

201128256A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

Aicardi症候群の **疾患病態解明と**

診断・治療法の開発研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 三宅 紀子

平成24（2012）年 4月

目 次

I. 総括研究報告	
Aicardi症候群の疾病病態解明と診断・治療法の開発研究 三宅紀子 (横浜市立大学医学部遺伝学)	----- 2
II. 分担研究報告	
1. Aicardi症候群の全国疫学調査 加藤光広 (山形大学医学部小児科学講座)	----- 9
2. Aicardi症候群の微細染色体異常に関する研究 松本直道 (横浜市立大学医学研究科遺伝学)	----- 12
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 16
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 21

I. 総括研究報告

総括研究報告書

Aicardi 症候群の疾病病態解明と診断・治療法の開発研究

代表研究者 三宅紀子 横浜市立大学医学研究科遺伝学

研究要旨：Aicardi症候群は、1965年にAicardiらにより初めて報告された脳梁欠損、網脈絡膜異常、點頭てんかんを三主徴とする先天性奇形症候群である。殆どの症例が女児であること、男児では47,XXYに限定されると報告されていることから、X染色体上の遺伝子異常が原因（男児では致死性）と考えられているが、責任遺伝子は未同定である。本症候群は、稀な疾患であるため頻度、原因、疾病病態は殆ど解明されていない。より良い医療を提供するためにも、本疾患の実態把握と、早急な原因解明が急務であると考え。そこで本研究は、Aicardi症候群の疫学・臨床像を正確に把握し、疾患責任遺伝子を単離・同定することを第一の目的とする。責任遺伝子が同定された際には、変異解析、発現解析、機能解析を行い、本症候群の発症メカニズム・病態を解明することにより、診断・予防・治療を含む医療に貢献することを更なる目的とする。我々は、昨年度本邦において初めて全国規模（小児科標榜機関病院916施設）での疫学調査を行い、過去5年間に本症候群（疑いも含む）と診断された60症例を確認した。本年度は、脳梁欠損以外のAicardi症候群にみられる脳病変の特徴を明らかにするために、全国疫学調査で把握されたAicardi症候群の頭部画像を収集し、MRIで脳梁完全欠損が確認された16例の画像所見を解析した。水頭症により皮質が菲薄化した1例を除き、全例多小脳回を併発し、前頭優位であった。脳室周囲異所性灰白質を13例に認めたが、孤発性の結節が多く、脳室壁に沿った連続性の結節はみられなかった。Aicardi症候群の脳病変は古典型滑脳症やFLNA変異による脳室周囲異所性灰白質、一般的な多小脳回とは異なる特徴を示したことから、独特な形成機序の関与が示唆された。

責任遺伝子を同定するために、我々は高密度アレイによる微細コピー数異常の検出と、エキソームキャプチャーを併用した次世代シーケンサーによる塩基配列解読（エキソームシーケンス）の2つのシステムを用いて解析を行った。高密度アレイ解析では、X染色体に特化したマイクロアレイを独自にデザインした高密度X染色体タイリングアレイを用いて20症例を解析したが、病的なコピー数異常は同定されなかった。次世代シーケンサーによる塩基配列解読は、X染色体のコード領域を網羅するSureSelect Target Enrichmentシステム（Agilent社）を用いてX染色体上のほぼ全ての遺伝子の蛋白質翻訳領域のエンリッチメント、次世代シーケンサーGenome Analyzer Iix（illumina社）を用いて塩基配列を解読したが、X染色体上にde novoの病的変異を同定することはできなかった。そこで、遺伝的異質性及び常染色体上に責任遺伝子がある可能性も考慮し、常染色体・性染色体両方を網羅するSureSelect All Human Exon (50Mb) を用いた。さらにde novo変異を効率よく同定する目的で、患者と両親検体を用いてトリオ解析を行った。塩基配列解読およびSanger法による検証の結果、4トリオ中、3トリオでそれぞれ1個のアミノ酸置換を伴うde novoの塩基置換を同定した。現在、それらの候補の病的意義についての検証を進めている。

A. 研究目的

Aicardi症候群 [MIM %304050] は、1965年にAicardiらが初めて報告した新生児期～乳児期早期に発症する重度の神経発生異常を本態とする先天性奇形症候群である。脳梁欠損、網脈絡膜異常、點頭てんかんを三主徴とする。殆どの症例が女児（男児症例は47,XXYに限定され、通常致死性）であることから、X染色体優性遺伝形式をとると考え

られている。de novoの均衡型転座症例 46,X,t(X;3)(p22;q12)の報告により暫定的に、Xp22.2にマッピングされているが、責任遺伝子は未同定である。一方、近年では本症候群での男児例の報告が散見されるようになり、常染色体上の限性発現遺伝子の異常の可能性も示唆されている。

本研究は、本邦におけるAicardi症候群の疫学・臨

床像を正確に把握し、責任遺伝子を単離・同定することを第1の目的とする。責任遺伝子を同定した際には、発現および機能解析を行い、疾患発症のメカニズムとその病態を解明することにより、診断・予防・治療を含む医療を見据えた研究を展開する。

B. 研究方法

I. 症例集積・全国疫学調査

今年度は、本症候群の神経症状の原因となる、脳梁欠損以外の脳形成障害の特徴を明らかにするために、一次調査で把握された日本国内のAicardi症候群（脳梁欠損，點頭てんかん，網脈絡膜欠損）の疑われる症例に対して頭部画像送付を依頼し、フィルムもしくはCDで画像が得られた20例のうち、頭部MRIで脳梁完全欠損が確認された16例（女15例、男1例）を対象に、1. 大脳皮質形成異常、2. 異所性灰白質、3. 側脳室拡大、4. 嚢胞形成、5. 脈絡叢の異常、6. 後頭蓋窩病変の六項目について、所見の有無と部位・程度を検討した。本研究は横浜市立大学倫理委員会の承認を受け適切な倫理的配慮と手続きを経て行われている。

II. 高密度アレイによる全ゲノム微細構造異常解析

本症候群患者を対象に、コピー数異常を解析する。NimbleGen社製のカスタムアレイを利用し、X染色体上のエクソン領域を網羅する超高密度タイリングアレイ（プローブ数；72万/1アレイ，プローブ長：55mer，プローブ間隔：遺伝子領域55 bp 毎，遺伝子間バックボーン領域600 bp毎）をデザインし、アレイを作成した。解析は、Signal Map (Roche)、およびParteck Genomic Suite (Parteck)にて行う。同定された微細欠失・重複領域は定量PCRやFISH解析等で詳細に範囲を決定し、責任候補遺伝子リストを作製し、遺伝子変異探索を行う。

