

遺伝疾患総論(2008.6.6&6.13)

ヒトゲノムの多様性と疾患 遺伝医学と生命倫理

木村 彰方
東京医科歯科大学
難治疾患研究所 分子病態分野
大学院医歯学総合研究科 遺伝制御学
大学院疾患生命科学部 ゲノム多様性研究室

先天性疾患と遺伝性疾患

先天性疾患
生まれつきの疾患(生下時に機能異常が生じている)

遺伝性疾患
遺伝する疾患(遺伝子変異が病因となる)

先天性ではあるが、遺伝性ではない疾患？

例)先天性風疹症候群=妊娠初期の風疹ウイルス感染

- ・白内障(29.4%)、難聴(68.7%)、心奇形(49.6%)が3徴候
- ・その他、精神発達遅滞(46.3%)、紫斑病(23.2%)など

発生の臨界期: 脳(3-11 w)、眼(3-4 w)、心臓(3-8 w)、
口蓋(6-8 w)、四肢(4-6 w)

一般的に、先天性心疾患は遺伝しない(家族性心奇形は稀、Nkx2.5、Tbx5変異など)

ダウン症候群(21番染色体トリソミー)、18番トリソミーなどの染色体異常症は心奇形を伴うことが多いが、一般的に染色体異常症は遺伝しない(例外として、染色体不分離や転座例など)

遺伝性ではあるが、先天性ではない疾患？

例)ハンチントン病=HD遺伝子変異

- ・35-50才で発症
- ・進行性不随意運動、性格障害、認知症(痴呆)
- ・線条体神経細胞変性

HD遺伝子; 4p16.3
CAG(グルタミンコドン)リピート病(polyQ病)、
リピートの長さ; 正常だと10-35、患者は>36
anticipation(父系)がある

遺伝情報はDNAによって担われている

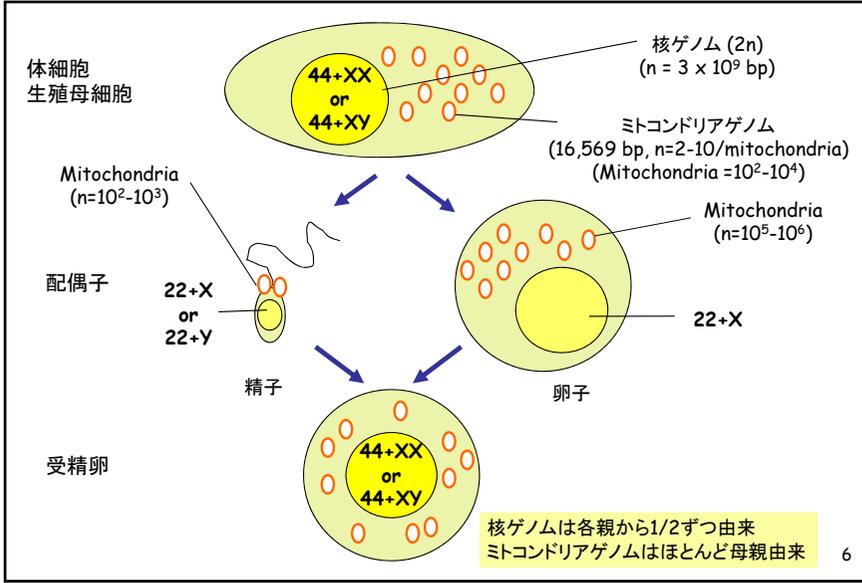
受精卵から成体への発生、分化＝体細胞分裂
(母細胞から娘細胞への遺伝情報の伝達)

配偶子の形成＝減数分裂
(親から子への遺伝情報の伝達)

