



TITLE:

EYS is a major gene involved in retinitis pigmentosa in Japan: Genetic landscapes revealed by stepwise genetic screening.(
Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Numa, Shogo

CITATION:

Numa, Shogo. EYS is a major gene involved in retinitis pigmentosa in Japan: Genetic landscapes revealed by stepwise genetic screening.. 京都大学, 2021, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2021-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23098>

RIGHT:

京都大学	博士 (医学)	氏 名	沼 尚吾
論文題目	<p><i>EYS</i> is a major gene involved in retinitis pigmentosa in Japan: Genetic landscapes revealed by stepwise genetic screening <i>(EYS)</i>は日本における網膜色素変性の主たる原因遺伝子である：多段階的な遺伝子スクリーニングにより明らかとなった日本人網膜色素変性患者の遺伝的背景)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>網膜色素変性(Retinitis pigmentosa (RP))は世界のあらゆる国と地域において最も多く見られる遺伝性網膜疾患であり、先進国においては重度視機能障害や失明の主要な原因である。RP は臨床的にも遺伝的にも患者間での差異が大きな疾患であり、およそ 100 の原因遺伝子がこれまでに同定され、毎年新たな原因遺伝子や原因変異が同定されている。</p> <p>これまでは有効な治療法が無かった疾患であるが、昨今の研究により世界の様々な地域や人種における RP の原因遺伝子の多様性とその組み合わせが明らかになってきたことが遺伝子治療開発を進める上での礎となり、現在、実際にいくつかの遺伝子治療の臨床試験が進められている。こうした背景を踏まえると、各地域や人種における RP の原因遺伝子や原因変異をさらに特定すること(=遺伝子診断をつけること)は、今後よりいっそう重要になってくると言える。</p> <p>次世代シーケンサー(Next-generation sequencing (NGS)) は患者の血液サンプルから短時間で正確に変異を検出することを可能にし、遺伝子診断に大きく貢献している。しかし一方で、NGS の導入によって無数に検出されたバリエーションそれぞれの病原性判定の困難という新たな問題も生じている。昨今では「米国遺伝医学とゲノム学会(American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG))」が作成した病原性判定に関するガイドライン(ACMG guideline)がこの問題を解決する基準として用いられるようになってきた。しかし、本邦における RP 患者の遺伝子診断率は、2014 年の大石らの報告では 36.6%、2018 年の小柳らの報告では 29.6%であるが、これらの既報においては先の ACMG guideline が用いられていない。</p> <p>こうした背景と、既報において日本人 RP 患者では <i>EYS</i> が主たる原因遺伝子であることを踏まえて、本論文では日本人 RP 患者 220 名を対象として、ACMG guideline を適用し、<i>EYS</i> に特に重点を置いた多段階的な遺伝子スクリーニング(1段階目：日本人 RP 患者における創始者変異である <i>EYS</i> 遺伝子内の 2 変異のみを Sanger 法で検索→2段階目：(1段階目で未診断患者のみを対象として)<i>EYS</i> 遺伝子内の全エクソンを target NGS にて検索→3段階目：(2段階目で未診断患者のみを対象として)全ゲノム解析にて検索→4段階目：追加検索として、最近日本人 RP 患者において高頻度に検出されることが判明した <i>RPI</i> 第 4 exon への <i>Alu</i> 配列挿入を Sanger 法で検索 という多段階手順をおこなった。</p> <p>解析対象となった 220 名の RP 患者のうち、1,2,3,4 段階目でそれぞれ 8,41,44,5 名、合わせて 98 名(44.5%)の患者で原因変異を確定することができた。原因遺伝子で最多のものは <i>EYS</i> であり 50 名(遺伝子診断がついた患者の 51.0%)を占め、次いで <i>USH2A</i> (7 名), <i>RPGR</i> (7 名), <i>RPI</i> (7 名), <i>PDE6A</i> (6 名), <i>CNGA1</i> (5 名)の順であった。また、遺伝子診断が未確定であった 122 名中、22 名の患者が ACMG guideline にて「意義不明の変異(Variant of Uncertain Significance (VUS))」と判定されるバリエーションを含めると、遺伝子診断がつくことが分かった。これらの症例の中には、その表現型が当該遺伝子の既報の表現型と類似した症例も確認され、VUS と判定される変異の中に真の原因変異が存在している可能性が示唆された。</p>			

本研究により、日本人網膜色素変性患者の遺伝子診断において、*EYS* を優先して検索を行う多段階的遺伝子スクリーニング、及び ACMG guideline を用いた病原性判定が有効に機能することが確認された。

(論文審査の結果の要旨)

重度視機能障害の主要原因である網膜色素変性(RP)は、多数の原因遺伝子を有する遺伝性網膜疾患である。昨今、遺伝子治療が台頭しつつあり、各患者に対し原因変異を特定する臨床的意義が大きくなった。

遺伝子診断において次世代シーケンサー(NGS)により検出されたバリエーションの病原性判定問題に対し、「米国臨床遺伝・ゲノム学会(ACMG)」が作成したガイドライン(ACMG guideline)が判定基準として用いられている。しかし、本邦からの RP に対する遺伝子診断既報においては用いられていない。

こうした背景と、日本人 RP 患者では *EYS* が主たる原因遺伝子であることを踏まえて、日本人 RP 患者 220 名を対象として、ACMG guideline を適用し、*EYS* に重点を置いた多段階的遺伝子スクリーニング(1 段階目：創始者変異である *EYS* 遺伝子内の 2 変異を Sanger 法で検索→2 段階目：*EYS* 内の全エクソンを target NGS にて検索→3 段階目：全ゲノム解析にて検索→4 段階目：日本人 RP 患者において高頻度に検出される *RPI* exon4 への *Alu* 配列挿入を Sanger 法で検索)をおこなった。

220 名のうち、98 名(44.5%)で原因変異を確定できた。原因遺伝子で最多のものは *EYS* であり 50 名を占めていた。また、遺伝子診断が未確定であった 122 名中、22 名が ACMG guideline にて「臨床意義不明の変異(VUS)」と判定されるバリエーションを含めると、遺伝子診断がつくことが分かった。

以上の研究は日本人における網膜色素変性の原因遺伝子変異の解明に貢献し、将来の遺伝性網膜疾患の遺伝子診断率改善に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 3 月 4 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降