

綜 説

遺伝子診断の現況

日野田 裕治

生体シグナル統御学（旧臨床検査医学）講座・附属病院検査部 宇部市南小串1-1-1（〒755-8505）

Key words : 遺伝子診断, がん, 多因子性疾患, 倫理問題

はじめに

感染症の遺伝子診断が実用化され、遺伝子診断も検査医学の一領域として根付いた感がある。しかし、がんについては、遺伝子診断が華々しく応用されるかを見えたが、ごく一部を除いて未だ実用化には至っていない。さらに、遺伝病や、今後研究の進展が期待されている多因子性疾患の診断については、遺伝子解析や診断法の研究面と、倫理的配慮は車の両輪と考えられる。ゲノム計画終了までの期間がどんどん短縮されてきている現在、後者に対応するための体制整備は急務となっている。

このような状況を踏まえて、本稿では、がんの遺伝子診断、多因子性疾患に関わる遺伝子多型、倫理的対応のための体制について述べてみたい。

がんの遺伝子診断

がんの遺伝子診断が叫ばれて10年余りが経過したが、CML, AMLの一部、一部の軟部組織腫瘍などを除けば、大部分のがんでは未だ遺伝子による存在診断はできていない。その理由は、大腸癌の多段階発癌モデルを持ち出すまでも無く、がんは単一遺伝子の異常による遺伝病とは異なり、多くの遺伝子異常の組み合わせによって生ずるからである。代表的ながん抑制遺伝子であるp53の異常を検出しても、診断率はせいぜい50%程度である。これにrasなどいくつかの遺伝子異常を組み合わせても100%には遠く及ばない。

では、遺伝子診断だけで100%の診断率は得られるのであろうか？一つの答えは、できるだけたくさん「診断に有用な遺伝子」を利用すれば、限りなく100%に近づくであろうというものである。有用な遺伝子とは、がん抑制遺伝子、家族性腫瘍の原因遺伝子、さらに、epigeneticにがんが発現変化しその悪性度に関係する遺伝子などである。

1) がん抑制遺伝子

表1は、1988年から99年の前半までの18ヶ月間に報告された、各種のがんにおける、新しいがん抑制遺伝子候補の存在が示唆される染色体上の領域である。この後も続々と報告が続いており、ヒトゲノムの全塩基配列が明らかになれば、これら多数の遺伝子の同定が急速に進むことが予想される。

2) 家族性腫瘍の原因遺伝子

家族性腫瘍の原因遺伝子は、弧発例の癌組織においてもその異常が検出されることが多い。大腸癌を例にとると、家族性大腸腺腫症（FAP）遺伝子の変異は、弧発例の40-50%に、遺伝性非ポリポーシス大腸癌（HNPCC）の原因遺伝子であるミスマッチ修復遺伝子の異常に基づくと考えられるRER(replication error)を呈する例が10-15%に見出される。

3) epigeneticな遺伝子変化

遺伝子変異ばかりではなく、がんにおいて発現の変化を示す遺伝子の中にも、診断に有用なものが数多く知られている。その代表の一つが、転移関連遺伝子である。表2にその一部を示すが、転移に関連することが動物実験と臨床病理学的検討によって明らかにされた遺伝子の数もまた増えつつけている。

平成12年4月11日受理

Cancer	Locs
Head & neck	3p25.3-26.3, 4q25, 5q21-22, 7q31.1, 8p23, 9p21-22, 11q13, 17q.18q, 22q13
breast	7p14-15, 8p22-23.1, 11p15, 11q23.3, 13q12-13, 16p13, 16q24.3, 22q23.1, Xp22.2
lung	3p, 9p, 18q, 20q22-26
esophagus	5p, 5q, 10q25, 11p15, 17q25.1
HCC	4q, 9p
pancreas	1p35
pancreatic	3q, 81p, 16p, 317p, 22q
endocrine	
adreno-	2p16, 11q13
cortical	
renal cell	3p, 8p
bladder	8p22, 9q22.3, 10, 9q11-33
prostate	17q21, 13q
ovary	6q25.1, 17q13
melanoma	3p, 9q, 11q23
others	cervical 21q22, lymphoma 7q31-32, MM, mantle cell lymphoma 14q14, ATL 6q, 17p, basal cell ca. 9q22.3, meningioma 1p32, 22q12, parotid papillary serous ca. 17, astrocytoma 1p, glioblastoma, 10q