ヒトの遺伝情報(ゲノム)の大きさ

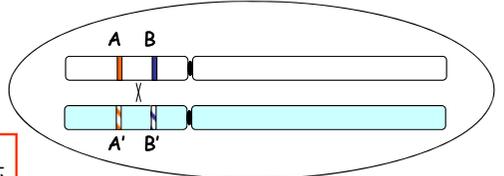
- 核染色体
- 46本=22対の常染色体+性染色体(XXまたはXY)
- ハプロイド(22+X, 22+Y)あたり約30億塩基対(3×10⁹ bp, 3,000Mbp)
- 約22,000(～30,000)遺伝子
- ゲノム配列上の個体差(多型):1,000塩基対あたり1箇所程度
- 多型:一般集団中の変異遺伝子頻度が1%を越える場合

ゲノムの大きさ:大腸菌 5Mb, 酵母 13.8Mb, 線虫 97Mb, ショウジョウバエ 180Mb, フグ 365Mb, イネ 420Mb 5



親から子への遺伝情報の伝達では、染色体間の組換えが生じる

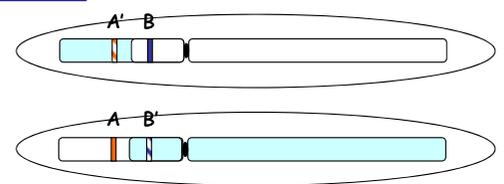
親の生殖細胞 (減数分裂時)



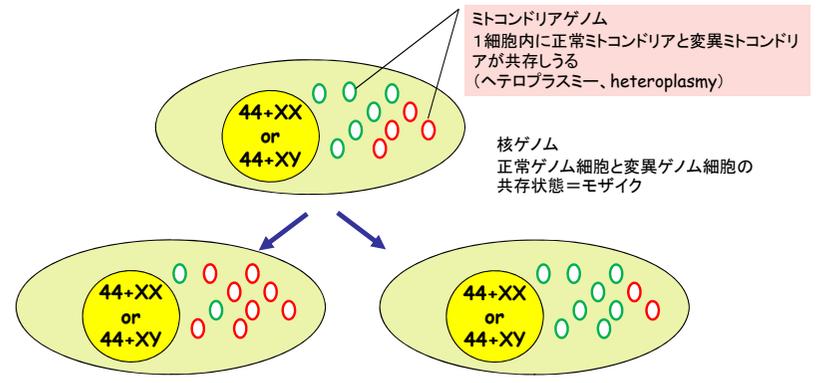
組換え: 全ゲノムあたり約30箇所
1Mbは概ね1cM(組換え率1%)に対応

- ・遺伝子多型があると組換えの有無が分かる
- ・遺伝子多型は遺伝マーカーとなる
- ・位置が分かっている遺伝マーカーを使って病気の原因遺伝子の位置を探す

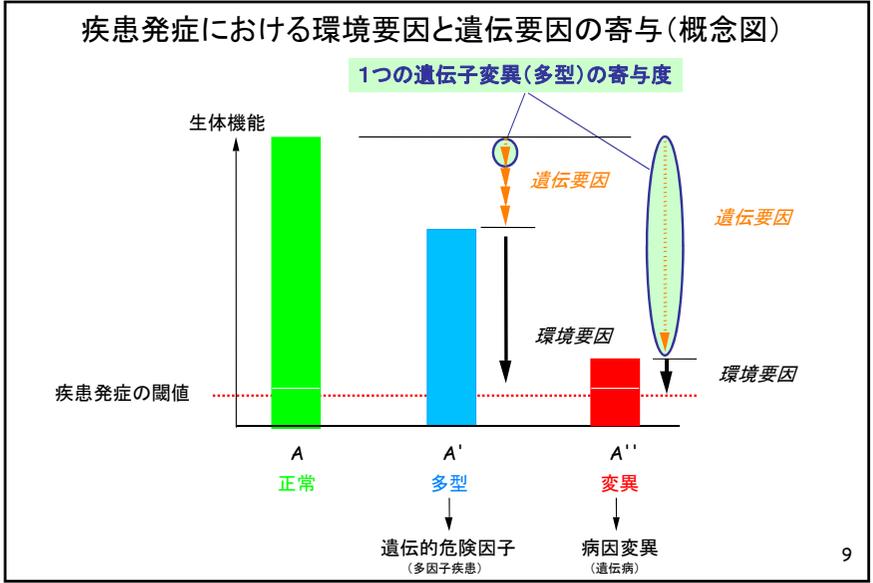
親の配偶子 (子に伝達)



