

日本における遺伝性網膜ジストロフィの
バリエント解釈基準
(Specification of Variant Interpretation Guidelines
for Inherited Retinal Dystrophy in Japan)

国立大学法人宮崎大学 池田 康博

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学 西口 康二 (代表)

国立大学法人長崎大学 大石 明生

国立大学法人九州大学 秋山 雅人

独立行政法人国立病院機構東京医療センター 藤波 芳

はじめに

遺伝性網膜ジストロフィ (inherited retinal dystrophy: IRD) に対して、原因遺伝子・病的バリエント (変異) を対象とした遺伝子治療が世界各国で始まっている。そのため、正確な遺伝学的検査・診断を実施することが临床上必須となりつつあり、本邦でもIRD患者を対象とした遺伝学的検査を保険収載する準備が進められている。また、それに合わせて、「網膜脈絡膜・視神経萎縮症に関する調査研究」(厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業) (以下、研究班) において作成された「網膜ジストロフィにおける遺伝学的検査のガイドライン(案)」も、網膜硝子体学会のホームページにてすでに公開されている。しかし、遺伝学的検査で得られた結果の解釈が医師や施設により異なると、診断だけでなく、今後実施される治療の適応条件の判定に際して混乱を生じる可能性がある。したがって、IRDに対する遺伝学的検査を実臨床に応用するためには、統一されたIRDの病的バリエントの判定基準を策定する必要がある。しかし、バリエントの病原性の解釈において一般的に用いられる、疾患横断的な基準であるAmerican College of Medical Genetics and Genomics (ACMG)によるガイドラインには、具体性が乏しい項目が含まれ、これまでバリエントによっては施設間の病原性の判断に差異が生じることが問題であった。遺伝子治療、RNA治療、遺伝子(バリエント)特異的薬物治療など、遺伝学的診断に基づいた高額な治療の実用化が進んでいくなかで、統一した遺伝学的診断の実現は重要な課題であり、解決のためには、IRDの疾患特異性・民族性を考慮した独自の判定基準を設定する必要がある。ACMGガイドラインなどを考案する国際グループである、Clinical Genome Resource (ClinGen) では、IRDについて4グループにおいて、疾患カテゴリーや病的バリエントについての定義づけを行っているものの、具体的情報の発出に至っていない。そのような社会的需要を受けて、研究班にワーキンググループを設置し、「日本における遺伝性網膜ジストロフィのバリエント解釈基準」の案を策定した。

同ガイドラインを提案するにあたり、基本デザインとしてACMGガイドラインを採用し、これまで広く認知されている疾患横断的な追加ガイドラインを組み込んだものを骨格とした。また、多数の責任遺伝子が報告されている単一遺伝子疾患群である遺伝性難聴とIRDは類似点が多いため、すでに広く運用実績があり、内容が詳細にわたり制定されている遺伝性感音性難聴(Sensorineural hearing loss : SNHL)ACMGガイドラインを参照する形で多くの評価

項目を設定した。そのうえで、曖昧さを残した項目に対しては、独自に判定基準を規定し、さらに日本人のIRDの特徴を考慮して、新たに基準を設定した。そのようにして作成されたガイドラインは、2度にわたるテスト運用とその後の修正を経て、「日本における遺伝性網膜ジストロフィのバリエント解釈基準」として研究班に提出された。

概要

日本における遺伝性網膜ジストロフィのバリエント解釈基準（Specification of Variant Interpretation Guidelines for Inherited Retinal Dystrophy in Japan）は、世界標準となっている疾患横断的バリエント解釈基準であるACMGガイドライン（表1、表2、文献1）を基本デザインとし、さらに遺伝性感音難聴用にカスタマイズされたガイドラインで採用された修正項目（表3、文献2）の多くを取り入れた。そのうえで、IRD特有の疾患頻度、アレル頻度、表現型・遺伝型における特徴を加味し、さらに必要な修正を加えた。

