

2018-02-24

第3回ミトコンドリア病研究・患者公開フォーラム



遺伝子診断システムの現状

順天堂大学
難病の診断と治療研究センター
センター長 岡崎康司



TOPIC

1 遺伝子とゲノム

2 ミトコンドリア病の遺伝子診断

遺伝子とゲノム

- ゲノム

- “-ome” は “全てのセット” の意味
- 遺伝子 (gene) の全てのセットがゲノム (genome)

Gene + “-ome” = Genome

- タンパク質でいえば, プロテオーム (proteome)

セントラルドグマ

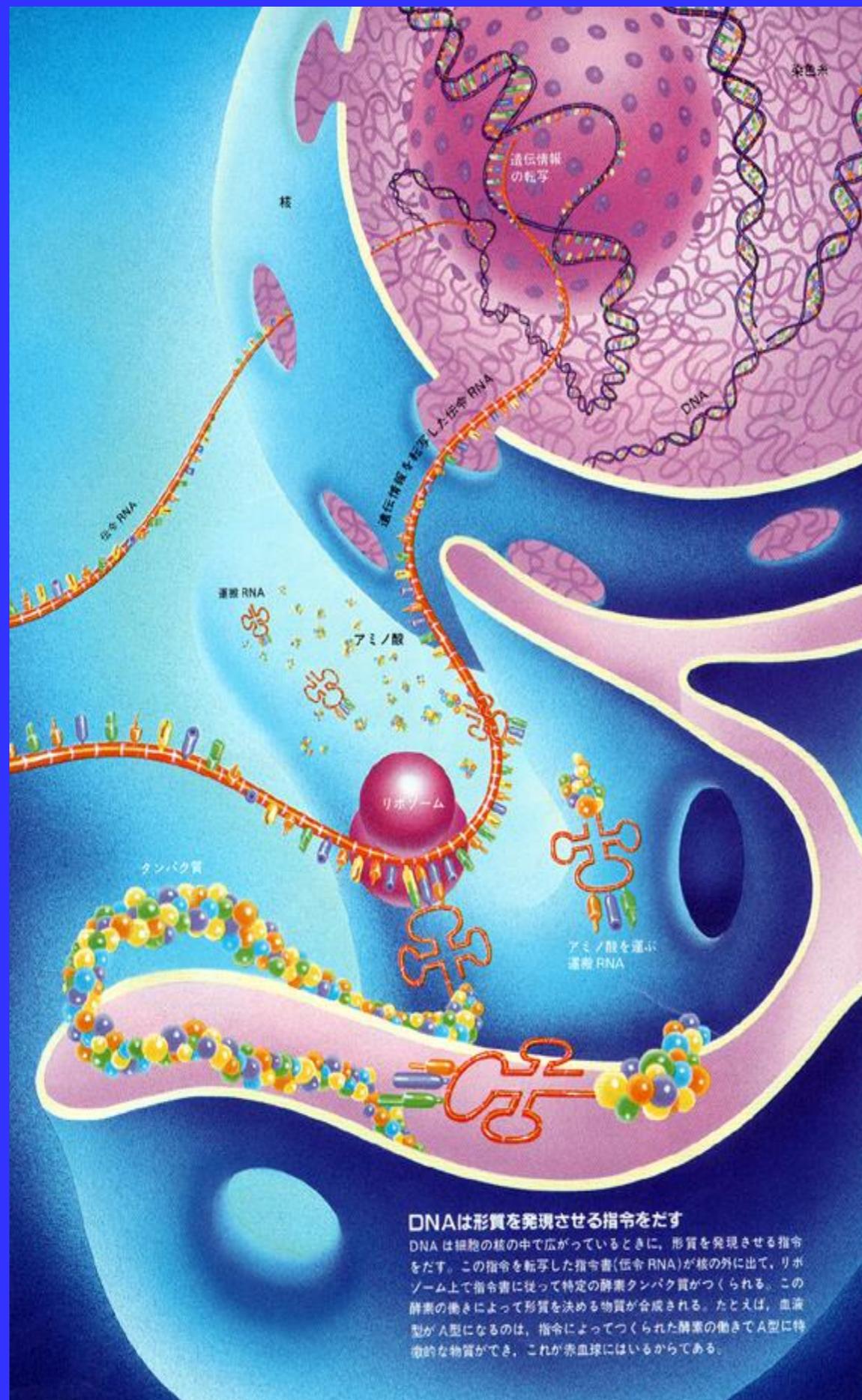
DNA (ゲノム)

転写

mRNA
(遺伝子)

翻訳

タンパク質 (酵素)



高速シーケンサーのシステム構成

サンプル抽出

断片化・サイズ
セレクション

ライブラリー
作製

定量・QC

シーケンス

データ解析



DNA定量装置



DNA断片化装置



ライブラリー作製装置



DNAサイズ測定装置



高速シーケンサー本体



データ解析用PCクラスタ



DNA泳動・分取装置



ライブラリー増幅装置



ライブラリ濃度測定装置



データ受取用サーバー



ライブラリ濃度測定装置

Diagnostic Odyssey (Patient 0)

診断が見つからない患者に対してゲノム解析から解き明かすアプローチが広まっている



Regions | U.S. Politics | Money | Entertainment | Tech | Sport | Travel | Style | Features | Video

International Edition + 🔍 menu ☰

Kids who don't cry: New genetic disorder discovered

By Jacque Wilson, CNN

🕒 Updated 1853 GMT (0253 HKT) March 20, 2014

"We've probably seen over 100 doctors"
Matt Wilsey

<http://edition.cnn.com/2014/03/20/health/ngly1-genetic-disorder/>



- *NGLY1* encodes N-Glycanase1.
- *NGLY1* deficiency causes developmental delays, liver disease.
- Kids with the disorder are usually unable to produce tears.

