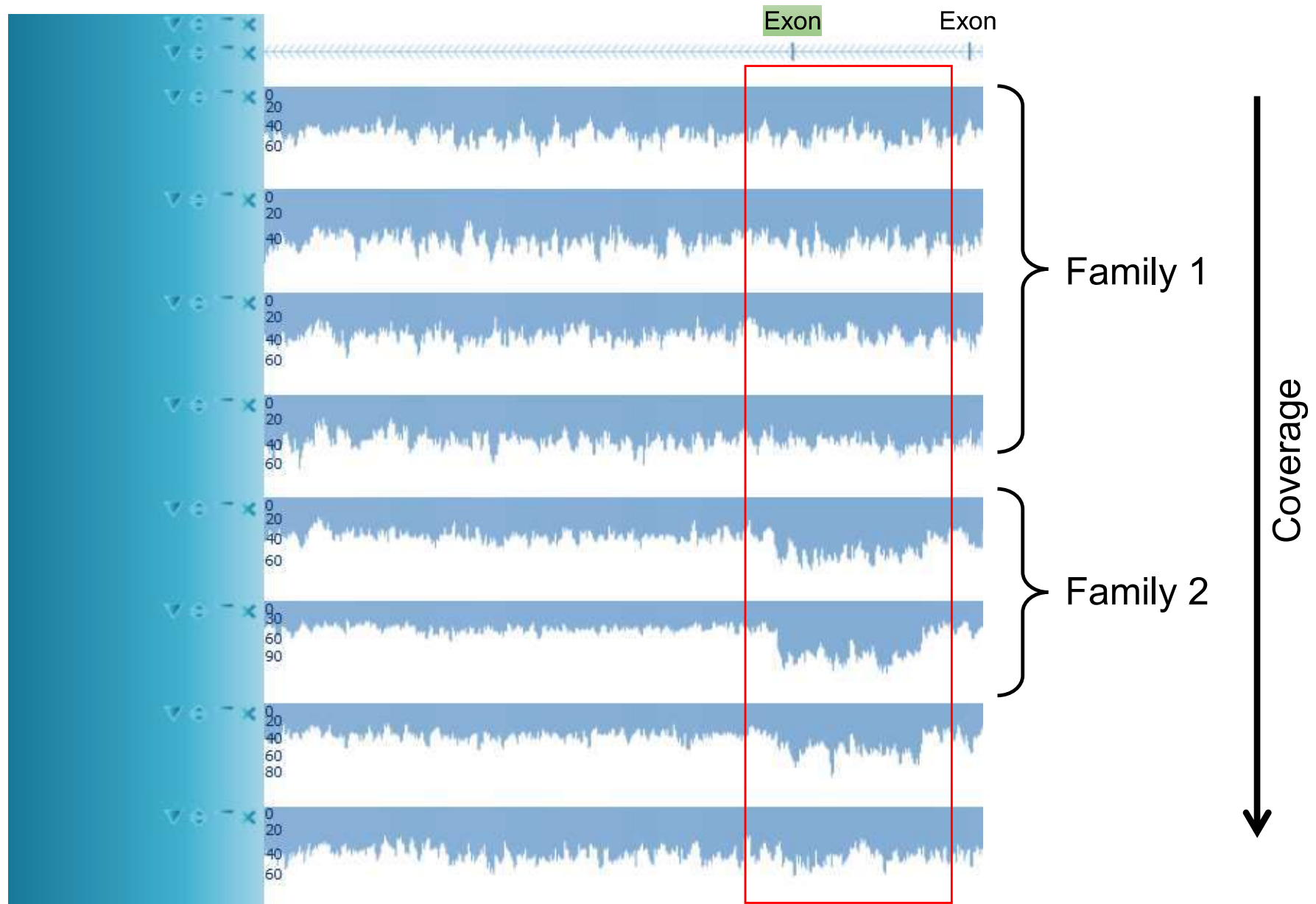
Asian Screening Array (ASA) コンソーシアムは、最新のアジア人ゲノム約1万人分にもとづき、アジア人の解析に最適化された新しいマイクロアレイを設計するためのコラボレーションです。先行製品であるGSAと同じ「高いインピュテーション精度を発揮するGWAS Backboneと専門家によって選定されたクリニカルリサーチコンテンツを搭載する」というゴールに向け、日本人を含むアジア人向けのSNPコンテンツを選択し搭載します。