III. キャプチャー技術を併用した次世代シーケンサーによるゲノム解析

前述の通り、本疾患はX染色体優性遺伝形式をとると考えられており、候補領域はX染色体上にある可能性が非常に高い。よって、効率的に候補遺伝子のスクリーニングを行うために、特定のヒト染色体エクソンを収集できるSureSelect Target Enrichmentシステム (Agilent社) を用いてX染色体

上のほぼ全ての遺伝子の蛋白質翻訳領域のエンリッチメントを行った。その後、収集した患者のX染色体エクソン領域を超高速度シーケンサー Genome Analyzer II (illumina社)を用いて塩基配列を解読し、2種類の解析ソフトを持ってゲノム変化を検出した。最終的に、患者2名以上で同一遺伝子内に変異のあるものをSanger法によるダイレクトシーケンスで検証したが、病的変異を同定できなかった。そこで、今回は、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、患者に共通する遺伝子変異を同定するというアプローチに加え、患者と両親の検体を同時に解析することによってde novoの変化を効率よく検出できるように研究デザインを変更し、6トリオ（患者および両親）を対象とした。また、X染色体上に責任遺伝子がない場合も想定し、常染色体も含めたSureSelect All Human exon kit v1 (50Mb) を使用して、より広くexon領域を網羅できるデザインとした。Genome Analyzer IIx (illumina社) によって塩基配列解読を行った。

C. 研究結果

I. 症例集積・全国疫学調査

1. 全例大脳皮質形成障害を伴い、著明な水頭症で皮質が全体に菲薄化した1例を除き、全て多小脳回であった。部位（重複あり）は前頭が14例、後頭が4例、シルビウス裂周囲が2例、頭頂が1例であった。
2. 異所性灰白質は13例に認められ、部位は脳室周囲が13例全例に認められたほか、2例は皮質の多小脳回に連続していた。
3. 脳梁欠損症に特徴的な後角優位の拡大である体脳症を13例に、前角の拡大を9例に認めた。
4. 嚢胞形成は6例に認められ、全例が半球間裂嚢胞であった。
5. 脈絡叢の異常は6例に認められ全例嚢胞拡大であった。
6. 後頭蓋窩病変は8例に認められ、後小脳槽・大槽の拡大が7例であった。

II. 高密度アレイによる全ゲノム微細構造異常解析

検体試料の得られた本症候群32症例のうち、20症例のアレイ解析を完了した。Qualityの良い結果の得られた15症例に詳細な解析を行ったが、明ら

かな病的意義を有したコピー数異常は同定されなかった。

I I I. キャプチャー技術を併用した次世代シーケンサーによるゲノム解析

X染色体に特化したエキソームシーケンスでは、病的な変異を認めなかった。そこで、X染色体以外の可能性を考慮し、常染色体も含めたエキソームシーケンス解析を行った。今回は、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、患者に共通する遺伝子変異を同定するというアプローチに加え、患者と両親の検体を同時に解析することによってde novo変異を効率よく解析できるデザインとした。現時点で3家系にそれぞれ1個のアミノ酸置換を伴うde novo変化を検出することができた。現在は、それらの変化が病的か否かの検証を進めている。さらに、今回検出されたde novo変異が病的でない場合や、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、他の典型症例を対象に引き続きエキソームシーケンス解析を進めている

D. 考察

I. 症例集積・全国疫学調査

完全脳梁欠損を伴うAicardi症候群全例に大脳皮質形成障害を伴い、多小脳回であった。既報告(Hopkins et al. Am J Med Genet Part A, 2008)でも多小脳回が多く、前頭(91%)やシルビウス裂周囲(65%)にみられている。我々の解析では前頭に多いのは一致していたが、シルビウス裂周囲は2例13%と少なかった。Hopkinsらの解析では23例中、脳梁の完全欠損は16例で部分欠損が7例含まれており、母集団の違いが影響した可能性がある。Aicardi症候群以外にみられる多小脳回が一般的にシルビウス裂周囲に多いのに対して、特徴的であった。

異所性灰白質の存在部位は脳室周囲と皮質下に分けられるが、既報告同様、我々の解析した症例においても脳室周囲に多く認められた。皮質下の異所性灰白質は、皮質の多小脳回と連続する2例のみであり、大脳皮質病変の成立機序を考える上で興味深い。脳室周囲異所性灰白質は、脳室帯・脳室下帯から脳表への分離障害によって脳質側に遺残した神経細胞塊であり、皮質下異所性灰白質は移動障害により皮質に到達できずに中間帯で移動を停止した神経細胞塊である。また、脳室周囲異所性灰白質は*FLNA*や*ARFGF2*が原因遺伝子として知られているが、

皮質下異所性灰白質は古典型滑脳症に併発することが多い。Aicardi症候群にみられた脳室周囲異所性灰白質は、結節状だが脳質に沿って連続することはなく、*FLNA*が原因の場合とは明らかに異なっていた。Aicardi症候群以外の多小脳回でも脳室周囲異所性灰白質を併発することはあるが、裂脳症の場合を除いて多くはない。今回の解析では明らかな裂脳症はなかったが、2例は脳表から脳質まで連続する灰白質病変を呈した。Aicardi症候群の大脳皮質形成障害の機序は、古典型滑脳症の神経細胞移動障害や*FLNA*が原因の分離障害とは異なる可能性が高い。

嚢胞形成、脈絡叢の異常、後頭蓋窩病変に関しては既報告と概ね類似した結果であった。Aicardi症候群では脈絡叢乳頭腫の併発が参考所見として挙げられるが、実際には脈絡叢の嚢胞変化が多く、診断基準の変更が求められる。

I I. 高密度アレイによる全ゲノム微細構造異常解析

X染色体上に特化し、高密度で微細染色体コピー数異常を検証した報告はフランスのグループが18症例に対して検証した1報(Yilmaz et al, 2007 Eur J Med Genet)のみであった。今回我々は、典型例20名を解析したが、残念ながら責任遺伝子の同定につながるような病的変異の同定には至らなかった。今までの結果より、Aicardi症候群の原因の多くが、X染色体上の比較的大きな染色体構造異常である可能性は極めて低いと考えられた。

I I I. キャプチャー技術を併用した次世代シーケンサーによるゲノム解析

現在までに4症例のトリオ解析を行い、3つのアミノ酸置換を伴うde novo変異を同定した。今後はこれらの病的意義を検証するとともに、今回検出されたde novo変異が病的でない場合や、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、他の典型症例を対象に引き続きエキソームシーケンス解析を進めていく。

