

総説 (教授就任記念講演)

ゲノム技術の進歩とゲノム医療

森野豊之

徳島大学大学院医歯薬学研究部遺伝情報医学分野

(令和5年11月1日受付) (令和5年11月13日受理)

はじめに

ゲノム関連技術は近年革新的な進歩を遂げた。多様なゲノム解析技術が開発され大量のゲノム情報が蓄積されていくとともに、ゲノム編集によってゲノム情報を任意に改変できる時代になってきた。これらの技術革新が医学・医療に与える影響は多大であり、診断だけでなく病態解明や治療にまで幅広く活用されている。本稿では、これらのゲノム技術の変遷を振り返りつつ、これまでに行った研究の成果と今後のゲノム医療の発展について概説する。

1. ゲノム技術の進歩

1) ゲノム解析技術の飛躍的進歩

1953年にDNAの二重螺旋構造が解明され、生命において遺伝情報が伝達される分子機構の解明が本格的に始まった¹⁾。1977年にはDNAの塩基配列決定法として、サンガー法とマクサム-ギルバート法が開発されゲノム情報を解読することが可能となった^{2,3)}。1983年にはPCR法が開発されたことで微量のDNAを大量に増やすことができるようになり、ゲノム解析がさらに加速した。1993年にはサンガー法を応用し、蛍光色素とキャピラリーを用いた新たなシステムであるキャピラリーシーケンサが登場し、より簡便にゲノム解析を行うことができるようになった。1990年から始まったヒトゲノムプロジェクトは、予定よりも早く進行し、2000年にはヒトゲノムのドラフト版、2003年には完成版が公開された⁴⁾。

2) 次世代シーケンサの登場

ヒトゲノムの参照配列が決定されたことによりゲノム解析技術はさらに飛躍的な進歩を遂げる。つまり、大量に解読した配列をヒトゲノム参照配列にマッピングする

ことで、きわめてハイスループットのシーケンサが登場する契機になった。これらのシーケンサがいわゆる次世代シーケンサであり、最初のシステムは2005年に発表された454 Life SciencesのGS20である。その後も、2006年に現在はIlluminaに買収されたSolexaのGenome Analyzerが発売され、その原理は今に至るまでゲノム解析の基盤技術として用いられ続けている。次世代シーケンサの登場とともに時間あたりの解読塩基数が指数関数的に増加しただけでなく、ゲノム解析にかかるコストも劇的に少なくなり、現在ではヒト1人あたりのシーケンスコストは約1,000ドルまで下がっている。

3) SNPなどのゲノム情報の応用

ヒトゲノムの参照配列が決定されたことのもう1つの恩恵は、ヒトの多様性を規定している一塩基置換 (SNP) に関する情報が膨大に蓄積されたことである。SNPは集団間の遺伝的背景の違いを説明するために用いられるだけでなく、希少疾患や生活習慣病などのありふれた病気に対する遺伝的要因を調べるために欠かせないツールになっている。さらに、これを応用した技術としてmultiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) 法やSNPアレイなどが開発され、シーケンスでは同定できなかったさまざまな遺伝子異常を検出することが可能になった。

これらの技術的進歩に支えられて、われわれはその時々最新の技術を応用していくつかの遺伝性疾患の原因遺伝子を同定した。さらに、得られた原因遺伝子の機能解析を通じて疾患の病態機序を解明する研究にも取り組んでいる。

2. 神経変性疾患の新規原因遺伝子同定

1) ゲノムコホートの構築

神経変性疾患には遺伝性のものが多いが、実際に原因遺伝子の同定に至るためには多くのゲノムサンプルが必要になる。これまでに、国内外の多くの医療機関から検体を送っていただき、大規模なゲノムコホートを構築することができた。サンプルサイズは、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) が900例、脊髄小脳変性症 (SCD) が4,000例、パーキンソン病が750例、ジストニアが2,000例で、その他にも多くの希少疾患が収集されている。これらの貴重なサンプルを送ってくださった先生方および研究に協力してくださった患者およびご家族の方々にこの場を借りて深謝したい。

2) 遺伝形式に合わせた解析方法

最初に、これまで「優性」と「劣性」と言われていた遺伝形式は、遺伝子に優劣があるとの誤解が生じるおそれがあるため、現在はそれぞれ「顕性」と「潜性」に改められた。以下、本稿ではこれらの用語を用いる。