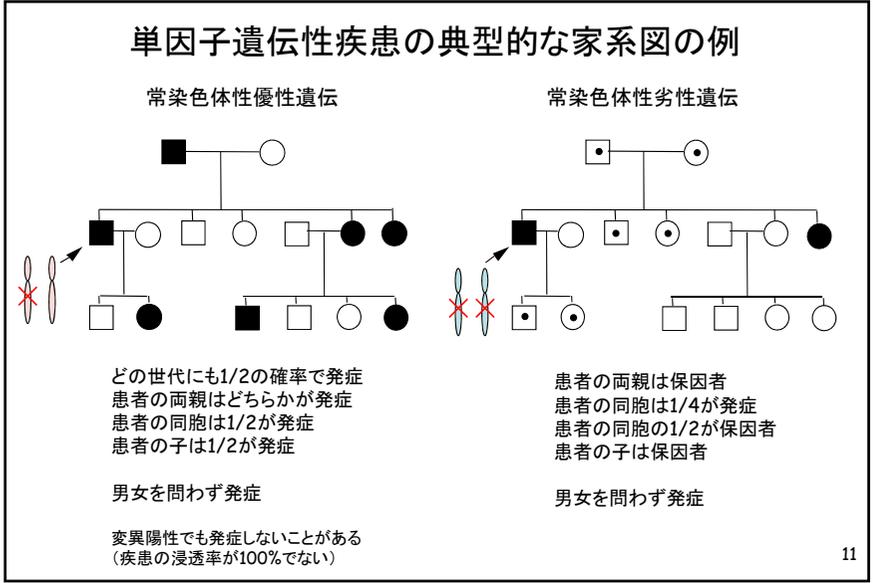
体細胞分裂時におけるミトコンドリアの分配



- ・細胞分裂時にミトコンドリアはランダムに分配される (変異ミトコンドリアの割合は細胞分裂にともなって変化する)
- ・卵子形成時にミトコンドリアが増加する



- ### 疾患の遺伝形式
- A) 単因子遺伝性疾患(遺伝子病); 単一遺伝子の変異が病因となる疾患
- 1) 常染色体性優性遺伝性疾患; 肥大型心筋症、QT延長症候群、遺伝性大腸癌など
変異遺伝子は常染色体上にある。相同染色体の片側の遺伝子に変異
 - 2) 常染色体性劣性遺伝性疾患; フェニルケトン尿症、先天性副腎過形成症候群など
変異遺伝子は常染色体上にある。相同染色体の両方の遺伝子に変異
 - 3) 伴性劣性(X連鎖性) 遺伝性疾患; 血友病A、デュシェンヌ型筋ジストロフィーなど
変異遺伝子はX染色体上にある
- B) 多因子疾患; 複数の遺伝子変異(多型)と環境要因の相互作用
糖尿病、心筋梗塞、高血圧、統合失調症など
- C) ミトコンドリア病; ミトコンドリアDNAの変異
MELAS、ミトコンドリア脳筋症など
- 10



約10,000出生に1名の割合で見つかる疾患の原因となる遺伝子変異の保因者はどれくらいの割合で存在するか?

原因遺伝子変異の頻度をpとする

遺伝子が正常な頻度は1-p

患者の頻度は変異のホモ接合頻度 = p^2

保因者の頻度は変異のヘテロ接合頻度 = $2 \times p \times (1-p)$

$p^2 = 1/10,000$
 $p = 1/100$

従って、保因者頻度は $2 \times 0.01 \times 0.99 = 0.0198$
保因者は約50名に1人の割合で存在する
cf: 一般集団中には個体あたり平均7個の致死遺伝子変異を有する