特長(予定)

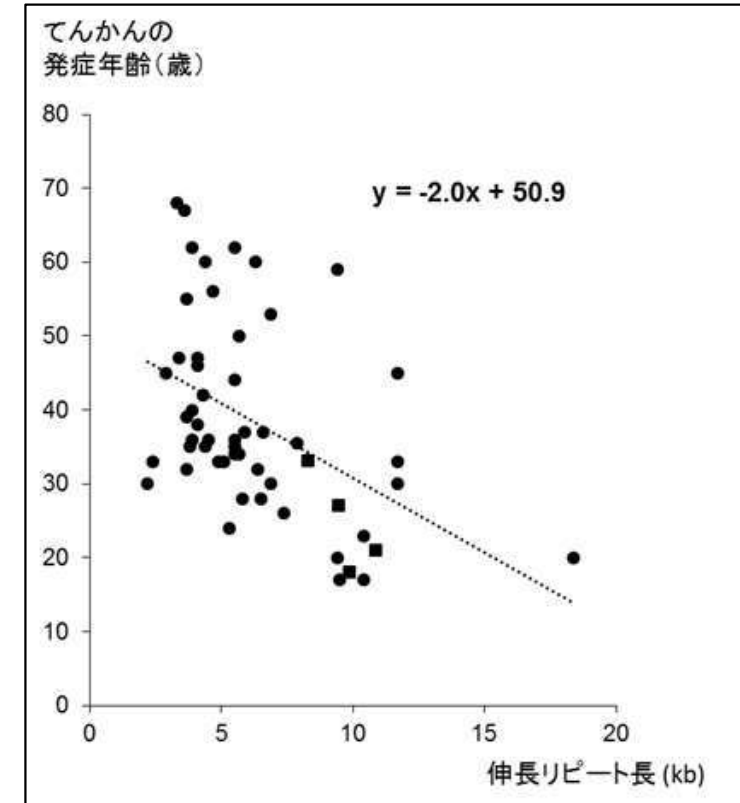
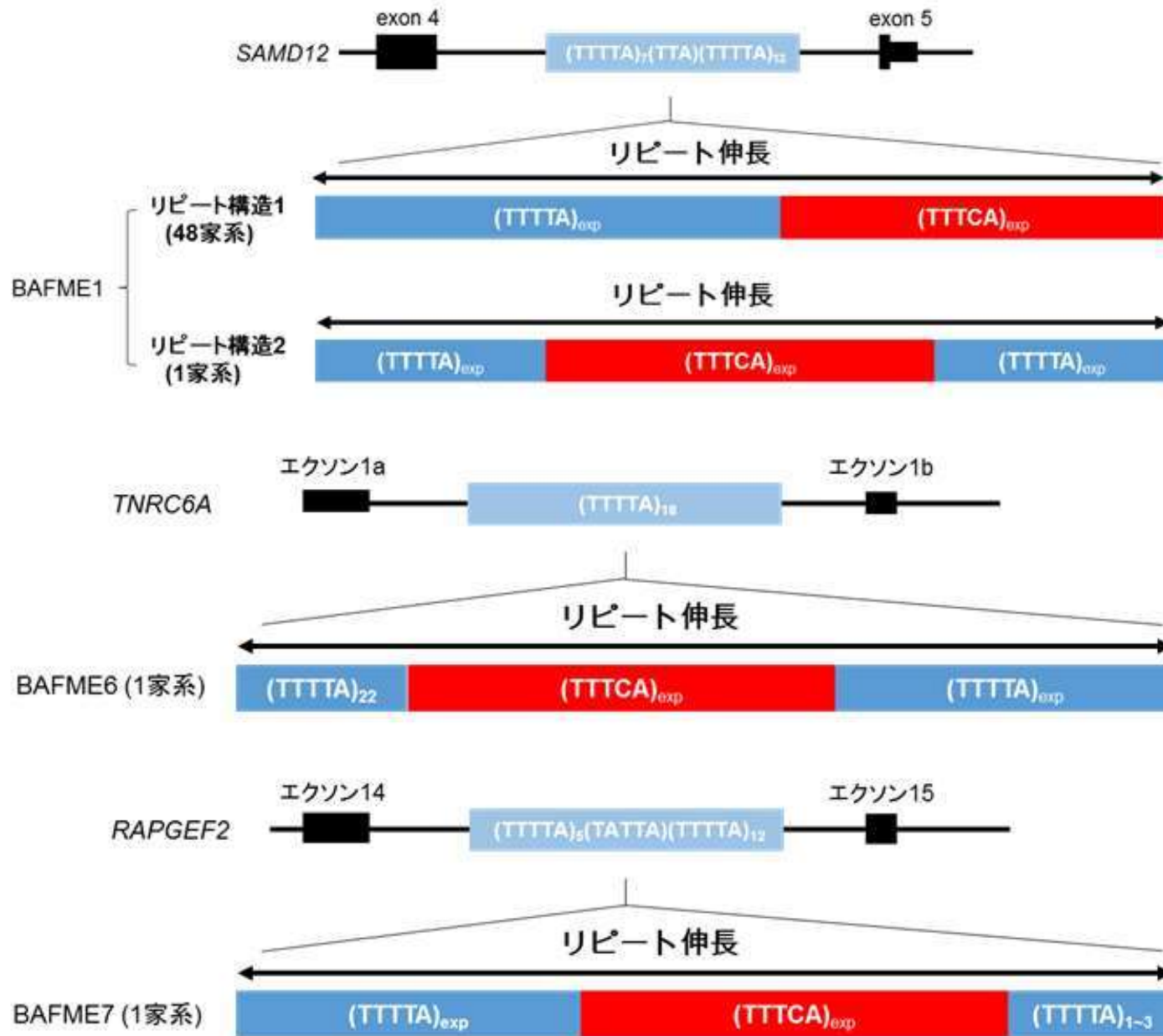
- 日本人、韓国人、中国人、マレーシア人など合計1万人以上のゲノム情報を利用
- アジア人最新研究に基づいた疾患関連SNP、PGx、HLAコンテンツを搭載
- イルミナ従来品と比べ、アジア人で高いインピュテーション精度を実現
- かつてない低コストを実現