2013年に報告された *NGLY1* deficiency は原因不明であった希少疾患患者のゲノム解析により原因遺伝子が判明した。また別の患者がやはりゲノム解析を受けており、結果を父親がブログに書いていたため、その後2人目の患者として出会うことになった。

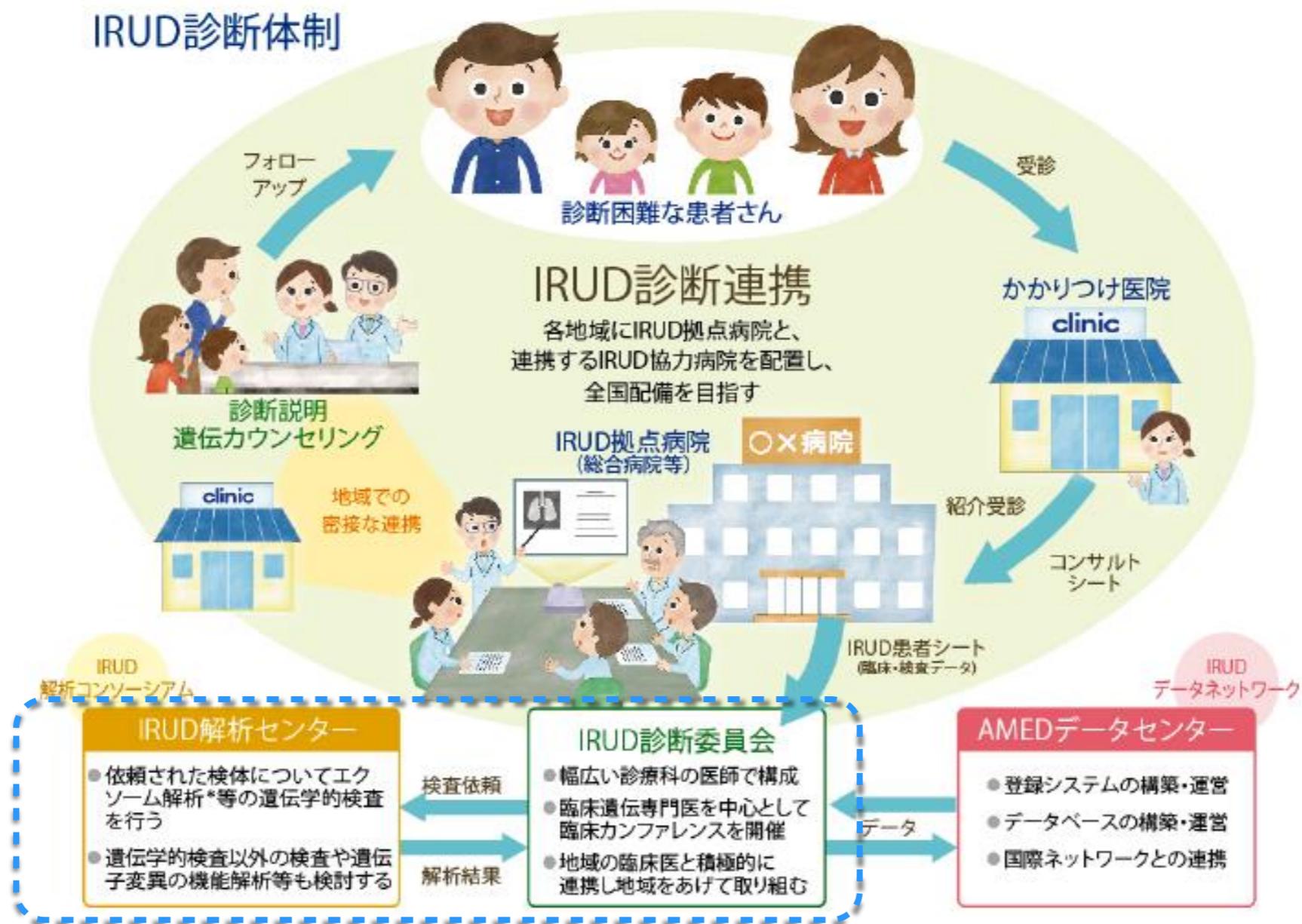
Grace Wilsey was born with *NGLY1* deficiency, which is caused by two mutations in the *NGLY1* gene.

未診断疾患イニシアチブ (希少疾患)

IRUD: Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases

診断の確定や、原因遺伝子を明確にすることは患者さんに治療方法をお届けする最初の一步

"かかりつけ医と IRUD拠点病院の医師が連携し、希少疾患に詳しい専門家の知見や最先端の遺伝子解析等を用いた検査結果を総合して診断の確定を目指します"



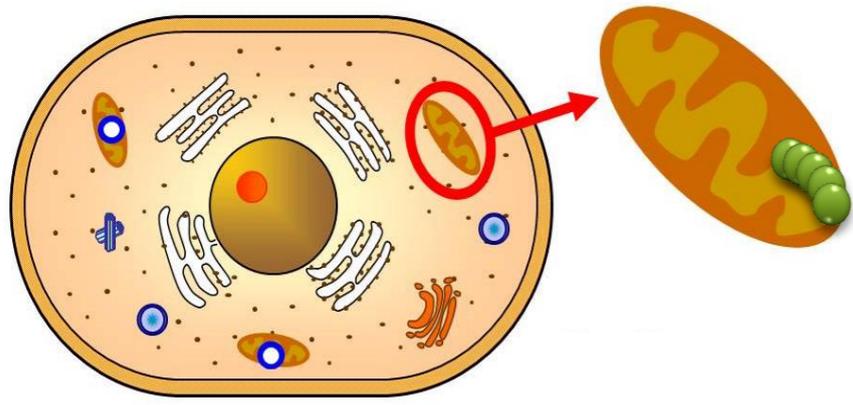
疾患のゲノム解析から得られる知見を臨床から得られる表現型と重ねあわせた議論をするために、
遺伝学・ゲノムインフォマティクス・臨床のエキスパートで構成される

TOPIC

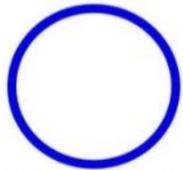
1 遺伝子とゲノム

2 ミトコンドリア病の遺伝子診断

ミトコンドリア病の大部分は母系遺伝ではない！

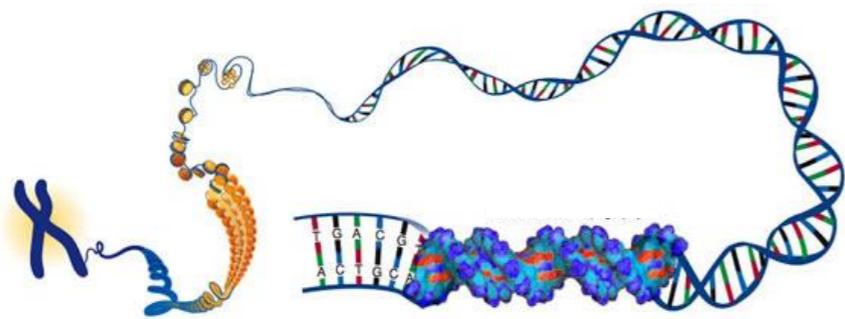


mtDNA



環状二重らせん

ミトコンドリア遺伝子
37個



核遺伝子
約1,500個 / 20,000個

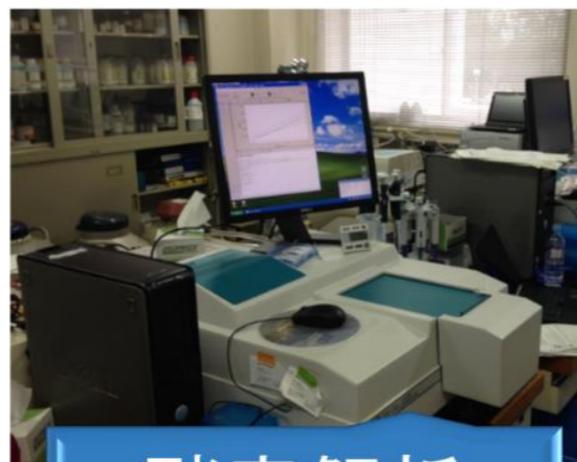
- ・ミトコンドリア病は先天代謝疾患の中で一番多い (1/5000出生)