12

単因子遺伝性疾患の典型的な家系図の例

伴性劣性遺伝

患者の母親が保因者
患者の同胞男性は1/2が発症
患者の同胞男性は1/2が正常
患者の同胞女性は1/2が保因者
患者の同胞女性は1/2が正常
患者は通常男性

ミトコンドリア性遺伝

女性患者を介して遺伝
男女を問わず発症

13

多因子疾患に遺伝要因は存在するか？

糖尿病患者の近親における疾患発症率(疾患の一致率)

一卵性双生児; 約60%] 主に 遺伝要因 の効果
二卵性双生児; 約40%	
同胞; 約20%] 主に 環境要因 の効果
親、子; 約20%	
一般集団における糖尿病; 5-10%] 環境要因と遺伝要因 の効果

14

病因変異と疾患関連多型

病因変異(単因子遺伝病)は疾患の**必要条件**
変異を持つことで発症する
(但し、浸透率に依存。浸透率は変異ごとに異なるが**60-100%**)
→疾患への寄与度は、1つの遺伝要因だけで**60-100%**

疾患関連多型(多因子病)は**遺伝的危険因子**
複数の疾患関連遺伝子の多型と環境要因の総合作用
(疾患関連遺伝子数は不明だが、例えば10あるとして、そのうち)
→患者が持つ疾患関連多型の組み合わせは患者ごとに違う
(患者Aはa+b+c+d+e、患者Bはa+e+f+g+h、患者Cはf+g+h+i+jなど)
→疾患への寄与度は、多数の遺伝要因全体としても**10-30%**程度

発症の危険率は疾患の頻度に依存
(危険率が2倍の多型の場合、その疾患が集団中に**5%**あるとすると、その多型を有する者の発症確率は約**9.5%**となる)

15

病因関連遺伝子の同定法

単因子遺伝病
連鎖解析
候補遺伝子アプローチ

多因子病
罹患者同胞対解析
関連解析(症例対照研究)
伝達不平衡テスト

16

どこにあるか分からない疾患関連遺伝子変異を見つけるには？

遺伝マーカーa 疾患関連変異 遺伝マーカーb

疾患関連染色体 a1 b1

正常染色体 a1 b1

正常染色体 a1 b2

正常染色体 a2 b1

正常染色体 a2 b2

位置が分かっている遺伝マーカーをたくさん調べて、「病気であること」と一緒に遺伝している(連鎖している)確率の高い遺伝マーカーを見つける

連鎖している遺伝マーカーの近傍にある遺伝子を調べる

17

遺伝マーカーの種類

単塩基置換多型 (SNPs)

リピート数多型

18

単塩基置換多型 (SNPs)

