

201135007A

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

(難病関係研究分野)

地域蓄積・収集した稀少疾患の系統的原因究明

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者：吉浦孝一郎
長崎大学大学院・医歯薬学総合研究科・教授

平成24年(2012年)4月

目 次

I. 総括研究報告書

- 地域集積・収集した稀少疾患の系統的原因究明-----1
吉浦孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

II. 分担研究報告書

1. 次世代シーケンス解析, マッピング, 候補遺伝子解析および変異解析-----17
研究分担者
木下 晃（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・助教）
萩 朋男（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・分子医学・准教授）
吉浦孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）
2. Exome 解析, 迅速診断法の開発, 臨床診断-----29
研究分担者
要 匡（琉球大学大学院医学研究科・遺伝医学・准教授）
成富 研二（琉球大学大学院医学研究科・遺伝医学・教授）
3. 炎症疾患診断と試料収集、炎症疾患遺伝子解析-----39
研究分担者
井田 弘明（久留米大学医学部呼吸器・神経・膠原病内科学・准教授）
4. 臨床症候群診断、試料収集-----45
研究分担者
渡邊 順子（久留米大学医学部・小児科学・講師）
5. 炎症疾患診断と試料収集、炎症疾患遺伝子解析-----49
研究分担者
園田 徹（九州保健福祉大学保健学部・臨床遺伝学・教授）

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----51

IV. 研究成果の刊行物・別冊 -----59

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野))
平成23年度総括研究報告書

研究課題：地域集積・収集した稀少疾患の系統的原因究明

研究代表者：吉浦孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

分担研究者

木下 晃（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・助教）

萩 朋男（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・分子医学・准教授）

要 匡（琉球大学大学院医学研究科・遺伝医学・准教授）

成富 研二（琉球大学大学院医学研究科・遺伝医学・教授）

園田 徹（九州保健福祉大学保健学部・臨床遺伝学・教授）

井田 弘明（久留米大学医学部呼吸器・神経・膠原病内科学・准教授）

渡邊 順子（久留米大学医学部・小児科学・講師）

研究協力者

松本直通（横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学・教授）

研究要旨

本研究の目的は（1）大規模高速シーケンサーを利用し、難病・稀少疾患の原因遺伝子を明らかにすること、（2）遺伝子情報に基づき、その疾患の治療法の開発の基盤とし医療への応用をはかることである。本提案で原因遺伝子解明を目指す疾患は、Cockayne 症候群、C 症候群、末端異骨症、筋線維腫症、筋萎縮性側索硬化症、歌舞伎症候群、遺伝性炎症疾患、LCM 症候群等である。

A. 研究目的

本年度は、次世代シーケンサーを用いて

UV 感受性の皮膚疾患 (UV sensitive syndrome), 筋萎縮性側索硬化症, LCM 症候群, Lenz 小眼球症候群家系、先端異骨症の原因遺伝子の同定, および C 症候群関連疾患の原因遺伝子変異同定を目的とした。

変異スクリーニングに次世代型シーケンス SOLiD5500 を用いて, 新規導入した次世代型シーケンサー SOLiD5500 の塩基配列決定の特徴を見定めるためと, 今後 exome 解析を今江の SOLiD5500 によって行っていく際のプロトコールの最適化を行った。

B. 方法

1) UV^sSA 患者細胞の exome 解析

UV sensitive syndrome は七群に分類されていて, そのうちの同一の相補グループに分類される (UV sensitive syndrome A complementation group: UV^sS-A) について, exome 解析を行った。使用した細胞は Ksp3 と XP24K0 で UV^sS-A として知られている細胞 line である。

エクソン濃縮は, Agilent 社の SureSelect All exon v2 (38M) キットを用い, 次世代シーケンスは GAIIX (illumina 社) を使用し, フラグメント解析により行った。得られたデータは, Burrows-Wheeler Aligner (BWA) によりヒトゲノム hg19 へマッピングした後, Picard にて, duplicate シーケンスを取り除く等の一次整列データを処理した。生成された VCF file を Genome Data Toolkit (GATK) を用いて, 細かい部分々々を再配列, 微調整させ Base-quality score を計算させた。小さな欠失

(deletion)・挿入(insertion)については, Dindel プログラムを用いて検出を試みた。検出された Insertion/Deletion, 塩基置換は ANNOVAR によって注釈付けした。dbSNP (Build 131) および 1000Genome project phase I data に登録されている塩基変化については, とりあえず正常 Variant として処理した。さらに, 有意と推定された変異について, HRM 法による変異スクリーニング法を確立し変異確認および 380 人の一般集団コントロール検体での変異のスクリーニングを行った。

