

201024090A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

オピッツ三角頭蓋症候群の症状把握と発達予後  
予測に重要な分子メカニズムの解明に関する研究

平成22年度 総括・分担研究報告書

平成23年(2011)年3月

研究代表者 要 匡

# 目次

I.	総括研究報告	
	オピッツ三角頭蓋症候群の症状把握と発達予後予測に重要な分子メカニズムの 解明に関する研究.....	3
	要  匡 (琉球大学大学院医学研究科遺伝医学講座)	
II.	分担研究報告	
	1. オピッツ三角頭蓋症候群の症状把握に関する研究.....	17
	成富研二 (琉球大学大学院医学研究科遺伝医学講座)	
	2. 患者細胞からの iPS 細胞樹立に関する研究.....	23
	宮崎  徹 (東京大学大学院医学研究科お疾患生命工学センター)	
III.	平成22年度班員名簿.....	27
IV.	研究成果の刊行に関する一覧表.....	31
V.	研究成果の刊行物等.....	37

# I 総括研究報告

厚生労働科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告書

オピッツ三角頭蓋症候群の症状把握と発達予後予測に重要な分子メカニズムの解明に  
関する研究

研究代表者 要 匡 琉球大学大学院医学研究科遺伝医学 准教授

**研究要旨**

本研究は、オピッツ三角頭蓋症候群の症状と頻度を把握するとともに原因とその分子メカニズムについて明らかにすることを目的とした。症状の把握については、現在までに蓄積された25例のオピッツ三角頭蓋患児（海外を含む）、および新規に収集できた8例のオピッツC様症候群（海外を含む）をまとめ、診断に重要な症状を検討した。CD96遺伝子以外の原因調査目的で、CD96に変異を認めない家族検体でのエクソンキャプチャーおよび次世代シーケンサーによるリシーケンス解析を行い、有意な多型（変異）を抽出した。また、簡便なCD96遺伝子診断法として、高精度融解曲線分析法による変異スキャンニングシステムを構築した。さらに、CD96の*in vitro*リガンド解析により、CD96と反応するタンパク質を同定した。これら結果をもとに、さらに詳細な解析を行うことで、オピッツ三角頭蓋症候群の全体像が明らかになると考えられる。

**研究分担者**

成富研二・琉球大学大学院医学研究科 遺  
伝医学 教授

宮崎 徹・東京大学大学院医学研究科 疾  
患生命工学センター 教授

目的とする。

三角頭蓋自体は、前頭縫合の形成障害により生じ、診断も比較的容易に行われるが、他の症状を併せ持ち、発達予後に影響するオピッツ三角頭蓋症候群は診断が困難である。よって、三角頭蓋のみから病態を区別し、発達を含めた予後などに関する推定は困難なことが多い。従って、オピッツ三角頭蓋症候群の原因・病態を明確にすることは、治療・療育を考える上で重要である。このオピッツ三角頭蓋症候

**A. 研究目的**

本研究は、奇形症候群の一つオピッツ三角頭蓋症候群の症状と頻度を把握するとともに原因とその分子メカニズムについて明らかにして発達予後を含めた診断を可能にすることを

群は症状も比較的範囲が広く、かつ遺伝的異質性があることが知られている。研究者らは、オピッツ三角頭蓋症候群に、均衡型染色体転座 (t(3;18)) を伴った患児の染色体切断点解析から原因遺伝子の一つ (CD96 遺伝子) を単離した。しかしながら、日本人の三角頭蓋症候群 12 人中 CD96 遺伝子の異常を認めたのは 4 人で残り 8 人には異常を認めず、多くの症例では、他の原因があると考えられた。また、海外での本症候群患者の CD96 遺伝子解析結果からも、本遺伝子によるものは、限られた一部と言わざるを得ない。

オピッツ三角頭蓋症候群の全体の解明には、他の原因も特定されるべきであるが、本症候群は、孤発例が多く連鎖解析が困難で、染色体変化の認められないものについての解析は難しい面があった。

そこで、本研究では、患児とその家族において、次世代シーケンサーを用いて、全エクソンのシーケンス解析を行い、配列を比較解析し、また、CD96 のシグナル伝達を解明することで全体像を明らかにすることを目的とする。原因が特定された際、患児培養細胞や患児由来 iPS 細胞を樹立する。また、三角頭蓋の発症と神経発達に重要なカスケードを明らかにするため、骨芽細胞、神経細胞への誘導を試みる。加えて、遺伝子変異と臨床症状との比較をおこない、その関係を明らかにする。以上より、発達予後を含