ゲノム解析手法は時代とともに変化していくだけでなく、遺伝形式によっても多く変わる。顕性遺伝では従来からマイクロサテライトを用いた連鎖解析が用いられていた。それを補完するものとして、われわれは homozygosity haplotyping (HH) 法という解析方法の

開発に関わり⁵⁻⁷⁾、このツールがこれまでの研究において原因遺伝子の同定に少なからず寄与している。また、実際のゲノム配列の変化は次世代シーケンサの登場によりきわめて効率的に解析できるようになった。ホモ接合性潜性遺伝の場合には、homozygosity fingerprinting (HF) 法が非常に強力⁸⁾、少ない家系数からでも原因遺伝子にたどり着くことができた。複合ヘテロ接合性潜性遺伝の場合には、HH 法や HF 法は適用できないが、遺伝形式を推測することさえできれば次世代シーケンサにより解析したゲノムデータをもとに、少ない症例数からでもバイオインフォマティクスを駆使して原因遺伝子の同定に至ることができる可能性は少なくない。これらの方法論を用いて、実際にわれわれが同定した原因遺伝子について以下に述べる。

3) ホモ接合性潜性遺伝

ホモ接合性潜性遺伝については、血族結婚を有する ALS 患者を 5 家系 6 症例解析し、原因遺伝子である *OPTN* を同定した⁹⁾。この原因遺伝子は ALS12 としてデータベースに登録されている。この研究には HF 法がきわめて有用で、最初の段階で原因遺伝子座をわずか 2.5 Mbp の狭い領域にまで落とし込むことができた (図 1)。ここに存在する遺伝子の数は 17 個で、この時代にはまだ次世代シーケンサは利用できなかったため、キャピラリーシーケンサにより原因遺伝子の同定に至った。

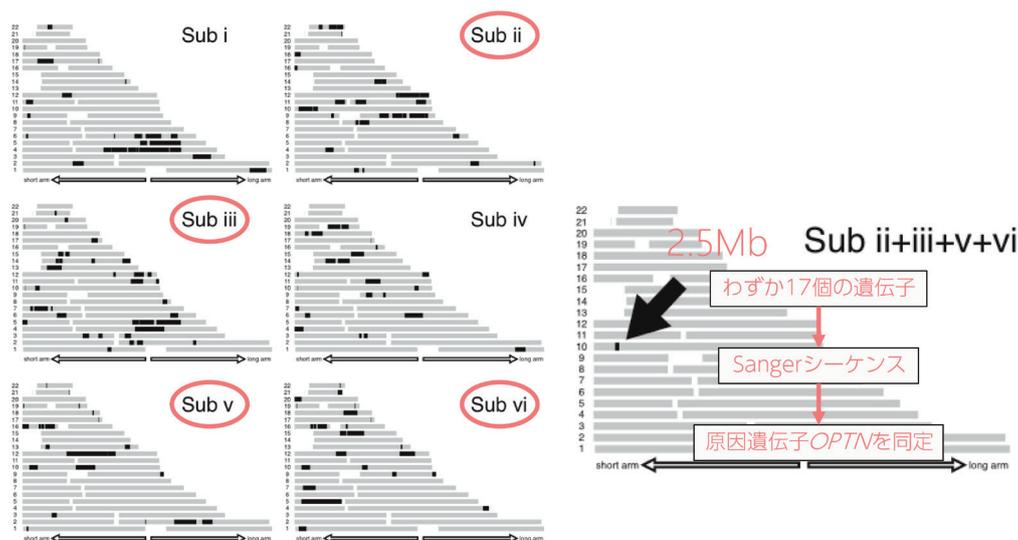


図 1. ALS 患者 5 家系 6 症例の HF 解析

ALS 患者の 5 家系 6 症例を用いて行った HF 解析の結果。4 症例で共通する遺伝子領域を認め、そこに存在する 17 個の遺伝子から原因遺伝子の *OPTN* を同定した。

OPTN はオートファジーに関わる重要な分子で、その後の ALS の病態解明にも大きな影響を及ぼした。われわれが作製した *OPTN* ノックアウトマウスでは脊髄運動神経の減少と異常なオートファジー小胞の増加が示されており、病態の再現性が確認できたとともに、発症メカニズムの解明につながる知見が得られた (図2)¹⁰⁾。