(2) Lenz 小眼球症候群家系の原因遺伝子変異同定

家系内において, 患者および保因者 (と推定される者), 健常者試料から抽出された高分子 DNA を使用し解析した。共通する遺伝子変異を濃縮し, 検出しやすくすることを目的として, 患児 4 人のゲノム DNA をプールし, exome 解析を行った。同時に, 家系内健常者の DNA についても exome 解析を行った。エクソン濃縮は, illumina 社の TruSeq キットを用い, 次世代シーケンスは, HiSeq2000 (illumina 社) および SOLiD (LifeTechnologies 社) を使用し, フラグメント解析により行った。

得られたデータは, Burrows-Wheeler Aligner (BWA) によりヒトゲノム hg19 へマッピングし, SAMtools を使用し SNP call, indel call を行った。また, SNP131 登録, 1000 人ゲノム多型の有無を含む位置情報・変異タイプ情報等の annotation 付け, 家系

内の健常者との比較解析を行った。

(3) Exome 解析による先端異骨症の原因遺伝子同定

臨床的に先端異骨症（一部疑いを含む）と診断された患児 8 人のうち、同胞例を含む 4 人について、whole exome 解析を行った。Exome 解析は、前述同様、Illumina 社 TruSeq キットによる濃縮、HiSeq2000 または SOLiD によるフラグメント解析により行い、また、リファレンスマッピング、annotation 付けも同様に行った。

先端異骨症は、常染色体優性遺伝が推定され、孤発例が多いため、それぞれ両親および非罹患同胞についても同様に exome 解析を行い *de novo* 変異の検出を行った。

各患児の *de novo* 変異データを集積し、全ての患児に有意な変異が認められる遺伝子（4 人ともに変異が確認できた同一の遺伝子）を抽出した。

抽出できた A 遺伝子について、他の 4 人の臨床的先端異骨症患児およびそれら両親での変異の有無をダイレクトシーケンス解析により検索した。本 whole exome 解析は、Sungkyunkwan University (Korea) との共同研究として行った。

(4) C 様症候群の exome 解析と遺伝子変異解析

三角頭蓋を認め、臨床的に C 症候群または C 様症候群と診断された患児のうち、*CD96* 遺伝子変異解析において変異を認めなかった患児 17 名のゲノム DNA 試料について

解析した。

2 名について whole exome 解析を行い、その他については Sanger 法ダイレクトシーケンスによる B 遺伝子解析を行った。

Whole exome 解析については、前述と同様に illumina 社 TruSeq キット、HiSeq2000 および SOLiD を使用し、フラグメント解析により行った。また、SNP, indel call, 遺伝子情報を含む annotation 付け等も同様に行い検討した。

(5) SOLiD5500 プロトコール改良

LifeTechnologies から供給される試薬を用いて exome 解析を行った場合には、目的とするエクソン領域に対し塩基決定出来た領域が、Illumina 社製の次世代シーケンサーを用いた結果（外部委託により UVSSA の解析時に使用）よりも 10% 少なかった。これは、SOLiD5500 を基本に exome 解析を行っていかうと考えている我々の研究班には、重大な欠点である。この 10% のカバー率の低さを改善するために、emulsion PCR 法の改良・改善を試みた。

改善ポイントは、emulsion PCR に使用する Taq Polymerase の種類、emulsion の作成方法である。

C. 結果

(1) UV^SSA 患者細胞の exome 解析

dbSNP (Build 131) および 1000Genome project phase I data に登録されていない一塩基変異は、以下の様な内訳であった。

	Ksp3	XP24KO
変異の可能性が高い SNV	217	202
変異の可能性が高い In/Del	46	41
Homozygous mutation	9	17
Compound Heterozygous	9	6
共通	1	

共通の homozygous 変異が UVSSA の原因であると推定された。

(2) Lenz 小眼球症候群家系の原因遺伝子変異同定

患児プール DNA の whole exome 解析の結果、8124 個の SNP/indel が検出された。この中で、X 染色体上のヘミ接合（データ上ホモと検出される）SNP/indel は 552 個であった。内、SNP131 に登録されていない新規 SNP/indel は 51 個、さらにその中でタンパク質をコードするエクソン上の変異は 4 個であった。