E. 結論

I. 症例集積・全国疫学調査

Aicardi症候群の頭部画像所見は脳梁欠損以外に、特徴的な病変を示す。臨床所見の他に、画像所見による診断基準の確立が必要である。

I I. 高密度アレイによる全ゲノム微細構造異常解析

典型例20症例を対象に、独自にデザイン・開発した超高密度X染色体タイリングアレイを用いてコピー数異常解析を行った。しかし、今回の解析では病的と考えられるコピー数異常は検出されなかった。

I I I. キャプチャー技術を併用した次世代シーケンサーによるゲノム解析

X染色体に特化したエキソームシーケンスでは、病的な変異を認めなかった。そこで、X染色体以外の可能性を考慮し、常染色体も含めたエキソームシーケンス解析を行った。今回は、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、患者に共通する遺伝子変異を同定するというアプローチに加え、患者と両親の検体を同時に解析することによってde novoの変化を捕えることを可能とした。現時点で3家系にそれぞれ1個のアミノ酸置換を伴うde novo変異を検出することができた。今後は、これらが病的な変異であるかの検証を進める。また、今回検出されたde novo変異が病的でない場合や、遺伝的異質性が高い可能性も考慮し、他の典型症例を対象に引き続きエキソームシーケンス解析を進めていく。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Miyake N, Yamashita S, Kurosawa K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Matsumoto N. A novel homozygous mutation of DARS2 may cause a severe LBSL variant. *Clin Genet*. 2011 Sep;80(3):293-6.

Miyake N, Demer JL, Shaaban S, Andrews C, Chan WM, Christiansen SP, Hunter DG, Engle EC. Expansion of the CHN1 strabismus phenotype. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011 Aug 11;52(9):6321-8.

Tsurusaki Y, Osaka H, Hamanoue H, Shimbo H, Tsuji M, Doi H, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N*. Rapid detection of a mutation causing X-linked leucoencephalopathy by exome sequencing. *J Med Genet*. 2011 Sep;48(9):606-9. Epub 2011 Mar 17.

Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N.

A response to: loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "dermatan sulfate-deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome". Which name is appropriate, "Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"? *Hum Mutat*. 2011;32(12):1507-9

Abdel-Salam GM, Miyake N, Eid MM, Abdel-Hamid MS, Hassan NA, Eid OM, Effat LK, El-Badry TH, El-Kamah GY, El-Darouti M, Matsumoto N. A homozygous mutation in RNU4ATAC as a cause of microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type I (MOPD I) with associated pigmentary disorder. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(11):2885-96.

Chan WM[#], Miyake N[#] (# denotes equal contribution), Zhu-Tam L, Andrews C, Engle EC. Two novel CHN1 mutations in 2 families with Duane retraction syndrome. *Arch Ophthalmol*. 2011 May;129(5):649-52.

Dai J, Kim OH, Cho TJ, Miyake N, Song HR, Karasugi T, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Nagai T, Matsumoto N, Ohashi H, Kamatani N, Nishimura G, Furuichi T, Takahashi A, Ikegawa S. A founder mutation of CANT1 common in Korean and Japanese Desbuquois dysplasia. *J Hum Genet*. 2011;56(5):398-400.

Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Kosho T. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. *Am J Med Genet A*. 2011;155A(8):1949-58. Review.

Saitsu H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shibayama H, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, Matsumoto N. Mutations in POLR3A and POLR3B encoding RNA Polymerase III subunits cause an autosomal-recessive hypomyelinating leucoencephalopathy. *Am J Hum Genet*. 2011;89(5):644-51.

Doi H, Yoshida K, Yasuda T, Fukuda M, Fukuda Y, Morita H, Ikeda S, Kato R, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Sakai H, Miyatake S, Shiina M, Nukina N, Koyano S, Tsuji S, Kuroiwa Y, Matsumoto N. Exome sequencing reveals a homozygous SYT14 mutation in adult-onset, autosomal-recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation. *Am J Hum Genet*. 2011;89(2):320-7.

Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Yamaoka S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Yokochi K, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, Saitsu H. De Novo and Inherited Mutations in COL4A2, Encoding the Type

IV Collagen $\alpha 2$ Chain Cause Porencephaly. *Am J Hum Genet.* 2012 13;90(1):86-90.

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.* 2011;88(1):30-41.

Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet A.* 2011;155A(2):409-14.

Tadaki H, Saitsu H, Nishimura-Tadaki A, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Miyake N, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, Matsumoto N. De novo 19q13.42 duplications involving NLRP gene cluster in a patient with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *J Hum Genet.* 2011;56(5):343-7.

Tadaki H, Saitsu H, Kanegane H, Miyake N, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Nishimura A, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, Matsumoto N. Exonic deletion of *CASP10* in a patient presenting with systemic juvenile idiopathic arthritis, but not with autoimmune lymphoproliferative syndrome type IIa. *Int J Immunogenet.* 2011;38(4):287-93

Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. *Clin Genet.* 2011;80(2):161-6.

Hannibal MC, Buckingham KJ, Ng SB, Ming JE, Beck AE, McMillin MJ, Gildersleeve HI, Bigham AW, Tabor HK, Mefford HC, Cook J, Yoshiura K, 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 A.* 2011;155A(7):1511-6.

Tohyama J, Kato M, Kawasaki S, Harada N, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous *ZIC1* and *ZIC4* deletion: Report of a new patient. *Am J Med Genet A* 155A:130-133, 2011

Hirose M, Haginoya K, Yokoyama H, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Munakata M, Uematsu M, Iinuma K, Kato M, Yamamoto T, Tsuchiya S. Progressive atrophy of the cerebrum in 2 Japanese sisters with microcephaly with simplified gyri and enlarged extraaxial space. *Neuropediatrics* 42:163-166, 2011

Furuichi T, Dai J, Cho T-J, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Baynam G, Nagai T, Miyake N, Matsumoto N, Ohashi H, Unger S, Superti-Furga A, Kim O-H, Nishimura G, Ikegawa S. *CANT1* is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant. *J Med Genet* 48(1): 32-37, 2011

Saitsu H, Hoshino H, Kato M, Nishiyama N, Okada I, Yoneda Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kubota M, Hayasaka K, Matsumoto N. Paternal mosaicism of a *STXBPI* mutation in Ohtahara syndrome. *Clin Genet* 80 (5):484-488, 2011.

Yano S, Bagheri A, Watanabe Y, Moseley K, Nishimura A, Matsumoto N, Baskin B, Ray PN. Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with *GPC3* mutations. *Clin Genet* 80 (5): 466-471, 2011.

Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitsu H, Fukushima Y, Hirahara F, Matsumoto N. Breakpoint determination of X;autosome balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet* 56(2) 156-160, 2011

Tonoki H, Harada N, Shimokawa O, Yosozumi A, Monzaki K, Satoh K, Mika Kosaki R, Sato A, Matsumoto N, Iizuka S. Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses on three patients with chromosomal defects at 6p25. *Am J Med Genet Part A* 155 (12): 2925-2932

Narumi Y, Shiihara T, Yoshihara H, Sakazume S, van der Knaape MS, Nishimura-Tadaki A, Matsumoto N, Fukushima Y. Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) in an infant with Down syndrome. *Clin Dysmorphol* 20 (3): 166-167, 2011

Saitsu H, Matsumoto N. Genetic commentary: *De novo* mutations in epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 53 (9):806-807, 2011.

2. 学会発表

Noriko Miyake, Tomoki Kosho, Shuji Mizumoto, Tatsuya Furuichi, Atsushi Hatamochi, Shiro Ikegawa,

Shuhei Yamada, Kazuyuki Sugahara, Naomichi Matsumoto. *CHST14* mutations in Ehlers-Danlos syndrome. The 11th East Asia Union of Human Genetics Annual meeting (oral presentation) (幕張、11月10日)

Noriko Miyake, Tomoki Kosho, Shuji Mizumoto, Tatsuya Furuichi, Atsushi Hatamochi, Shiro Ikegawa, Shuhei Yamada, Kazuyuki Sugahara, Naomichi Matsumoto. Loss-of-function mutations of *CHST14* cause a new type of autosomal recessive Ehlers-Danlos syndrome. European Human Genetics Conference 2011 (poster session) (Amsterdam, The Netherlands, May 30th).

三宅紀子、古庄知己、水本秀二、松本直通 新型 Ehlers-Danlos 症候群 (D4ST1 欠損症) の遺伝学的検索。日本人類遺伝学会第 56 回大会 (一般口演) (幕張、11月10日)

Mitsuhiro Kato, Yuichi Takami, Kimio Minagawa, Tamiko Negoro, Jun Natsume, Kiyoshi Hayasaka: Mutation analysis of *TUBA1A* in patients with lissencephaly sequence. 2011 Pediatric Academic Societies' & Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting, April-May 2011, Denver, Colorado, USA

井上大嗣、里龍晴、宇野奈菜子、国場英雄、森内浩幸、松尾光弘、松坂哲應、加藤光広 : Leucodysplasia, microcephaly, cerebral malformation (LMC) の女兒例。第 53 回日本小児神経学会総会：横浜 2011 年 5 月

講演会「次世代シーケンサーを用いた最先端研究」・松本直通「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」(徳島・徳島大学医学部臨床第一講堂 8月26日)

第一回サイトジェノミクスセミナー・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーによる疾患研究の最前線」(三菱化学メディエンス志村事業所・東京 9月17日)

第 46 回産婦人科研究会 (順天堂大学) 松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析の現状」(順天堂大学医学部・東京 9月20日)

第 18 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた

疾患ゲノム解析の現状」(佐賀大学医学部・佐賀 10月1日)

日本人類遺伝学会第 56 回大会・松本直通「ヒト遺伝性疾患の原因解明を目指して」学会賞受賞講演 (於・幕張メッセ 11月11日)

日本人類遺伝学会第 56 回大会「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」松本直通(シンポジスト) シンポジウム 11(超高速シーケンサーによる疾患ゲノム解析) (於・幕張メッセ 11月12日)

国立精神・神経医療研究センターTMC 棟/クラスター研究棟開棟記念講演会「遺伝性神経疾患のエクソーム解析」松本直通(招待講演) (国立精神・神経医療研究センター 11月22日)

The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan・Next generation sequencing technology enables a large scale medical genomic research (symposium)「Disease genome analysis using next generation sequencer」Naomichi Matsumoto (Invited speaker)(Dec 14, 2011 at Yokohama, Japan)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2012-136 松本直通/鶴崎美徳/三宅紀子・コフィン-シリリス症候群の検出方法・平成 24 年 1月4日

特願 2011-247457 才津浩智/松本直通・孔脳症および周産期脳出血の検出方法・平成 23 年 11月11日

特願 2011-226488・才津浩智/松本直通・び慢性大脳白質形成不全症の検出方法・平成 23 年 10月14日

特願 2011-136277・松本直通/土井宏・常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症の検出方法・横浜市立大学・平成 23 年 6月20日

II. 分担研究報告

Aicardi 症候群の疾病病態解明と診断・治療法の開発研究

分担研究課題：Aicardi 症候群の全国疫学調査

研究分担者 加藤 光広 山形大学医学部小児科学講座

研究要旨

脳梁欠損以外の Aicardi 症候群にみられる脳病変の特徴を明らかにするために、全国疫学調査で把握された Aicardi 症候群の頭部画像を収集し、MRI で脳梁完全欠損が確認された 16 例の所見を解析した。水頭症により皮質が菲薄化した 1 例を除き、全例多小脳回を併発し、前頭優位であった。しかしシルビウス裂周囲には 2 例しか認められなかった。脳室周囲異所性灰白質を 13 例に認めたが、孤発性の結節が多く、脳室壁に沿った連続性の結節はみられなかった。Aicardi 症候群の脳病変は古典型滑脳症や *FLNA* 変異による脳室周囲異所性灰白質、一般的な多小脳回とは異なる特徴を示し、独特な形成機序の関与を示唆する。

A. 研究目的

Aicardi 症候群は脳梁欠損、網脈絡膜異常、点頭てんかんを三主徴とする多発奇形症候群であり、脳梁欠損の他に大脳皮質形成障害、異所性灰白質、脈絡叢乳頭腫、嚢胞形成など多彩な脳形成障害を併発し、重篤な神経症状を呈することが多い。しかし発生頻度は約 10 万出生に 1 人と言われ、非常にまれであり国内での実態の詳細は明らかになっていない。我々は 7 年前から国内の Aicardi 症候群の臨床像と原因遺伝子解明の共同研究を行い、昨年は本研究において、患者実数と臨床像を明らかにするために始めて全国疫学調査を行い、610 施設から返答を得（回収率 66.6%）、57 施設に 60 例の存在を確認した。今年度は、神経症状の原因となる、脳梁欠損以外の脳形成障害の特徴を明らかにするために、追加調査で頭部画像を入手したので、その解析結果を報告する。

B. 研究方法

対象：一次調査で把握された日本国内の Aicardi 症候群（脳梁欠損、点頭てんかん、網脈絡膜欠損）の疑われる症例に対して頭部画像送付を依頼し、フィルムもしくは CD で画像が得られた 20 例のうち、頭部 MRI で脳梁完全欠損が確認された 16 例（女 15 例、男 1 例）。

方法：以下の項目について所見の有無と部位・程度を検討した。1. 大脳皮質形成異常、2. 異所性灰白質、3. 側脳室拡大、4. 嚢胞形成、5.