4) 顕性遺伝

顕性遺伝の原因遺伝子としては、脊髄小脳変性症42型 (SCA42) の原因遺伝子である *CACNA1G* と中年期に発症する SCD の原因遺伝子である *HSD17B4*, *ALS28*

として登録されている遺伝性 ALS の原因遺伝子である *LRP12* を同定した¹¹⁻¹³⁾。いずれも潜性遺伝に比べると大きなサンプルサイズを必要とするが、効率良く原因遺伝子にたどり着くために HH 法が有用であった。

SCA42の原因遺伝子である *CACNA1G* は T 型カルシウムチャネルをコードしており、変異によりチャネルの電位依存性が変化することを明らかにした (図3)。さらに、この電位依存性の変化に対して、カルシウムチャネルに作用することが分かっているゾニサミドを投与すると、実験的にこの異常が改善できることも明らかにで

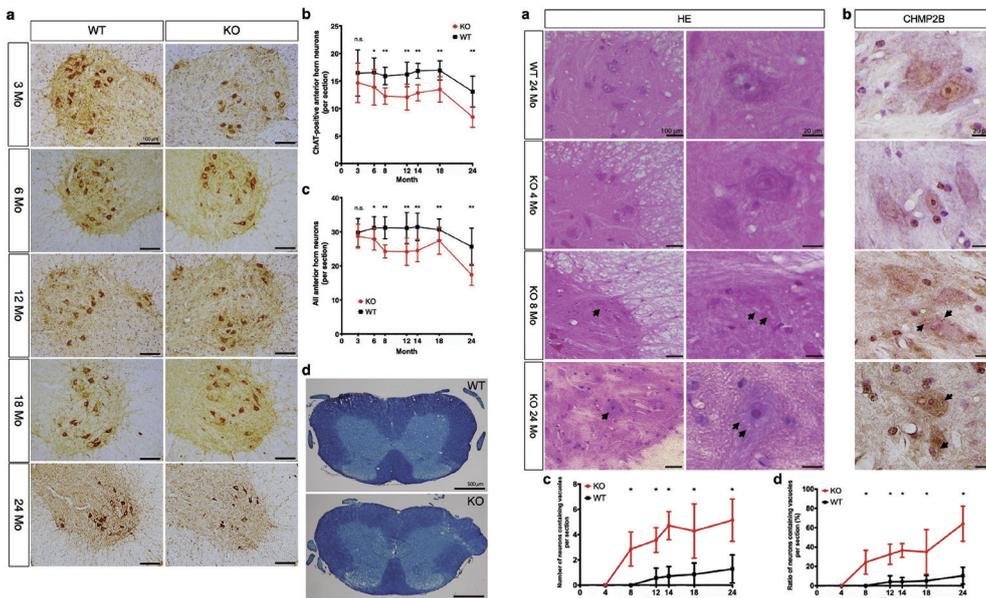


図2. *OPTN* ノックアウトマウスを用いた病態解析
 a. 脊髄前角の運動神経が経時的に有意に減少した。
 b. ノックアウトマウスでは異常なオートファジー小胞が増加した。