めた診断が可能となると思われる。

## B. 研究方法

研究は、以下について行った。

### 1) オピッツ三角頭蓋症候群の症状総括

オピッツ三角頭蓋症候群について、今までに報告のあるもの、検体情報を収集できたものについて、臨床症状をリストアップし、頻度を算出した (オピッツ三角頭蓋症候群 25 例、オピッツ C 様症候群新規 8 例 (いずれも海外症例を含む))。また、必須症状等をゲシュタルトと合わせて判定し、臨床的に重要な所見、および予後との関連性をまとめた。

### 2) 患児家族での全エクソンキャプチャー

オピッツ三角頭蓋患者のうち、家族内で全エクソンのキャプチャーを行った。対象は、罹患者 (同胞内に非罹患者がいる場合は非罹患者も対象とする)、および両親とし、全員に対し同じ手法でキャプチャーを行った。

キャプチャーは、血液由来ゲノム DNA より、Roche 社の全エクソンアレイ (SeqCap) または illumina 社の全エクソンアレイ (TruSeq) を用いて行った。

### 3) 全エクソンシーケンスと比較解析

全エクソンシーケンス解析は、患

者の他、コントロール（家族内非罹患者）検体についても同様に行い、互いにシーケンスを比較することで、有意な変異の検出を行った。全エクソンシーケンスデータ取得は、沖縄健康バイオセンター内に設置の次世代シーケンサー(SOLiD 4)で行った。得られたシーケンスデータは、SOLiD 4 パイプラインソフトウェア、NextGENe (SoftGenetics 社) を用いて reference 配列へのアセンブル、SNP コール、indel コールなどの解析を行った。

#### 4) 比較解析後のゲノム変化の確認

全エクソンキャプチャーおよびシーケンス後の比較解析により検出された有意な SNP 等の変化について、キャピラリーシーケンサー (3130xl オートシーケンサー) および RocheLightCycler480 にて確認を行った。

患者特異的かつ SNP データベースに未登録の新規のものをピックアップした。それらは、健常人での多型の有無を確認し、有意な変化か多型か検討した。

#### 5) 患者細胞からの iPS 細胞樹立

患者由来の線維芽細胞より、iPS 細胞の樹立を試みた。

患者由来線維芽細胞へ、ウイルスベクター法を用い、OCT3/4, KLF4, SOX2, c-MYC, NANOG 発現カセッ

トを導入し、フィーダー細胞 (マウス EF) 上で培養、胚幹細胞様未分化細胞形態を指標として iPS 細胞単離を行った。単離した細胞の幹細胞の同定は、形態およびアルカリフォスファターゼ活性など未分化マーカーの発現を確認して行った。

#### 6) CD96 遺伝子スクリーニングシステムの構築と CD96 シグナル伝達解析

CD96 遺伝子変異を効率よくスクリーニングできることを目的として、高精度融解曲線分析法 (HRM 法) による変異スキャニングシステムを構築した。また、白血病細胞株 K562 へ CD96 発現ベクターを導入し、CD96 と反応するタンパク質を *in vitro* で検索した。

(倫理面への配慮)

本研究の試料収集にあたっては、琉球大学のヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理委員会の承認を得て行った。検体の収集は、患者および家族に対し、人権擁護への配慮、不利益・危険性の排除、遺伝カウンセリングなどの詳しい説明を行い、書面により同意を得た後、行った。

### C. 研究結果

オピッツ三角頭蓋症候群について、現在までに収集できた症例およびオピッツ C 様症候群 (オピッツ三角頭蓋症候群類似疾患) について、臨床

的に重要と思われる症状の頻度を算出した。

結果、三角頭蓋は100%で、全例に認められる唯一の症状であった。顔貌については、眼裂斜上、内眼角贅皮、耳介後方偏位の頻度が高かった。口腔において歯肉部腫脹・不正は、半数以上に認められ、特に、乳児期の歯肉部腫脹・不正は、頻度が高い他の疾患が知られていないので、診断の有用性が高いと思われた。精神発達遅滞も20/22と高頻度であった。

一方、オピッツ C 様症候群において、三角頭蓋は100%であったが、顔貌は、斜視、眼球突出、耳介後方偏位の頻度が高く、特に眼球突出は、診断的価値が高いと思われた。また、顔面の毛細血管腫、関節拘縮、IUGRも頻度が高く特徴的と思われた。

ダイレクトシーケンス解析にてCD96 遺伝子変異を認めなかった患児1例について、患児及び両親での全エクソンのキャプチャーを行った。

キャプチャー後のDNAは、SOLiD 4でのリシーケンスおよびアセンブル結果からは、ホールゲノムに比較して100倍以上のエクソン濃縮が行われていることが分かった。

SOLiD 4による全エクソンシーケンス解析データを、SOLiD 4パイプラインソフトウェアを用いてリファレンス配列へのアセンブル、SNPコール、indel コールなどの解析をデフ

ォルトで行った。結果、患児、両親についてそれぞれ、61,320, 69,992, 74,525 個の SNP を検出し、12,872, 6,577, 12,909 箇所の indel を検出した。