基本デザインとしたACMGガイドラインに対して修正を加えた点（表4）について説明する。

表1 ACMGガイドラインの項目と判定基準の概要

	項目	各項目に対する判定基準の概要
1	PVS1	Null variant (nonsense, frameshift, canonical ± 1 or 2 splice sites, initiation codon, single or multiexon deletion) in a gene where LOF is a known mechanism of disease.
2	PS1	Same amino acid change as a previously established pathogenic variant regardless of nucleotide change.
3	PS2	De novo (both maternity and paternity confirmed) in a patient with the disease and no family history.
4	PS3	Well-established in vitro or in vivo functional studies supportive of a damaging effect on the gene or gene product.
5	PS4	The prevalence of the variant in affected individuals is significantly increased compared with the prevalence in controls.
6	PM1	Located in a mutational hot spot and/or critical and well-established functional domain (e.g., active site of an enzyme) without benign variation.
7	PM2	Absent from controls (or at extremely low frequency if recessive) in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium.
8	PM3	For recessive disorders, detected in trans with a pathogenic variant
9	PM4	Protein length changes as a result of in-frame deletions/insertions in a non-repeat region or stop-loss variants.
10	PM5	Novel missense change at an amino acid residue where a different missense change determined to be pathogenic has been seen before.
11	PM6	Assumed de novo, but without confirmation of paternity and maternity.
12	PP1	Cosegregation with disease in multiple affected family members in a gene definitively known to cause the disease.
13	PP2	Missense variant in a gene that has a low rate of benign missense variation and in which missense variants are a common mechanism of disease.
14	PP3	Multiple lines of computational evidence support a deleterious effect on the gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc.)
15	PP4	Patient's phenotype or family history is highly specific for a disease with a single genetic etiology.
16	PP5	Reputable source recently reports variant as pathogenic, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation.
17	BA1	Allele frequency is $>5\%$ in Exome Sequencing Project, 1000 Genomes Project, or Exome Aggregation Consortium.
18	BS1	Allele frequency is greater than expected for disorder.
19	BS2	Observed in a healthy adult individual for a recessive (homozygous), dominant (heterozygous), or X-linked (hemizygous) disorder, with full penetrance expected at an early age.
20	BS3	Well-established in vitro or in vivo functional studies show no damaging effect on protein function or splicing.
21	BS4	Lack of segregation in affected members of a family.
22	BP1	Missense variant in a gene for which primarily truncating variants are known to cause disease.
23	BP2	Observed in trans with a pathogenic variant for a fully penetrant dominant gene/disorder or observed in cis with a pathogenic variant in any inheritance pattern.
24	BP3	In-frame deletions/insertions in a repetitive region without a known function.
25	BP4	Multiple lines of computational evidence suggest no impact on gene or gene product (conservation, evolutionary, splicing impact, etc.)
26	BP5	Variant found in a case with an alternate molecular basis for disease.
27	BP6	Reputable source recently reports variant as benign, but the evidence is not available to the laboratory to perform an independent evaluation.
28	BP7	A synonymous (silent) variant for which splicing prediction algorithms predict no impact to the splice consensus sequence nor the creation of a new splice site AND the nucleotide is not highly conserved.
<p>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 2015;17:405-24. より一部抜粋</p> <p>各判定基準は、very strong (PVS1)、strong (PS1-4)、moderate (PM1-6)、またはsupporting (PP1-5)として重み付けされ、各良性基準は、stand-alone (BA1)、strong (BS1-4)またはsupporting (BP1-6)として重み付けされる。</p>		