- ・ミトコンドリア病の大部分 (70%以上) は、両親由来の遺伝子異常によっておこる。

- ・母系遺伝によっておこるものは15-30%

迅速な診断システムの構築

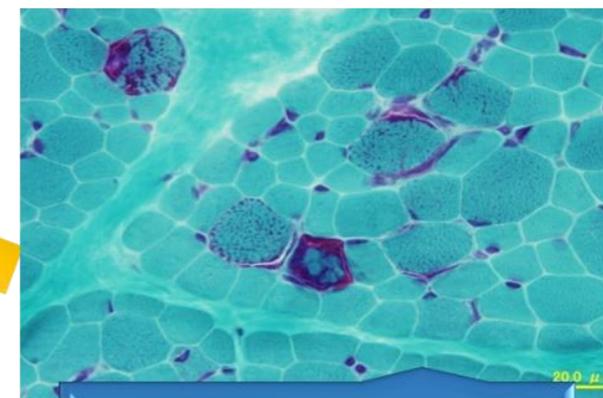
千葉県こども病院



酵素解析

国立精神・神経センター

特殊診断の連携
迅速な診断



病理診断

新たな診断機器の導入

遺伝子診断パネル作成
パネルに載せる新規遺伝子の同定

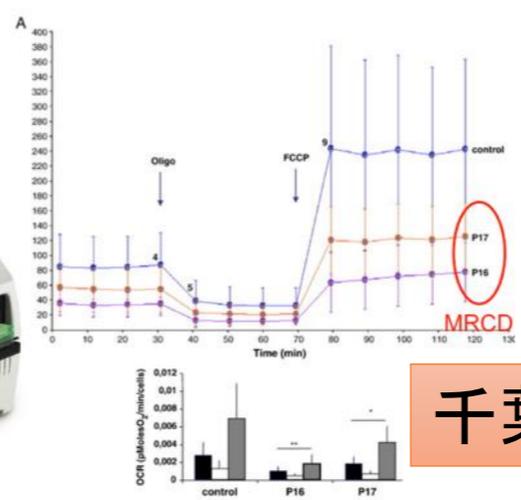
順天堂大学
難病の診断と治療研究センター



遺伝子解析

・新規遺伝子の発見 (*GTPBP3*, *CoQ4*, *ECHS1*, *QRSL1*, *SAMC* ……………)

埼玉医大



千葉県こども病院

新しい遺伝子診断システムの導入



順天堂大学
難病の診断と治療研究センター



遺伝子診断

- 遺伝子診断パネル
 - 40-50%の診断率
 - 既知遺伝子の異常を調べる
- 全エクソームシーケンス/全ゲノムシーケンス
 - 診断率を上げるためには、新規の遺伝子の同定が必要(臨床研究)
 - 機能解析実験が必要(レスキュー、モデル生物)
 - 患者データの集積(同じ遺伝子に異常をもち、同じ症状を呈する患者)

新規病因遺伝子の同定および病態解明のストラテジー

日本全国から寄せられたミトコンドリア病疑い例
約1900例



生化学診断を基盤としたミトコンドリア病の
確定診断
約620例



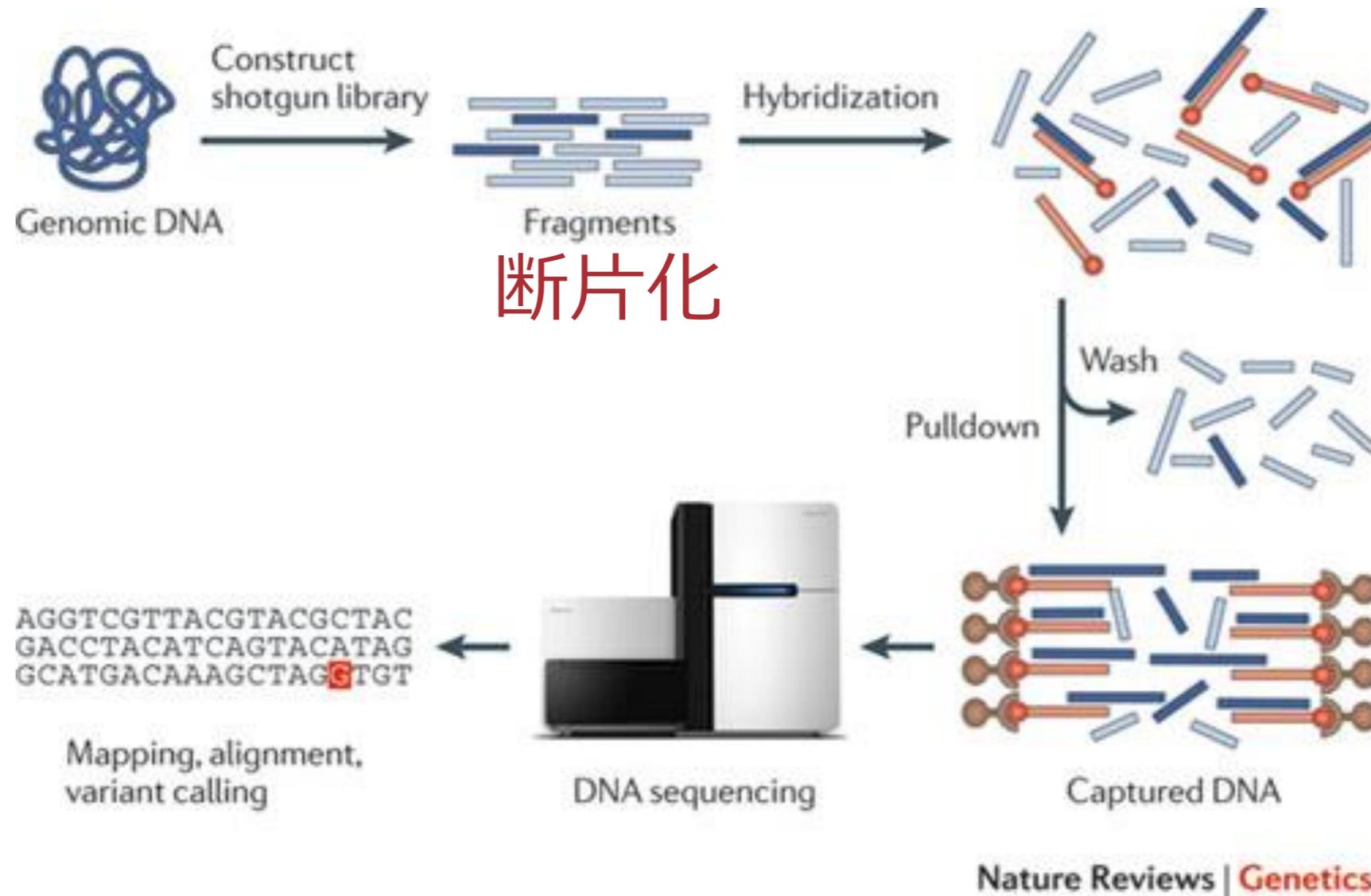
全エクソーム (WES)
対象: 全遺伝子
443例(今年度109例)