これらについて、SNP データベース (dbSNP) に登録されておらず、両親との比較で患児に有意と思われる SNP は、528 個であった。

患児に有意とされた SNP コールデータのうち、リードデータの深度の高い20カ所について、キャピラリーシーケンサ (3130xl オートシーケンサー) にて確認を行ったところ、すべて SNP である事が確認できた。それらのうち、健常人 (200 人) での SNP の有無を確認している。

患者由来の線維芽細胞 (1 例) より、レトロウイルスベクター法を用い、OCT3/4, KLF4, SOX2, c-MYC, NANOG 発現カセットを導入し、iPS 細胞の樹立を試みた。

胚幹細胞様未分化細胞形態を指標として iPS 細胞単離を行い、アルカリフォスファターゼ染色により未分化マーカーの発現を確認した。

CD96 全15エクソンを対象として、それぞれ高精度融解曲線分析法 (HRM 法) による変異スキャンニングシステムを構築した。健常者48人を対象とした、HRM 法による CD96 遺伝子スキャンニングを実施し、3つの登録SNP、2つの新規を検出できた。

また、CD96 安定発現白血球細胞 K562 を用いて、CD96 と反応する細胞外マトリックスを検索したところ、親和性の高い分子が分かった（投稿中）。

#### D. 考察

オピッツ三角頭蓋症候群診断のための三角頭蓋以外の症状として、眼裂斜上、内眼角贅皮、耳介後方偏位といった顔貌に加え、歯肉部腫脹・不正は重要な所見と思われた。しかしながら、予後等も含めた診断には、症例のさらなる蓄積が重要と考えられた。

CD96 遺伝子変異を認めないオピッツ三角頭蓋症候群の原因に関して、ホールエクソンキャプチャーによるエクソーム解析は、エクソン濃縮も効率的で、次世代シーケンサによる解析の深度（冗長度）も十分であり、今後、同様な遺伝性疾患の解析に有用であると考えられる。しかしながら、1家族のみでは、検出される SNP 数が多いため、数人（3人～10人）に対して同様の解析を行うことで、効率よく、より確実な結果を得る事ができると思われる。

HRM 法による CD96 遺伝子スキニングは、短時間で新規の多型も検出でき、スクリーニングに有効であると考えられる。

リガンド結合解析により CD96 と親和性の高いタンパク質が確認できたが、これも原因候補としての可能性があると考え

えられる。

#### E. 結論

収集した症例のまとめによって、オピッツ三角頭蓋症候群の、診断のための重要な所見をピックアップすることができた。しかしながら、予後等も含めた診断には、症例のさらなる蓄積が重要と考えられた。

エクソーム解析は、孤発例の多いオピッツ三角頭蓋症候群の新規原因解析にも有用と思われるが、確実な結果を得るため、数例のエクソーム解析の追加が必要と考えられる。

現時点での、オピッツ三角頭蓋症候群の遺伝子診断には、今回構した HRM 法による CD96 遺伝子スキニングが有用であると思われる。

また、今回判明した、CD96 親和性タンパク質は、新たな原因候補としてあげられる。

よって、今後、症例蓄積、エクソーム解析、新規候補遺伝子解析を進める事で全体像が明らかになると考えられる。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表（抜粋）