表 2. バリエントの総合評価のための基準		
Pathogenic	合算判定基準	
1	Very Strong (PVS1) AND	
	a	≥1 Strong (PS1-PS4) OR
	b	≥2 Moderate (PM1-PM6)
	c	1 Moderate (PM1-PM6) and 1 Supporting (PP1-PP5)
	d	≥2 Supporting (PP1-PP5)
2	≥2 Strong (PS1-PS4)	
3	1 Strong (PS1-PS4) AND	
	a	≥3 Moderate (PM1-PM6)
	b	2 Moderate (PM1-PM6) AND ≥2 Supporting (PP1-PP5)
	c	1 Moderate (PM1-PM6) AND ≥4 Supporting (PP1-PP5)
Likely Pathogenic	合算判定基準	
	1 Very Strong (PVS1) AND 1 Moderate (PM1-PM6)	
	1 Strong (PS1-PS4) AND 1-2 Moderate (PM1-PM6)	
	1 Strong (PS1-PS4) AND ≥2 Supporting (PP1-PP5)	
	≥3 Moderate (PM1-PM6) OR	
	2 Moderate (PM1-PM6) AND ≥2 Supporting (PP1-PP5)	
	1 Moderate (PM1-PM6) AND ≥4 Supporting (PP1-PP5)	
Benign	合算判定基準	
	1 Stand-Alone (BA1)	
	≥2 Strong (BS1-BS4)	
Likely Benign		
	1 Strong (BS1-BS4) and 1 Supporting (BP1-BP7)	
	≥2 Supporting (BP1-BP7)	
他の基準を満たさない場合、あるいは病的と良性の基準が相反する場合、バリエントはUncertain Significance(VUS)に分類される。		

表 3. 難聴 (NSHL)ACMGのカスタマイズ内容の要約	
評価項目	詳細設定内容
PS1, PP3, BS4, BP4, BP5	全般的な推奨ルールの設定
PS3, PM1, PM2, PP4, BA1, BS4, BP2	遺伝子、疾患単位の詳細設定
PVS1, PS2, PM3, PM5, PM6, PP1, BS3	重みづけ (strength level)の詳細設定
PS4, BS1, BS2	遺伝子、疾患単位の詳細設定、ならびに重みづけ (strength level)の詳細設定
PM4, BP3, BP7,	変更なし
PP2, PP5, BP1, BP6	判定基準からの削除
総合評価項目	変更内容
Likely pathogenic 基準の変更	PVS1 and PM2_Supporting = likely pathogenic
Likely benign 基準の変更	BS1 without valid conflicting evidence
Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. Hum Mutat 2018;39:1593-1613.より抜粋	