Total SNP, indel	81240
On chromosome X	1393
'Homozygous' variations	552
Novel variations (not SNP131)	51
Exonic variations	4

SNP/indel の内訳

エクソン上の 4 個の変異（多型）（synonymous SNP 1, small insertion 1, non-synonymous SNP 2）に関する解析結果

は以下の通りであった。

1 つは Xq26.1 に存在する遺伝子の synonymous SNP であり、コントロール検体においても SNP が確認された。

Small insertion は、Xq22.1 に存在する遺伝子内に認めたものの、家系内の健常者 exome データでも認められた。

2 つの non-synonymous SNP は、Xp22.33 上の XG 遺伝子内と Xp11.4 上の遺伝子内に存在し、本 A 遺伝子が原因である可能性が最も高いと考えられた。

(3) Exome 解析による先端異骨症の原因遺伝子同定

各患児家族における exome 解析、*de novo* 変異検出、および *de novo* 変異を認める遺伝子の一致性を検討した結果、一つの B 遺伝子が原因と推定された。

本 B 遺伝子は、Sanger シーケンス解析の結果、他の臨床的先端異骨症患者 4 人中 3 人に *de novo* 変異を認め、原因遺伝子の一つであることが判明した。

これら全ての *de novo* 変異は、日本人コントロール 800 検体において、認められなかった。

1 人については、本 B 遺伝子の変異を認めず、また臨床的に鑑別の必要な偽性副甲状腺機能低下症の原因である *GNAS* 遺伝子にも変異を認めなかった。

(4) C 様症候群の exome 解析と変異解析

2 名の whole exome 解析の結果、1 人にある遺伝子 exon 11 内の 2 塩基欠失をヘテ

ロで認めた。

もう1人には、変異を認めなかった。一方、15人のSangerシーケンス解析において、4人に新規変異（ナンセンス変異2、一塩基欠失変異1、一塩基挿入変異1）を認めた。他の患児については、有意な変異を認めなかった。

(5) SOLiD5500 プロトコール改良

LifeTechnologies から供給される emulsion PCR 用の Oil はそのまま使用し、Taq polymerase が含まれるミックスは、使用しないで emulsion PCR mix を作成した。現在、改良プロトコールの最終確認中であるが、最も効率の良い Taq Polymerase と emulsion mixture の作製法が出来たと考えている。

(6) 臨床専門医による稀少疾患の診断

関節リウマチ (RA) において、両親が血族結婚で関節破壊が進行し、重症となる家系を同定した。

また、脾腫を伴わない肝腫大を認める男児例をみだした。両親が half sibling であり、常染色体劣性遺伝性疾患が疑われる。高乳酸血症、高ケトン血症、高カルシウム血症に全身性筋トーンス低下、精神遅滞を合併しており、何らかの先天代謝異常症が疑われるが既知の疾患とは、合致せず診断未定の稀少疾患と考えられる。

D. 考察

exome 解析によって稀少疾患でも十分に

原因遺伝子を同定することが可能であると考えられる。実際、本年度も結果に示したように遺伝子同定を行った。

今後の exome 解析の急速進展をめざし、SOLiD5500 のプロトコール改良を完了させた。来年度以降は、さらに解析スピードが上がるとともに、これまで解析困難であった領域の解析も可能となると期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 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, Noriko Miyake N, Furukawa T, Matsumoto N, and Saito H. SMOC1 Is Essential for Ocular and Limb Development in Humans and Mice. *Am J Hum Genet* Jan;88(1): 1-12, 2011. (IF: 12.303)
2. Amani D, Ravangard F, Niikawa N, Yoshiura KI, Karimzadeh M, Dehaghani AS, Ghaderi A. Coding region polymorphisms in the indoleamine 2,3-dioxygenase (INDO) gene and recurrent spontaneous abortion. *J Reprod Immunol* Jan;88(1): 42-47, 2011. (IF: 2.519)