蛋白コード領域多型 (cSNPs)
アミノ酸配列変化、蛋白機能の変化？

発現制御領域多型 (rSNPs)
遺伝子発現レベルの変化？

その他の多型 (sSNPs)
単なる遺伝マーカー

1箇所のSNPsはアレル数が少ない
→SNPsハプロタイプによる解析が必要

19

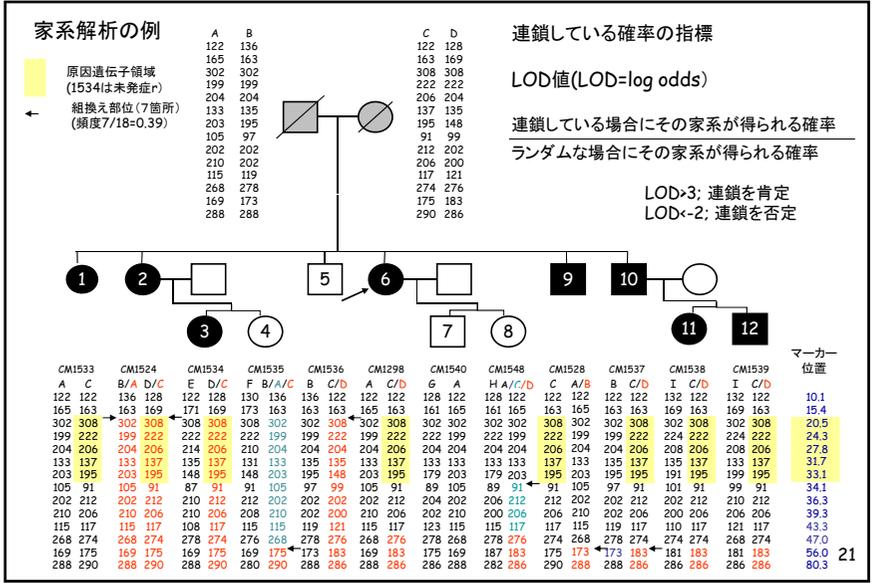
リピート数多型

マイクロサテライトマーカー
アレル数が多い→有用な遺伝マーカー
通常は単なる遺伝マーカー
(但し、発現制御領域の多型は遺伝子発現レベルの変化もある)

VNTRマーカー も広義にはこの範疇

cf: Copy number variation (CNV): 数kb~数100 kbの大きな領域の挿入・欠失

20



連鎖解析 (linkage study)

染色体上の位置が既知の遺伝マーカーを用いて多発家系を検査する
疾患と有意に連鎖する(有意な確率を持って共分離する)遺伝マーカーを同定する

候補遺伝子解析(候補位置遺伝子解析)

疾患に関連すると考えられる既知の遺伝子の変異を検索する
(特に疾患と連鎖する遺伝マーカーの近傍にある候補遺伝子)

22

病因関連遺伝子の同定法

単因子遺伝病
連鎖解析
候補遺伝子アプローチ

多因子病
罹患同胞対解析
関連解析(症例対照研究)
伝達不平衡テスト

23

罹患同胞対解析とは?

多数の罹患同胞間における遺伝マーカーの一致率を調べる
マーカーの近傍に原因遺伝子(変異)があると推定する

マーカーの共有数(2共有、1共有、0共有)の比

ランダム分布の場合は 1:2:1 (Hardy-Weinberg平衡)
優性遺伝性疾患では 1:1:0 (片方の染色体に変異がある)
劣性遺伝性疾患では 1:0:0 (両方の染色体に変異がある)
多因子疾患では ランダム分布から有意に偏位する

同胞におけるマーカーの共有数
aの遺伝子型

bの遺伝子型	1/3	1/4	2/3	2/4
1/3	2	1	1	0
1/4	1	2	0	1
2/3	1	0	2	1
2/4	0	1	1	2

特徴: 疾患の浸透率、遺伝様式を考慮しなくて済む

24

Hardy-Weinberg平衡

アリルa1の頻度 = p
アリルa2の頻度 = q

遺伝子型頻度 a1/a1: a1/a2: a2/a2 = p²: 2pq: q²

アリル頻度は以下の条件を満たす集団では世代を超えても変化しない

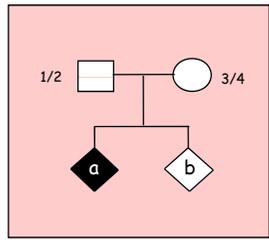
- ✓ 自由交配
- ✓ 変異頻度が低い
- ✓ 集団の移住がない(集団の交雑がない)
- ✓ 選択がない
- ✓ 十分に大きな集団

伝達不平衡テストとは？

TdT; transmission disequilibrium test
多数の患者とその両親(ないし同胞)を調べる
内部コントロールとして、患者の両親の遺伝情報を用いる

患者である子に両親から遺伝したアリルの頻度と、遺伝しなかったアリルの頻度を比較
(少なくとも片親が解析対象遺伝子のヘテロ接合でなければならない)

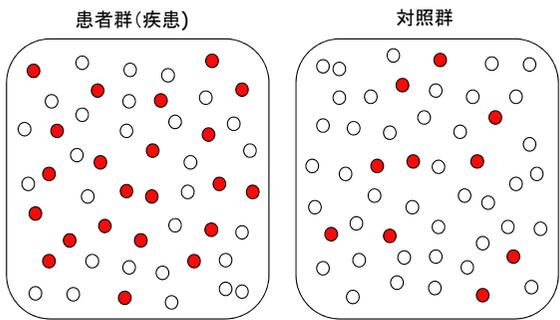
患者である子と患者でない子のアリル頻度を比較する場合もある
(患者でない子の場合は、疾患関連アリルを受け継ぐ確率が低いため)