日本における遺伝性網膜ジストロフィのバリエーション解釈基準の変更点のまとめ

表 4. ACMGガイドライン（基本デザイン）からの変更点のまとめ			
	項目	項目詳細	追加コメント
1	PVS1	ClinGen SVI決定ワークフローの採用 (PVS1 strong/moderate/supporting)	Splice site alterationについては、canonical splice site (+/-2bp)が主な適応対象
2	PS1	変更なし	ACMG ガイドライン（基本デザイン）に準拠
3	PS2	難聴（SNHL）ガイドラインに準拠 (Very strong/strong/moderate/supporting)	両親の表現型、遺伝子型が特定されている場合に適応
4	PS3	Transgenic animal でPhenocopyを示す	mini-gene assayやzebrafish model研究等で機能変化が同定されたものはPS3_moderateに該当
5	PS4	変更なし	
6	PM1	RP1 (amino acid 650-780)、CRX cone-rod homeobox protein (39-99)、PRPH2 D2 Loop (123-265)が該当	
7	PM2	潜在アレル頻度 < 0.00002、顕性アレル頻度 < 0.00001	gnomAD, HGVD, Tommo8.3k JPNのそれぞれで頻度閾値以下である事が条件
8	PM3	難聴（SNHL）ガイドラインに準拠 (Very strong/strong/moderate/supporting)	Pathogenicに加えてlikely pathogenicを適応とする
9	PM4	変更なし	Exon全体がdeletionするものはPVS1カテゴリ該当するため、対象外
10	PM5	Likely pathogenicやVUSバリエーションについて評価対象とする。VUS1個0.5ポイント、Pathogenic1個1.0とポイントとして合算。合計0.5ポイントでsupporting 1.0ポイントでmoderateのエビデンス	Evolutionary conservation score 0.3以下は対象としない
11	PM6	難聴（SNHL）ガイドラインに準拠 (Very strong/strong/moderate/supporting)	両親の表現型、遺伝子型が特定されている場合に適応
12	PP1	難聴（SNHL）ガイドラインに準拠 (Strong/moderate/supporting)	表現型、遺伝子型が特定されている場合に適応
13	PP2	採用なし	遺伝子のサイズ等により判定精度にばらつきを乗じる為適応外
14	PP3	REVEL, MaxEntScan, Human Splice Finder, Splicing AIを適応	REVEL scores ≥ 0.7 or damaging splice sight alteration
15	PP4	SAG/GRK1と小口病, CYP4V2とクリスタリン網膜炎, NR2E3と青錐体増幅症候群が該当	
16	PP5	ClinVARのcriteria providedのレベルのものを採用	HGMDは関連文献の参照に有用であるものの、病原性の判断精度の評価が困難
17	BA1	潜在アレル頻度 > 0.01、顕性アレル頻度 > 0.0003	表現型や遺伝子によっては、根拠となる疾患頻度が大きく異なるため、該当しない場合がある
18	BS1	0.001<潜在アレル頻度<0.01、 0.00006< 顕性アレル頻度<0.0003	表現型や遺伝子によっては、根拠となる疾患頻度が大きく異なるため、該当しない場合がある
19	BS2	成人発症が想定される表現型もしくは遺伝子やバリエーションの場合は該当しない	
20	BS3	変更なし	
21	BS4	成人発症が想定される表現型もしくは遺伝子やバリエーションの場合は該当しない	
22	BP1	採用なし	
23	BP2	変更なし	
24	BP3	変更なし	
25	BP4	REVEL scores < 0.15 or no damaging splice sight alteration	REVEL, MaxEntScan, Human Splice Finder, Aplicing AIを適応
26	BP5	変更なし	
27	BP6	ClinVARのcriteria providedのレベルのものを採用	HGMDは関連文献の参照に有用であるものの、病原性の判断精度の評価が困難
28	BP7	No splice sight alteration	主にexon edgeから+/- 2bpのものを対象とし、MaxEntScan, Human Splice Finder, Aplicing AIを適応

Population database (BA1, BS1, PM2)

一般的に、単一遺伝子疾患の疾患頻度や遺伝形式（顕性（優性）、潜性（劣性））により、推定されるアレル頻度の上限値（閾値）は異なる。本ガイドラインでは、300-500出生に1人とされる遺伝性感音性難聴(sensorineural hearing loss: SNHL)に対して難聴（SNHL）ガイドラインで設定された閾値を参考にし（文献2）、4,000~8,000出生に1人とされる

本邦のIRD（文献3）で想定されるアレル頻度閾値を推定した。顕性IRD（AD-IRD）はアレル頻度 <0.00001 、潜性IRD（AR-IRD）はアレル頻度 <0.00002 をそれぞれの上限值（閾値）として、PM2の判定基準を定めた。BA1については、顕性IRD（AD-IRD）はアレル頻度 >0.0003 、潜性IRD（AR-IRD）はアレル頻度 >0.01 とした。一般に、BA1が該当した場合はこの項目単独で病原性なし（benign）と判定されるが、アレル頻度が高い病的バリエントの存在も報告されている。そのため、他の項目で十分なエビデンスが構築されたバリエントについては、討議のうえ本項目は除外対象となりうる。また、表現型や遺伝子によっては、根拠となる疾患頻度が大きく異なるため、そもそも頻度閾値が該当しない場合がある

グローバルなアレル頻度の参照にはgnomAD(<https://gnomad.broadinstitute.org/>)のexome total population, population max、日本人特異的なアレル頻度算出にはHGVD(<https://www.hgvd.genome.med.kyoto-u.ac.jp/>)とTommoJPN(<https://www.megabank.tohoku.ac.jp/>)を利用し、それぞれのデータベースにおいて前述した閾値条件に該当した場合に、本項目の基準を満たす。

Loss of function variants (PVS1, PVS1_Strong, PVS1_Moderate, PVS1_Supporting)