3. Ono S, Yoshiura K, Kurotaki N, Kikuchi T, Niikawa N, Kinoshita A. Mutation and Copy Number Analysis in Paroxysmal Kinesigenic Dyskinesia Families. *Movement Disorders* Mar; 26(4):762-764. (IF: 4.480)
4. Miura K, Higashijima A, Shimada T, Miura S, Yamasaki K, Abe S, Jo O, Kinoshita A, Yoshida A, Yoshimura S, Niikawa N, Yoshiura K, Masuzaki H. Clinical application of fetal sex determination using cell-free fetal DNA in pregnant carriers of X-linked genetic disorders. *J Hum Genet* 2011 Apr;56(4):296-299. (IF: 2.547)
5. Yamasaki K, Miura K, Shimada T, Miura S, Abe S, Murakami M, Sameshima T, Fujishita A, Kotera K, Kinoshita A, Yoshiura K, Masuzaki H. Epidemiology of human papillomavirus genotypes in pregnant Japanese women. *J Hum Genet* 2011 Apr;56(4):313-315. (IF: 2.547)
6. Kurotaki N, Tasaki S, Mishima H, Ono S, Imamura A, Kikuchi T, Nishida N, Tokunaga K, Yoshiura K, Hiroki Ozawa H. Identification of Novel Schizophrenia Loci by Homozygosity Mapping Using DNA Microarray Analysis. *PLoS One* May 2011;6(5):e20589 (IF: 4.351)
7. Oikawa M, Nagayasu T, Yano H, Hayashi T, Abe K, Kinoshita A, Yoshiura KI. Intracystic Papillary Carcinoma of Breast Harbors Significant Genomic Alteration Compared with Intracystic Papilloma: Genome-wide Copy Number and LOH Analysis Using High-Density Single-Nucleotide Polymorphism Microarrays. *Breast J* 2011 Jul-Aug;17(4):427-430. Epub 2011 Jun 9. (IF: 1.425)
8. 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 Jul;155A(7):1511-1516. Epub 2011 Jun 10. (IF: 2.505)
9. Arima K, Kinoshita A, Mishima H, Kanazawa N, Kaneko T, Mizushima T, Ichinose K, Nakamura H, Tsujino A, Kawakami A, Matsunaka M, Kasagi S, Kawano S, Kumagai S, Ohmura K, Mimori T, Hirano M, Ueno S, Tanaka K, Tanaka M, Toyoshima I, Sugino H, Yamakawa A, Tanaka K, Niikawa N, Furukawa F, Shigeo Murata S, Eguchi K, Ida H, Yoshiura K. An assembly defect due to a *PSMB8* mutation reduces proteasome activity and causes autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl*

- Acad Sci* 2011 Sep6;108(36):14914-14919. Epub 2011 Aug 18. (IF:9.771)
10. Mishima H, Sasaki K, Tanaka M, Tatebe O, Yoshiura KI. Agile parallel bioinformatics workflow management using Pwrake. *BMC Res Notes* 2011 Sep 8;4(1):331. [Epub ahead of print] (IF:なし)
 11. Yamasaki K, Miura K, Shimada T, Ikemoto R, Miura S, Murakami M, Sameshima T, Fujishita A, Kotera K, Kinoshita A, Yoshiura KI, Masuzaki H. Pre-vaccination epidemiology of human papillomavirus infections in Japanese women with abnormal cytology. *J Obstet Gynaecol Res* 2011 Jul 27. doi: 10.1111/j.1447-0756.2011.01601.x. [Epub ahead of print] (IF:0.869)
 12. Ono S, Tanaka T, Ishida M, Kinoshita A, Fukuoka J, Takaki M, Sakamoto N, Ishimatsu Y, Kohno S, Hayashi T, Senba M, Yasunami M, Kubo Y, Yoshida LM, Kubo H, Ariyoshi K, Yoshiura K, Morimoto K. Surfactant protein C G100S mutation causes familial pulmonary fibrosis in Japanese kindred. *Eur Respir J* 38(4): 861-869. 2011. Epub 2011 Aug 4. [Epub ahead of print] (IF:5.922)
 13. Sasaki K, Okamoto N, Kosaki K, Yorifuji T, Shimokawa O, Mishima H, Yoshiura K-i, Harada N. Maternal uniparental isodisomy and heterodisomy on chromosome 6 encompassing a *CUL7* gene mutation causing 3M syndrome. *Clin Genet* 80: 478-483. 2011. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01599.x. [Epub ahead of print] (IF: 3.304)
 14. Oikawa M, Yoshiura KI, Kondo H, Miura S, Nagayasu T, Nakashima M. Significance of Genomic Instability in Breast Cancer in Atomic Bomb Survivors: Analysis of Microarray-Comparative Genomic Hybridization. *Radiat Oncol* 2011 Dec 7; 6(1):168.
 15. Hikida M, Tsuda M, Watanabe A, Kinoshita A, Akita S, Hirano A, Uchiyama T, Yoshiura KI. No evidence of association between 8q24 and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without palate in Japanese population. *Cleft Palate Craniofac J* 2011 Oct 7. [Epub ahead of print] (IF: 0.770)
 16. Kaname T. A commentary on Implication of gene copy number variation in health and diseases. *J Hum Genet*, (2012) 57:79-80.
 17. Yoneda Y, Saitsu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Kurotaki N, Tomita H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ogata K, Naritomi K, Matsumoto N. Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of NFIX cause Sotos-like features. *J Hum Genet*, (2012) 57:207-211.
 18. 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*, (2011) 6:e18312.

