

Title	スプライシング異常治療を目指した新ゲノム解析手法による遺伝性疾患の発症機序の解明
Sub Title	Elucidation of the mechanisms of genetic disease by novel genome analysis techniques targeting the treatment of splicing defects
Author	山田, 茉未子(Yamada, Mamiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>遺伝性疾患に対するゲノム解析手法の主流であるエクソーム解析の約4割という診断限界を打破するためには、ゲノム構造異常やスプライシング異常による転写産物への影響の評価が必要である。申請者は、機械学習に基づく患者由来トランスクリプトームデータの外れ値解析法「Outlier analysis」を小児遺伝性疾患患者に適用した。WDR45遺伝子の深部イントロン変異によりスプライシング異常が生じて、オートファジー病であるSENDA/BPANを発症していたことを明らかにした。スプライシング異常を検出するSplice AIというソフトが深部イントロン変異の検出にも有用であるかどうかを検証した。このWDR45変異を持つ患者において、バリエーションは4,909,268変異が同定された。深部イントロン変異、疾患原因遺伝子の変異、アレル頻度1%未満に絞ると26,031変異に限定された。Splice AIのスコアについて、他研究機関との先行共同研究により、0.7をカットオフ値とすることが妥当と考えられていたので、本症例に対してもSplice AI score 0.7以上の遺伝子変異を検討対象とすることにした。その結果、WDR45とESCO2の2遺伝子に絞り込むことができた。患者の臨床所見からWDR45を疾患原因遺伝子として特定することが可能であった。Splice AIカットオフ値の設定の妥当性を検証することができた(論文投稿中)。転写産物の量的異常および質的異常を評価することにより、ゲノム構造異常およびスプライシング異常を同定することが可能となることが示された。WDR45変異を有する本患者においては、細胞レベルで既存のスプライシング異常治療薬の奏功性について検証中である。本疾患に限らずスプライシング異常により発症している患者は一定数いることが想定され、本研究は今後の変異の同定および治療法の開発の見込まれる。</p> <p>To overcome the diagnostic limitation of about 40% in exome analysis, which is the mainstream genome analysis method for genetic diseases, it is necessary to evaluate the effects of structural variants and abnormal splicing variants. I applied "Outlier analysis," a machine learning-based method for outlier analysis of patient-derived transcriptome data, to pediatric patients with genetic disorders. I revealed that a deep intron mutation in the WDR45 gene in the patient caused splicing defects that led to the autophagy disease SENDA/BPAN. I tested whether the software Splice AI, which detects abnormal splicing events, is also useful for detecting deep intron mutations. In this patient with the WDR45 mutation, 4,909,268 variants were identified. When the number of variants was narrowed down to deep intron mutations, mutations in disease-causing genes, and allele frequencies of less than 1%, the number of variants was limited to 26,031. Since a cutoff value of 0.7 was considered appropriate for the Splice AI score based on previous collaborative studies with other research institutions, I decided to consider genetic mutations with a Splice AI score of 0.7 or higher for this case as well. As a result, two genes, WDR45 and ESCO2, were identified. Based on the clinical findings of the patient, it was possible to identify WDR45 as the disease-causing gene. I validated the setting of the Splice AI cutoff value. Evaluation of quantitative and qualitative aberrations of the transcripts allowed identification of genomic structural and splicing abnormalities. In this patient with the WDR45 variant, the response to current drugs for splicing abnormalities at the cellular level is being validated. This study is expected to lead to the identification of mutations and the development of therapeutic strategies in the future.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=202100003-20210260

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部クラスター部門	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	山田 茉未子	氏名 (英語)	Mamiko Yamada		
研究課題 (日本語)						
スプライシング異常治療を目指した新ゲノム解析手法による遺伝性疾患の発症機序の解明						
研究課題 (英訳)						
Elucidation of the mechanisms of genetic disease by novel genome analysis techniques targeting the treatment of splicing defects						
1. 研究成果実績の概要						
<p>遺伝性疾患に対するゲノム解析手法の主流であるエクソーム解析の約4割という診断限界を打破するためには、ゲノム構造異常やスプライシング異常による転写産物への影響の評価が必要である。申請者は、機械学習に基づく患者由来トランスクリプトームデータの外れ値解析法「Outlier analysis」を小児遺伝性疾患患者に適用した。WDR45 遺伝子の深部イントロン変異によりスプライシング異常が生じて、オートファジー病である SENDA/BPAN を発症していたことを明らかにした。スプライシング異常を検出する Splice AI というソフトが深部イントロン変異の検出にも有用であるかどうかを検証した。この WDR45 変異を持つ患者において、バリエーションは 4,909,268 変異が同定された。深部イントロン変異、疾患原因遺伝子の変異、アレル頻度 1%未満に絞ると 26,031 変異に限定された。Splice AI のスコアについて、他研究機関との先行共同研究により、0.7 をカットオフ値とすることが妥当と考えられていたので、本症例に対しても Splice AI score 0.7 以上の遺伝子変異を検討対象とすることにした。その結果、WDR45 と ESCO2 の 2 遺伝子に絞り込むことができた。患者の臨床所見から WDR45 を疾患原因遺伝子として特定することが可能であった。Splice AI カットオフ値の設定の妥当性を検証することができた(論文投稿中)。転写産物の量的異常および質的異常を評価することにより、ゲノム構造異常およびスプライシング異常を同定することが可能となることが示された。WDR45 変異を有する本患者においては、細胞レベルで既存のスプライシング異常治療薬の奏功性について検証中である。本疾患に限らずスプライシング異常により発症している患者は一定数いることが想定され、本研究は今後の変異の同定および治療法の開発の展開が見込まれる。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>To overcome the diagnostic limitation of about 40% in exome analysis, which is the mainstream genome analysis method for genetic diseases, it is necessary to evaluate the effects of structural variants and abnormal splicing variants. I applied "Outlier analysis," a machine learning-based method for outlier analysis of patient-derived transcriptome data, to pediatric patients with genetic disorders. I revealed that a deep intron mutation in the WDR45 gene in the patient caused splicing defects that led to the autophagy disease SENDA/BPAN. I tested whether the software Splice AI, which detects abnormal splicing events, is also useful for detecting deep intron mutations. In this patient with the WDR45 mutation, 4,909,268 variants were identified. When the number of variants was narrowed down to deep intron mutations, mutations in disease-causing genes, and allele frequencies of less than 1%, the number of variants was limited to 26,031. Since a cutoff value of 0.7 was considered appropriate for the Splice AI score based on previous collaborative studies with other research institutions, I decided to consider genetic mutations with a Splice AI score of 0.7 or higher for this case as well. As a result, two genes, WDR45 and ESCO2, were identified. Based on the clinical findings of the patient, it was possible to identify WDR45 as the disease-causing gene. I validated the setting of the Splice AI cutoff value. Evaluation of quantitative and qualitative aberrations of the transcripts allowed identification of genomic structural and splicing abnormalities. In this patient with the WDR45 variant, the response to current drugs for splicing abnormalities at the cellular level is being validated. This study is expected to lead to the identification of mutations and the development of therapeutic strategies in the future.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
山田茉未子	RNA 解析・全ゲノム解析の医療実装による未診断疾患の解決を目指して	第 22 回日本 RNA 学会年会	2021 年 7 月 7 日			