

## [課程-2]

### 審査の結果の要旨

氏名 佐藤 奈穂子

本研究は効率的かつ精度の高いクリニカルシーケンスへ向けて、神経遺伝性疾患の診断を目的とした解析方法の選択及び実際の臨床応用について検討を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 当科における診断未確定の神経遺伝性疾患 5 例を対象とし、ヒトゲノムの全エクソンを解析の対象とする WES と、既知のメンデル遺伝病の原因遺伝子のエクソン領域を対象とする 2 つのターゲットリシーケンシング (Panel 1, 2) について、解析までの効率と結果の精度を比較したところ、得られたデータに関して、被覆度は全体に Panel 1 が最も高く、次いで WES、Panel 2 の順であった。被覆度を高くするためには Panel 1 もしくは WES が適していると考えられた。
2. 解析結果から得られた data のうち、3 つのプラットフォームで異なる判定がなされた 255 の塩基 (discordant positions) について直接塩基配列決定法により確認を行い、プラットフォームによる正答率を比較したところ、Panel 1 が最も正答率が高く、次いで WES、Panel 2 の順であり平均被覆度の高い順と一致していた。また、被覆度及び塩基の quality value (QV) は正答率に影響を与えていると考えられた。さらに、discordant positions で正答率の低い領域はキャプチャプラットフォームの方法によらず GC 含有率が高いこと、反復配列や相同配列のために原理的に解析が困難な塩基が集中していることが判明した。
3. 対象の 5 症例のうち、1 例で NGS の結果をもとに診断が確定した。patient 5 は *FKTN* 上に既知の p.R179T をヘテロ接合性に全てのプラットフォームで共通して認め、直接塩基決定法で同じ変異を確認した。PCR 法を用いて同遺伝子の 3 kb 挿入変異をヘテロ接合に確認したため、Cardiomyopathy, dilated, 1X の診断となった。patient 3 は、*DNM2* に c.2370\_2372delGCC を認め、直接塩基決定法で同じ変異を確認した。同変異の報告はないが、コントロールのデータベースに登録がなく、病的変異の可能性が考えられたが、家系内の他の構成員の協力を得ることができなかった。2 例とも、考慮された variant は全てのプラットフォームで一致していた。
4. 当科における診断未確定の筋疾患 12 症例に対し、クリニカルシーケンスの応用と変異の解釈に関して検討したところ、今回検討した対象 13 個 (12 例) の rare variant のうち、うち 10 個 (77%, 7 例) は病的変異が検出できたと考えられ、3 個 (3 例) については慎重な判断を要すると考えられた。一方でアメリカ臨床遺伝学会

(American College of Medical Genetics; ACMG)の発表した variant の解釈に関するガイドラインに則り病原性の評価を行うと、病原性変異と考えられる、pathogenic または likely pathogenic に分類された variant は 13 個の候補変異のうち *FKTN* 上の 3kb insertion および p.R179T、*DYSF* 上の p.W999C、*COL6A1* 上の p.G419S、*SCN4A* 上の p.T704M の *CAPN3* 上の p.R440W、*LDB3* 上の p.A147T の 7 つ(54%)であり 77%から低下した。

以上、本論文は神経遺伝性疾患の、効率的かつ精度の高いクリニカルシーケンスへ向けてプラットフォームの選択及びデータの質の担保へ向けて詳細な検討を行い、クリニカルシーケンスのプラットフォームの選択には、診断の目的や被覆される領域などを合わせて考慮する必要があること、データの解釈においては、被覆度や QV などデータの質の保たれているものから優先的に検討することで効率化を図ることができることを明らかにした。またデータの解釈においては、既存の ACMG のガイドラインに従った病原性の評価は、病原性変異の可能性のある variant でも見逃されてしまう可能性があり、より臨床像を重視した解釈をすることが可能ではないかと提唱した。本研究はクリニカルシーケンスの臨床応用へ重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。