19. Koga T, Okada A, Kawashiri S, Kita J, Suzuki T, Nakashima Y, Tamai M, Satoh K, Origuchi T, Iwamoto N, Yamasaki S, Nakamura H, Migita K, Ida H, Ueki Y, Eguchi K, Kawakami A. Soluble urokinase plasminogen activator receptor as a useful biomarker to predict the response to adalimumab in patients with rheumatoid arthritis in a Japanese population. *Clin Exp Rheumatol*. 2011;29(811-815)
20. Takei S, Hoshino T, Matsunaga K, Sakazaki Y, Sawada M, Oda H, Takenaka SI, Imaoka H, Kinoshita T, Honda S, Ida H, Fukuda TA, Aizawa H. Soluble interleukin-18 receptor complex is a novel biomarker in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(R52)
21. To H, Yoshimatsu H, Tomonari M, Ida H, Tsurumoto T, Tsuji Y, Sonemoto E, Shimasaki N, Koyanagi S, Sasaki H, Ieiri I, Higuchi S, Kawakami A, Ueki Y, Eguchi K. Methotrexate chronotherapy is effective against rheumatoid arthritis. *Chronobiol Int*. 2011;28(267-274)
22. Komano Y, Tanaka M, Nanki T, Koike R, Sakai R, Kameda H, Nakajima A, Saito K, Takeno M, Atsumi T, Tohma S, Ito S, Tamura N, Fujii T, Sawada T, Ida H, Hashiramoto A, Koike T, Ishigatsubo Y, Eguchi K, Tanaka Y, Takeuchi T, Miyasaka N, Harigai M. Incidence and risk factors for serious infection in patients with rheumatoid arthritis treated with tumor necrosis factor inhibitors: a report from the registry of Japanese rheumatoid arthritis patients for longterm safety. *J Rheumatol*. 2011;38(1258-1264)
23. Origuchi T, Iwamoto N, Kawashiri SY, Fujikawa K, Aramaki T, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Yamasaki S, Ida H, Kawakami A, Ueki Y, Matsuoka N, Nakashima M, Mizokami A, Kawabe Y, Mine M, Fukuda T, Eguchi K. Reduction in serum levels of substance P in patients with rheumatoid arthritis by etanercept, a tumor necrosis factor inhibitor. *Mod Rheumatol*. 2011;21(244-250)
24. Kawashiri SY, Kawakami A, Iwamoto N, Fujikawa K, Satoh K, Tamai M, Nakamura H, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Ida H, Origuchi T, Eguchi K. The power Doppler ultrasonography score from 24 synovial sites or 6 simplified synovial sites, including the metacarpophalangeal joints, reflects the clinical disease activity and level of serum biomarkers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50(962-965)
25. Hida A, Akahoshi M, Takagi Y, Imaizumi M, Sera N, Soda M, Maeda R, Nakashima E, Ida H, Kawakami A, Nakamura T, Eguchi K. Lipid infiltration in the parotid glands: a clinical manifestation of metabolic syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2012;120(110-115)
26. Ichinose K, Origuchi T, Kawashiri SY,

