

Title	ゲノム解析の限界を超える新手法の開発：トランスクリプトーム変異解析
Sub Title	Novel methods to transcend the limitations of genome analysis : transcriptome analysis
Author	山田, 茉未子(Yamada, Mamiko)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2022
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集(2021.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>エクソーム解析は遺伝性疾患に対するゲノム解析手法の主流ではあるが、その診断率は4割に留まる。診断限界の壁を打破するアプローチの一つにスプライシング異常による転写産物への影響の評価が挙げられ、トランスクリプトーム解析を行う必要がある。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WDR45遺伝子の深部イントロン変異によるstatic encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA)と診断した。スプライシング異常を検出するSplice AIというソフトの深部イントロン変異の検出への有用性についても検証した。このWDR45変異を持つ患者において、バリアントは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。先行共同研究により得られたSplice AI scoreのカットオフ値として0.7を用いた結果、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した。Splice AIカットオフ値の設定の妥当性を臨床検体から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効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> <p>The diagnosis rate is still only 40%, although exome analysis is the mainstream genome analysis method for genetic diseases. One approach to break through this limitation is to evaluate the effects of splicing abnormalities on transcripts, and transcriptome analysis is warranted. I applied Outlier analysis, a machine learning-based method for outlier analysis of patient-derived transcriptome data, to patients with pediatric genetic disorders and found that deep intron variants in the WDR45 gene in a patient caused static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA) was made. I also tested the usefulness of Splice AI software, which detects splicing abnormalities, 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	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0053">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20210002-0053</a>

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	1,500	千円
	氏名	山田 茉未子	氏名 (英語)	Mamiko Yamada			

## 研究課題 (日本語)

ゲノム解析の限界を超える新手法の開発:トランскリプトーム変異解析

## 研究課題 (英訳)

Novel methods to transcend the limitations of genome analysis: Transcriptome Analysis

## 研究組織

氏名 Name	所属・学科・職名 Affiliation, department, and position
山田茉未子 (Mamiko Yamada)	医学部・臨床遺伝学センター・助教

## 1. 研究成果実績の概要

エクソーム解析は遺伝性疾患に対するゲノム解析手法の主流ではあるが、その診断率は4割に留まる。診断限界の壁を打破するアプローチの一つにスプライシング異常による転写産物への影響の評価が挙げられ、トランスクリプトーム解析を行う必要がある。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 WDR45 遺伝子の深部インtron変異による static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA)と診断した。スプライシング異常を検出する Splice AI というソフトの深部インtron変異の検出への有用性についても検証した。この WDR45 変異を持つ患者において、バリアントは 4,909,268 変異が同定された。深部インtron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。先行共同研究により得られた Splice AI score のカットオフ値として 0.7 を用いた結果、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した。Splice AI カットオフ値の設定の妥当性を臨床検体から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効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。

## 2. 研究成果実績の概要 (英訳)

The diagnosis rate is still only 40%, although exome analysis is the mainstream genome analysis method for genetic diseases. One approach to break through this limitation is to evaluate the effects of splicing abnormalities on transcripts, and transcriptome analysis is warranted. I applied Outlier analysis, a machine learning-based method for outlier analysis of patient-derived transcriptome data, to patients with pediatric genetic disorders and found that deep intron variants in the WDR45 gene in a patient caused static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA) was made. I also tested the usefulness of Splice AI software, which detects splicing abnormalities, 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.

## 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