表1 新しい癌抑制遺伝子の存在が示唆される染色体領域

抑制に働く遺伝子	増強に働く遺伝子
E-cadherin/ α -catenin	matrix metalloproteinases
DCC	MUC1
KAI1/CD82	CD44
CAR	VEGF
p53	VLA-3
p16	cyclin D1
p21	c-erbB/EGF
p27	cyclin E
	c-erbB-2
	CDC25B
	K-sam
	c-met/HGF
	Est-1
	AMF/gp78
	int-2
	PA/PAI
	hst-1
	N-myc

表2 転移関連遺伝子

このように増えつづける「診断に有用な遺伝子」を,すべての症例において一つ一つ検査することは,時間的にも経済的にも現実的ではない。できるだけ多くの遺伝子異常を簡単に見るといふ,無理難題の解決法として脚光を浴びているのがDNAチップ技術である。主として発現プロファイルを解析するためのチップがすでに市販されているが,対象遺伝子数は未だ1000前後であり,ヒトの機能的遺伝子数が10-15万と言われていることを考えると,1%程度しか解析できないことになる。しかし技術的進歩がきわめて速いため,現時点でDNAチップががんの遺伝子診断を可能にするエースであることに疑いはないであろう。

多因子性疾患の遺伝子診断

成人病,がん,アレルギー性疾患など,その発症に遺伝子や環境因子など多くの因子が関与する疾患を多因子性疾患と呼ぶ。このような病気になりやすいかどうかを,従来は「体質」という総合的ではあるが非常に曖昧な言葉で表現してきた。「体質」を分子の言葉で置き換えるために,今最も注目されているのがスニップ(SNP)と呼ばれる「単一塩基サイトの遺伝的多型」である。これは広い意味での遺

薬物代謝酵素遺伝子

CYP2C19	オメプラゾール
CYP2D6	デキストロメロルファン
CYP1A1	癌原性芳香族炭化水素
GST μ	癌原性芳香族炭化水素の代謝産物・活性酸素
NAT2	イソニアチド・スルファピリジン・プロカインアミド等
DPD	5-FU
MTHFR	メチルテトラヒドロ葉酸
TPMT	メルカプトプリン
UGDT	イリノテカン
ADH, ALDH2	アルコール
ALDH1	シクロフォスファミド・イホスファミド
BCHE	サクシニルコリン

疾患感受性遺伝子

p53	子宮頸部癌
Insulin	家族性高プロインスリン血症
β 3AR	肥満
CETP	高脂血症
AGT	本態性高血圧症・虚血性心疾患
ACE	心筋梗塞・PTCA後再狭窄
AGT1R	心肥大・IgA腎症
β 2AR	本態性高血圧症・虚血性心疾患
TAP	気管支喘息
ER	若年性関節リウマチ
VD3R	骨粗しょう症
APOE	骨粗しょう症
α 2-macroglobulin	アルツハイマー病
	アルツハイマー病

表3 遺伝子多型と薬剤および疾患との関連

伝子多型の一つであり,遺伝病における変異とは違って,遺伝子の個人差を示す。通常数百塩基対に1個の割合でゲノムに見出されるため,30億塩基対からなるヒトゲノムでは,1千万近いSNPの存在する可能性がある。SNPが目されるのは2つの理由がある。一つはゲノムの高密度マーカーとして,リンケージ解析に非常に役立つためである。もう一つは,一塩基の置換が遺伝子の機能や発現に影響する場合,それが個体差の分子機構になりうるためである。

SNPの中でも,遺伝子のコード領域にあるもの(cSNPと呼ばれる)はアミノ酸の変化をもたらす可能性があるため,個体差の分子機構として注目されている。実際に多くの遺伝子についてcSNPを調べた報告^{1,2)}では,SNPの頻度はコード領域と非コード領域で差は見られず,ゲノム上でランダムに一定の割合で起こると考えられる。コード領域のアミノ酸置換を伴うcSNPの頻度は,その約2分の1であり,過度にアミノ酸置換を存続させないような淘汰圧がかかっていると考えられる。さらに,DNA修復遺伝子のような種を越えて塩基配列が保存されているような重要な遺伝子では,アミノ酸置換を伴うSNPも種を越えて保存されており,人間の個体差にはあまり寄与していないように見える。

