

# ミリアドによる臨床的意義が不明の バリエント (VUS) 低減のためのアプローチ

Erin Mundt, MS, CGC; Daphne Chen, MS, CGC;  
Gabriela Iorg, MS & Parris T Humphrey, PhD

教育目的資料 "Driving Down the Rate of variants of Uncertain Significance as the  
Myriad myRisk Multigene Panel Grows" より抜粋・改訂

## WHITE PAPER

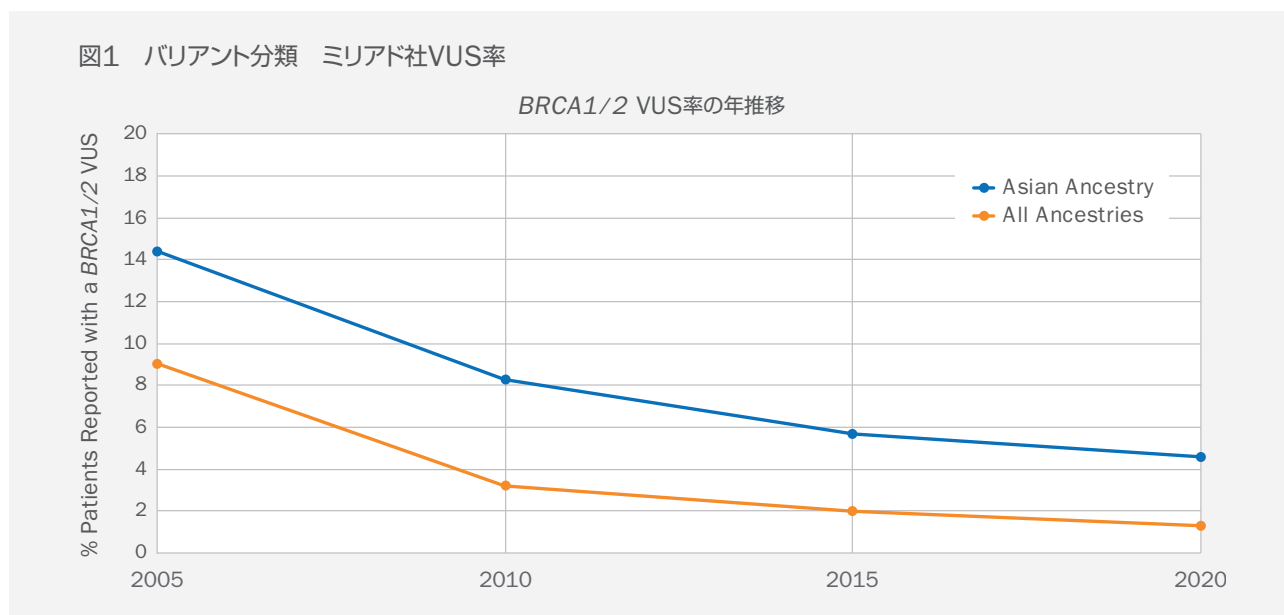
# ミリアドによる臨床的意義が不明のバリエント (VUS) 低減のためのアプローチ

## ① はじめに

ヒトゲノムには多種多様な遺伝子変異が存在しています。多くのバリエントについては、病的なバリエントであるかどうかに関する明確なエビデンスが得られていますが、それ以外のバリエントには科学的知見が得られていないのが現状です。臨床的意義や疾患との関連性が不明な遺伝子配列の変化を、臨床的意義が不明なバリエント (Variant of Uncertain Significance: VUS) と言います。VUSはミリアドの遺伝子検査結果で報告されます。生殖細胞系列遺伝子検査 (遺伝学的検査) でVUSが認められた人は、学会ガイドラインに従って、既往歴および家族歴に基づいて管理されなければなりません<sup>1</sup>。

遺伝子検査でVUSが認められることはごく普通であり、想定される結果です。しかし、ミリアドでは、確定的な分類により最適な医療・ケアが可能となり、遺伝子検査の不確実性を低減できると考えています。ミリアドで確認されたVUSについては、独自の分類プログラムmyVisionにより継続的な評価を行っています。この頑健な再分類プログラムにより、過去数年間でVUS率は大幅に減少しました。BRCA1/2のVUS率は、アジア人で2005年に14.4%でしたが、2010年で8.3%、2015年には5.7%と、10年間でおおよそ9%低下させることができ、2020年にはさらに4.6%まで低下しており (図1)、この傾向はさらに継続することが期待されます。

図1 バリエント分類 ミリアド社VUS率



## 2 方法

American College of Medical Genetics (ACMG) および Association for Molecular Pathology (AMP) による分類ガイドライン<sup>2</sup>が、ミリアドのバリエント分類の基本ですが、これまでの検査経験から得られた知見をもとに独自の分類ツールを開発・改良し、これらのガイドラインをさらに強化しています。ミリアドではバリエント分類法として、文献レビュー (LitView)、ホモ接合性/*In Trans*共起解析、変異共起解析 (M-Co)、分離比分析、構造解析、がん既往歴重み付けアルゴリズム (Pheno)、集団解析、RNA/スプライシング解析 (InSite) の8種類の方法を用いています (図2)。これらはそれぞれ全VUS率の低下に重要な役割を果たしていますが、そのうちのいくつかは特に大きな影響を及ぼしています。

