

(別紙1)

## 総括研究報告書

課題番号	2023C-17	
研究開発課題名	インプリンティング疾患診断補助のためのエピバリアント検出ツールの開発	
分類※	<input checked="" type="checkbox"/> ① <input type="checkbox"/> ② <input type="checkbox"/> ③ <input type="checkbox"/> ④ <input type="checkbox"/> ⑤ <input type="checkbox"/> ⑥ <input type="checkbox"/> ⑦	
区分	<input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> B <input checked="" type="checkbox"/> C <input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> S	
主任研究者	所属	研究所 メディカルゲノムセンター
	役職	研究員
	氏名	青砥早希
実施期間	2023年 4月 1日 ～ 2024年 3月 31日	

※分類は下記①～⑦より選択

- ① 日本の成育分野の疾患の研究の基盤となる研究
- ② 診断、治療及び予防法の開発に関する研究
- ③ 発症機序や病態の解明等を行う研究
- ④ 診断や治療のための基準の開発等に関する研究
- ⑤ 患児・者のQOL向上に結びつく研究
- ⑥ 研究的視点や技術をもつ医療従事者を育てるための研究  
(プロトコル作成のフェージビリティ研究)
- ⑦ 政策提言に結びつく研究

### 成果の概要

#### 1. インプリンティング領域の設定

本研究では主に Joshi et al. 2016 で公開された 4004 人分の 450k メチル化データを元にインプリンティング領域を設定した。メチル化アレイのプロープはある程度の距離をおいて設計されているため、1 塩基レベルでのメチル化パターンの範囲を決定するには不向きである。そこで分担研究者の中林がバイサルファイトシーケンスにより、インプリンティング領域を既報の論文より正確な領域を決定した。その結果 450k メチル化アレイデータの後継である EPIC でしか検出できないインプリンティング領域 3 箇所を追加した。

#### 2. メチル化変化の統計量の算出と正常メチル化パターンの判定用の閾値の設定

CpG サイトのメチル化状態は周囲の CpG サイトで同様のメチル化状態を取る傾向があるため、1 サイトのみ高メチル化/低メチル化などの変化が見られる場合、メチル化変化ではなく塩基変異によるメチル化サイトの消失やプロープの張り付きが悪くなったことなどが原因であり、正確なメチル化状態を反映していない場合がある。そこで本研究ではそのような場合を考慮してメチル化値の正常検体と正常範囲を個別に求めることで基準となる正常変動範囲を決定した。まず、インプリンティング領域に含まれる各プロープの  $\beta$  値の平均を求めからの距離の合算値が平均値  $\pm 3SD$  に含まれる検体を正常検体とした。次に SNP などによる 1 プロープのメチル化値の影響を排除するため、正常検体ないで  $\beta$  値の平均と標準偏差を求め、平均  $\pm 3SD$  の範囲に入らない  $\beta$  値は SNP などによる外れ値と判定し、除去した  $\beta$  値のみで正常範囲を設定した。また、各メチ

ル化値の Z score を算出し、上記二つの値からどれほど健常集団と離れているか統計的に確認できるようにした。

3. ウェブアプリ機能の構築

上記ウェブアプリは <https://mgc.nrichd.ncchd.go.jp/EMugl/>にて公開中である。

4. 検出精度の検証及びユーザインターフェースの調整

分子内分泌研究部鏡室長にご協力いただき、インプリンティング疾患と診断された 157 症例での使用テストを行った。また、アレイデータの補正方法は実施施設によって異なるので、補正用検体を選定、本システムを使用する場合の基準となる補正方法を注記することとした。