- 通常の症例対照研究と比較して
- ・ 集団の階層構造の影響が少ない
 - ・ ランダムサンプリングではないためバイアスがかかる可能性がある
 - ・ 遺伝的に近縁な集団間の比較であるためより多くのサンプル数が必要

関連解析(症例対照研究)

association study
case-control study



● 遺伝マーカーAを持つ者、○ 遺伝マーカーAを持たない者

	A陽性(+)	A陰性(-)
患者群	a	b
コントロール群	c	d

関連の強さ
Odds ratio (OR) = ad / cb

関連の有意性
 $\chi^2 = [ad-bc]^2 * (a+b+c+d) / (a+b)(c+d)(a+c)(b+d)$
($\chi^2 > 3.84; p < 0.05$)

一般集団中に10%存在する疾患への感受性が1.5倍(相対危険率が1.5倍)となる多型の患者集団中の頻度はどれくらいか？

	A陽性(+)	A陰性(-)
患者群	a	b
コントロール群	c (10)	d (90)

関連の強さ(相対危険率)
Odds ratio (OR) = ad/cb
90a/10b = 1.5
90a = 15b

a+b = 100
b = 100-a
90a = 15(100-a)
90a = 1500 - 15a
105a = 1500
a ≈ 14.3

答: 約14.3%

連鎖不平衡の成立機構; 変異による対立遺伝子の形成

変異1

変異2

変異1と変異2が生じた集団にはa1-b1ハプロタイプ以外に、a2-b1ハプロタイプとa1-b2ハプロタイプが存在する。

29

連鎖不平衡の成立機構; 組換えによる新たなハプロタイプの形成

この組み合わせの組換えからa2-b2ハプロタイプが生じる

30

Linkage disequilibrium (LD) の指標

$D' = D / D_{max}$ (Dが正の場合)
 D / D_{min} (Dが負の場合)

ただし、
 $D_{max} = \min(p_{a1}p_{b2}, p_{a2}p_{b1})$ (正のLDの場合)
 $D_{min} = \max(-p_{a1}p_{b1}, -p_{a2}p_{b2})$ (負のLDの場合)

$r^2 = D^2 / p_{a1}p_{a2}p_{b1}p_{b2}$
 (= χ^2 / n)
 (= Δ^2)

ハプロタイプ	頻度
a1 b1	p11
a1 b2	p12
a2 b1	p21
a2 b2	p22

$D = p_{11} - (p_{11}+p_{12}) \times (p_{11}+p_{21})$
 $= p_{11} - p_{a1} \times p_{b1}$
 $= p_{11} \times p_{22} - p_{12} \times p_{21}$

D=0: 連鎖平衡

absolute LD $D'=1.0$ $r^2=1.0$ complete LD $D'=1.0$ $0 < r^2 < 1$

ある遺伝子領域と疾患感受性との関連
 → 疾患感受性遺伝子(多型)が特定の
 遺伝マーカーアリルと連鎖不平衡にある

関連(association)
 強さ: オッズ比
 有意性: χ^2 値、p値

多重検定の補正 (Bonferroni補正)
 補正 p = $n \times p$; $p_n = 1 - (1-p)^n$

31

連鎖不平衡が成立する要件 (Hardy-Weinberg平衡が成立しない状況)

1. 変異が生じてからの時間が短い
2. 遺伝子座間の組換え頻度が低い
3. 集団のボトルネック(ハプロタイプ数の減少)
4. 異なる歴史的背景をもつ集団の混合(移住)
5. 特定のアリルの組合せ(ハプロタイプ)の選択
6. 選択交配