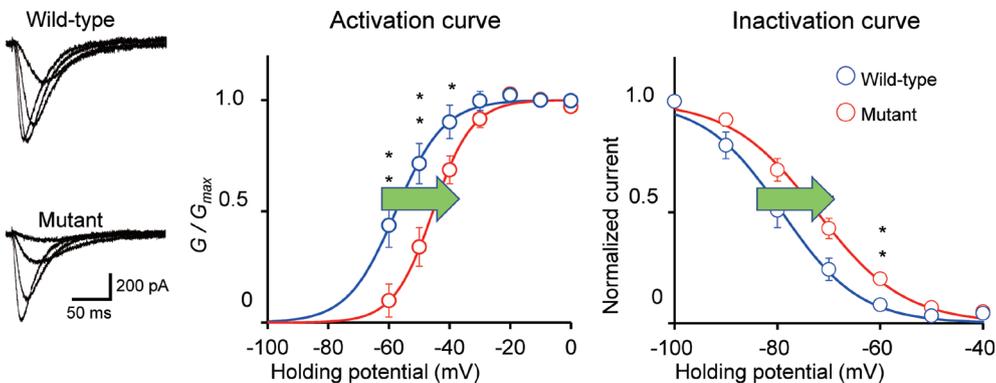


図3. *CACNA1G* 変異による電位依存性の変化
 変異型 *CACNA1G* では活性化および不活性化の電位依存性曲線が陽性方向に偏位する。

きた。このことは、将来的なSCDの治療にもつながる重要な知見である。

また、われわれが同定したもう1つのALSの原因遺伝子である*LRP12*は脂質代謝に関連するタンパク質をコードしている。*LRP12*遺伝子にはCGGリピート配列が含まれており、これが100回より多く異常伸長すると眼咽頭遠位型ミオパチーを発症することが知られていたが、リピートの異常伸長が61~100回の範囲だとALSになることを新たに明らかにした。この知見は、ALSがリピートの異常伸長によって起こることをさらに裏付け、リピートの伸び方によって表現型が変わりうることを示す重要なものである。前述した*OPTN*を含め、ALSの病態を形成するさまざまな分子動態が明らかにされつつあり、今後ALSの病態修飾薬の開発に向けてさらなる研究の発展が期待される。

5) 複合ヘテロ接合性潜性遺伝

複合ヘテロ接合性潜性遺伝の原因遺伝子としてPerrault症候群(PRLTS5)を引き起こす*TWNK*を同定した¹⁴⁾。複合ヘテロ接合性潜性遺伝は、両親が異なる病的バリエーションを有し、その両方が子に伝わる場合のみ発症する遺伝形式である。同祖の病的バリエーションではないので通常血族結婚は認めず、子の世代に複数の発症者がいたときにこの遺伝形式を強く疑う契機となる。われわれは、感音性難聴と原発性無月経、失調症状を認めるPerrault症候群の姉妹例に対して遺伝学的解析を行った。バイオインフォマティクスにより病的バリエーション

の候補を絞り込んだ上で、1つの遺伝子に複数の病的バリエーションが検出されているものを選別すると最終的に*TWNK*のみが残った。1家系だけではなかなか信憑性が得られないため、この結果を国際学会で発表したところ、ワシントン大学でも同様の遺伝子異常を見出していることが分かり、国際共同研究として論文発表することができた。Perrault症候群では他にもいくつかの原因遺伝子が同定されているが、その多くはミトコンドリアの機能に関連しており、本症におけるミトコンドリア異常の重要性がさらに高まる結果が得られた。

6) その他

これまでに既に報告した上記の原因遺伝子以外にも、パーキンソン病やSCD、ジストニアといった神経変性疾患の新規原因遺伝子を同定しており、現在機能解析を進めているところである。また、神経疾患以外にも、歯科との共同研究で侵襲性菌周炎の原因遺伝子の同定にも至っており、他分野とも積極的な連携を行っている。

3. 遺伝病の対象疾患の拡大

1) 広義の遺伝病とゲノム情報の統合的利活用

従来は主として単一遺伝子疾患が遺伝病として扱われてきたが、膨大なゲノム情報の蓄積に伴って、生活習慣病を含むほとんどの疾患で程度の差こそあれ遺伝的要因が関与していることが明らかになってきた(図4)。現在では、これらの多因子遺伝性疾患を含めて広義の遺伝