脈絡叢の異常、6. 後頭蓋窩病変

C. 研究結果

1. 全例大脳皮質形成障害を伴い、著明な水頭症で皮質が全体に菲薄化した 1 例を除き、全て多小脳回であった。部位（重複あり）は前頭が 14 例、後頭が 4 例、シルビウス裂周囲が 2 例、頭頂が 1 例であった。2. 異所性灰白質は 13 例に認められ、部位は脳室周囲が 13 例全例に認められたほか、2 例は皮質の多小脳回に連続していた。3. 脳梁欠損症に特徴的な後角優位の拡大である体脳症を 13 例に、前角の拡大を 9 例に認めた。4. 嚢胞形成は 6 例に認められ、全例が半球間裂嚢胞であった。5. 脈絡叢の異常は 6 例に認められ全例嚢胞拡大であった。6. 後頭蓋窩病変は 8 例に認められ、後小脳槽・大槽の拡大が 7 例であった。

D. 考察

完全脳梁欠損を伴う Aicardi 症候群全例に大脳皮質形成障害を伴わない、多小脳回であった。既報告(Hopkins et al. Am J Med Genet Part A, 2008)でも多小脳回が多く、前頭(91%)やシルビウス裂周囲(65%)にみられている。我々の解析では前頭に多いのは一致していたが、シルビウス裂周囲は 2 例 13%と少なかった。Hopkins らの解析では 23 例中、脳梁の完全欠損は 16 例で部分欠損が 7 例含まれており、母集団の違いが影響した可能性がある。

Aicardi 症候群以外にみられる多小脳回が一般的にシルビウス裂周囲に多いのに対して、特徴的であった。

異所性灰白質の存在部位は脳室周囲と皮質下に分けられるが、既報告同様脳室周囲に多く認められた。皮質下の異所性灰白質は、皮質の多小脳回と連続する2例のみであり、大脳皮質病変の成立機序を考える上で興味深い。脳室周囲異所性灰白質は、脳室帯・脳室下帯から脳表への分離障害によって脳質側に遺残した神経細胞塊であり、皮質下異所性灰白質は移動障害により皮質に到達できずに中間帯で移動を停止した神経細胞塊である。また、脳室周囲異所性灰白質は *FLNA* や *ARFGF2* が原因遺伝子として知られているが、皮質下異所性灰白質は古典型滑脳症に併発することが多い。Aicardi 症候群にみられた脳室周囲異所性灰白質は、結節状だが脳質に沿って連続することはなく、*FLNA* が原因の場合とは明らかに異なっていた。Aicardi 症候群以外の多小脳回でも脳室周囲異所性灰白質を併発することはあるが、裂脳症の場合を除いて多くはない。今回の解析では明らかな裂脳症はなかったが、2例は脳表から脳質まで連続する灰白質病変を呈した。Aicardi 症候群の大脳皮質形成障害の機序は、古典型滑脳症の神経細胞移動障害や *FLNA* が原因の分離障害とは異なる可能性が高い。

嚢胞形成、脈絡叢の異常、後頭蓋窩病変に関しては既報告と概ね類似した結果であった。Aicardi 症候群では脈絡叢乳頭腫の併発が参考所見として挙げられるが、実際には脈絡叢の嚢胞変化が多く、診断基準の変更が求められる。

E. 結論

Aicardi 症候群の頭部画像所見は脳梁欠損以外に、特徴的な病変を示す。臨床所見の他に、画像所見による診断基準の確立が必要である。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tohyama J, Kato M, Kawasaki S, Harada N, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous *ZIC1* and *ZIC4* deletion: Report of a new patient. *Am J Med Genet A* 155A:130-133, 2011
- 2) Hirose M, Haginoya K, Yokoyama H, Kikuchi A, Hino-Fukuyo N, Munakata M, Uematsu M, Iinuma K, Kato M, Yamamoto T, Tsuchiya S. Progressive atrophy of the cerebrum in 2 Japanese sisters with microcephaly with simplified gyri and enlarged extraaxial space. *Neuropediatrics* 42:163-166, 2011

2. 学会発表

- 1) Mitsuhiro Kato, Yuichi Takami, Kimio Minagawa, Tamiko Negoro, Jun Natsume, Kiyoshi Hayasaka: Mutation analysis of *TUBA1A* in patients with lissencephaly sequence. 2011 Pediatric Academic Societies' & Asian Society for Pediatric Research Joint Meeting, April-May 2011, Denver, Colorado, USA
- 2) 井上大嗣、里龍晴、宇野奈菜子、国場英雄、森内浩幸、松尾光弘、松坂哲應、加藤光広：Leucodysplasia, microcephaly, cerebral malformation (LMC) の女児例。第53回日本小児神経学会総会：横浜 2011年5月

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

分担研究報告書

Aicardi 症候群の疾病病態解明と診断・治療法の開発研究

分担研究課題：Aicardi 症候群の染色体微細構造異常に関する研究

分担研究者 松本直通 横浜市立大学医学研究科遺伝学

研究要旨：Aicardi症候群は脳梁無形成・點頭てんかん・脈絡網膜裂孔を三主徴とし、重症の精神運動発達遅滞を起こす先天性奇形症候群である。本症候群の大部分が女兒であることから、責任遺伝子がX染色体上に存在すると考えられている。今回、Aicardi症候群におけるX染色体上の微細染色体異常を検索するため、X染色体を網羅的にかつ理想的な高解像度で独自にデザインしたX tiling arrayを開発し、典型例20名に対して解析を行った。今回、62箇所のコピー数異常（欠失54個、重複8個）を検出したが、いずれも正常コントロールに認められる良性のコピー数変化もしくは両親のどちらかが保有するコピー数多型であり、病的と考えられるコピー数異常の同定には至らなかった。