##### 1. 論文発表

1. Kaname T, Ogura M, Yanagi K, Naritomi K.: A simple program for Venn diagram analysis of SNPs



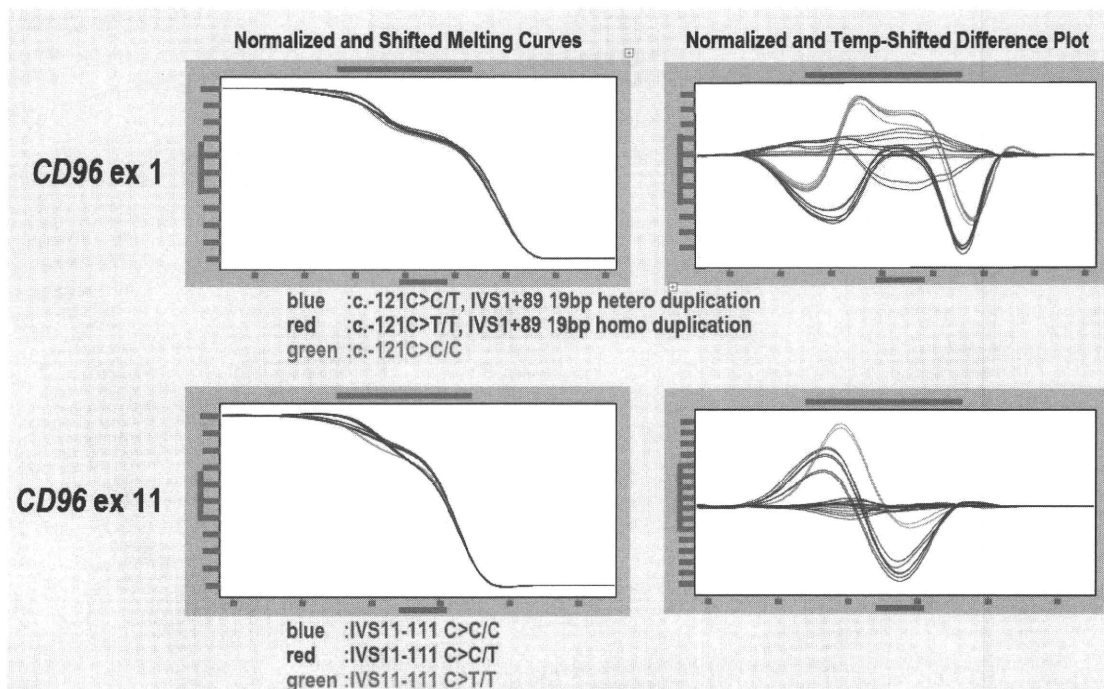
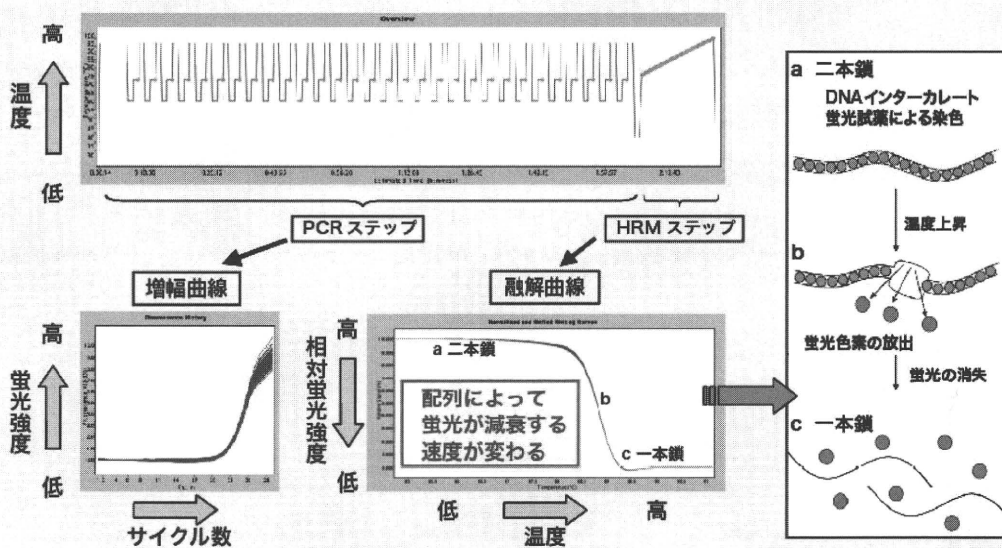
- data from next-generation sequencing. *Ryukyu Med J* in press.
2. Hannibal MC, Buckingham KJ, Ng SB, Ming JE, Beck AE, McMillin MJ, Gildersleeve HI, Bigham AW, Tabor HK, Mefford HC, Cook J, Yoshiura KI, Matsumoto T, Matsumoto N, Miyake N, Tonoki H, Naritomi K, Kaname T, Nagai T, Ohashi H, Kurosawa K, Hou JW, Ohta T, Liang D, Sudo A, Morris CA, Banka S, Black GC, Clayton-Smith J, Nickerson DA, Zackai EH, Shaikh TH, Donnai D, Niikawa N, Shendure J, Bamshad MJ.: Spectrum of MLL2 (ALR) mutations in 110 cases of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet*, 155A:1511-1516 (2011).
  3. Hatin WI, Nur-Shafawati AR, Zahri MK, Xu S, Jin L, Tan SG, Rizman-Idid M, Zilfalil BA; HUGO Pan-Asian SNP Consortium.: Population genetic structure of peninsular Malaysia Malay sub-ethnic groups. *PLoS One*, 6:e18312 (2011).
  4. Okada I, Hamanoue H, Terada K, Tohma T, Megarbane A, Chouery E, Abou-Ghoch J, Jalkh N, Cogulu O, Ozkinay F, Horie K, Takeda J, Furuichi T, Ikegawa S, Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, Matsumoto N, Saitsu H.: SMOC1 Is Essential for Ocular and Limb Development in Humans and Mice. *Am J Hum Genet*. 88:30-41 (2011).
  5. Mori M, Kitazume M, Ose R, Kurokawa J, Koga K, Osuga Y, Arai S, Miyazaki T.: Death effector domain-containing protein (DEDD) is required for uterine decidualization during early pregnancy in mice. *J Clin Invest*. 121:318-27 (2010).
  6. Kurokawa, J., Arai, S., Nakashima, K., Nagano, H., Nishijima, A., Miyata, K., Ose, R., Mori, M., Kubota, N., Kadowaki, T., Oike, Y., Koga, H., Febbraio, M., Iwanaga, T., Miyazaki, T.: Macrophage-derived AIM is endocytosed into adipocytes and decreases lipid droplets via inhibition of fatty acid synthase