機能喪失型（Loss of function）バリエントの判定に関しては、追加で発表されたPVS1ガイドラインに掲載されたフローチャートに基づいて判断する（図1、文献4）。追加ガイドラインでは、バリエントの種類や残存タンパク質の有無によってエビデンスの強度が異なるのが特徴である。なお、スプライス部位に関するバリエントについては、canonical splice site (+/-2bp)を主な評価対象とし、その他のスプライス部位バリエントについては、機能的なエビデンス等が存在する場合は検討の対象とした。

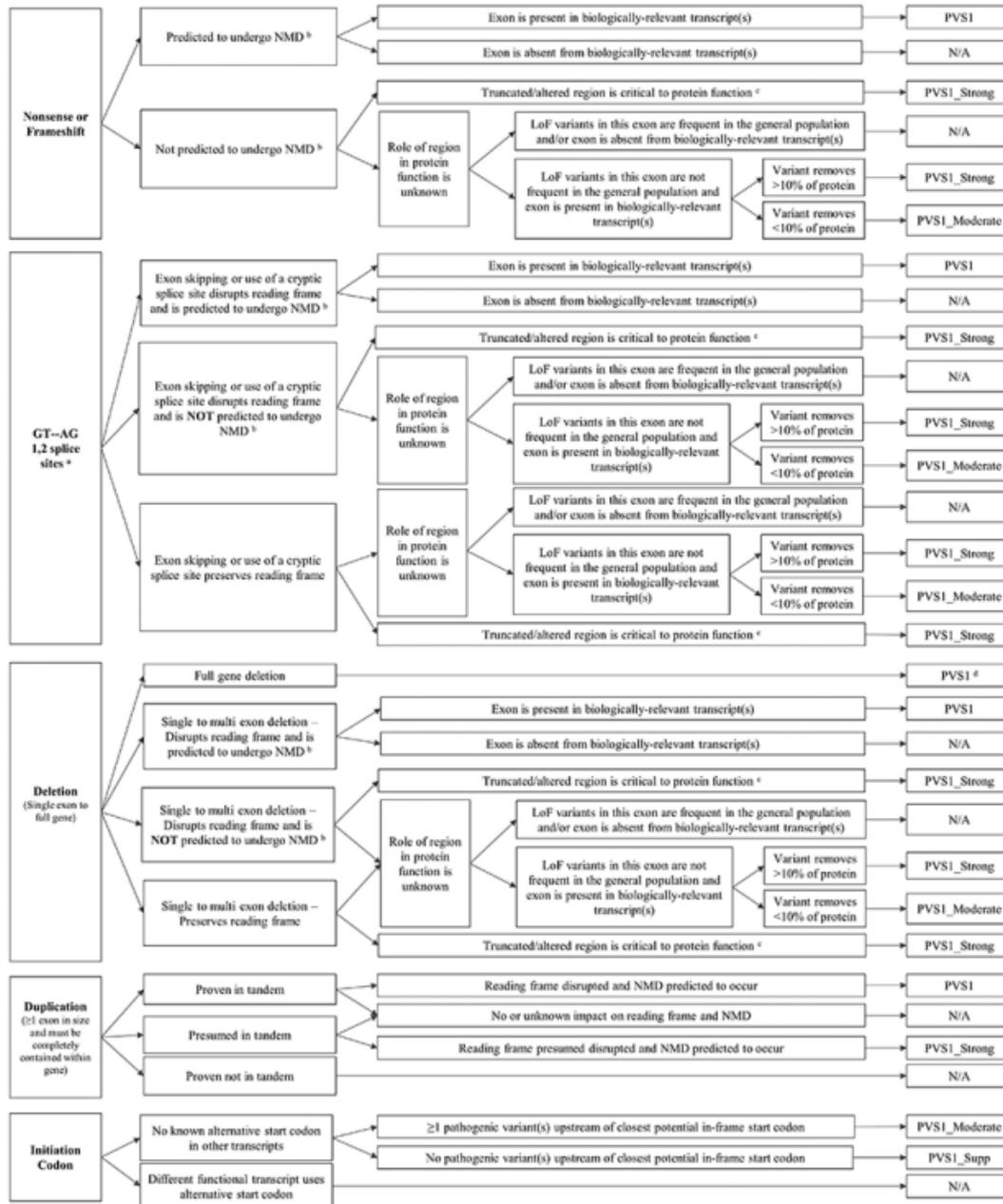


図1 機能喪失型バリエントの評価方法 (PVS1 ワークフロー)

NMD, nonsense-mediated decay; LoF, loss of function.

Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. Hum Mutat 2018;39:1517-1524. より転載。

Variants affecting the same acid residue (PS1, PM5)

ACMGガイドライン (基本デザイン) では、同じアミノ酸残基に確立された病的バリエントが存在する場合、病原性のstrong evidence (PS1)もしくはmoderate evidence (PM5)とみな

される。PS1については基本デザインを踏襲しつつ、PM5については過去にlikely pathogenicや意義不明 (Variant of unknown significance、VUS) と判定されたバリエントも判定材料に含めた独自の評価方法を設定する。すなわち、VUS1個を0.5ポイント、Pathogenic/Likely pathogenicバリエント1個を1.0ポイントとし、合算で0.5ポイントをsupporting evidence、1.0ポイント以上をmoderate evidenceとする。

また、判定の際に、evolutionary conservationについての検討が必要である。Evolutionary conservation score (UCSC, phylo P, phast cons等を参照: <https://genome.ucsc.edu/>)が顕著に低いもの (0.3以下) については、評価を行わない。

Computational predictive tools (PP3, BP4, BP7)

ACMGガイドライン (基本デザイン) では複数のprediction softwareが提示されているが、本提案では、難聴 (SNHL) ガイドラインに従い、総合評価ツールであるREVELをミスセンスバリエントに対して適応する。REVEL スコアのカットオフ値の設定は既報に従い、0.7以上をsupporting evidence for pathogenic (PP3)、0.15以下をsupporting evidence of benign (BP4)と設定した (文献5)。

スプライス部位変化予測については、以下3種のソフトウェアの基準のいずれかに該当した場合、総合的に判断し、エビデンスとして採用可能とする。MaxEntScan (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) でscore (diff) > 3 (文献6)、Human Splice Finder (<http://umd.be/Redirect.html>) でのinterpretationでmost probably affecting splicingかそれより重篤な評価 (文献7)、もしくはSplicing AI (<https://asia.ensembl.org/index.html>) でscore (delta) 0.8 > (high precision) であった場合に、スプライス部位の変化を想定する。

Functional studies (PS3, BS3)

Transgenic animal modelで遺伝子バリエントにより網膜表現型の再現 (phenocopy) が示されているものがstrong evidenceに該当する。Mini gene assayやzebrafish modelなどの確立された実験系を用いた機能解析で、バリエントによる遺伝子機能の変化が示された場合は、moderate evidenceとして採用する。

Mutational hot spots or functional domains (PM1)

Mutational hot spotsとして、顕性網膜色素変性（AD-RP）におけるRP1の650-780番アミノ酸（truncating variants）と顕性IRD（AD-IRD）におけるCRXの39-99番アミノ酸（ミスセンスバリエーション）、functional domainとして、顕性IRD（AD-IRD）におけるPRPH2のD2 Loopを構成する123-265番アミノ酸（ミスセンスバリエーション）が本項目に該当する。

Segregation data (PP1, PP1_moderate, PP1_Strong, BS4)

家族内共分離を目的とした家族における情報（segregation data）については、顕性遺伝（図2）と潜性遺伝（図3）に分けてエビデンスに重みづけを行っている難聴（SNHL）ガイドラインに従う。表現型（phenotype）と遺伝型（genotype）の両者が一致した血縁者の人数とその確度に応じて3つのレベルのエビデンスを設定する。但し、BS4において、成人発症が想定される表現型もしくは遺伝子やバリエーションの場合は同項目は該当しない。