カテゴリー	SNP数	説明
GWAS Backbone	66万	インピュテーション精度とゲノムのカバレッジを最大化するSNP。9,000 人のアジア人全ゲノム配列（カバレッジx15/30）を元に選択
クリニカルリサーチコンテンツ	8万	臨床的意義が既知であるSNP、ファーマコゲノミクス（PGx）、HLA、臨床的意義が既知である遺伝子ExonのLOFのSNP
クオリティコントロール（QC）コンテンツ	1万	サンプル層別化、個人特定、祖先情報SNP
Asian Discovery Panel	5万	より探索向けのコンテンツ。 臨床的意義がないV不明であるSNP、 臨床的意義がないV不明である遺伝子ExonのLOF SNPなど
合計	80万	

全ゲノム解析による重複領域の同定（～12.3kb）

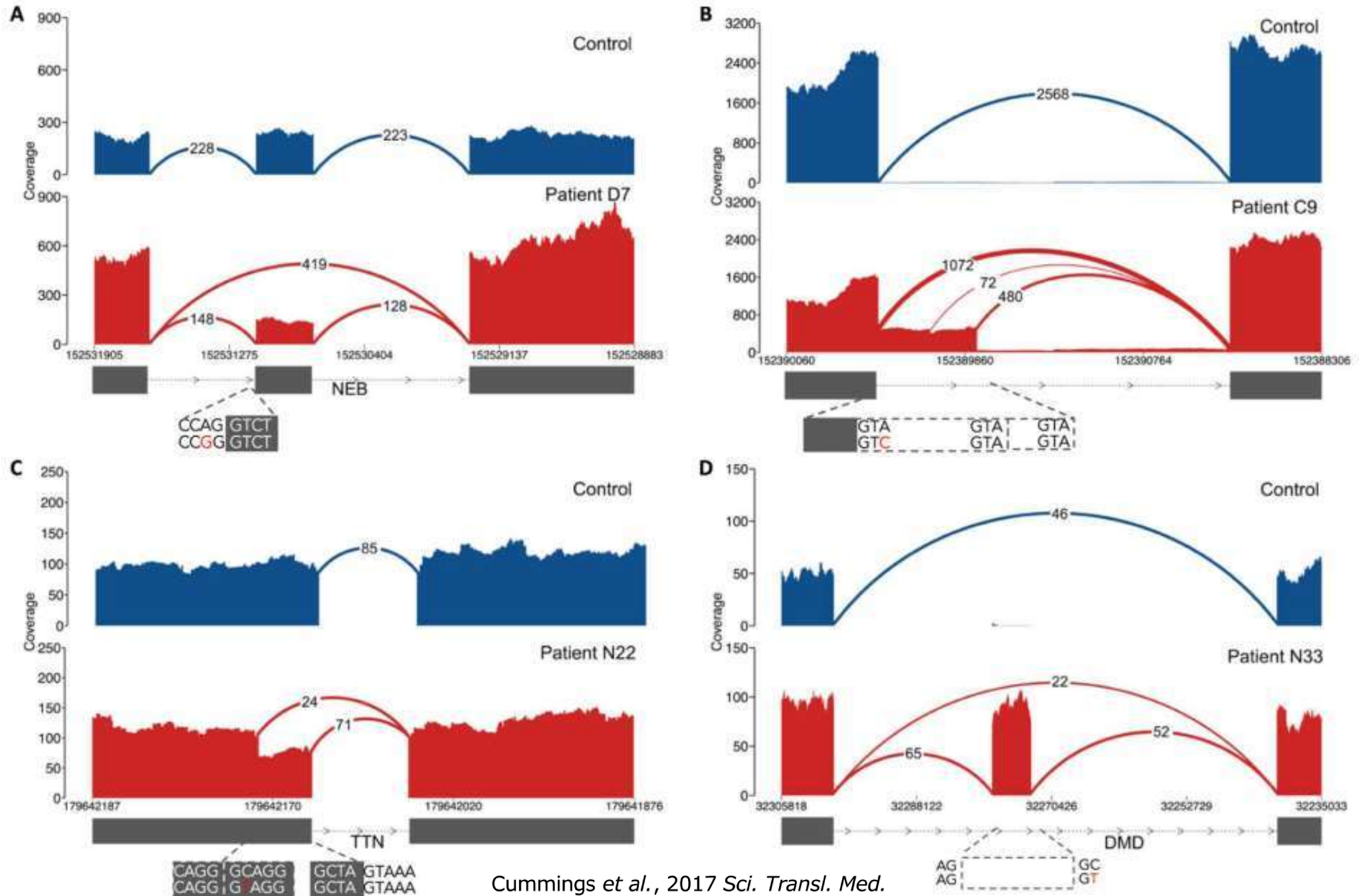