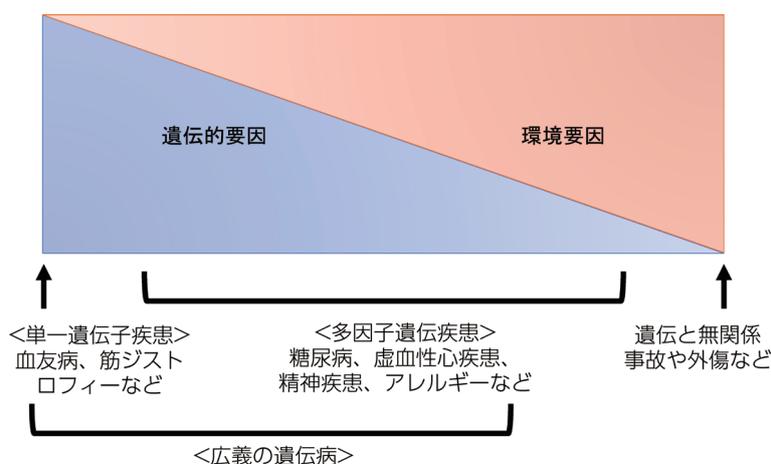


図4. 遺伝的要因と環境要因

一部の疾患を除いて程度の違いはあっても遺伝的要因が発症に関与する。現在では多因子遺伝疾患を含めて広義の遺伝病と捉えられるようになってきた。

病を対象として遺伝学的な研究がさかんに行われている。多因子遺伝性疾患を解析するツールとしてゲノムワイド関連解析 (GWAS) は非常に重要である。GWAS catalog (<https://www.ebi.ac.uk/gwas>) には多種多様な形質と関連した遺伝子座の情報が集積されており、現在もさらに情報が蓄積され続けている。近年、多因子遺伝性疾患における遺伝的要因を定量化する試みとして、polygenic risk score が研究されるようになってきた。現在の精度ではパーキンソン病を含む神経変性疾患においてもまだ発症を的確に予測するとははいかないものの、今後サンプル数が増加し、集団による遺伝的多様性も加味することによって、実用的なレベルに達すると期待されている。各種臨床データとゲノム情報の関連付けも進んでおり、Human Phenotype Ontology (<https://hpo.jax.org/>) ではゲノム情報に基づいた表現型の体系化が行われている。これらの統合データをもとに、今後ゲノム情報が遺伝学だけでなく、一般の臨床の場でも活用される時代が来ると考えられている。近い将来、この領域では、ゲノム情報を含むさまざまな基礎研究の成果と臨床情報が深層学習を含む AI 技術によって統合され (multi-modal AI)、飛躍的に進展していく可能性を秘めている。

4. ゲノム医療と徳島の現状

1) ゲノム医療とは

ゲノム情報に基づいた医療はゲノム医療といわれ、希少疾患の診断のみならず、新たな治療法の開発やより副作用が少なく効果の高い薬剤の選択、ひいては個人の体質に合わせた生活習慣のアドバイスなど幅広く臨床に活用されることが期待されている。欧米においては、既にゲノム情報が実際の臨床の現場で積極的に利用されており、COVID-19パンデミックにおいても非常に大きく貢献した。日本においては、研究レベルで未診断疾患イニシアティブ (IRUD) というプロジェクトが進められているが、実臨床で十分に活用されているとはいえない。日本におけるゲノム医療を普及するため、政府も本格的に取り組み始めており、本年6月16日にはいわゆる「ゲノム医療法」が新たに公布・施行された。この法律では、ゲノム情報が国民の健康に資することを目的とするだけでなく、ゲノム情報に基づく差別や不利益の排除についても明記されている。国を挙げた全ゲノムシーケンスの利活用も進められており、がんや難病の領域で研究班が

組織され臨床応用に向けた基礎的なデータが収集されつつある。これらのゲノム情報の有用性も少しずつ示されてきており、新生児を対象としたゲノム解析で診断だけでなく治療にも十分活用できるというデータが出ている。

2) 徳島県の現状

徳島大学病院では、1999年10月に他に先駆けて国のモデル事業として遺伝相談室が開設され、さまざまなゲノム関連の研修施設として認定されるなど、全国的にもいち早くゲノム医療に取り組んできた。2022年12月には従来の臨床遺伝診療部がゲノム医療センターに改組され、遺伝カウンセリング部門/ゲノム解析部門/データ管理部門の3部門体制になった (図5)。今後も院内・院外の各組織との連携を進めていく必要がある。ゲノム医療センターの役割としては、臨床と研究、教育の3つに貢献する必要がある (図6)。臨床面では、これまでに行ってきた遺伝カウンセリングを提供するとともに、遺伝学的検査や遺伝子治療、積極的な臨床研究 (治験) への関与を進めていく。研究に関しては、最新のゲノム技術を駆使した基礎研究を幅広い分野と診療科横断的に行っていく。また、教育に関しては、今後大幅に需要が拡大することが予想される臨床遺伝専門医や認定遺伝カウンセラーといった遺伝専門職の育成に尽力していかなければならない。これらの体制を整備しつつ、ゲノム医療がより一般的になるであろう将来の医療に対応できる組織の構築を目指している。

おわりに

これまでの研究を通じて、さまざまな遺伝性疾患の原因遺伝子を同定し、その病態解明に寄与してきた。引き続き、ゲノム医療というより大きな枠組みで、研究ならびに臨床に幅広く貢献できるような成果を上げていきたい。ゲノム医療がさまざまな領域で発展していくであろうことは想像に難くない。きたるべきパーソナルゲノム時代の到来に備えて、もっと身近で分かりやすい医療を提供するとともに、ゲノム情報を起点としたより病態の核心に迫ることができる研究を通じて、難病やがんといった根治療法が希求されている疾患に対する革新的な治療戦略の確立に携わっていきたいと考えている。