- activity. *Cell Metab*, 11:479-492 (2010).
7. 要 匡：オピッツ C 症候群. 症候群ハンドブック. 井村裕夫, 辻省次, 福井次矢 (編). p666 中山書店, (2011)
  8. 成富研二：オピッツ症候群. 症候群ハンドブック. 井村裕夫, 辻省次, 福井次矢 (編). p674 中山書店, (2011)
  9. 要 匡：「知の津梁 -やわらかい南の学と思想」 ゆるやかなゲノムのはなし -ゲノムがつなぐ人と人 p340-p351 沖縄タイムス出版 2010.
2. 学会発表
    1. Kaname T, Tsujino A, Yanagi K, et al. Re-sequencing analysis of candidate region for a neurodegenerative disorder by massively parallel sequencing. 60th the American Society of Human Genetics Annual meeting. Washington DC (USA), Nov. 2-6, 2010.
    2. Yanagi Y, Kaname T. Morita S. et al. The development of high-throughput gene scanning system for autism spectrum disorders by a PCR coupled high-resolution melting curve analysis. 60th the American Society of Human Genetics Annual meeting. Washington DC (USA), Nov. 2-6, 2010.
    3. Kaname T, Tsukahara M, Yanagi K, et al. Resequencing of the candidate region for 16q-ADCA and detection of an insertion polymorphism by fragment assembly data using massively parallel short-read sequencing. ESHG2010 (European Human Genetics CONFERENCE 2010. Gothenburg (Sweden), June 12-15, 2010.
    4. 要 匡、塚原正俊、柳久美子 他. Exome analysis in a patient with Kabuki make-up syndrome by whole exon capture and re-sequencing. BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会) 2010.12.7-10. (神戸)
    5. 要 匡、柳久美子、森田この美、池松真也、吉浦孝一郎、成富研二. 微量検体からの迅速・安価な遺伝子変異スクリーニングシステムの構築. 第 17 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2010.11.20. (沖縄)

6. 要 匡、塚原正俊、柳久美子 他. 歌舞伎メーキャップ症候群のエクソーム解析. 日本人類遺伝学会第 55 回大会 2010.10.28-30. (大宮)
7. 森田この美、柳久美子、池松真也、福島義光、要 匡、成富研二. Opitz 三角頭蓋症候群診断のための CD96 遺伝子スキャニングシステムの構築. 日本人類遺伝学会第 55 回大会 2010.10.28-30. (大宮)
8. 要 匡、柳久美子、福島義光、森田この美、池松真也、吉浦孝一郎、成富研二. PCR-高解像度融解曲線分析法による自閉症関連遺伝子多型スキャニングシステムの構築と解析 第 17 回日本遺伝子診療学会 2010.8.5-7. (津(三重))
9. 要 匡、柳久美子、森田この美、池松真也、福島義光、成富研二. PCR-高精度融解曲線分析法による自閉症関連遺伝子群の変異/多型スクリーニングシステムの構築. 第 50 回 日本先天異常学会 2010.7.8-10. (淡路(兵庫))
10. Kaname T, Tsujino A, Yoshiura K-i. Exploring the responsible gene for a familial ALS by next-generation sequencer(シンポジウム). 第 51 回日本神経学会総会 2010.5.20-22. (東京)
11. 要 匡、知念安紹、福島義光、城間直秀、吉浦孝一郎、成富研二. 自閉症関連遺伝子 NLGN3, NLGN4 の高速多型スキャニングシステムの構築と解析. 第 113 回 日本小児科学会学術集会 2010.4.23-25. (盛岡)
- H. 知的所有権の取得状況  
なし

## 高解像度融解曲線 (HRM) 分析法

解析プラットフォーム: LightCycler 480 System (Roche)