遺伝子診断パネル
対象: 核遺伝子x251&ミトコンドリアゲノム
203例(今年度95例)



検証実験:
核遺伝子に対して・・・レスキュー実験、CRISPR/Cas9によるノックアウト
ミトコンドリア遺伝子に対して・・・mitoTALEN、サイブリッド実験
モデル生物による検証(ショウジョウバエ、ゼブラフィッシュ、マウス)

キャプチャーシーケンスの概要

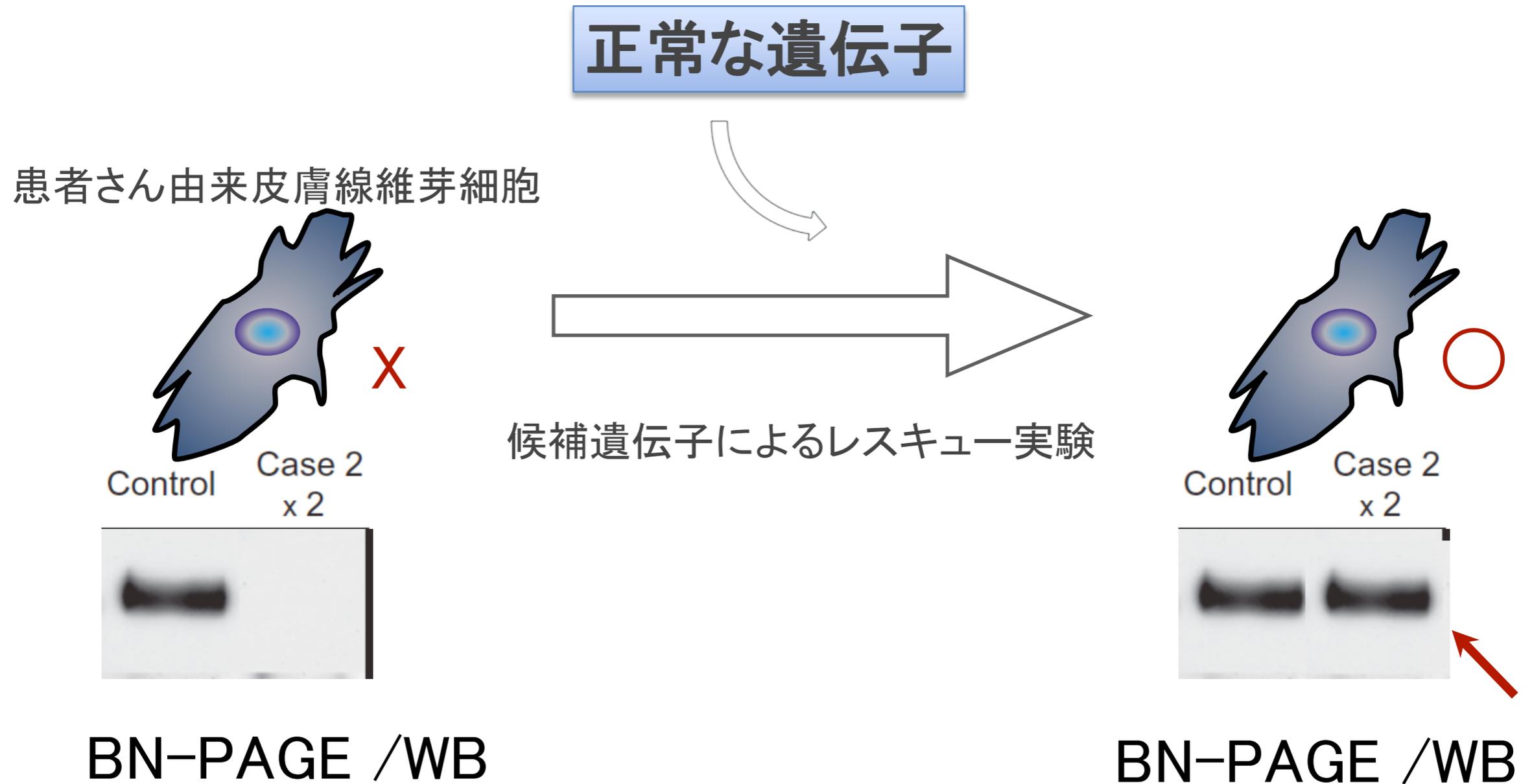


アダプタ付与

キャプチャ

シーケンシング

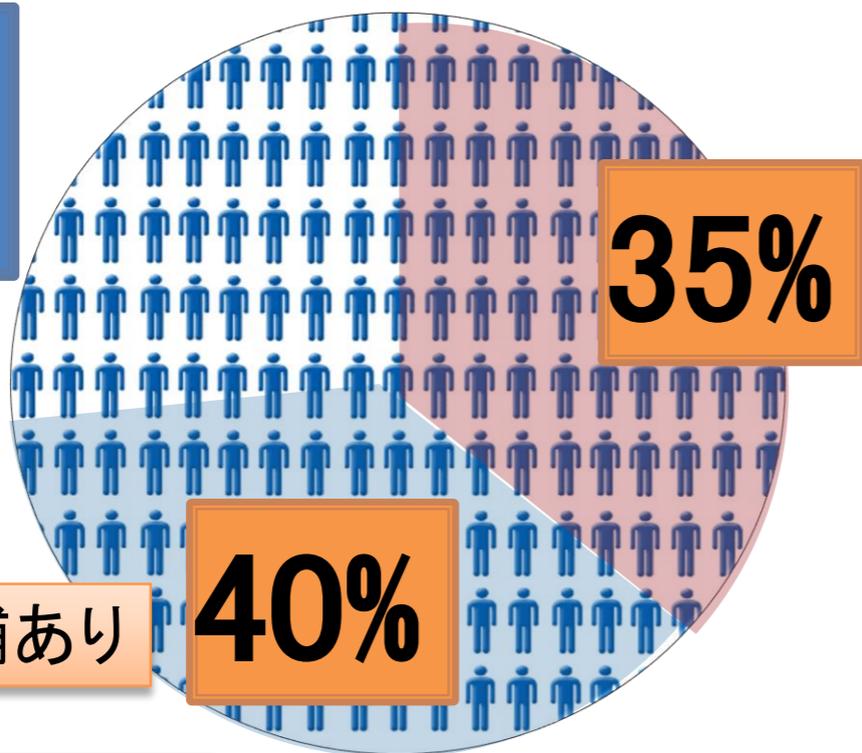
新規原因遺伝子の検証実験(レスキュー)



