

東京大学  
九州大学  
理化学研究所  
日本医療研究開発機構

## 長鎖シークエンスにより網膜色素変性の原因遺伝子変異を解明 -新しいゲノム解析技術が遺伝性疾患の原因遺伝子変異の同定に貢献-

### 1. 発表者：

左野 裕介（公立学校共済組合九州中央病院 眼科医員）  
藤本 明洋（東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻国際生物医科学講座 教授）  
秋山 雅人（九州大学大学院医学研究院眼病態イメージング講座 講師）  
園田 康平（九州大学大学院医学研究院眼科学分野 教授）  
桃沢 幸秀（理化学研究所生命医科学研究センター基盤技術開発研究チーム チームリーダー）

### 2. 発表のポイント：

- ◆日本の中途失明原因第二位である網膜色素変性(注 1)の原因を解明するため、患者の全ゲノム配列を決定した。その結果、2名の患者で、網膜色素変性の原因遺伝子であることが知られている *EYS* 遺伝子に、病気の原因となる大きな DNA の欠失を新たに発見した。
- ◆本研究では従来の遺伝子解析手法で原因が特定できなかった患者を対象としており、東京大学が開発したゲノム解析手法が遺伝性疾患の原因探索において有用であることが示された。
- ◆本研究で用いた遺伝子解析技術は、従来の方法で原因遺伝子変異が同定できない患者における疾患の原因解明に貢献することが期待される。

### 3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科の左野裕介特別研究学生(研究当時)、藤本明洋教授、九州大学大学院医学研究院の秋山雅人講師、園田康平教授、理化学研究所生命医科学研究センターの桃沢幸秀チームリーダーらの共同研究グループは、日本の失明原因の第二位である網膜色素変性患者 15 名について、ロングリードシークエンス技術(注 2)を用いて全ゲノムの塩基配列解析を行い、うち 2 名において構造変異(注 3)の一種である大きな DNA の欠損(欠失)が疾患の原因となっていることを明らかにしました。

網膜色素変性の日本人患者 1,204 名を対象に従来の遺伝子解析技術であるショートリードシークエンス技術(注 4)で遺伝的原因を調べた当グループの過去の報告では、7 割以上の患者について原因を同定することができませんでした。しかし、ロングリードシークエンスを用いることで、遺伝性疾患の原因遺伝子変異を新たに同定することができました。ロングリードシークエンス技術は、ショートリードシークエンス技術では解析が困難な構造変異や遺伝子の反復領域(注 5)の塩基配列決定の同定に長けています。本研究において、ロングリードシークエンス技術は、従来の方法で原因が特定できなかった遺伝性疾患の原因解明に有用であることが示唆されました。