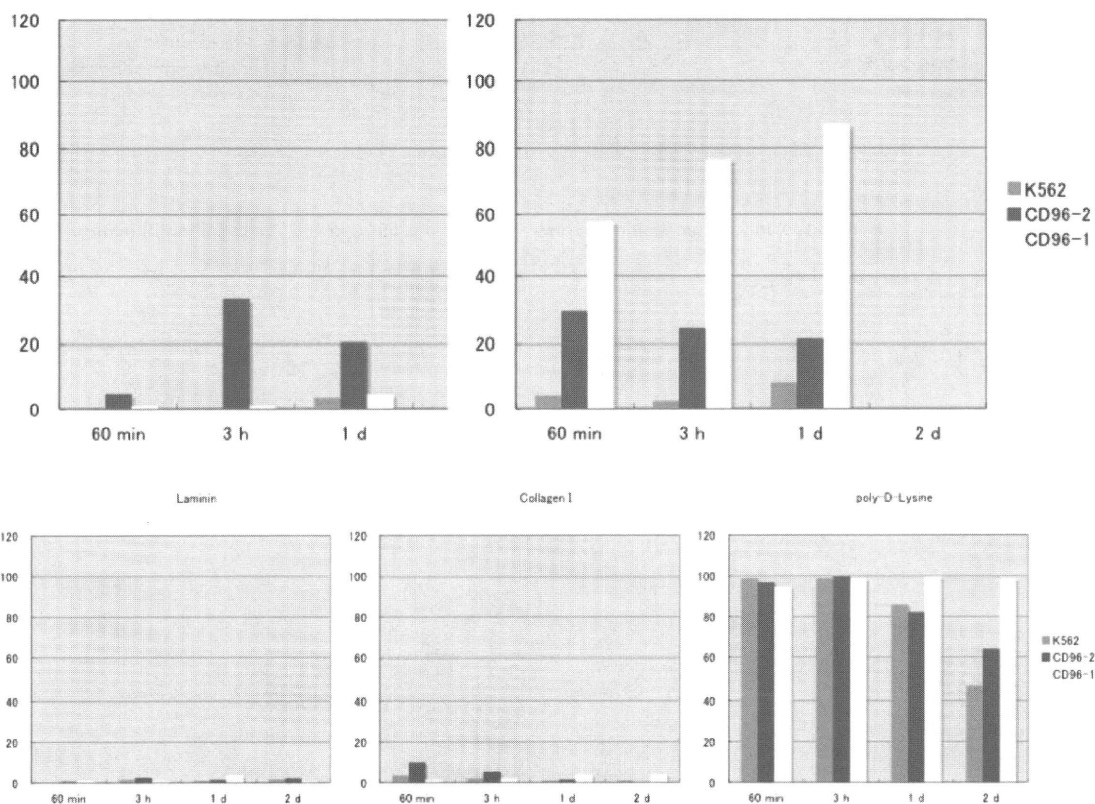


HRM

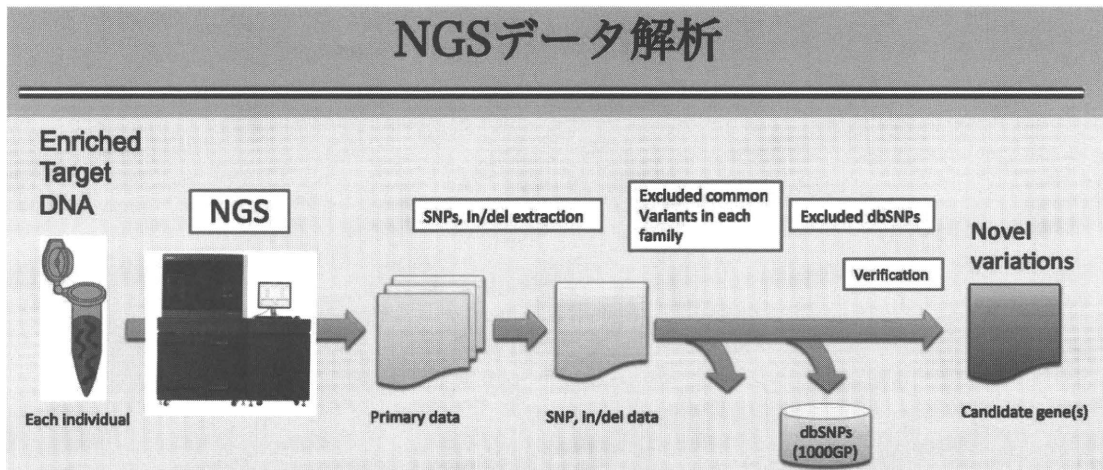
HRM 法により健常者で検出された *CD96* 遺伝子の SNPs

### 検出した *CD96* SNP のタイプ

エクソン	タイプ	dbSNP ID
1	c.-121C>T	rs2276873
	IVS1+89_1+90ins19 bp	rs3832264
2	IVS2-67G>A	rs1513325
8	c.1042T>C(S348P)	未登録
11	IVS11-111C>T	未登録



ECM に対する *CD96* リガンド解析 (*CD96* 発現 K562 細胞)



NGS データ解析の流れ

オピッツ三角頭蓋患児のエクソーム解析における variation 解析結果（一部）

variations	number
SNPs	61,320
indels	12,872
total	74,192
Coding SNPs, indels	18,415