A. 研究目的

Aicardi 症候群における、病的染色体微細コピー数異常を検出し、疾患責任遺伝子同定を行うことを目的としている。背景として、単一遺伝子疾患において、de novo の染色体微細構造異常（コピー数異常を含む）が、その疾患責任遺伝子同定の契機となりうる。これまでに自身の手によって de novo の染色体転座から Sotos 症候群の責任遺伝子である *MSD1* を (Kurotaki et al, Nat Genet 2003)、de novo の染色体微細欠失により大田原症候群の責任遺伝子である *STXBPI* を (Saitsu et al 2008, Nat Genet)、West 症候群の責任遺伝子 *SPTAN1* (Saitsu et al 2010, Am J Hum Genet)を同定した実績を有す。

一方、世界中で Aicardi 症候群の研究が進められており、過去に二つのグループで本疾患におけるコピー数異常解析が報告されている。第一報は仏グループのものであり、本症候群患者 18 症例を対象に、X tiling array (理論上の解像度;82kb)を用いて解析を行ったが病的コピー数異常を認めていない (Yilmaz et al, 2007 Eur J Med Genet)。また、米国グループは全染色体を網羅する Agilent 社の 244K DNA 60-mer array を使用し 38 症例を解析したが、疾患に関与するコピー数異常は検出されなかった (Wang et al. 2009 Am J Med Genet.)。

我々も同様に、全ゲノムを対象にした Affymetrix

GeneChip® Human Mapping 250K Nsp Array (全ゲノムに 25 万のオリゴ DNA 搭載)を用いて、24 症例を対象に微細構造異常解析を行ったが、疾患発症に関連するコピー数異常は観察されなかった (未発表)。この結果を受け、昨年度に引き続き Aicardi 症候群患者における微細染色体構造異常の有無を検討するため独自に開発した超高密度の X 染色体タイリングアレイによるコピー数解析を重要な解析系と位置づけて症例解析を進めることにした。このアレイはエクソン領域を高密度に遺伝子間のいわゆるバックボーン領域を相対的に低密度にして現実的に遺伝子の部分的な構造異常を効率よく検出できる画期的な系である。

B. 研究方法

解析対象は、研究協力への承諾を頂けた日本全国の小児科医、小児神経科医から本症と診断された 32 症例（女兒 29 症例、男児 3 症例）のうち、典型例 20 名である。NimbleGen 社製のカスタムアレイを利用し、X染色体上のエクソン領域を網羅する超高密度タイリングアレイ（プローブ数; 72 万/1 アレイ、プローブ長:55mer, プローブ間隔: 遺伝子領域 55 bp 毎, 遺伝子間バックボーン領域 600 bp 毎)を独自にデザインしたアレイを用いる。解析は、Signal Map (Roche)、および Parteck Genomic Suite (Parteck)にて行う。同定された微細欠失・重複領域は定量 PCR や FISH 解析等で詳細に範囲を決定し、責任候補遺伝子リストを作製し、遺伝子変異探索を行う。

また、両親検体をもちいて de novo の検証を行う。

C. 研究結果

検体試料の得られた本症候群32症例のうち、20症例のアレイ解析を完了した。全体で62箇所コピー数異常を認め、その内訳は欠失54箇所、重複8箇所であった。そのうち、病的と考えられないCNV（コピー数多型）と既知の遺伝子のない領域を除くと2症例で2箇所のコピー数異常を検出した。それらの領域に対し、de novoの検証を行ったところ、いずれも両親のどちらかからが保有する病的ではないコピー数変化であった。今回の解析により、病的なコピー数変化は検出されなかった。

D. 考察

今までX染色体上に特化し、高密度で微細染色体コピー数異常を検証した報告はフランスのグループが18症例に対して検証した1報（Yilmaz et al, 2007 Eur J Med Genet）のみであった。今回我々は、典型例20名を解析したが、残念ながら責任遺伝子の同定につながるような病的変異の同定には至らなかった。今までの結果より、Aicard症候群の原因の多くが、X染色体上の比較的大きな染色体構造異常である可能性は極めて低いと考えられた。

E. 結論

典型例20症例を対象に、独自にデザイン・開発した超高密度X染色体タイリングアレイを用いてコピー数異常解析を行った。しかし、今回の解析では病的と考えられるコピー数異常は検出されなかった。今後は、キャプチャー技術を併用した次世代シーケンサーによるゲノム解析に注力する方針である。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Okada I[#], Hamanoue H[#], ([#] denotes equal contribution)
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, Kiyomi

Nishiyama K, Miyatake S, Nishimura A, Mizuguchi T, Niikawa N, Hirahara F, Kaname T, Yoshiura K-i, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Furukawa T, *Matsumoto N, *Saitu H. *SMOC1* is essential for ocular and limb development in humans and mice. *Am J Hum Genet* 88(1): 30-41, 2011

*Tohyama J, Kato M, N, Kawasaki S, Kawara H, Matsui T, Akasaka N, Ohashi T, Kobayashi Y, Matsumoto N. Dandy-Walker malformation associated with heterozygous *ZIC1* and *ZIC4* deletion: Report of a new patient. *Am J Med Genet* 155(1): 130-131, 2011

Furuichi T, Dai J, Cho T-J, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Baynam G, Nagai T, Miyake N, Matsumoto N, Ohashi H, Unger S, Superti-Furga A, Kim O-H, Nishimura G, *Ikegawa S. *CANT1* is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant. *J Med Genet* 48(1): 32-37, 2011

*Saitu H, Hoshino H, Kato M, Nishiyama N, Okada I, Yoneda Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Kubota M, Hayasaka K, Matsumoto N. Paternal mosaicism of a *STXBPI* mutation in Ohtahara syndrome. *Clin Genet* 80 (5):484-488, 2011.

*Yano S, Bagheri A, Watanabe Y, Moseley K, Nishimura A, Matsumoto N, Baskin B, Ray PN. Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with *GPC3* mutations. *Clin Genet* 80 (5): 466-471, 2011.