General recommendations			
	Supporting	Moderate	Strong
Likelihood	4:1	16:1	32:1
LOD Score	0.6	1.2	1.5
Autosomal dominant threshold	Two affected segregations	Four affected segregations	Five affected segregations
Autosomal recessive threshold	See Table 5	See Table 5	See Table 5

図2 難聴（SNHL）ACMGガイドラインにおける顕性遺伝の家族解析の評価方法（PP1：segregation evidence）

Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. Hum Mutat 2018;39:1593-1613.より転載

General recommendations (phenocopy not an issue)												
Unaffected recessive segregations												
Affected segregations	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	0	0.12	0.25	0.37	0.5	0.62	0.75	0.87	1	1.12	1.25	
1	0.6	0.73	0.85	0.98	1.1	1.23	1.35	1.48	1.6	1.73	1.85	
2	1.2	1.33	1.45	1.58	1.7	1.83	1.95	2.08	2.2	2.33	2.45	
3	1.81	1.93	2.06	2.18	2.31	2.43	2.56	2.68	2.81	2.93	3.06	
4	2.41	2.53	2.66	2.78	2.91	3.03	3.16	3.28	3.41	3.53	3.66	
5	3.01	3.14	3.26	3.39	3.51	3.63	3.76	3.88	4.01	4.13	4.26	
6	3.61	3.74	3.86	3.99	4.11	4.24	4.36	4.49	4.61	4.74	4.86	
7	4.21	4.34	4.46	4.59	4.71	4.84	4.96	5.09	5.21	5.34	5.46	
8	4.82	4.94	5.07	5.19	5.32	5.44	5.57	5.69	5.82	5.94	6.07	
9	5.42	5.54	5.67	5.79	5.92	6.04	6.17	6.29	6.42	6.54	6.67	
10	6.02	6.15	6.27	6.4	6.52	6.65	6.77	6.9	7.02	7.15	7.27	

図3 難聴（SNHL）ACMGガイドラインにおける潜性遺伝の家族解析の評価方法（PP1：segregation evidence）

Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. Hum Mutat 2018;39:1593-1613.より転載

De novo occurrence (PS2, PS2_very strong, PS2_moderate, PS2_supporting, PM6)

ACMGガイドライン（基本デザイン）では、De novoバリエントの母性・父性が未確認の場合は「PM6」、父性および母性が確認済みの場合は「PS2」が適用される。本ガイドラインでは、難聴（SNHL）ガイドラインに従い、さらに表現型/遺伝型の特異性の高さに重みづけを行ったポイント制を採用し、さらに発端者の数に応じてポイントを加算することができる（図4）。

Phenotypic consistency	Points per proband	
	Confirmed de novo	Assumed de novo
Phenotype highly specific for gene	2	1
Phenotype consistent with gene but not highly specific	1	0.5
Phenotype consistent with gene but not highly specific and high genetic heterogeneity ^a	0.5	0.25
Phenotype not consistent with gene	0	0

Supporting (PS2_Supporting or PM6_Supporting)	Moderate (PS2_Moderate or PM6)	Strong (PS2 or PM6_Strong)	Very Strong (PS2_VeryStrong or PM6_VeryStrong)
0.5 points	1.0 points	2.0 points	4.0 points

^aMaximum allowable value of 1 may contribute to overall score.

図4 難聴（SNHL）ACMGガイドラインにおけるDe novoバリエントの評価法

Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. Hum Mutat 2018;39:1593-1613.より転載

Allelic data (PM3, BS2)

ACMGガイドライン（基本デザイン）では潜在性遺伝性疾患の場合、評価対象バリエントの対立アレル上に病的バリエントが同定された場合（つまり複合ヘテロ接合体になる）、moderate evidenceとなる。本ガイドラインでは、難聴（SNHL）ガイドラインに従い、同定された病的バリエントの対立アレル情報（Phase情報）の有無や病的バリエントが同定された発端者の数（=家系数）に応じて異なるポイントが付与されるシステムを用いる。さらに、評価対象バリエントがホモ接合体である場合も、家族歴によって異なるポイントが付与され、最終的にポイントの合算でエビデンスの強度が決まる（図5）。但し、BS2において、成人発症が想定される表現型もしくは遺伝子やバリエントの場合は同項目は該当しない。