SNPs, indels	74,192
Novel SNPs, indels	11,282
HomoSNPs, indels	1,645
exonic SNPs, indels	124
non-synonymous	39
frame shift	35

## II 分担研究報告

オピッツ三角頭蓋症候群の症状把握に関する研究

分担研究者 成富 研二 琉球大学大学院医学研究科遺伝医学 教授

## 研究要旨

オピッツ三角頭蓋症候群は、一般医による診断や鑑別は困難なことが多く、専門医による診断が必要となるため見過ごされている可能性がある。そこで、一般医でも鑑別にあげられるための同症候群に重要な所見、症状の記載を目的とした。

検体情報を収集できたオピッツ三角頭蓋症候群 25 例、オピッツ三角頭蓋様症候群 8 例の臨床症状をリストアップし、頻度を算出し、また、他の疾患との鑑別の観点から特徴的と思われる症状を抽出した。

結果、頻度 100%である三角頭蓋に加えて、眼裂斜上、内眼角贅皮、耳介後方偏位の顔貌、歯肉部腫脹・不正が特徴的であり、成長後の側彎も高頻度で合併することが判明した。

### A. 研究目的

本研究は、奇形症候群の一つであるオピッツ三角頭蓋症候群の症状と頻度を把握するし、診断を容易にすることを目的とする。

三角頭蓋自体は、前頭縫合の形成障害により生じ、診断も比較的容易に行われるが、他の症状を併せ持ち、発達予後に影響するオピッツ三角頭蓋症候群は、一般医にとって鑑別診断に挙げることが困難であり、また、臨床遺伝医による診察が必要となるなど診断は困難である。よって、まず一般医が診断を疑う基準となるような特徴的症狀を明らかにする必要がある。

本研究では、臨床的に高頻度で特徴的な症状を洗い出し、臨床遺伝医によるゲシュタルト診断と合わせて、重要な症状をピックアップ、オピッツ三角頭蓋症候群を疑う際に、ポイントなる症状をまとめることを目指した。

### B. 研究方法

オピッツ三角頭蓋症候群について、今までに報告のあるもの、検体情報を収集できたものについて、臨床症状をリストアップし、頻度を算出した（オピッツ三角頭蓋症候群 25 例、オピッツ C 様症候群新規 8 例（いずれも海外症例を含む）。また、必須症



状等をゲシュタルトと合わせて判定し、臨床的に重要な所見、および予後との関連性をまとめた。

### C. 研究結果

オピッツ三角頭蓋症候群について、現在までに収集できた症例およびオピッツ C 様症候群（オピッツ三角頭蓋症候群類似疾患）について、臨床的に重要と思われる症状の頻度を算出した（表）。

結果、三角頭蓋は 100%で、全例に認められる唯一の症状であった。顔貌については、眼裂斜上、内眼角贅皮、耳介後方偏位の頻度が高かった。口腔において歯肉部腫脹・不正は、半数以上に認められ、特に、乳児期の歯肉部腫脹・不正は、頻度の高い他の疾患が知られていないので、診断の有用性が高いと思われた。精神発達遅滞も 20/22 と高頻度であった。加えて、乳幼児期でははっきりしないが、成長に伴い側彎の合併頻度が高くなることが判明した。

一方、オピッツ C 様症候群において、三角頭蓋は 100%であったが、顔貌は、斜視、眼球突出、耳介後方偏位の頻度が高く、特に眼球突出は、診断的価値が高いと思われた。また、顔面の毛細血管腫、関節拘縮、IUGR も頻度が高く特徴的と思われた。

### D. 考察

オピッツ三角頭蓋症候群診断のための三角頭蓋以外の症状として、眼裂斜上、内眼角贅皮、耳介後方偏位といった顔貌の特徴は、頻度も高く、ゲシュタルトと合わせて診断的価値が高いと思われた。その他、歯肉部腫脹・不正は、他の疾患では見られることが少なく、重要な所見と思われた。

症状の頻度などに基づく、予後等も含めた臨床診断には、今後の症例のさらなる蓄積が重要と考えられた。

### E. 結論

収集した症例のまとめによって、オピッツ三角頭蓋症候群の、診断のための重要な所見をピックアップすることができた。しかしながら、予後等も含めた診断には、症例のさらなる蓄積が重要と考えられた。

### F. 研究発表

1. 論文発表
1. Kaname T, Ogura M, Yanagi K, Naritomi K.: A simple program for Venn diagram analysis of SNPs data from next-generation sequencing. *Ryukyu Med J* in press.
2. Hannibal MC, Buckingham KJ, Ng SB, Ming JE, Beck AE, McMillin MJ, Gildersleeve HI, Bigham AW, Tabor HK, Mefford