- Iwamoto N, Fujikawa K, Aramaki T, Kamachi M, Arima K, Tamai M, Nakamura H, Ida H, Kawakami A, Eguchi K. Long-term follow-up of adalimumab monotherapy for rheumatoid arthritis in Japanese patients: a report of six cases. *Rheumatol Int*. 2012;32(483-487)
27. Kawashiri SY, Kawakami A, Okada A, Koga T, Tamai M, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Eguchi K. CD4+CD25highCD127low/- Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*. 2011;38(2517-2521)
28. Kita J, Tamai M, Arima K, Nakashima Y, Suzuki T, Kawashiri SY, Iwamoto N, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Treatment discontinuation in patients with very early rheumatoid arthritis in sustained simplified disease activity index remission after synthetic disease-modifying anti-rheumatic drug administration. *Mod Rheumatol*. 2011 Sep 30. [Epub ahead of print]
29. Kita J, Tamai M, Arima K, Nakashima Y, Suzuki T, Kawashiri SY, Okada A, Koga T, Yamasaki S, Nakamura H, Origuchi T, Aramaki T, Nakashima M, Fujikawa K, Tsukada T, Ida H, Aoyagi K, Uetani M, Eguchi K, Kawakami A. Delayed treatment with tumor necrosis factor inhibitors in incomplete responders to synthetic disease-modifying anti-rheumatic drugs shows an excellent effect in patients with very early rheumatoid arthritis with poor prognosis factors. *Mod Rheumatol*. 2011 Sep 6. [Epub ahead of print]
30. Tamai M, Kawakami A, Uetani M, Fukushima A, Arima K, Fujikawa K, Iwamoto N, Aramaki T, Kamachi M, Nakamura H, Ida H, Origuchi T, Aoyagi K, Eguchi K. Magnetic resonance imaging (MRI) detection of synovitis and bone lesions of the wrists and finger joints in early-stage rheumatoid arthritis: comparison of the accuracy of plain MRI-based findings and gadolinium-diethylenetriamine pentaacetic acid-enhanced MRI-based findings. *Mod Rheumatol*. 2011 Dec 28. [Epub ahead of print]
31. Iwamoto N, Kawakami A, Tamai M, Arima K, Nakamura H, Kawashiri SY, Kita J, Okada A, Koga T, Kamachi M, Yamasaki S, Ichinose K, Ida H, Origuchi T, Uetani M, Eguchi K. Magnetic resonance imaging of wrist and finger joints distinguishes secondary Sjögren's syndrome with rheumatoid arthritis from primary Sjögren's syndrome with articular manifestations. *Clin Exp Rheumatol*. 2011; 29(1062-1063)
32. Ikewaki N, Sonoda T, Sato K, Inoko H. Identification of CD93 expression on hematopoietic stem cells in human neonatal umbilical cord blood cells. *J. of Kyushu*

- Univ. of Health and Welfare* 2012 Mar;13: 101-110.
33. Watanabe Y, Yano S, Niihori T, Aoki Y, Matsubara Y, Yoshino M, Matsuishi T. A familial case of LEOPARD syndrome associated with a high-functioning autism spectrum disorder. *Brain Dev.* 2011; 33: 576-579.
34. Segawa Y, Matsufuji M, Itokazu N, Utsunomiya H, Watanabe Y, Yoshino M, Takashima S. A long-term survival case of arginase deficiency with severe multicystic white matter and compound mutations. *Brain Dev.* 2011; 33: 45-48.
35. 井田弘明、吉浦孝一郎、金澤伸雄 特集 II 自己炎症症候群 中條—西村症候群の臨床と病態 炎症と免疫 2011:19(153-157)
36. 井田弘明 自己炎症症候群の遺伝子異常 内科 2011:107(645-652)
37. 井田弘明 医学用語解説 プロテアソーム 炎症と免疫 2011: 19(297-299)
38. 井田弘明 自己炎症症候群と自然免疫 リウマチ科 2011:46(149-154)
39. 金澤伸雄、有馬和彦、井田弘明、吉浦孝一郎、古川福実：中條-西村症候群 日本臨床免疫学会誌 2011:34(388-400)
- 2) 学会発表
国内学会
第34回日本分子生物学会年会 2011年12月13日(火)～16日(金), パシフィコ横浜, 横浜.
- 2P-0182: The Ruby UCSC SPI: accessing the UCSC Genoe Database using Ruby. Hiroyuki Mishima, Jan Aerts, Koh-ichiro Yoshiura
- 2S17-I-2: The practice of whole exome sequencing in two genetic diseases, X-linked recessive and autosomal dominant disorders. T. Kaname
- 2P-0831: Screening of mutations in the *FGDI* gene in Japanese patients with Aarskog-Scott syndrome. K. Yanagi, T. Kaname, K. Naritomi
- 第56回日本人類遺伝学会 2011年11月9日(水)～12日(土), 幕張メッセ, 千葉
- O-010: 免疫プロテアソームの形成以上と活性低下により自己炎症疾患中條-西村症候群が発症する. 木下 晃, 三嶋博之, 有馬和彦, 金澤伸雄, 村田茂穂, 井田弘明, 吉浦孝一郎
- O-070: SNP マイクロアレイを用いたホモザイゴシティーマッピング. 三嶋博之, 黒滝直弘, 木下 晃, 金澤伸雄, 井田弘明, 吉浦孝一郎
- O-085: SNP を用いたハプロタイプ分析による変異 OTC アレルの同定. 芳野 信, 原田なをみ, 沼田早苗, 渡邊順子, 神田芳郎, 澤田 智, 長谷 豊, 岡野善行
- O-103: 子宮体癌特異的 microRNA の同定とその有用性に関する検討. 城 大空,