ある時点のVUS率は、1つ以上のVUSを含む (かつ病的バリエントを含まない) 臨床検査報告書の総数を当該期間に発行された臨床検査報告書の総数で除して求めます。したがって、このように算出されたVUS率は、観察されたVUS全体の割合ではなく、臨床医が各患者についてVUSという結果を受領する実際の確率を反映しています。1遺伝子当たりのVUS率は、遺伝子の大きさや当該遺伝子に利用できる分類ツール、当該遺伝子に関する既存知識基盤によって異なります。報告されたバリエントが再分類された場合には、報告書改訂版を医師に提供します。

図2 ミリアドの分類方法

**myVison M-co**  
変異共起解析

**myVison Pheno**  
がん既往歴重み付けアルゴリズム



文献レビュー



集団解析



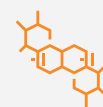
*In Trans*共起&  
ホモ接合性解析



分離比分析



RNAラボ



構造生物学的  
解析

## 3 考察

ミリアドでは長年、バリエントの再分類の際に評価引上げと評価引下げを行うために、Phenoと呼ばれる既往歴および家族歴の重み付け統計的アルゴリズムを使用しています。Phenoは特定のバリエントに関連するがん既往歴の強度を評価し、それを同一遺伝子の病的バリエントおよび遺伝子多型のコントロールバリエントの強度と比較します。これにより、医師が報告する既往歴中の家系および不一致を調整し、高い信頼度でバリエントの臨床的意義を決定することができます。Phenoは数年間にわたり、*BRCA1*、*BRCA2*、*MLH1*、*MSH2*、*MSH6*のVUSの評価引上げ/評価引下げ、ならびに*ATM*、*CHEK2*および*PALB2*のVUSの評価引下げに使用されています。Phenoには継続的に改善および機能強化が行われており、追加のバリデーションが都度実施されています。2017年には、*ATM*および*CHEK2*のバリエントの評価引上げ、ならびに*BARD1*のバリエントの評価引下げでの使用についてもバリデートされました。表1に日本人の*BRCA* VUS率推移を示しています。2019年から2020年にかけて3.3–3.4%と、図1のアジア人全体の4.6%よりさらに低減しており、PhenoはVUS率に多大な影響を与えてきています。

すべてのVUSは、病的バリエーションまたは遺伝子多型のいずれかである可能性があります。遺伝子多型の方が多く認められます。実際に、当社ラボにおける10年間（2006年～2016年）の再分類データをレビューしたところ、再分類されたVUSの91.2%は遺伝子多型の可能性/遺伝子多型に再分類されたのに対し、病的バリエーションに再分類されたのは8.7%のみでした<sup>3</sup>。これは、VUS再分類で予想される一般的な傾向ですが、病的バリエーション/遺伝子多型再分類比は、新しいエビデンスの使用や新規ツールの導入により、実施時点によって異なります。ミリアドでは最近、myVision分類プログラムにおいて強化された手法を多く活用し、VUSを病的バリエーション疑い/病的バリエーションに再分類するための機能的エビデンスの重要な情報源を作成または集約した結果、病的バリエーション疑い/病的バリエーションへの再分類数が大幅に増加しました。具体的には、2018年1月から2019年12月までの2年間に行われたVUS再分類のうち、36.9%は病的バリエーション疑い/病的バリエーションへ評価が引き上げられました。再分類時の評価引き上げの大部分は、myVision分類プログラムの2つの強化手法、Myriad InSite RNAラボおよび公表されている機能的エビデンスの社内バリデーションにより達成されたものです。

表1 日本人のBRCA VUS率の推移

Year	VUS Rate (%)
2018	3.8
2019	3.4
2020	3.3

## InSiteラボによるRNA/スプライシング解析

VUSのうち10～15%は正常なRNAスプライシングに影響を与える可能性があるとして推定されています<sup>4</sup>。このようなVUSは、RNAがどのようにスプライシングされて最終的な機能タンパク質に翻訳されるかに影響を及ぼすDNA配列の変化です。バリエーションによるスプライシングへの影響の有無やその内容については多くの予測因子が存在しますが、スプライシング異常を証明するには、多くの場合、機能的エビデンスが必要となります。ミリアドのInSite RNAラボは、このような機能的エビデンスを提供することを目的に2015年に設立されました。InSiteは、スプライシングに影響を及ぼす可能性があるバリエーションを有する人から研究検体を採取し、解析するための、IRBの承認を受けた研究プロトコルです。スプライシング異常については、定量化により完全な異常と部分的な異常を区別することが極めて重要です。浸透率の高いスプライシング異常を引き起こすVUSの場合には、病的バリエーション疑いまたは病的バリエーションに再分類することができます。部分的なスプライシング異常であることが確認された場合には、追加エビデンスはなく、当該バリエーションは再分類されません。スプライシング異常が認められない場合には、遺伝子多型の可能性または遺伝子多型に再分類されるVUSもあります。InSite設立以来、87種類のVUSについて再分類の根拠となるデータが得られ、何百もの報告書が改訂され患者さんに提供されました。再分類されたVUSの82%（71/87）は病的バリエーション疑いまたは病的バリエーションへの再分類でしたが、解析ではスプライシングに影響を与える可能性の高いバリエーションが標的となることから、当然と言えるでしょう。RNA/スプライシング解析は、特定の遺伝子に限定したものではありません。InSiteラボから得られたエビデンスは、BRACAnalysis<sup>®</sup> 診断システムによるBRCA1およびBRCA2遺伝子のバリエーション分類や、そのほかのパネルの遺伝子にも使用されています。