- HC, Cook J, Yoshiura KI, Matsumoto T, Matsumoto N, Miyake N, Tonoki H, Naritomi K, Kaname T, Nagai T, Ohashi H, Kurosawa K, Hou JW, Ohta T, Liang D, Sudo A, Morris CA, Banka S, Black GC, Clayton-Smith J, Nickerson DA, Zackai EH, Shaikh TH, Donnai D, Niikawa N, Shendure J, Bamshad MJ.: Spectrum of MLL2 (ALR) mutations in 110 cases of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet*, in press.
3. Hatin WI, Nur-Shafawati AR, Zahri MK, Xu S, Jin L, Tan SG, Rizman-Idid M, Zilfalil BA; HUGO Pan-Asian SNP Consortium.: Population genetic structure of peninsular Malaysia Malay sub-ethnic groups. *PLoS One*, 6:e18312 (2011).
  4. 成富研二：オピッツ症候群．症候群ハンドブック．井村裕夫，辻省次，福井次矢（編）．p674 中山書店，（2011）
2. 学会発表
1. Kaname T, Tsujino A, Yanagi K, et al. Re-sequencing analysis of candidate region for a neurodegenerative disorder by massively parallel sequencing. 60th the American Society of Human Genetics Annual meeting. Washington DC (USA), Nov. 2-6, 2010.
  2. Yanagi Y, Kaname T, Morita S. et al. The development of high-throughput gene scanning system for autism spectrum disorders by a PCR coupled high-resolution melting curve analysis. 60th the American Society of Human Genetics Annual meeting. Washington DC (USA), Nov. 2-6, 2010.
  3. Kaname T, Tsukahara M, Yanagi K, et al. Resequencing of the candidate region for 16q-ADCA and detection of an insertion polymorphism by fragment assembly data using massively parallel short-read sequencing. ESHG2010 (European Human Genetics CONFERENCE 2010. Gothenburg (Sweden), June 12-15, 2010.
  4. 要 匡、塚原正俊、柳久美子 他． Exome analysis in a patient with Kabuki make-up syndrome by whole exon

- capture and re-sequencing. BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会・第 83 回日本生化学会大会 合同大会) 2010.12.7-10. (神戸)
5. 要 匡、柳久美子、森田この美、池松真也、吉浦孝一郎、成富研二. 微量検体からの迅速・安価な遺伝子変異スクリーニングシステムの構築. 第 17 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2010.11.20. (沖縄)
  6. 要 匡、塚原正俊、柳久美子 他. 歌舞伎メーキャップ症候群のエクソーム解析. 日本人類遺伝学会第 55 回大会 2010.10.28-30. (大宮)
  7. 森田この美、柳久美子、池松真也、福島義光、要 匡、成富研二. Opitz 三角頭蓋症候群診断のための CD96 遺伝子スクリーニングシステムの構築. 日本人類遺伝学会第 55 回大会 2010.10.28-30. (大宮)
  8. 要 匡、柳久美子、福島義光、森田この美、池松真也、吉浦孝一郎、成富研二. PCR-高解像度融解曲線分析法による自閉症関連遺伝子多型スクリーニングシステムの構築と解析 第 17 回日本遺伝子診療学会 2010.8.5-7. (津(三重))
  9. 要 匡、柳久美子、森田この美、池松真也、福島義光、成富研二. PCR-高精度融解曲線分析法による自閉症関連遺伝子群の変異/多型スクリーニングシステムの構築. 第 50 回 日本先天異常学会 2010.7.8-10. (淡路(兵庫))
  10. 要 匡、知念安紹、福島義光、城間 直秀、吉浦孝一郎、成富研二. 自閉症関連遺伝子 NLGN3, NLGN4 の高速多型スクリーニングシステムの構築と解析. 第 113 回 日本小児科学会学術集会 2010.4.23-25. (盛岡)
- G. 知的所有権の取得状況**  
なし

表：オピッツ三角頭蓋症候群における主要症状の頻度

	症状	オピッツ三角頭蓋症候群	オピッツC様症候群
(頭蓋)	三角頭蓋	25/25	8/8
(顔面)	眼裂斜上	23/25	3/8
	内眼角贅皮	21/25	4/8
	斜視	17/24	7/8
	眼球突出	-	7/8
	鼻根部平定	17/24	2/6
	耳介後方偏位	20/23	7/8
	歯肉部腫脹	11/19	4/4
	高口蓋	11/19	4/4
	毛細血管腫	11/19	6/7
(頤)	頤部皮膚弛緩	14/20	
(体幹・四肢)	関節拘縮	8/22	4/4
(心臓)	心奇形	11/24	
(腎臓)	腎奇形	4/25	
(脳)	脳梁欠損・低形成	6/25	4/6
	痙攣	6/20	3/4
(成長・発達)	成長障害		5/8
	精神発達遅滞	20/22	8/8
	IUGR	-	3/4
(その他)	側彎		3/3