しかし,これまで多くの遺伝子において多型と疾

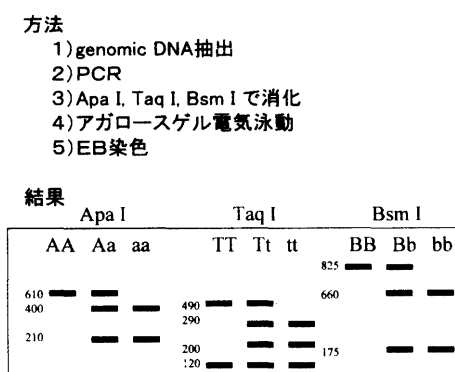


図1 Vitamin D3 receptor 遺伝子多型解析法

患感受性との関連が報告されてきた。表3にそのような遺伝子の一部を示す。アルコールを含めて、薬物代謝に関連する酵素遺伝子の多型と代謝能力との関連が大きな部分を成している。大量の化学物質を体内に取り込むという行為や発癌性物質の増加は、人類進化の過程ではきわめて最近の出来事であるため、このような明確な個人差が存在するものと推測される。薬剤の副作用やがんの疾患感受性の予知などに役立つと思われるが、一方では人種差も明確になりつつあり、他国の薬剤試験データを利用することに制限の加わる可能性もある。

実際の解析方法を、ビタミンD3レセプター遺伝子を例にして見てみよう。同遺伝子のイントロン8にApa I, Bsm I, エクソン9にTaq Iの制限酵素消化で識別できる多型が存在する。図1に示すように、DNAを抽出後、これらの酵素で切断し電気泳動すると、制限酵素サイトの有無にヘテロの人とホモの人がいるため、3群に分けられる。病気を有する人と健康な人の間で、この3群に分布する人の割合に有意差があれば、多型と病気との関連が示唆されることになる。このような検討によって、ビタミンD3レセプター遺伝子多型といくつかの疾患との関連が報告されている(表4)。ビタミンDがカルシウム代謝、細胞増殖抑制、免疫制御など多彩な生理作用を有するために、多くの疾患との関わりが出てくると推測される。すなわち、遺伝子多型と疾患との関連を解析するには、多型情報だけでなく、その遺伝子の機能を明らかにする必要がある。ゲノムプロジェクトが終了すれば、ヒトゲノムの大部分の塩基配列が一気に明らかになるが、個々の遺伝子の機能解析をしなければ、的確な診断応用をすることはできないわけである。

骨粗しょう症
 二次性副甲状腺機能亢進症
 前立腺癌、前立腺肥大症
 乳癌
 悪性黒色腫
 乾癬
 糖尿病 (IDDM)
 サルコイドーシス

表4 Vitamin D3 receptor 遺伝子との関連が報告されている疾患

遺伝子解析研究に付随する倫理問題への対応

遺伝子研究を暴走させないためにも、研究実施機関においては倫理面への対応を整備する必要がある。我が国には未だ統一された指針がないことから、現在厚生省では「遺伝子解析研究に付随する倫理問題に対応するための指針(案)」をホームページに公開している。これを基に、今後厚生省で方針を決定する模様である。

その内容の概略を、私なりに図式化してみたのが図2である。研究実施機関の長が、研究責任者の研究計画を受けて、これを倫理審査委員会に相談し、その意見によって研究を実施するかどうか決定する。倫理審査委員会のメンバーの半数以上は研究実施機関外の者で構成され、運営方法や議事要旨は可能な限り公開される。研究遂行者が試料提供者(ヒト由来試料等提供者)に十分な説明をすることに加え、遺伝素因の明らかな疾患患者(第一群ヒト由来試料等適用者)に関しては、遺伝カウンセリングの体制が必要である。また、ヒト由来試料等提供者は、いつでも機関の長に対して苦情を申し立てることができる。プライバシー保護のために、研究機関に個人識別情報管理者(医師、薬剤師等であって、研究遂行者以外の者)を置き、試料の匿名化を行う。さらに、人権保護の徹底を図るため、機関の長は外部調査員を指名し、研究実施担当はその調査に協力しなければならない。