本研究成果は、2022 年 6 月 16 日に英国科学誌「Journal of Medical Genetics」のオンライン版に掲載されました。

### 4. 発表内容：

本研究では先の研究（プレスリリース <https://www.kyushu-u.ac.jp/ja/researches/view/346/>）で原因遺伝子が同定できなかった患者のうち、*EYS* 遺伝子の片方の染色体のみに病原性変異が同定された15名を選択しました。*EYS* 遺伝子は父親由来・母親由来双方の染色体に変異が生じることで疾患の原因となる常染色体劣性（潜性）遺伝子であるため、もう片方の染色体に従来の方法（ショートリードシーケンシング技術）で見つけることが難しい病原性変異が存在する可能性が高いと考えられました（図1）。遺伝子解析にはロングリードシーケンシング技術を用い、全ゲノムを対象に解析を行いました。ロングリードシーケンシングはショートリードシーケンシングでは検出が困難な構造変異や反復領域における変異の検出が可能であり、ショートリードシーケンシングの技術的限界を補うことが可能な技術です。人類遺伝学分野で開発したロングリードシーケンシングのデータから構造変異を検出する手法（CAMPHOR ソフトウェア）を用いて解析したところ、89の定型網膜色素変性関連遺伝子において、15の構造変異が同定されました（手法を開発した論文についてのプレスリリース [https://www.m.u-tokyo.ac.jp/news/admin/release\\_20210506.pdf](https://www.m.u-tokyo.ac.jp/news/admin/release_20210506.pdf)）。そのうち、メンデル遺伝形式の遺伝性疾患に矛盾しない頻度の低い変異（注6）を探索したところ、*EYS* 遺伝子における2つの欠失と、*RP111* 遺伝子における1つの欠失が発見されました。*RP111* 遺伝子も *EYS* 遺伝子と同様に常染色体劣性遺伝形式の原因遺伝子ですが、*RP111* 遺伝子に構造変異が同定された患者は、先行研究においても一方の染色体に病原性変異は検出されておらず、*RP111* 遺伝子が本患者における原因遺伝子と断定することはできませんでした。*EYS* 遺伝子における2つの欠失はいずれも反復領域に切断点を有する連続した30万塩基を超えるサイズの欠失（図2）でした。この大きな欠失は複数のエクソン領域（注7）を欠損する変異であり、健常者において存在する割合が極めて低いことから病原性変異である可能性が高いと考えられました。先の研究で同定された病原性変異と併せて、*EYS* 遺伝子にタンパク質の機能を喪失させる可能性が高い2つの変異が同定されたことから、これらの2名においては *EYS* 遺伝子が原因遺伝子であると結論づけました。また、これらの2つの大きな欠失は他の1,189名の日本人網膜色素変性患者では検出されず、創始者変異（注8）である可能性は低いと考えられました。

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）ゲノム医療実現バイオバンク利活用プログラム（ゲノム医療実現推進プラットフォーム・先端ゲノム研究開発）「先進的シーケンシング情報解析技術基盤の開発（課題番号：JP20km0405207）（研究代表者：藤本明洋）」、公益社団法人 日本網膜色素変性協会（秋山雅人）の支援により実施されました。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：「Journal of Medical Genetics」（オンライン版：6月16日）

論文タイトル：Likely pathogenic structural variants in genetically unsolved patients with retinitis pigmentosa revealed by long-read sequencing

著者：Yusuke Sano, Yoshito Koyanagi, Jing Hao Wong, Yusuke Murakami, Kohta Fujiwara, Mikiko Endo, Tomomi Aoi, Kazuki Hashimoto, Toru Nakazawa, Yuko Wada, Shinji Ueno, Dan Gao, Akira Murakami, Yoshihiro Hotta, Yasuhiro Ikeda, Koji M Nishiguchi, Yukihide Momozawa, Koh-Hei Sonoda, Masato Akiyama\*, and Akihiro Fujimoto\*

## 6. 用語解説：

#### 注1 網膜色素変性

視力低下や視野異常など、進行性の視覚障害をきたす疾患で、最初に現れる症状としては薄暗い場所での見えにくさなどが挙げられる。日本の中途失明原因第二位である。メンデル遺伝病の一種であり、80 を超える遺伝子が原因として知られている。常染色体優性遺伝形式、常染色体劣性遺伝形式、X連鎖劣性遺伝形式などの遺伝形式を取る。

#### 注2 ロングリードシーケンス技術

DNA の塩基配列を一度に数千塩基以上解読することができる技術。長い塩基配列（リード）を得ることができる。反復領域の塩基配列決定や 50 塩基以上の構造変異の検出が可能である。

#### 注3 構造変異

ゲノムの変異の中には、ゲノムの構造に影響する変異が存在し、それらを総称して構造変異という。構造変異には欠失・挿入・重複・逆位・転座などのパターンがあり、本研究で見つかった大きな DNA の欠損は欠失にあたる。

#### 注4 ショートリードシーケンス技術

数百塩基の短い塩基配列を大量に決定する技術。精度の高い塩基配列決定が可能である一方、リード長が短いために反復領域における変異の検出や構造変異の検出は困難である。

#### 注5 反復領域

ゲノム DNA のうち、同じ塩基配列が繰り返されている領域を指す。反復される配列には短い配列が複数回繰り返されるものや、レトロトランスポゾン (LINE、SINE、LTR) などがある。