候補が正しい場合、レスキュー実験により細胞内の
ミトコンドリア呼吸鎖複合体が正常レベルに戻る

日本のミトコンドリア病研究拠点として世界から認識

250症例以上の網羅的ゲノム解析

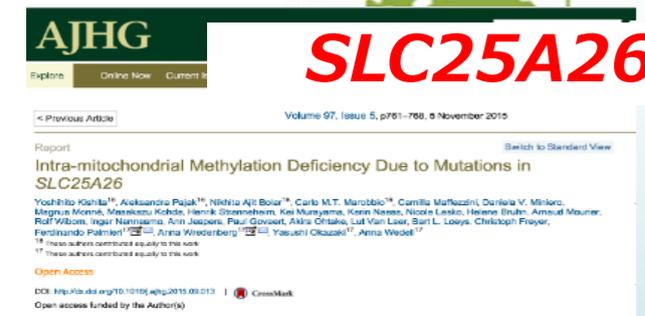
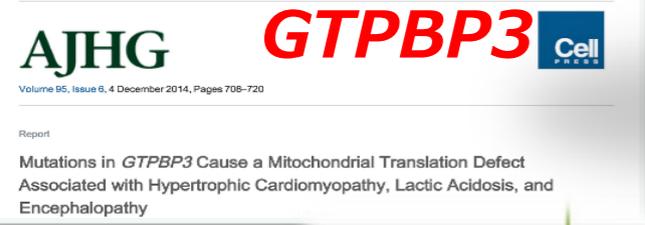


35% で臨床診断確定 (n=142)
40% は、候補遺伝子はあるが未確定

MRPS23, QRSL1, PNPLA4 を含む数多くの新規遺伝子を同定した
微細染色体欠失 がミトコンドリア病の原因となることを明らかにした

PLOS Genet 2016

東北メガバンクのデータが疾患の解析に使われた第一号として共同プレスリリース予定



ECHS1

Ann Clin Transl Neurol. Research Article
Deficiency of ECHS1 causes mitochondrial encephalopathy involvement



京都大学
東北メディカルメガバンク
東京大学
大阪大学
他全国の病院の主治医

日本のミトコンドリア病研究拠点として世界から認識

- Toward an Alliance for Genomics and Health in the Asia-Pacific

Helmholtz Zentrum münchen
German Research Center for Environmental Health



Technische Universität München



UniversitätsKlinikum Heidelberg

Euro. (Germany, Austria)



Euro. (Italy)



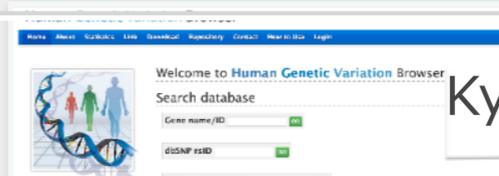
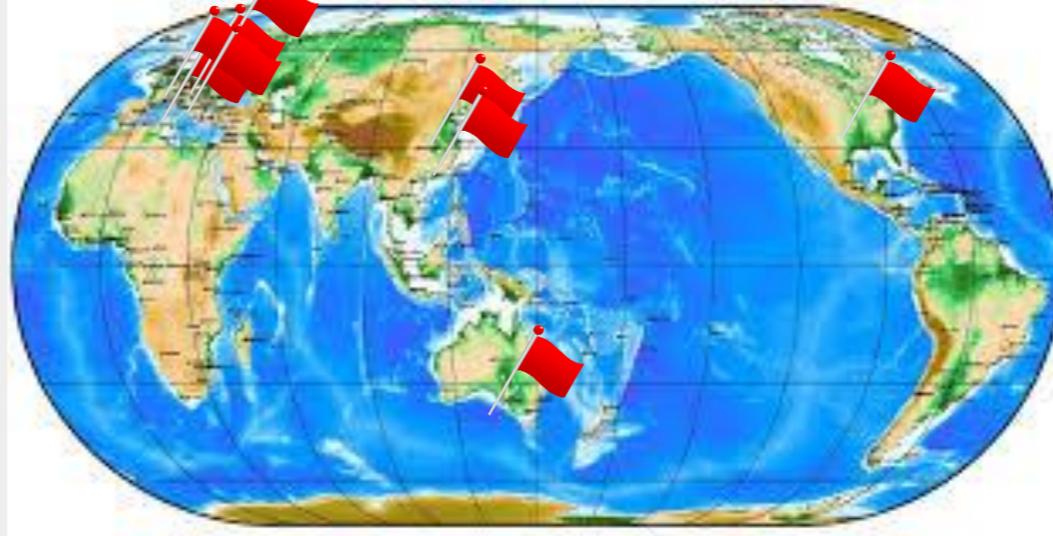
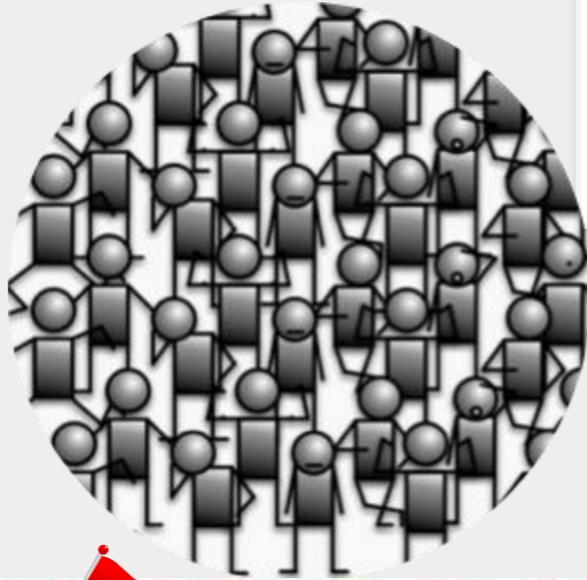
Universiteit Antwerpen



Euro. (Belgium)



Euro. (Sweden)



