

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：32713

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2016

課題番号：25860258

研究課題名(和文)大規模ゲノム解析による染色体構造異常解析

研究課題名(英文)Landscape of chromosomes and disease with advanced genomic analysis

研究代表者

右田 王介(MIGITA, Ohsuke)

聖マリアンナ医科大学・医学部・講師

研究者番号：20425721

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトのゲノム遺伝情報はダイナミックに変化する。新しい大規模ゲノム解析技術は、ゲノム全体での網羅的な染色体構造解析を行うことができる。本研究では、妊娠分娩にあきらかな異常をみとめず世代を超えて維持保存される染色体構造異常、とくにコピー数変化(CNV)を詳細に収集した。このような正常CNVデータの収集は、より精密に大規模に検討することで、疾患を引き起こす重要な領域を特定する基盤となる。さらにCNV断端解析はCNVによる疾患の発生病序の理解に役立つ。本研究で得られた染色体構造異常の解析データはゲノム医学の臨床応用と基礎的研究の双方に貢献した。

研究成果の概要(英文)：The human genome is a complex, dynamic information system. The high throughput new technologies are rapidly evolving, and providing the genome-wide comprehensive chromosome structure information. In this study, we analyzed individuals without obvious abnormality in pregnancy and their new born, and revealed in detail the chromosomal structural variants, especially the copy number change (CNV). Therefore, those chromosomal changes could be maintained and preserved beyond generations. Collecting such benign CNV data becomes the basis for identifying important areas causing disease and disorders in the perinatal period. Furthermore, the CNV analysis helps to understand the mechanism of development diseases with chromosomal abnormalities. Analysis data of chromosomal structural abnormality obtained in this study contributed to both clinical application and basic research of genomic medicine.

研究分野：遺伝医学

キーワード：ゲノム マイクロアレイ 次世代シーケンサー 遺伝医療 臨床遺伝

1. 研究開始当初の背景

ヒトゲノムは、固定された不動の存在ではなく、常にダイナミックな変化を遂げる存在である。個人や集団間の違いは、少数の塩基が変化する配列の違いよりも、数や位置の変化である構造変異は以前に考えられてきたよりもはるかに高頻度で存在し、さまざまな疾患と関連することもあきらかになっている。

しかし、古典的な解析手法である染色体分染などの細胞遺伝学的解析や、サンガー法といった分子生物学的な配列解析技術は、検出できる構造変異のサイズなどに制約があった。新しい解析法である SNP アレイや CGH アレイなどのマイクロ・アレイ解析、次世代シーケンサー (NGS) による大規模なヒトゲノム解析技術は個々の解析情報は注目したゲノム断片のみについての評価しかできず、断片的な情報であるがゆえに原理的な解析限界があった。情報科学や統計解析技術を用いるバイオインフォマティクス解析手法によって断片化された網羅的解析データを統合して評価を加え、これら大規模ゲノム解析技術進展を染色体構造変異解析に応用できるようになった。従来より精密な検討と量的異常による疾患の発生やその影響を理解することが期待されていた。

しかし、これらのハイスループット配列解析技術によるデータの解析法には検討課題が多かった。標準データの整備は必ずしも十分でなく、とくに、臨床遺伝学的な問題としては、このような解析技術では膨大な領域を検討できる対照とする正常データの公開は不十分であった。さらにすでに存在した『正常データ』は、臨床的異常のないとされた集団の「異常」の範囲は明確ではなく、妊孕性あるいは適応度に影響の度合いが不明であった。こうした問題から個々の症例の解析結果解釈に苦慮することは稀ではない状況は現在に至るまで続いている。

2. 研究の目的

従来の遺伝学的手法では解析は困難であった欠失や重複といった染色体構造変化を新しい大規模遺伝解析技術であるマイクロ・アレイ解析と NGS を駆使した解析スキームの構築をめざした。このような解析結果によって、染色体異常の断端を検討し、その成因と疾患での機序の検討をめざす。

さらに、大規模遺伝子解析技術の新しい解析スキームのうえで、ヒト集団に世代を超えて維持されている『正常』な多型としてのゲノム構造異常を同定し、染色体構造多形マップを作成する。このようなデータは、染色体異常に伴う疾患を理解し将来の治療やリスク評価につながる知見となる。

3. 研究の方法

マイクロ・アレイおよび NGS さらに、研究期間中にあらたに開発された技術 (分子コー

ド解析技術など) と染色体分染法、サンガー法によるシーケンスなどを組み合わせ、染色体構造異常の解析をおこなった。解析の実施には、バイオインフォマティクス技術として、このような古典的解析技術と大規模ゲノム解析技術から得られるデータとを統合した構造変異解析を行うパイプラインを開発する。