以上が概要であるが、人権保護、インフォームド Consent、情報公開が原則となっている。実際にこのような体制をつくるにあたっては、倫理面に造

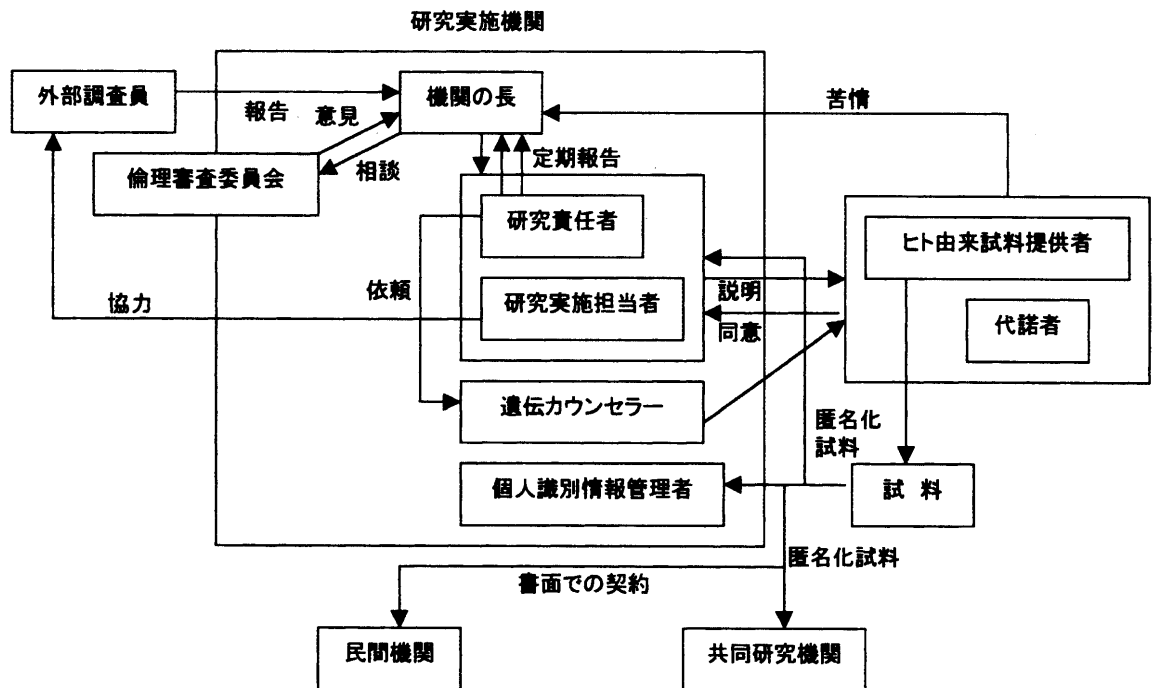


図2 遺伝子解析に付随する倫理問題に対応するための指針(案) 中間報告書—2000年2月4日—

詣の深い外部の有識者の協力、遺伝カウンセラーや個人識別情報管理者の養成などにやや時間を要するように思われるため、本学においても早急な対応が望まれる。

おわりに

先週の4月7日、米国のバイオ企業セラジェノミックス社が、ヒトゲノムの解読を終え、今後遺伝子地図を完成次第、全情報をホームページで公開することが新聞報道された。同社は、基礎的解読データは無料で公開するものの、データベースの付加価値も強調しており、一部有料になる可能性もある。これを受けて、各国が共同して進めている「ヒトゲノム計画」は、2003年の解読終了予定を前に、来月にも90%までの解読分を公表して、対抗する方針をとっている。いずれにしても、ほぼ全ゲノムの塩基配列が、間もなく一挙に公開される可能性が高くなり、今後の研究の流れは大規模な機能解析へと向かうことになろう。膨大なゲノム情報を適確に利用して遺伝子解析を進め、有用な遺伝子の診断応用を図ってゆく必要がある。

引用文献

- 1) Cargill M. et al. Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nature Genet.*, 22:231-238, 1999.
- 2) Halushka M.K. et al., Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood pressure homeostasis. *Nature Genet.*, 22:239-247, 1999.

The Status Quo of Genetic Diagnosis

Yuji HINODA

*Division of Clinical Laboratory, University Hospital, Yamaguchi University School of Medicine,
1-1-1, Minami-Kogushi, Ube, Yamaguchi 755-8505, Japan*

SUMMARY

Genetic diagnosis of infectious and hereditary diseases has recently been applied steadily to clinical laboratory test, but that of sporadic cancer, which was expected to give a big breakthrough for its early and exact detection, has been realized in only a limited number of diseases. Although genetic diagnosis is also expected to be of great help for early diagnosis and prevention of common polygenic disorders, it remains at the level of basic research. A new diagnostic method using DNA chip is now being exploited to realize a clinical application of genetic diagnosis of cancer. Accumulation of the information on DNA polymorphism and its effect on the gene function will be required to develop a new strategy for diagnosis of polygenic disorders. In addition, it should be stressed that ethical consideration is essential to the progress of such genetic analyses.