Kyoto University

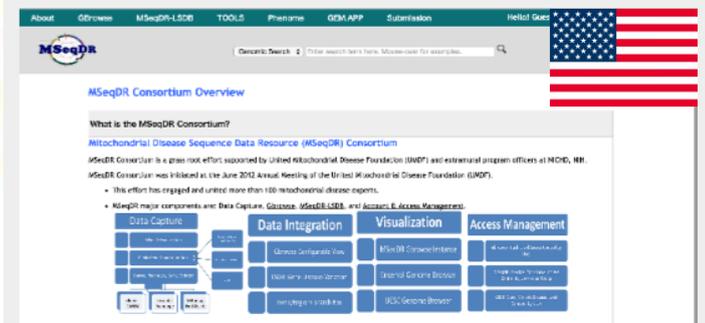


東北メガバンクのデータが疾患の解析に使われた第1号として共同プレスリリース

Kohda et al. PLOS Genet 2016

Tohoku Medical Megabank

Tokyo Metropolitan University
University of Tokyo
Osaka University



USA (CHOP)

AJHG

Volume 95, Issue 6, 4 December 2014

GTPBP3

Mutations in *GTPBP3* Cause a Mitochondrial Defect Associated with Hypertrophic Cardiomyopathy, Encephalopathy

Robert Kopajtich^{1,31}, Thomas J. Nicholls^{2,31}, Joanna Rorbach^{2,31}, Freisinger⁴, Hanna Mandel⁵, Arnaud Vanlander⁶, Daniele Ghezzi⁷, Taylor⁹, Klaus Marquard¹⁰, Kei Murayama¹¹, Thomas Wieland^{1,12}, Johannes A. Mayr¹³, Sarah F. Pearce², Christopher A. Powell², An Invernizzi⁷, Eleonora Lamantea⁷, Ewen W. Sommerville⁹, Angela F. Crushell¹⁷, Yasushi Okazaki^{16,19}, Masakazu Kohda¹⁸, Yoshihito K...

doi:10.1016/j.ajhg.2014.10.017

AJHG

Volume 96, Issue 2

CoQ4

COQ4 Mutations Cause a Broad Spectrum of Deficiency Associated with CoQ₁₀ Deficiency

Gloria Brea-Calvo^{1,20}, Tobias B. Haack^{2,3,20}, Daniela Karall^{4,20}, Rosalba Carrozzo⁷, Laura Kremer^{2,3}, Sabrina Dus⁵, Christine F. Graf^{2,3}, Uwe Ahting^{2,3}, Nicoletta Resta⁹, Nicola Laforgia¹⁰, Dani Masakazu Kohda¹¹, Diego Martinelli¹³, Peter Freisinger¹⁴, Tim M. Costanza Lamperti⁶, Atilano Lacson¹⁵, Placido Navas¹, Johannes Murayama^{17,18,21}, Massimo Zeviani^{19,21}

doi:10.1016/j.ajhg.2014.12.023

ANNALS
of Clinical and Translational Neurology

RESEARCH ARTICLE

ECHS1

Deficiency of *ECHS1* Causes Mitochondrial Dysfunction with Cardiac Involvement

Tobias B. Haack^{1,2,a}, Christopher B. Jackson³, Kei Murayama⁴, Lura Uania Kotzaeridou⁶, Maaikje C. de Vries⁷, Gudrun Schottmann⁸, Thomas Wieland^{1,2}, Elisabeth Graf^{1,2}, Peter Freisinger¹¹, Sandra E. Okazaki^{13,14}, Masakazu Kohda¹³, Yoshihito Kishita¹⁴, Yoshimi Tomemari¹⁶, Anja Kolb-Kokocinski¹⁶, Richard Durbin¹⁶, Oswald Haslbeate Albrecht¹⁹, Dagmar Wiczorek¹⁹, Hartmut Engels¹⁸, Dagmar Charlotte L. Alston²⁰, Robert W. Taylor²⁰, Richard J. Rodenburg⁷, Sperl²², Tim M. Strom^{1,2}, Georg F. Hoffmann⁵, Johannes A. Mayr², Ramona Bolognini¹⁵, Markus Schuelke⁸, Jean-Marc Nuoffer^{3,a}, Steffen Thomas Klopstock^{10,23,24,a}

AJHG

Explore Online Now Current Issue Archive Journal Information For Authors

SLC25A26

Intra-mitochondrial Methylation Deficiency Due to Mutation in *SLC25A26*

Yoshihito Kishita¹⁶, Aleksandra Pajak¹⁶, Nikhita Ajit Boliar¹⁶, Carlo M.T. Marobbio¹⁶, Camilla Maffezzini Magnus Monné, Masakazu Kohda, Henrik Stranneheim, Kei Murayama, Karin Naess, Nicole Lesko, He Rolf Wibom, Inger Nennesmo, Ann Jespers, Paul Govaert, Akira Ohtake, Lut Van Laer, Bart L. Loeyts, Ferdinando Palmieri¹⁷, Anna Wredenberg¹⁷, Yasushi Okazaki¹⁷, Anna Wedell¹⁷

Open Access
DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.09.013
Open access funded by the Author(s)

AJHG

Explore Online Now Current Issue Archive Journal Information For Authors

IARS

Biallelic *IARS* Mutations Cause Growth Retardation Onset, Intellectual Disability, Muscular Hypotonia, and Hepatopathy

Robert Kopajtich¹⁹, Kei Murayama¹⁹, Andreas R. Janecke¹⁹, Tobias B. Haack¹⁹, Maximilian Breu, Toya Ohashi, Yasushi Okazaki, Daisaku Watanabe, Yoshimi Tokuzawa, Urania Kotzaeridou, St. Matthias Carl, Simon Straub, Andreas Entenmann, Elke Gizewski, René G. Feichtinger, Johann Tim M. Strom, Thomas Meitinger, Thomas Müller, Akira Ohtake, Georg F. Hoffmann, Holger Pro...

DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2015.05.027
CrossMark

埼玉医科大学、ミトコンドリア病の新たな原因遺伝子MRPS23、QRSL1、PNPLA4を発見 – 複雑な遺伝的背景の一端を解明

(2016年1月8日)

埼玉医科大学 2016年01月08日

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター(所長：岡崎 康司)・埼玉医科大学病院小児科(大竹 明 教授)・千葉県こども病院(村山 圭 部長)を中心とする共同研究グループは、ミトコンドリアの機能障害を示す患者142例を対象に網羅的なゲノム解析と候補遺伝子の機能解析を行い、ミトコンドリア病の新たな原因遺伝子MRPS23、QRSL1、PNPLA4を発見しました。

【発表のポイント】

- ・ 142例のミトコンドリア病患者に対して網羅的なゲノム解析(ミトコンドリア病研究での網羅的なゲノム解析において世界初)
- ・ ミトコンドリア病の原因となる遺伝子を新たに3つ発見した
- ・ 既知の原因遺伝子において、これまでに報告のない37変異を発見した
- ・ ミトコンドリア病と疑われる患者の中に、他の疾患群が含まれていた
- ・ 東北大学東北メディカル・メガバンク機構・京都大学医学研究センターと連携し、高精度で効率的な遺伝子解析を実現した



東北大学
TOHOKU UNIVERSITY

文字サイズ

お問い合わせ

大学概要

学部・大学院・研究所

教育・学生支援

国際交流

研究・産学連携

社会連携

東北大学で学びたい方へ

社会人・地域の方へ

企業の方へ

同窓生の方へ

[ホーム](#) > [2016年のプレスリリース](#) > [ミトコンドリア病の新たな原因遺伝子MRPS23, ...](#)

2016年 | プレスリリース

ミトコンドリア病の新たな原因遺伝子MRPS23, QRSL1, PNPLA4を発見

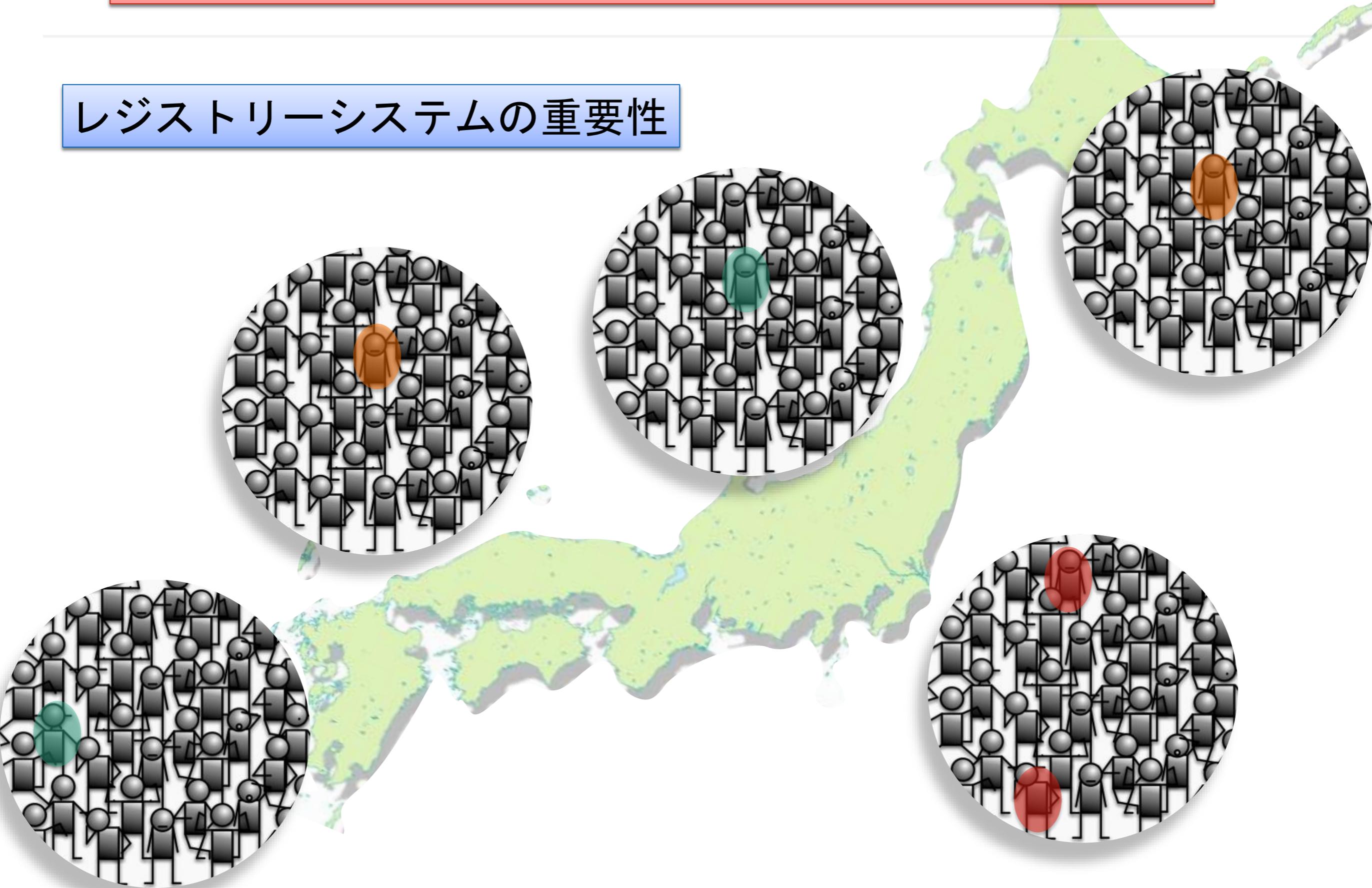
2016年1月 8日 09:00 | [プレスリリース](#), [受賞・成果等](#), [研究成果](#)

本研究は、埼玉医科大学の研究グループの主導のもと、東北大学 東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)などとの共同研究として行われました。

本成果は、ToMMoが構築していた1KJPNを外部研究機関が主体的に用いた研究の最初の顕著な成果であり、疾患研究者の参照対象となり得るとしてきた東北メディカル・メガバンク計画におけるゲノム解析研究に、最も期待されてきた成果の一つと言えます。今後も、多数の疾患研究者と広く協力し、病態の解明や治療に結びつく成果をあげるべく寄与していきます。

新規原因遺伝子の確定のためには同一遺伝子異常を持つ患者さんが、同じ症状を示すかを確認することが重要

レジストリーシステムの重要性



ミトコンドリア病遺伝子パネルの開発(村山班)