- 三浦清徳, 平木宏一, 東嶋 愛, 阿部修平, 長谷川ゆり, 三浦生子, 嶋田貴子, 山崎健太郎, 三嶋博之, 木下 晃, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- O-104: HPV-DNA 型別による持続感染と子宮頸部細胞診の変化. 山崎健太郎, 三浦清徳, 池本理恵, 三浦生子, 嶋田貴子, 小寺宏平, 藤下 晃, 鮫島哲郎, 村上 誠, 木下 晃, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- O-113: SMOC は眼球・四肢発症に重要である. 浜之上はるか, 岡田一平, 寺田晃士, 當間隆也, Megarbane Andre, Cogulu Ozgur, 堀江恭二, 竹田潤二, 古市達哉, 池川志郎, 新川詔夫, 平原史樹, 要 匡, 吉浦孝一郎, 鶴崎美德, 土井 宏, 三宅紀子, 古川貴久, 松本直通, 才津浩智
- O-131: 沖縄県における前庭水管拡大症の遺伝学的検討. 我那覇章, 鈴木幹男, 成富研二, 要 匡, 柳久美子, 宇佐美真一
- O-148: 重篤な呼吸障害を合併した異所性灰白質症 (PNH) 乳児例における FLNA 遺伝子変異解析. 渡邊順子, 岡田純一郎, 大矢 崇, 岡松由記, 木村光一, 芳野 信, 松石豊次郎
- P-008: アレイ染色体検査で同定した Joubert 症候群の一例. 松井 健, 齋藤和正, 近藤達郎, 木下 晃, 吉浦孝一郎, 原田直樹
- P-023: ホモ接合マッピングによる統合失調症の感受性遺伝子の同定. 黒滝直弘, 田崎真也, 三嶋博之, 小野慎治, 今村 明, 菊池妙子, 西田奈央, 徳永勝士, 吉浦孝一郎, 小澤寛樹
- P-067: Aarskog-Scott 症候群における *FGDI* 遺伝子変異. 柳久美子, 要 匡, 岡本伸彦, 塚原正人, 黒澤健司, 泉川良範, 福嶋義光, 蒔田芳男, 近藤郁子, Ayca Altincik, 水野誠司, 伊藤靖典, 成富研二
- P-070: OpitzC 様症候群 (Bohring-Opitz 症候群) における *ASXL1* 遺伝子変異. 要 匡, 柳 久美子, 福嶋義光, 水野誠司, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 成富研二
- P-148: Fabry 病の遺伝カウンセリング 11 家系の経験. 原田なをみ, 沼田早苗, 渡邊順子, 芳野 信, 斉藤伸道
- 第 18 回出生前診断研究会 2011 年 10 月 1 日 (土), 佐賀大学医学部臨床大講堂, 佐賀
- O-6: Lenz 小眼球症候群を呈する一家系の原因遺伝子解析. 要 匡, 柳 久美子, 當間隆也, 村松友佳子, 森田この美, 池松真也, 板垣裕輔, 水野誠司, 吉浦孝一郎, 成富研二
- 第7回広島大学・長崎大学連携研究事業カンファランス -放射線災害医療の国際教育拠点確立に向けた機関連携事業- 2011年6月4日 (土), 場所: 広島大学霞キャンパス, 広島

2-4: microarray CGH 解析によるヒパクシ
ャ乳癌におけるゲノム不安定性の同定.
及川将弘, 吉浦孝一郎, 近藤久義, 三
浦史郎, 永安 武, 中島正洋

第84回日本生化学会大会 2011年9月21
日(水)~24日(土), 京都国際会館;
京都

3P-0554: 免疫グロブリンスーパーファミリ
ー CD96の細胞外マトリックスタンパク
質との反応性の検討. 要 匡、柳久美子、
森田この美、池松真也、成富研二

第51回日本先天異常学会学術集会 2011
年7月22日(金)~24日(日), シェ
ーンバッハ・サボー; 東京

P-065: Opitz三角頭蓋症候群原因遺伝子
CD96のPCR-HRM法による変異スキャニン
グシステム. 要 匡、森田この美、柳久
美子、花房宏昭、吉浦孝一郎、池松真也、
成富研二

第 464 回日本小児科学会福岡地方会例
会 2011年4月9日(土), 福大メディ
カルホール, 福岡.