Classification/zygosity of other variant	Points per proband	
	Known in trans	Phase unknown
Pathogenic/likely pathogenic	1.0	0.5
Homozygous occurrence (max points from homozygotes = 1.0)	0.5	N/A
Rare uncertain significance variant on other allele, or homozygous occurrence due to consanguinity, (max point = 0.5)	0.25	N/A

SUPPORTING (PM3_Supporting)	Moderate (PM3)	Strong (PM3_Strong)	Very strong (PM3_Very Strong)
0.5 points	1.0 points	2.0 points	4.0 points

図5 難聴 (SNHL) ACMGガイドラインの対立アレル上の病的潜在バリエントの評価法

Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. Hum Mutat 2018;39:1593-1613.より転載

Phenotypic data (PP4, BP5)

ACMGガイドライン（基本デザイン）では、特異的な表現型を示す疾患が単一の責任遺伝子に起因する場合、その表現型に一致する遺伝子にバリエントが同定された場合、supporting evidenceと考える。本ガイドラインでは、特異的な表現型を単一の責任遺伝子と限定せず、以下の遺伝子と表現型の関連性がエビデンスに相当すると定義した。

- SAG/GRK1とOguchi disease: prominent golden reflex seen circumferentially
- CYP4V2とBietti crystalline corneoretinal dystrophy: Presence of crystalline deposits diffusely scattered throughout the fundus
- NR2E3とEnhanced S-cone syndrome : Pathognomonic electrophysiological features (slow rod-like response that appears similar in waveform under both scotopic and photopic conditions)

Reputable source (PP5, BP6)

ACMGガイドライン（基本デザイン）では、評価対象バリエントが信頼できるソース (reputable source) により、過去に病原性ありと報告されている場合、supporting evidenceに相当すると考える。これに対して、本ガイドラインでは、信頼できるソースにより報告された病的バリエントの定義として、ClinVAR(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>)の「criteria provided」に分類され、その評価方法が明記されているものとした。他方で、HMGD(<http://www.hgmd.cf.ac.uk/>)などにおいて、病原性の評価基準が明記されていないバリエントは該当しない。

さいごに

近い将来、ゲノム解析技術やデータサイエンスの進歩にけん引されて、ゲノム診断・治療の役割が増大することが予測される。本ガイドラインは、IRDの遺伝学的診断の普及を見据え、本邦のIRDのバリエント評価の効率化と画一化を目的に、日本における遺伝性網膜ジストロフィのバリエント解釈基準を示したものである。しかし、同領域の技術的進歩は目覚ましく、引き続いてガイドラインの定期的な見直しを要すると考えられる。

引用文献

1. 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* 2015;17:405-24.
2. Oza AM, DiStefano MT, Hemphill SE, et al. Expert specification of the ACMG/AMP variant interpretation guidelines for genetic hearing loss. *Hum Mutat* 2018;39:1593-1613.
3. 網膜色素変性診療ガイドライン作成ワーキンググループ. 網膜色素変性診療ガイドライン. *日本眼科学会雑誌* 2016;120:846-861.
4. Abou Tayoun AN, Pesaran T, DiStefano MT, et al. Recommendations for interpreting the loss of function PVS1 ACMG/AMP variant criterion. *Hum Mutat* 2018;39:1517-1524.
5. Ioannidis NM, Rothstein JH, Pejaver V, et al. REVEL: An Ensemble Method for Predicting the Pathogenicity of Rare Missense Variants. *Am J Hum Genet* 2016;99:877-885.
6. Xiang J, Peng J, Baxter S, Peng Z. AutoPVS1: An automatic classification tool for PVS1 interpretation of null variants. *Hum Mutat* 2020;41:1488-1498.
7. Desmet FO, Hamroun D, Lalande M, Collod-Beroud G, Claustres M, Beroud C. Human Splicing Finder: an online bioinformatics tool to predict splicing signals. *Nucleic Acids Res* 2009;37:e67.