## 機能的エビデンスのバリデーション

公表された機能的な研究や生化学的研究をいつ、どのようにエビデンスとして分類に使用するかを判断するのは難しいことがあります。慎重な審査によりバリエーション分類に役立つことが確認された頑健かつ重要な機能的な研究が存在します。ミリアドでは、分類時にデータを考慮する前に、科学・統計チームが公表された研究データとバリデーション済みの他の方法（Pheno、RNAラボデータなど）により分類されたバリエーションを比較して幅広い検討を行うことにより、公表されたすべての研究の妥当性を徹底的に検証しています。このバリデーションでは、バリエーション分類への使用においてミリアドが期待する信頼性レベルが満たされているかどうかを判断するため、特定のルールや閾値を設定しています。徹底的なバリデーションを行い、たとえ設定された閾値を満たすことが確認されても、単独の情報源からの機能的エビデンスのみに基づいてVUSを病的バリエーション疑いに再分類することはありません。構造レビュー、分離比分析、バリデーションされた別の機能的な研究などの他の分類ツールから得られた追加の裏付けが必要です。

データセットの大きな研究が最近複数公表されたことは、VUSから病的バリエーション疑い/病的バリエーションへの再分類率の上昇に大きく寄与しました。このような重要な研究の1つが、Kotler et al. (2018年)<sup>5</sup>による研究です。この研究では、DNA結合ドメインにおける約10,000種類のTP53バリエーションの影響が評価され、これらバリエーションの機能に関する重要な情報が得られています。ミリアドの社内バリデーションの結果、この研究から得られたデータは正確かつ有益であり、当社の高い信頼性レベルを満たし、バリエーション分類に使用可能であることが確認されました。この結果、多くのVUSが再分類され、300名以上の患者さんに医療管理計画に関する重要な情報が提供されました。Kotler et al. (2018年)<sup>5</sup>のようなデータセットの大きな研究は、バリエーション再分類、そしてVUSの病的バリエーション/遺伝子多型再分類に大きな影響を及ぼします。

## 4

## 結論

臨床的意義が不明のバリエーション (VUS) は遺伝子検査で日常的に検出されるものですが、検査前後のカウンセリングで適切な説明を行ったとしても、不安や誤解を招く可能性があります。したがって、バリエーションを正確に分類・再分類することの重要性はいくら強調しても強調しすぎることはありません。ミリアドは、これまでに培った経験を活かすとともに、バリエーション分類に継続的に投資することにより、ACMGガイドラインと精度の高い独自の分類ツールを統合したダイナミックなアプローチを実現しました。その結果、VUS率は一貫して減少し続けています。新しいバリエーションが日々発見され、ミリアドの遺伝子パネルに追加すべき新たな遺伝子がないか継続的な評価が行われていますが、VUS率は減少し続けると予想されます。確定的な分類により、臨床的に意義のある結果を報告することで、患者さんご家族の不安をやわらげることができるように医療従事者をサポートします。

#### 参考文献

1. Daly MB, Pilarski R, Berry M, et al: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, Genetic/Familial High-Risk Assessment: Breast and Ovarian (Version 3.2019), NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology, 2019.
2. Richards S, Aziz N, Bale S, et al: Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 17:405-424, 2015.
3. Mersch J, Brown N, Pirzadeh-Miller S, et al. Prevalance of Variant Reclassification Following Hereditary Cancer Genetic Testing. *JAMA* 320 (12) 1266-1274, 2018.
4. Rhine CL, Cygan KJ, Soemedi R, et al: Hereditary cancer genes are highly susceptible to splicing mutations. *PLOS Genetics* 14:e1007231, 2018.
5. Kotler E, Shani O, Goldfeld G, et al. A Systematic p53 Mutation Library Links Differential Funcational Impact to Cancer Mutation Pattern and Evolutionary Conservation. *Molecular Cell* 71:178-190, 2018.



Myriad  
genetics

ミリアド・ジェネティクス合同会社

〒163-0455 東京都新宿区西新宿2丁目1番1号  
新宿三井ビルディング55階

[www.myriadgenetics.jp](http://www.myriadgenetics.jp)

Myriad, the Myriad logo, BRACAnalysis and the BRACAnalysis logo are either trademarks or registered trademarks of Myriad Genetics, inc., in the United States and other jurisdictions.  
©2022, Myriad Genetics GmbH. Not for distribution outside of Japan.