繰り返し配列の異常伸長による“てんかん”の発症



第3世代シーケンサーを用いたリピート長の解析

RNAシーケンス解析による病因変異の同定

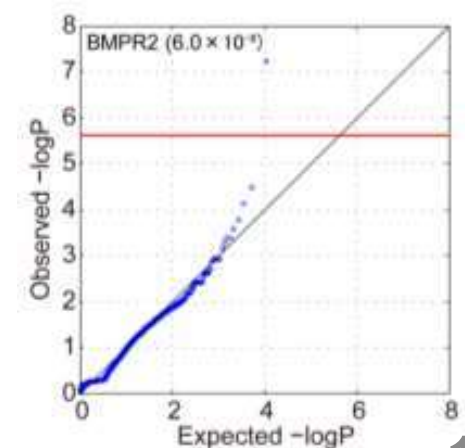
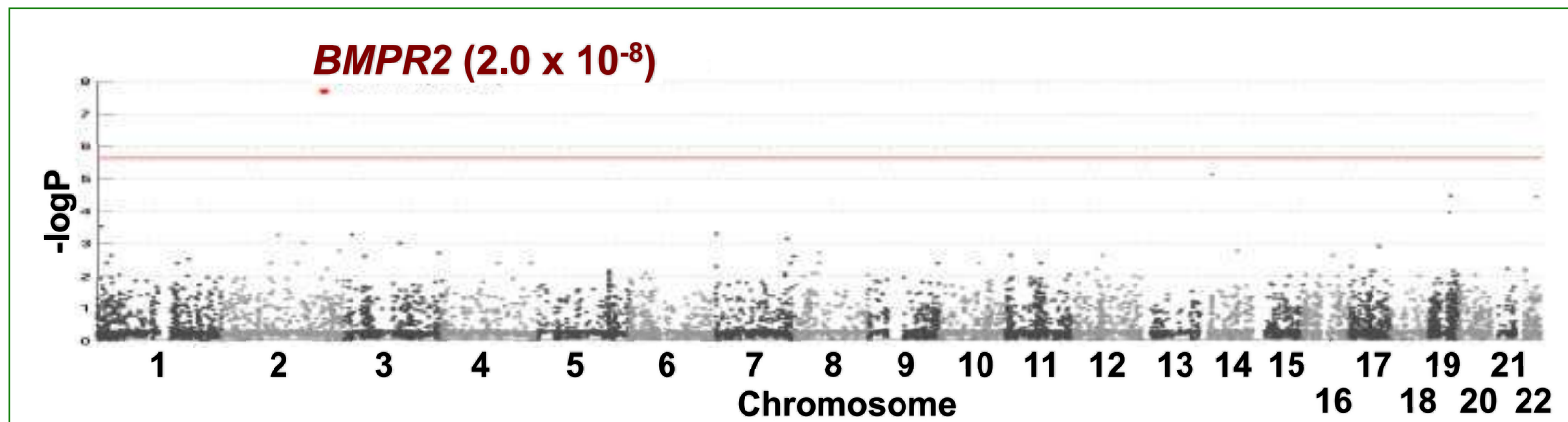
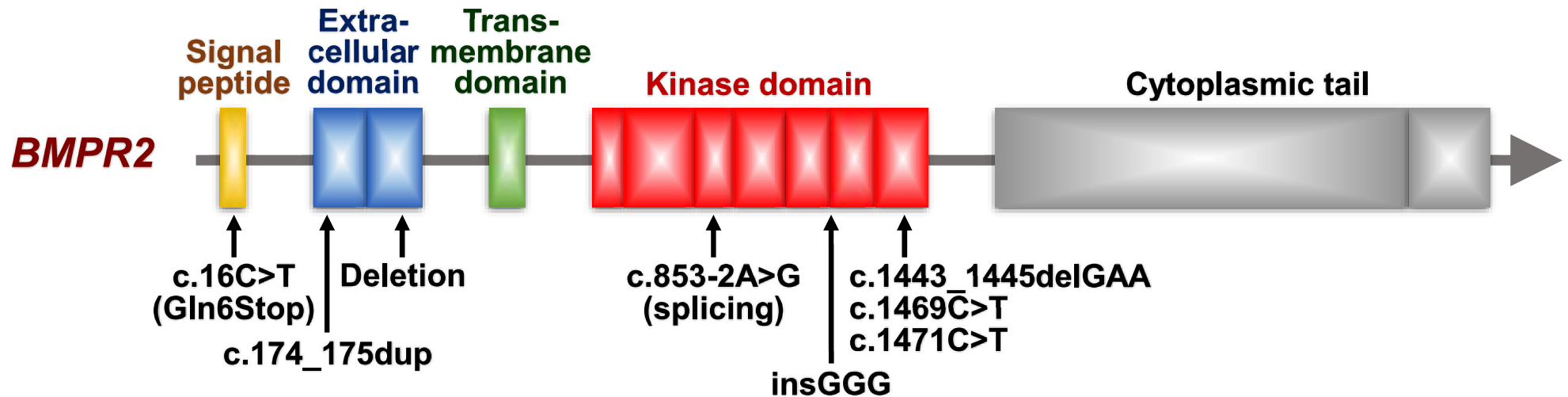


Cummings et al., 2017 Sci. Transl. Med.

遺伝性肺動脈性肺高血圧症の遺伝子関連解析

患者9例、対照群300例による遺伝子単位の関連解析で *BMPR2* を同定

- Variant Quality Score Recalibration (VQSR) に加えて、擬陽性を回避する10のフィルターを使用
- 遺伝子ベースの解析 (Variant Association Tools, Gao *et al.*, *AJHG.*, 2014)
Variable threshold test (Neale *et al.*, *PLOS genet.*, 2011)



診断・解析実績

家族性Galloway-Mowat症候群

家族性IgA腎症

家族性アルポート症候群

家族性ゴーシェ病

家族性リンパ脈筋腫症

家族性間質性腎炎

家族性巣状糸球体硬化症

家族性多発性嚢胞腎

家族性肺高血圧症

家族性肺静脈閉塞症

家族性肺線維症

家族性肺動脈狭窄症

家族性肥大型心筋症

家族性滲出性硝子体網膜症

錐体ジストロフィー・遅視症

網膜色素変性症・アッシャー症候群

家族性強度近視

加齢黄斑変性症

もやもや病

家族性ミオクローヌスてんかん

家族性骨形成不全