32

疾患関連多型は疾患発症に直接関連するか？

- 第1度統計エラーではないか？
別の患者／健常者集団での比較解析が必要
- 階層構造の反映ではないか？
他のマーカーの解析が必要
- 連鎖不平衡の反映ではないか？
遺伝子機能の変化の証明が必要
- 複数の遺伝的危険因子間の関連は？
多因子同時解析が必要
各危険因子の寄与度の推定が必要
- どの環境要因と関連するのか？
環境要因の検索が必要
- 疾患の不均一性の問題は？
病態ごとの解析が必要

33

病因変異と疾患関連多型の医療応用

病因変異(単因子遺伝病)

- ・ 診断学的な価値；確定診断、予後予測？ → ある程度まで可能
- ・ 病態形成カスケードの理解？ → 現在の研究課題
- ・ 治療法の選択；病因変異に応じた治療？ → 実際的ではない
変異による機能変化に応じた治療？ → 将来の目標

疾患関連多型(多因子病)

- ・ 診断学的な価値？ → リスク評価であり、疫学的価値にとどまる
- ・ 病態形成カスケードの理解？ → 現在の研究課題
- ・ common variant common diseaseか？
rare variant common diseaseか？
→ 実用面では、疾患への寄与度が大きいものほど有用
→ 医療応用可能なマーカーの選択は将来の目標

34

遺伝子診断の分類

- 1) 確定診断
病気を発症している、異常所見がある場合
- 2) 発症前診断
遺伝子病患者さんの家族など
- 3) 出生前診断(胎児診断)
羊水診断、絨毛診断
- 4) 着床前診断(受精卵診断)
4分割ないし8分割胚の1細胞で診断

35

出生前診断の適応

- 1) 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者
- 2) 染色体異常児を妊娠、分娩した既往を有する場合
- 3) 高齢妊娠
- 4) 妊婦が重篤なX連鎖遺伝病のヘテロ接合体
- 5) 夫婦のいずれもが、重篤な常染色体性劣性遺伝病のヘテロ接合体
- 6) 夫婦のいずれかが、重篤な常染色体性優性遺伝病のヘテロ接合体
- 7) その他、胎児が重篤な疾患に罹患の恐れのある場合

36

遺伝カウンセリングに関する留意点

- 1) 疾患に関する**正確で最新の情報**を提供する
(疾患頻度、自然歴、再発率、遺传的異質性)
- 2) 遺伝子検査の目的、方法、内容(**メリット、デメリット**)、精度、**診断限界**、医療上の**危険性**
- 3) 知る権利と知らない権利の尊重、**自主的な意思決定**
- 4) インフォームド**コンセント**、**文書**による説明
- 5) クライアントが希望しても、医師が倫理的、法的、社会的規範に照らし、もしくは自己の信条として**拒否**できる。ただし、自己の信条で拒否する場合は他の医療機関を紹介
- 6) **被験者の利益**を優先
- 7) 治療法、予防法がなく成人期以降に発症する疾患についての**小児期の診断**は実施しない
- 8) がん、多因子疾患に関する**易罹患度検査**についての注意
- 9) 高い診断技術、検査精度の向上、追跡調査を含む**精度管理**

生命科学研究・医学研究に関連する指針

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
疫学研究に関する倫理指針
臨床研究に関する倫理指針

遺伝学的検査に関するガイドライン
ヒト遺伝子検査受託に関する倫理指針

クローン技術規制法
特定胚の取り扱いに関する指針
ヒトES細胞の樹立及び使用に関する指針

症例1(血友病)

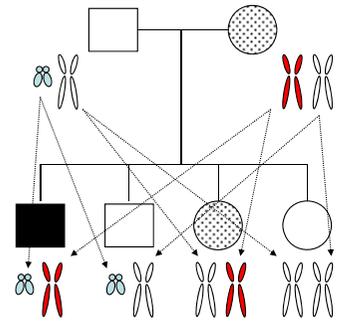
- 相談者: 32歳女性
- ・ 長兄はサッカーボールが腹に当たったのが原因で死亡したと聞いている
 - ・ 次兄は脳出血で寝たきりとなって死亡した
 - ・ この2人の兄は血友病であった
 - ・ 自分が同じ病気の男児を出産する可能性があると言われていた
 - ・ 自分には出血傾向はない
 - ・ 第1子(男児)が6歳時に右膝関節内出血、凝固検査で血友病Aと診断された
- ・ 妊娠16週であることが判明したので、胎児診断を含めて遺伝相談に訪れた
 - ・ 羊水検査による胎児診断を希望
 - ・ 男児であった場合には中絶する可能性