既知遺伝子パネル 135 + mtDNA

<i>ABCB7</i>	<i>C10orf2</i>	<i>DARS2</i>	<i>GFM1</i>	<i>MFN2</i>	<i>NDUFA11</i>	<i>NUBPL</i>	<i>QRSL1</i>	<i>SERAC1</i>	<i>SURF1</i>	<i>TTC37</i>
<i>ACAD9</i>	<i>C12orf65</i>	<i>DGUOK</i>	<i>GTPBP3</i>	<i>MPV17</i>	<i>NDUFA2</i>	<i>OPA1</i>	<i>RARS2</i>	<i>SLC22A5</i>	<i>TACO1</i>	<i>TUFM</i>
<i>ACADVL</i>	<i>COQ2</i>	<i>DNAJC19</i>	<i>HADHA</i>	<i>MRPS16</i>	<i>NDUFAF1</i>	<i>PC</i>	<i>RRM2B</i>	<i>SLC25A12</i>	<i>TAZ</i>	<i>TYMP</i>
<i>ADCK3</i>	<i>COQ4</i>	<i>EARS2</i>	<i>HCCS</i>	<i>MRPS22</i>	<i>NDUFAF2</i>	<i>PDHA1</i>	<i>SARS2</i>	<i>SLC25A19</i>	<i>TIMM8A</i>	<i>UQCRB</i>
<i>AFG3L2</i>	<i>COQ9</i>	<i>ECHS1</i>	<i>HSD17B10</i>	<i>MRPS23</i>	<i>NDUFAF3</i>	<i>PDSS1</i>	<i>SCO1</i>	<i>SLC25A20</i>	<i>TK2</i>	<i>UQCRQ</i>
<i>AIFM1</i>	<i>COX10</i>	<i>ETHE1</i>	<i>IARS</i>	<i>MTO1</i>	<i>NDUFAF4</i>	<i>PDSS2</i>	<i>SCO2</i>	<i>SLC25A26</i>	<i>TMEM70</i>	<i>YARS2</i>
<i>ATP5E</i>	<i>COX15</i>	<i>FASTKD2</i>	<i>IARS2</i>	<i>MTPAP</i>	<i>NDUFAF5 (C20orf7)</i>	<i>POLG</i>	<i>SDHA</i>	<i>SLC25A3</i>	<i>TNNI3</i>	
<i>ATPAF2</i>	<i>COX4I2</i>	<i>FAT4</i>	<i>KARS</i>	<i>MYH7</i>	<i>NDUFAF6 (C8orf38)</i>	<i>POLG2</i>	<i>SDHAF1</i>	<i>SPG7</i>	<i>TRMU</i>	
<i>BCS1L</i>	<i>COX6B1</i>	<i>FOXRED1</i>	<i>LRPPRC</i>	<i>NDUFA1</i>	<i>NDUFB11</i>	<i>PRKAG2</i>	<i>SDHAF2</i>	<i>SUCLA2</i>	<i>TSFM</i>	
<i>BOLA3</i>	<i>CPT2</i>	<i>FRDA</i>	<i>MECP2</i>	<i>NDUFA10</i>	<i>NDUFS4</i>	<i>PUS1</i>	<i>SDHB</i>	<i>SUCLG1</i>	<i>TTC19</i>	

海外における原因遺伝子に合わせた補酵素補充療法の取り組み

疾患名	原因遺伝子	治療	治療効果
Brown-Vialetto-Van Laere 症候群/ Fazio-Londe症候群	SLC52A2, SLC52A3, (SLC52A1)a	リボフラビン (経口: 10–50 mg/kg/day)	良好
ビオチン反応性基底核症	SLC19A3	チアミン (経口: 10–20 mg/kg/day), ビオチン (経口: 10–15 mg/kg/day)	良好
ビオチニダーゼ欠損症	BTD	ビオチン (経口: 5–10 mg/kg/day)	良好
ホロカルボキシラーゼ合成酵素欠損症	HLCS	ビオチン (経口: 10–20 mg/kg/day)	不安定だが良好
チアミンピロホスホキナーゼ欠損症	TPK1	チアミン (経口: 20 mg/kg/day)	不安定 (これまで10名以上に投与)
ACAD9欠損症	ACAD9	リボフラビン (経口: 10–20 mg/kg/day)	不安定
マルチプルアシルCoA脱水素酵素欠損症	ETFA, ETFB, ETFDH, SLC25A32, FLAD1	リボフラビン (経口: 10 mg/kg/day)	良好
チアミン反応性ピルビン酸脱水素酵素欠損症	PDHA1	リボフラビン (経口: 30–40 mg/kg/day)	不安定
コエンザイムQ10欠損症	PDSS1, PDSS2, COQ2, COQ4 , COQ6, COQ7, ADCK3, ADCK4, COQ9	コエンザイムQ10 (経口: 10–30 mg/kg/day)	とても不安定 (異常がなにかに依る)
チトクロムc酸化酵素欠損症	SCO2 , COA6	ヒスチジン銅 (投与量不明; 500 mgの皮下注射が提案されている)	不明, SCO2異常症一名のみに投与
モリブデン補助因子欠損症	MOCS1, MOCS2, GPHN	環状ピラノプテリンモノホスファート (静脈注射: 80–320 mg/kg/day)	タイプAのモリブデン補助因子欠損症に対して良好
3-ヒドロキシイソ酪酸-CoA加水分解酵素欠損症	HIBCH	バリン制限食	不明, 数名にのみ投与
エノイルCoAヒドラターゼ欠損症	ECHS1	バリン制限食	不明, 数名にのみ投与
チオレドキシン2欠損症	TXN2	抗酸化療法(例: イデベノン 20 mg/kg/day)	明らかに良好 (患者は一名のみ)
エチルマロン酸脳症	ETHE1	メロニダゾール, N-アセチル-システイン(グルタチオン前駆体), 肝臓移植	不安定

赤字は我々の遺伝子解析でも見つかっている遺伝子異常

DistelmaierらBrain 2017の論文より引用

- ミトコンドリア病の大半は、両親の遺伝子異常によって起こる。
- ご両親と患者のトリオでのシーケンスを行うことが、確定した情報を早く主治医のもとに返却するためには重要。
- ミトコンドリア病は治療困難例が多いが、中には治療が有効な症例もある。これらの症例に対して、早期に遺伝子レベルでの診断を下すことは、治療選択の上でも重要である
- これまでは、24検体が集まってから開始
- 来年度より、8検体でできるようなシステムに移行
- より早く診断をして主治医に情報を返却するシステムを構築中

- ミトコンドリア病の確定診断は難しい場合が多い
 - 遺伝子診断は非常に大きな助けとなる
 - シーケンス技術の発達により、沢山の遺伝子が一度に検査できるようになった
- 問題点
 - 現在の遺伝子検査での診断率は40%程度
 - 出生前診断を行うには、患者さんの原因遺伝子がわかっていることが前提
 - 遺伝子診断パネルで診断が見つからない場合は、全遺伝子解析を行って行く必要がある(現在は臨床研究レベル)

Acknowledgements

Juntendo University

Masakazu Kohda
Okazaki-Atsuko Imai
Yoshihito Kishita
Sze Chern Lim
Nurun Nahar Borna
Tomoko Hirata
Yukiko Yatsuka

Saitama Med. Univ.

Akira Ohtake
Taro Yamazaki
Hiroko Harashima
Megumi Saito
Satomi Suzuki
Yosuke Mizuno

Chiba Children's Hospital

Kei Murayama
Ayako Matsunaga
Masaru Shimura
Takuya Fushimi
Makiko Tajika
Nana Akiyama

Helmholtz Zentrum München

Holger Prokisch

Murdoch Childrens Research Institute

David Thorburn