#### 注6 メンデル遺伝形式の遺伝性疾患に矛盾しない頻度の低い変異

当該の遺伝子変異が有害である場合は、自然選択の影響を受けるため、メンデル遺伝病の原因変異は集団内において頻度が低い。

#### 注7 エクソン領域

遺伝子領域のうち、DNA が RNA に転写される過程で除去されずに残る領域を指す。エクソン領域はタンパク質に翻訳される翻訳領域とタンパク質に翻訳されない非翻訳領域からなる。

#### 注8 創始者変異

集団内においてその子孫に広まっていった遺伝子変異を指す。創始者変異がメンデル遺伝病の原因変異である場合、複数の患者に共通して検出されることになる。

## 7. お問い合わせ先：

### 【研究に関すること】

東京大学大学院医学系研究科国際保健学専攻国際生物医科学講座

教授 藤本 明洋（ふじもと あきひろ）

E-mail：afujimoto@m.u-tokyo.ac.jp

九州大学大学院医学研究院眼病態イメージング講座

講師 秋山 雅人（あきやま まさと）

TEL：092-642-5648 FAX：：092-642-5663

E-mail：akiyama.masato.588@m.kyushu-u.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail：ex-press@riken.jp

### 【報道に関すること】

東京大学医学部・医学系研究科総務チーム

TEL：03-5841-3304

E-mail：ishomu@m.u-tokyo.ac.jp

九州大学病院総務課広報室

TEL：092-642-5205

E-mail：ibskoho@jimukyushu-u.ac.jp

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail：ex-press@riken.jp

### 【AMED 事業に関すること】

日本医療研究開発機構（AMED）

ゲノム・データ基盤事業部 ゲノム医療基盤研究開発課

ゲノム医療実現バイオバンク利活用プログラム：B-cure

（ゲノム医療実現推進プラットフォーム・先端ゲノム研究開発：GRIFIN）

TEL：03-6870-2228

E-mail：genome-platform@amed.go.jp

## 8. 添付資料：

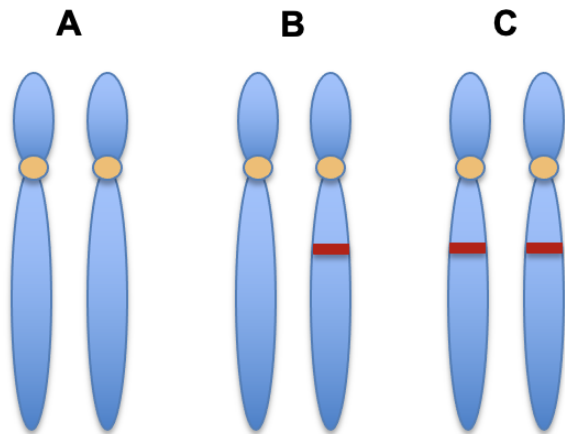


図1 常染色体劣性遺伝子における病原性変異と病気の関係

- (A) 父親由来・母親由来双方の染色体に病原性の遺伝子変異がない場合。病気を発症しない。
- (B) 父親由来・母親由来どちらか一方の染色体に病原性変異があるが、もう一方の染色体には病原性変異がない場合。病気を発症しない。
- (C) 父親由来・母親由来双方の染色体に病原性変異がある場合。病気を発症する。  
染色体上の赤い部分が病原性変異を表している。

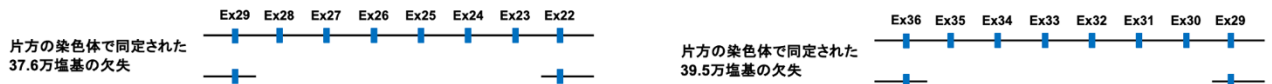


図2 *EYS* 遺伝子における大きな欠失

一方の染色体において複数のエクソン (Ex として表記) が欠失していることを示した模式図。