本研究では、主な対象として明らかな合併症がなく、妊孕性異常を伴わない成人を用いた。これにより、病的な異常のない、さらに集団で世代を超えて維持される構造変化を抽出することを目指した。また、日本人集団のゲノム構造変異の多型性とその特徴を明らかにする、全ゲノムにわたる構造変異の位置とその頻度の情報をまとめた。

得られた知見をもとに、疾患に関連した構造異常の抽出を目的に臨床サンプルでの染色体異常の検討を行った。

4. 研究成果

本研究では、染色体構造解析の全ゲノム網羅的な解析を多数実施した。特に明らかな合併症を有せず妊孕性異常を伴わない成人について 400 例を超えるデータ蓄積を行い染色体構造変化の抽出を行った。このようなバイオリソースを用いた類似の研究は存在していない。この成果は、広く疾患研究に利用可能であるのみならず、特に生殖発生異常解析の対照データとなる標準配列データとして基盤的な知見を提供できた。全ゲノムを網羅的に解析し日本人集団のゲノム構造変異の多型性とその特徴を明らかにしており、構造変異の位置とその頻度の情報をまとめたゲノム構造変異マップを作成した。このような得られた知見は論文などで発表し公開している。さらにデータベースとしての公開も準備中である。

これまでの CNV 解析よりも本研究はより精密な検討を行った。本研究の成果をもとに CNV の断端について解析を行い、染色体の部分トリソミーやモノソミーといった量的異常による疾患の発生機序の理解に役立つことが期待できる。

さらに本研究で構築した日本人集団の構造変異データは、周産期・小児領域での研究に貢献するデータセットが得られたものと考えている。対象に特記すべき疾患歴がないというだけではなく、妊娠分娩、あるいは生産児にあきらかな異常をみとめないものとしたアドバンテージがある。本研究で得られた知見を比較データとして使い、小児領域、周産期領域での異常や疾患への応用を行い不育や流産あるいは早発閉経などのサンプルについて、本研究成果を利用した詳細の解析を行った。標準データとしての有用性が示されている。本研究で得られた日本人集団での大規模ゲノム解析による染色体構造異常の解析データはゲノム医療の臨床応用とゲノム遺伝学の基礎的研究の双方に貢献できた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 16 件)