文 献

1) WATSON, J. D., CRICK, F. H.: The structure of

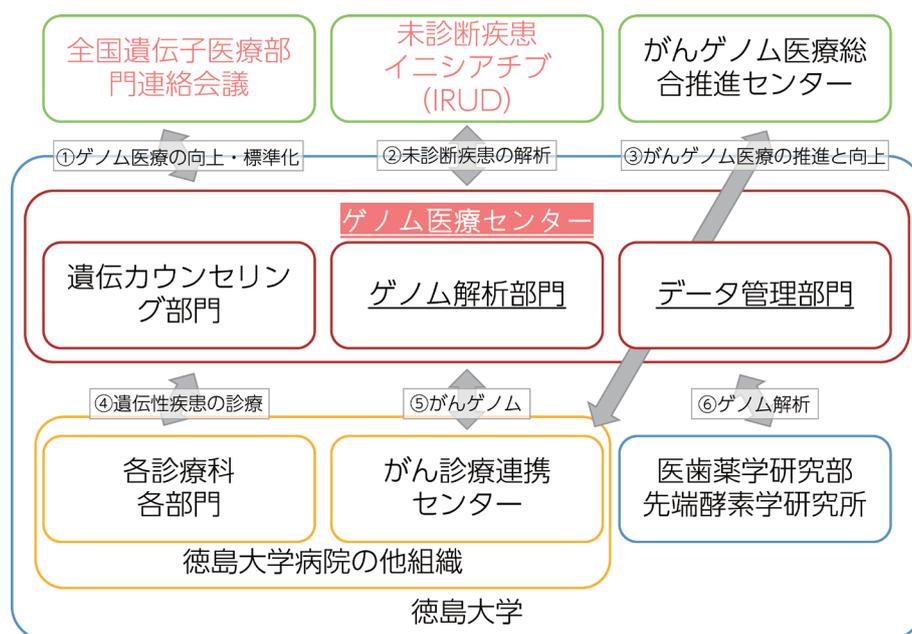


図5. ゲノム医療センターの体制
遺伝カウンセリング部門/ゲノム解析部門/データ管理部門の3部門からなり、院内・院外の各組織との連携を進めている。

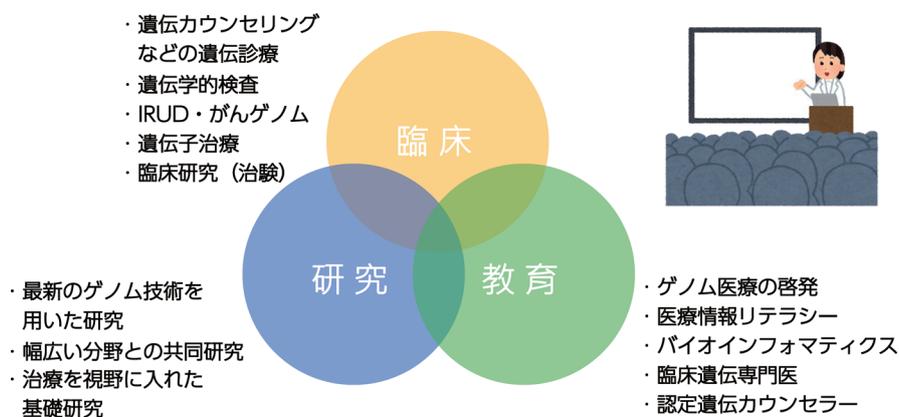


図6. ゲノム医療センターの役割
ゲノム情報に基づいて医療の機能集約をはかり、臨床・研究・教育のシナジー効果を高め、診療科横断的な医学・医療体制を構築する。

- DNA. Cold Spring Harb Symp Quant Biol., 18 : 123-31, 1953
- 2) Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A. R.: DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci U S A., 74(12) : 5463-7, 1977 Dec
 - 3) Maxam, A. M., Gilbert, W.: A new method for sequencing DNA. Proc Natl Acad Sci U S A., 74(2) : 560-4, 1977 Feb
 - 4) Lander, E. S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., *et al.*: Initial sequencing and analysis of the human genome. Nature., 409(6822) : 860-921, 2001 Feb 15
 - 5) Miyazawa, H., Kato, M., Awata, T., Kohda, M., *et al.*: Homozygosity haplotype allows a genomewide search for the autosomal segments shared among