問題点

- 1) 血友病保因者の母親が胎児診断を行うことについて
- 2) 胎児診断の結果男児であった場合、中絶が許されるのか

症例1(血友病)

血友病A; X連鎖遺伝性疾患(伴性劣性遺伝)



罹病率: 約1 / 男性10,000出生

血液凝固第VIII因子欠損症
凝固因子活性の低下度に応じて軽症~重症まで

第VIII因子遺伝子: Xq28, 186kb, 26 エクソン

病因となる遺伝子変異
第VIII因子の活性がない
(遺伝子部分欠損、ナンセンス変異など)
第VIII因子の活性が低下
(ミスセンス変異、スプライシング変異など)

症例1(血友病)

問題点1: 血友病保因者の母親が胎児診断を実施することについて

遺伝学的検査の実施に関する要件

- ① **遺伝カウンセリング**を含めた総合的な臨床遺伝医療
- ② 検査の分析的妥当性、臨床的妥当性、臨床的有用性
- ③ 高い診断精度
- ④ 被験者ないし代諾者のインフォームドコンセント

遺伝病の胎児診断(出生前診断)の適応

- ① 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者である
- ② 染色体異常症に罹患した児を妊娠、分娩した既往を有する
- ③ 高齢妊娠
- ④ **妊婦が新生児期もしくは小児期に発症する重篤なX連鎖遺伝病のヘテロ接合体**
- ⑤ 夫婦のいずれもが、新生児期もしくは小児期に発症する重篤な常染色体劣性遺伝病のヘテロ接合体
- ⑥ 夫婦のいずれかが、新生児期もしくは小児期に発症する重篤な常染色体優性遺伝病のヘテロ接合体
- ⑦ その他、胎児が重篤な疾患に罹患する可能性がある

41

症例1(血友病)

問題点1: 血友病保因者の母親が胎児診断を実施することについて

胎児診断

直接の被験者は胎児 → 診断を受ける者の同意が得られない
→ 親権者による代諾で実施

母体の侵襲を伴う検査 → 流産の可能性(0.2-0.3%程度)
→ 母親から検査に関する同意

羊水診断(羊水細胞を用いた診断)

核型分析(XXかXYか) → 性別診断

遺伝子検査

Y染色体特異的検査(sry, amelogeninなど) → 性別診断

遺伝マーカーを用いたハプロタイプ検査 → 変異保有染色体診断

凝固第VIII因子遺伝子検査 → 遺伝子変異診断

本件胎児診断を実施するならば、
第1子および母親(保因者)が有する変異と同一変異が胎児にあることを**直接的に証明**することが必要である

42

症例1(血友病)

問題点1: 血友病保因者の母親が胎児診断を実施することについて

本件血友病は重篤な疾患であるか?
出血傾向の重症度?

血友病に治療法はあるか?
凝固因子の補充(プラズマ製剤、組み換え製剤)
→ 医療費の問題
→ 副作用(感染症、阻害抗体産生など)の問題
遺伝子治療の可能性
→ 凝固因子がある程度産生されれば重篤な出血は起こらない

血友病は適切な治療を実施すればコントロール可能な疾患である

43

症例1(血友病)

問題点2: 胎児診断で男児であった場合に中絶することについて

男児であることのみをもって中絶を選択することは許されない
 $\frac{1}{2}$ の確率で男児は変異がない

遺伝子変異を有することをもって中絶を選択することは許されない
血友病は治療法のない重篤な疾患ではない

本件では、両親(母親)が血友病である第1子を否定していると推察される
→ 母親は保因者であるため、自己否定に繋がる

遺伝カウンセリングによる正しい遺伝学的知識、精神的サポートが必要

44