Nishimura-Tadaki A, Wada T, Bano G, Gough K, Warner J, Kosho T, Ando N, Hamanoue H, Sakakibara H, Nishimura G, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Wakui K, Saitu H, Fukushima Y, Hirahara F, *Matsumoto N. Breakpoint determination of X;autosome balanced translocations in four patients with premature ovarian failure. *J Hum Genet* 56(2) 156-160, 2011

Hiraki Y, Nishimura A, Hayashidani M, Terada Y, Nishimura G, Okamoto N, Nishina S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitu H, Miyake N, *Matsumoto N. A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty. *Am J Med Genet* 152(2): 409-414, 2011

*Tonoki H, Harada N, Shimokawa O, Yosozumi A, Monzaki K, Satoh K, Mika Kosaki R, Sato A, Matsumoto N, Iizuka S. Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses on three patients with chromosomal defects at 6p25. *Am J Med Genet Part A* 155 (12): 2925-2932

Tadaki H, Saitu H, Nishimura-Tadaki A, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Miyake N, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, *Matsumoto N. De novo 19q13.42 duplications involving *NLRP* gene cluster in a patient with

- systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *J Hum Genet* 56 (5): 343-347, 2011.
- *Miyake N, Yamashita S, Kurosawa K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Matsumoto N. A novel homozygous mutation of *DARS2* may cause a severe LBSL variant. *Clin Genet* 80(3): 293-296, 2011.
- Tadaki H, Saitsu H, Kanegane H, Miyake N, Imagawa T, Kikuchi M, Hara R, Kaneko U, Kishi T, Miyamae T, Nishimura A, Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, *Matsumoto N. Exonic deletion of *CASP10* in a patient presenting with systemic juvenile idiopathic arthritis, but not with autoimmune lymphoproliferative syndrome type IIa. *Int J Immunogenet* 38 (4): 287-293, 2011
- Tsurusaki Y, Osaka H, Hamanoue H, Shimbo H, Tsuji M, Doi H, Saitsu H, *Matsumoto N, *Miyake N. Rapid detection of a mutation causing X-linked leukodystrophy by exome sequencing. *J Med Genet* 48 (9): 606-609, 2011.
- *Narumi Y, Shiihara T, Yoshihara H, Sakazume S, van der Knaape MS, Nishimura-Tadaki A, Matsumoto N, Fukushima Y. Hypomyelination with atrophy of the basal ganglia and cerebellum (H-ABC) in an infant with Down syndrome. *Clin Dysmorphol* 20 (3): 166-167, 2011
- Dai J, Kim O-K, Cho T-J, Miyake N, Song H-R, Karasugi T, Sakazume S, Ikema M, Matsui Y, Nagai T, Matsumoto N, Ohashi H, Kamatani N, Nishimura G, Furuichi T, Takahashi A, *Ikegawa S. A founder mutation of *CANT1* common in Korean and Japanese Desbuquois dysplasia. *J Hum Genet* 56(5): 398-400, 2011.
- *Saitsu H, Matsumoto N. Genetic commentary: *De novo* mutations in epilepsy. *Dev Med Child Neurol* 53 (9):806-807, 2011.
- Shimizu K, Okamoto N, Miyake N, Taira K, Sato Y, Matsuda K, Akimaru N, Ohashi H, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, *Kosho T. Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: Observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients. *Am J Med Genet* 155(8): 1949-1958, 2011
- *Saitsu H, Osaka H, Sugiyama S, Kurosawa K, Mizuguchi T, Nishiyama N, Nishimura A, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Harada N, Kato M, Matsumoto N. Early infantile epileptic encephalopathy associated with the disrupted gene encoding Slit-Robo Rho GTPase activating protein 2 (*SRGAP2*). *Am J Med Genet* 158A (1):199-205, 2011
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Suzuki Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy. *Clin Genet* 80 (2): 161-166, 2011
- Hannibal MC#, Buckingham KJ#, Ng SB#, (# denotes equal contribution) 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* 155 (7): 1511-1516, 2011.
- *Kosho T, Miyake N, Mizumoto S, Hatamochi A, Fukushima Y, Sugahara K, Matsumoto N. A response to: Loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (*D4ST1/CHST14*) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "Dermatan sulfate-deficient adducted thumb-clubfoot syndrome". Which name is appropriate, "Adducted thumb-clubfoot syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"? *Hum Mut* 32(12):1507-1509, 2011
- Doi H, Yoshida K, T Yasuda, Fukuda M, Fukuda Y, Morita H, Ikeda S-i, Kato R, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Sakai H, Miyatake S, Shiina M, Nukina N, Koyano S, Tsuji S, Kuroiwa Y, *Matsumoto N. Exome sequencing reveals a homozygous *SYT14* mutation in adult-onset autosomal recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation. *Am J Hum Genet* 89(2):320-327, 2011.
- Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Osaka H, Kato M, Matsumoto N, *Saitsu H. *De novo* and inherited mutations in the gene encoding a type IV collagen $\alpha 2$ chain (*COL4A2*) cause porencephaly. *Am J Hum Genet* 90 (1):86-90, 2012
- *Saitsu H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, *Matsumoto N. Mutations in *POLR3A* and *POLR3B* encoding RNA polymerase III subunits cause an autosomal recessive hypomyelinating leukoencephalopathy. *Am J Hum Genet* 90 (1):86-90, 2012.

2. 学会発表

講演会「次世代シーケンサーを用いた最先端研究」・松本直通「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」(徳島・徳島大学医学部臨床第一講堂 8月26日)

第一回サイトジェノミクスセミナー・松本直通(特別講演)「次世代シーケンス法による疾患研究の最前線」(三菱化学メディエンス志村事業所・東

京 9 月 17 日)

第 46 回産婦人科研究会 (順天堂大学) 松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析の現状」(順天堂大学医学部・東京 9 月 20 日)

第 18 回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析の現状」(佐賀大学医学部・佐賀 10 月 1 日)

日本人類遺伝学会第 56 回大会・松本直通「ヒト遺伝性疾患の原因解明を目指して」学会賞受賞講演 (於・幕張メッセ 11 月 11 日)

日本人類遺伝学会第 56 回大会「次世代シーケンサーを用いたヒト疾患ゲノム解析法」松本直通(シンポジスト)シンポジウム 11(超高速シーケンサーによる疾患ゲノム解析) (於・幕張メッセ 11 月 12 日)

国立精神・神経医療研究センターTMC 棟/クラスター研究棟開棟記念講演会「遺伝性神経疾患のエクソーム解析」松本直通 (招待講演) (国立精神・神経医療研究センター11 月 22 日)

The 34th annual meeting of the molecular biology society of Japan・Next generation sequencing technology enables a large scale medical genomic research (symposium)「Disease genome analysis using next generation sequencer」Naomichi Matsumoto (Invited speaker)(Dec 14, 2011 at Yokohama, Japan)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特願 2012-136 松本直通/鶴崎美徳/三宅紀子・コフィン-シリス症候群の検出方法・平成 24 年 1 月 4 日

特願 2011-247457 才津浩智/松本直通・孔脳症および周産期脳出血の検出方法・平成 23 年 11 月 11 日

特願 2011-226488・才津浩智/松本直通・び慢性大脳白質形成不全症の検出方法・平成 23 年 10 月 14 日

特願 2011-136277・松本直通/土井宏・常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症の検出方法・横浜市立大学・平成 23 年 6 月 20 日