- patients. *Am J Hum Genet.*, **80**(6) : 1090-102, 2007 Jun
- 6) Huqun, Fukuyama, S., Morino, H., Miyazawa, H., *et al.*: A quantitatively-modeled homozygosity mapping algorithm, qHomozygosityMapping, utilizing whole genome single nucleotide polymorphism genotyping data. *BMC Bioinformatics.*, **11** Suppl 7(Suppl 7) : S5, 2010 Oct 15
- 7) Hagiwara, K., Morino, H., Shiihara, J., Tanaka, T., *et al.*: Homozygosity mapping on homozygosity haplotype analysis to detect recessive disease-causing genes from a small number of unrelated, outbred patients. *PLoS One.*, **6**(9) : e25059, 2011
- 8) Ishihara, Y., Hagiwara, K., Zen, K., Huqun, *et al.*: A case of pulmonary alveolar microlithiasis with an intragenetic deletion in SLC34A2 detected by a genome-wide SNP study. *Thorax.*, **64**(4) : 365-7, 2009 Apr
- 9) Maruyama, H., Morino, H., Ito, H., Izumi, Y., *et al.*: Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature.*, **465**(7295) : 223-6, 2010 May 13
- 10) Kurashige, T., Kuramochi, M., Ohsawa, R., Yamashita, Y., *et al.*: Optineurin defects cause TDP43-pathology with autophagic vacuolar formation. *Neurobiol Dis.*, **148** : 105215, 2021 Jan
- 11) Morino, H., Matsuda, Y., Muguruma, K., Miyamoto, R., *et al.*: A mutation in the low voltage-gated calcium channel CACNA1G alters the physiological properties of the channel, causing spinocerebellar ataxia. *Mol Brain.*, **8** : 89, 2015 Dec 29
- 12) Matsuda, Y., Morino, H., Miyamoto, R., Kurashige, T., *et al.*: Biallelic mutation of HSD17B4 induces middle age-onset spinocerebellar ataxia. *Neurol Genet.*, **6**(1) : e396, 2020 Jan 16
- 13) Kume, K., Kurashige, T., Muguruma, K., Morino, H., *et al.*: CGG repeat expansion in LRP12 in amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hum Genet.*, **110**(7) : 1086-1097, 2023 Jul 6
- 14) Morino, H., Pierce, S. B., Matsuda, Y., Walsh, T., *et al.*: Mutations in Twinkle primase-helicase cause Perrault syndrome with neurologic features. *Neurology.*, **83**(22) : 2054-61, 2014 Nov 25

Advance of genomic technology and clinical genomics

Hiroyuki Morino

Department of Medical Genetics, Tokushima University Graduate School of Biomedical Sciences, Tokushima, Japan

SUMMARY

In recent years, genome technology has made dramatic progress. Genome analysis technology began with the development of the Sanger method, and the advent of next-generation sequencers has made it possible to obtain vast amounts of genome information very rapidly. We have always explored for the causative genes of genetic diseases by the latest technologies. Identification of causative genes requires a large number of genome samples. To date, we have accumulated a huge number of genome samples, including 900 for amyotrophic lateral sclerosis (ALS), 4,000 for spinocerebellar degeneration (SCD), 750 for Parkinson's disease, and 2,000 for dystonia. In order to efficiently identify the causative genes, we have also developed a genetic analysis method using single nucleotide polymorphisms. Utilizing these techniques, we have identified several causative genes as follows : OPTN and LRP12, causing ALS ; CACNA1G and HSD17B4, causing SCD ; and TWNK, causing Perrault syndrome. Furthermore, we have contributed to the elucidation of pathogenesis through functional analysis of these causative genes.

Clinical genomics is a medical field that provides services based on genome information. Clinical genomics is expected to be used not only for the diagnosis of rare diseases, but also for the development of new treatment methods, the selection of better therapeutic drugs, and lifestyle advice tailored to the individual's constitution. In addition, genomic research is being actively conducted not only on conventional monogenetic diseases, but also on polygenic diseases. The demand for clinical genomics is likely to increase further in the future. Tokushima University Hospital was one of the first hospitals in Japan to engage in clinical genomics, and in December 2022, the Department of Clinical Genetics was renamed the Clinical Genomics Center. We will continue to expand the functions of the Clinical Genomics Center in preparation for the coming era of personal genome.

Key words : genome technology, causative gene, bioinformatics, clinical genomics, personal genome