1. 右田王介. 周産期の遺伝子検査. 医療. 70(11): 468-472. 2016. 査読あり
2. 右田王介, 秦健一郎. 周産期における IRUD. 医学のあゆみ. 259(11): 1122-1126. 2016. 査読なし
3. 右田王介, 秦健一郎. 周産期疾患と遺伝子解析・診断. 産科と婦人科. 84(1):43-48. 2016. 査読なし
4. 右田王介, 松井陽, 松原洋一, 秦健一郎. 胆道閉鎖症の遺伝因子の解析 エクソーム解析による遺伝要因の探索. 日本小児外科学会雑誌. 53: 155. 2017. 査読なし
5. Higasa K, Miyake N, Yoshimura J, Okamura K, Niihori T, Saitsu H, Doi K, Shimizu M, Nakabayashi K, Aoki Y, Tsurusaki Y, Morishita S, Kawaguchi T, Migita O, Nakayama K, Nakashima M, Mitsui J, Narahara M, Hayashi K, Funayama R, Yamaguchi D, Ishiura H, Ko WY, Hata K, Nagashima T, Yamada R, Matsubara Y, Umezawa A, Tsuji S, Matsumoto N, Matsuda F. Human genetic variation database, a reference database of genetic variations in the Japanese population. *Journal of Human Genetics* 61(6):547-53. 2016. 査読あり
6. Ozawa N, Sago H, Matsuoka K, Maruyama T, Migita O, Aizu Y, Inazawa J. Cytogenetic analysis of spontaneously discharged products of conception by array-based comparative genomic hybridization. *Springer Plus* 5(1):874. 2016. 査読あり
7. Ito Y, Maehara K, Kaneki E, Matsuoka K, Sugahara N, Miyata T, Kamura H, Yamaguchi Y, Kono A, Nakabayashi K, Migita O, Higashimoto K, Soejima H, Okamoto A, Nakamura H, Kimura T, Wake N, Taniguchi T, Hata K. Novel Nonsense Mutation in the NLRP7 Gene Associated with Recurrent Hydatidiform Mole. *Gynecol Obstet Inves.* 81(4):353-358. 2016. 査読あり
8. Yaoita M, Niihori T, Mizuno S, Okamoto N, Hayashi S, Watanabe A, Yokozawa M, Suzumura H, Nakahara A, Nakano Y, Hokosaki T, Ohmori A, Sawada H, Migita O, Mima A, Lapunzina P, Santos-Simarro F, García-Miñaur S, Ogata T, Kawame H, Kurosawa K, Ohashi H, Inoue S, Matsubara Y, Kure S, Aoki Y. Spectrum of mutations and genotype-phenotype analysis in Noonan syndrome patients with RIT1 mutations. *Human Genetics*. 135(2):209-222. 2016. 査読あり
9. 名古崇史、水主川純、秦ひろか、鈴木季美枝、五十嵐豪、中村真、鈴木直、右田王介. 妊娠 2 5 週に高騰浮腫をきたすも良好な予後を得た遺伝性血管浮腫合併妊娠の例. *日本周産期・新生児医学会雑誌*. 51(4):1299-1303. 2015. 査読あり
10. 右田王介, 秦健一郎. 生殖補助医療がインプリンティング機構に与える影響. *最新医学* 70(5)903-909. 2015 査読なし
11. O. Migita, N. Udagawa, and H. Yamamoto. Wolf-Hirschhorn syndrome and epilepsy: an overview. *Journal of pediatric epilepsy*; 4(1):41-46. 2015. 査読あり
12. Migita O, Maehara K, Kamura H, Miyakoshi K, Tanaka M, Morokuma S, Fukushima K, Shimamoto T, Saito S, Sago H, Nishihama K, Abe K, Nakabayashi K, Umezawa A, Okamura K, Hata K. Compilation of copy number variants identified in phenotypically normal and parous Japanese women. *Journal of Human Genetics*. 59(6):326-331. 2014. 査読あり
13. 右田王介, 中林一彦, 秦健一郎. 【遺伝子検査による早期診断】次世代シーケンサーとは. *周産期医学*. 44(2):173-177. 2014. 査読なし
14. 右田王介, 秦健一郎. 成育医療領域における大規模遺伝子解析. *医学のあゆみ*. 245(5):375-380. 2013. 査読なし
15. 右田王介, 秦健一郎. 産科異常のエピジェネティクス. *遺伝子医学 MOOK*. 25: 184-188. 2013. 査読なし
16. Pang AWC*, Migita O*, MacDonald JR, Feuk L, Scherer SW. *Equally contributing authors. Mechanisms of formation of structural variation in a fully sequenced human genome. *Human Mutation*. 34(2):345-54. 2013. 査読あり

[学会発表](計 21 件)

1. T. Sato, O. Migita, H. Hata, A. Okamoto, K. Hata. Investigation of Novel Genetic Candidates Causing Recurrent Abortions in Japanese Women Using Whole Genome Single Nucleotide Polymorphism Arrays. 69th Annual Congress of the Japan Society of Obstetrics and Gynecology. 2017.4.15. 広島
2. 高橋由妃, 右田王介, 西島千絵, 吉岡伸人, 高江正道, 河村和弘, 鈴木直. 早発卵巣不全症例における染色体異常例の頻度と不妊治療成績に関する後方視的検討. 第 2 回 日本産科婦人科遺伝診療学会 学術講演会. 2016.12.17. 京都
3. O. Migita, N. Shimbashi, S. Igarashi,