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
<u>Miyake N</u> , Yamashita S, others and <u>Matsumoto N</u> et al.	A novel homozygous mutation of DARS2 may cause a severe LBSL variant.	Clin Genet.	80(3)	293-6	2011
<u>Miyake N</u> , Demer JL, Shaaban S et al.	Expansion of the CHN1 strabismus phenotype.	Invest Ophthalmol Vis Sci.	52(9)	6321-8	2011
Tsurusaki Y, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Miyake N</u> *	Rapid detection of a mutation causing X-linked leucoencephalopathy by exome sequencing.	J Med Genet.	48(9)	606-9	2011
Kosho T, <u>Miyake N</u> , others and <u>Matsumoto N</u> .	A response to: loss of dermatan-4-sulfotransferase 1 (D4ST1/CHST14) function represents the first dermatan sulfate biosynthesis defect, "dermatan sulfate-deficient Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome". Which name is appropriate, "Adducted Thumb-Clubfoot Syndrome" or "Ehlers-Danlos syndrome"?	Hum Mutat.	32(12)	1507-9	2011
Abdel-Salam GM, <u>Miyake N</u> , others and <u>Matsumoto N</u> .	A homozygous mutation in RNU4ATAC as a cause of microcephalic osteodysplastic primordial dwarfism type I (MOPD I) with associated pigmentary disorder.	Am J Med Genet A.	155A(11)	2885-96	2011
Chan WM [#] , <u>Miyake N</u> [#] (# denotes equal contribution) et al.	Two novel CHN1 mutations in 2 families with Duane retraction syndrome.	Arch Ophthalmol.	129(5)	649-52	2011
Dai J, Kim OH, Cho TJ, <u>Miyake N</u> , others, <u>Matsumoto N</u> et al.	A founder mutation of CANT1 common in Korean and Japanese Desbuquois dysplasia.	J Hum Genet.	56(5)	398-400	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimizu K, Okamoto N, <u>Miyake N</u> , others, <u>Matsumoto N</u> , Kosho T.	Delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 deficient Ehlers-Danlos syndrome: observation of two additional patients and comprehensive review of 20 reported patients.	Am J Med Genet A.	155A(8)	1949-58	2011
Saitu H, others, <u>Miyake N</u> , Doi H, Ogata K, Inoue K, <u>Matsumoto N</u> .	Mutations in POLR3A and POLR3B encoding RNA Polymerase III subunits cause an autosomal-recessive hypomyelinating leukoencephalopathy.	Am J Hum Genet.	89(5)	644-51	2011
Doi H, others, <u>Miyake N</u> , others, <u>Matsumoto N</u> .	Exome sequencing reveals a homozygous SYT14 mutation in adult-onset, autosomal-recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation.	Am J Hum Genet.	89(2)	320-7	2011
Yoneda Y, others, <u>Miyake N</u> , Yokochi K, Osaka H, Kato M, <u>Matsumoto N</u> , Saitu H.	De Novo and Inherited Mutations in COL4A2, Encoding the Type IV Collagen α 2 Chain Cause Porencephaly.	Am J Hum Genet.	90(1)	86-90	2012
Okada I, others, <u>Miyake N</u> , Furukawa T, <u>Matsumoto N</u> , Saitu H.	SMOC1 is essential for ocular and limb development in humans and mice.	Am J Hum Genet.	88(1)	30-41	2011
Hiraki Y, others, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> .	A de novo deletion of 20q11.2-q12 in a boy presenting with abnormal hands and feet, retinal dysplasia, and intractable feeding difficulty.	Am J Med Genet A.	155A(2)	409-14	2011
Tadaki H, others, <u>Miyake N</u> , Doi H, Tsurusaki Y, Sakai H, Yokota S, <u>Matsumoto N</u> .	De novo 19q13.42 duplications involving NLRP gene cluster in a patient with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis.	J Hum Genet.	56(5)	343-7	2011
Tadaki H, Saitu H, Kanegane H, <u>Miyake N</u> , others, <u>Matsumoto N</u> .	Exonic deletion of CASP10 in a patient presenting with systemic juvenile idiopathic arthritis, but not with autoimmune lymphoproliferative syndrome type IIa.	Int J Immunogenet.	38(4)	287-93	2011

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsurusaki Y, others, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> .	Exome sequencing of two patients in a family with atypical X-linked leukodystrophy.	Clin Genet.	80(2)	161-6	2011
Hannibal MC, Buckingham KJ, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Miyake N</u> et al.	Spectrum of MLL2 (ALL1) mutations in 110 cases of Kabuki syndrome.	Am J Med Genet A.	155A(7)	1511-6	2011
Tohyama J, <u>Kato M</u> , others and <u>Matsumoto N</u> .	Dandy-Walker malformation associated with heterozygous <i>ZIC1</i> and <i>ZIC4</i> deletion: Report of a new patient.	Am J Med Genet A.	155A	130-133	2011
Hirose M, others, <u>Kato M</u> et al.	Progressive atrophy of the cerebrum in 2 Japanese sisters with microcephaly with simplified gyri and enlarged extracranial space.	Neuropediatrics	42	163-166	2011
Furuichi T, others, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> et al.	<i>CANT1</i> is also responsible for Desbuquois dysplasia, type 2 and Kim variant.	J Med Genet	48(1)	32-37	2011
Saitu H, others, <u>Miyake N</u> , <u>Kubota M</u> , <u>Hayasaka K</u> , <u>Matsumoto N</u> .	Paternal mosaicism of a <i>STXBPI</i> mutation in Ohtahara syndrome.	Clin Genet	80 (5)	484-488	2011
Yano S, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Basakin B</u> , <u>Ray P</u> N.	Familial Simpson-Golabi-Behmel syndrome: Studies of X-chromosome inactivation and clinical phenotypes in two female individuals with <i>GP3</i> mutations.	Clin Genet	80 (5)	466-471	2011
Nishimura-Tadaki A, others, <u>Miyake N</u> , <u>Wakui K</u> , <u>Saitu H</u> , <u>Fukushima Y</u> , <u>Hirahara F</u> , <u>Matsumoto N</u> .	Breakpoint determination of X;autosomal balanced translocations in four patients with premature ovarian failure.	J Hum Genet	56(2)	156-160	2011
Tonoki H, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Iizuka S</u> .	Axenfeld-Rieger anomaly and Axenfeld-Rieger syndrome: clinical, molecular-cytogenetic, and DNA array analyses on three patients with chromosomal defects at 6p25.	Am J Med Genet A	155 (12)	2925-2932	2011