- N.Suzuki, K.Hata X-chromosome mutations and deletions in a female with premature ovarian insufficiency. the 2016 American Society of Human Genetics. 2016.10.20. Vancouver, Canada
4. 右田王介. ポンペ病スクリーニングパイロットスタディ. LSD 早期診断ネットワーク会議. 2016.7.9. 東京
 5. O.Migita, A.Matsui, H.Yamamoto, Y.Matsubara, K.Hata. Whole exome sequencing of twins for Biliary Atresia. the 13th international congress of human genetics. 2016.4.4. Kyoto
 6. 小島隆浩, 右田王介, 宮地悠輔, 宮本雄策, 北東功, 小須賀基通, 奥山虎之, 山本 仁. ポンペ病スクリーニングのパイロット事業報告. 小児科学会神奈川県地方会. 2015.11.28. 横浜.
 7. 右田王介, 松井陽, 松原洋一, 秦健一郎. 胆道閉鎖症の遺伝因子の解析. 日本胆道閉鎖症研究会. 2015.11.7. 東京.
 8. 右田王介, 漆山大知, 水野将徳, 小林久志攬上詩織, 升森智香子, 伊東祐順, 曾根田瞬, 水主川純, 麻生健太郎, 北東功, 秦健一郎, 黒木良和, 山本仁. 先天心奇形を伴った 14 トリソミーモザイクの 1 例. JSHG. 2015.10.9 東京.
 9. 右田王介, 松井陽, 山本仁, 松原洋一, 秦健一郎. Exome sequencing to detect rare variants associated with biliary atresia. ASHG. 2015.10.9. Baltimore, USA.
 10. 右田王介. ポンペ病スクリーニングパイロットスタディ ~協力病院の立場から~. LSD 早期診断ネットワーク会議. 2015.7.11. 東京.
 11. 谷垣伸治, 右田王介, 岡村浩司, 秦ひろか, 漆山大知, 佐々木 かりん, 中林 一彦, 左合 治彦, 秦 健一郎. 1017-5 原因不明胎児異常例におけるエクソーム解析の可能性. 日本人類遺伝学会第 59 回大会. 2014.11.20 東京
 12. O. Migita, K. Maehara, K. Nakabayashi, K. Okamura, K. Hata. 611M Copy number variants identified in Japanese women. the 64th annual meeting of the American Society of Human Genetics 2014.10.20 San Diego, USA
 13. 右田王介, 前原佳代子, 嶋本富博, 諸隈誠一, 福嶋恒太郎, 和氣徳夫, 宮越敬, 田中守, 齋藤滋, 左合治彦, 秦健一郎. 日本人正常分娩妊婦集団の遺伝的特徴. 日本産科婦人科学会. 2014.4.18. 東京
 14. 伊藤 由紀, 前原 佳代子, 兼城 英輔, 宮田 知子, 増田 彩子, 右田 王介, 岡本 愛光, 中村 仁美, 木村 正, 和氣 徳夫, 谷口 武, 秦 健一郎. 胎児発育と遺伝子異常 正常二倍体だが反復する胞状奇胎に観察される母由来アレルの DNA メチル化異常と NLRP7 遺伝子変異. 日本産科婦人科学会. 2014.4.18. 東京
 15. 佐々木 かりん, 高田 史男, 右田 王介, 橋本 和法, 松井 英雄, 秦 健一郎. 胎児発育と遺伝子異常 複数ゲノム領域に DNA メチル化異常を認める胎児発育異常症例の遺伝学的病態背景の探索. 日本産科婦人科学会. 2014.4.18. 東京
 16. 秦ひろか, 右田王介, 中林一彦, 嘉村浩美, 森崇英, 田中守, 秦健一郎. 網羅的一塩基多型解析による原因不明流産遺伝学的解析. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.22. 仙台
 17. 佐々木かりん, 右田王介, 中林一彦, ほか. 胎児発育異常症例の網羅的ゲノム・エピゲノム解析. 日本人類遺伝学会第 58 回大会, 2013.11.23. 仙台
 18. 右田王介, 岡村浩司, 前原佳代子, 嘉村浩美, 中林一彦, 秦 健一郎. 日本人正常分娩集団に観察される遺伝的多様性, 日本人類 遺 伝 学 会 第 58 回 大 会, 2013.11.22. 仙台
 19. 秦 ひろか, 右田 王介, 吉岡 伸人, 森 崇英, 鈴木 直, 田中 守, 秦 健一郎. 網羅的一塩基多型情報を利用した原因不明流産絨毛の染色体微細構造異常解析. 日本産科婦人科学会. 2014.4.18. 東京
 20. 右田王介 NGSを利用した周産期疾患の解析. NGS 現場の会 第三回研究会. 2013.9.5. 神戸
 21. 右田王介, 前原佳代子, 嶋本富博, 諸隈誠一, 福嶋恒太郎, 和氣徳夫, 左合治彦, 宮越 敬, 田中 守, 齋藤 滋, 秦 健一郎. 正常分娩妊婦に観察される遺伝的多様性, 第 65 回日本産科婦人科学会学術講演会, 2013.5.10. 札幌
- 〔図書〕(計 1 件)
1. 右田王介, 秦健一郎ほか. エピジェネティクスと病気. メディカルドゥ 288-292. 2013.
6. 研究組織
- (1)研究代表者
- 右田 王介 (Migita, Ohsuke)
- 聖マリアンナ医科大学・医学部・講師
- 研究者番号 : 20425721