11: $p57^{KIP2}$ (KIP2)の遺伝子変異を認めた
Beckwith-Wiedemann 症候群(BWS)の一例.
岡田純一郎、芳野 信、渡邊順子

18: 亜鉛欠乏による難治性濃痂疹の一例.
坂西信平、伊藤沙織、今城透、倉田毅、
竹廣敏史、石堂雄毅、河野 剛、秋田幸
大、大部敬三、渡邊順子

第34回日本小児遺伝学会学術集会 2011
年8月11日(木), パシフィコ横浜 会
議センター, 横浜

$p57^{KIP2}$ (KIP2)の遺伝子変異を認めた
Beckwith-Wiedemann 症候群(BWS)の一
例. 岡田純一郎、東元 健、八木ひと
み、芳野 信、副島英伸、渡邊順子

第114回日本小児科学会学術集会 2011
年8月12日(金)~14日(日), グラ
ンドプリンスホテル新高輪, 東京

芳野 信、大平智子、渡邊順子、岡田純
一郎、大矢崇志、松石豊次郎: メチル
マロン酸血症患者における
neuroprotection

第53回日本先天代謝異常学会 2011年
11月24日(木)~26日(土), ホテル
ニューオオタニ幕張、千葉

SNPに基づくハプロタイプ解析による変
異 OTC アレルの特定. 芳野 信、原田
なをみ、沼田早苗、渡邊順子、神田芳郎、
澤田 智、長谷 豊、岡野善行

骨髄移植を受けた I-cell 病患者の長期予
後. 渡邊順子、矢部普正、加藤俊一、
大友孝信、酒井規夫、賀佐伸省、祐川(早
川)和子、芳野 信

高分解能融点分析による OTC 遺伝子の変
異部分の検出. 原田なをみ、沼田早苗、
渡邊順子、芳野 信

シトリン欠損症患者の倦怠感と QOL の実
態と関連に関する研究. 小林京子、岡
野義行、井原健二、伊藤哲也、芳野 信、

渡邊順子、梶 俊策、大浦敏博、長尾雅悦、野口篤子、虫明聡太郎、法橋尚宏

第 55 回日本リウマチ学会総会・学術集会
2011.7.17-7.20 神戸市

シンポジウム 井田弘明 成人の自己炎症性疾患の炎症病態

野中文陽，江口勝美，右田清志，井田弘明，川上純 MEFV R202Q 変異を認めた IMAM (inflammatory Myopathy with Abundant Macrophages) の 1 例

吉田つかさ，本多靖洋，海江田信二郎，丸岡浩誌，福田孝昭，井田弘明 SLE に合併した蛋白漏出胃腸症の一例

荒牧俊幸，中島宗敏，古賀智裕，川尻真也，山崎聡士，中村英樹，本多靖洋，井田弘明，折口智樹，福田孝昭，江口勝美，川上純
タクロリムスのループス腎炎に対する有用性の検討 一前向き試験一

藤秀人，井田弘明，曾根本恵美，佐々木均，植木幸孝，江口勝美 関節リウマチ治療におけるメトトレキサートの時間薬物療法

上田尚靖，塚本浩，石ヶ坪良明，楠原浩一，武井修治，蓑田清次，鷺尾昌一，井田弘明，高橋裕樹，藤井隆夫，田平知子，大田俊一郎，田中淳，藤健太郎，古川牧緒，井上靖，有信洋二郎，新納宏昭，赤司浩一，堀内孝彦 TNF 受容体関連周期性症候群 (TRAPS) の全国実態調査

金澤伸雄，古川福実，井田弘明 中條—西村症候群：新規幼児例の報告と類似疾患の外国報告例との比較

有馬和彦，井田弘明，折口智樹，金澤伸雄，江口勝美 全身性炎症を呈する遺伝性プロテアソーム機能不全症の発見

田尻守祐，井田弘明，海江田信二郎，本多靖洋，福田孝昭 膠原病関連間質性肺炎と特発性間質性肺炎との差異；気管支肺胞洗浄分析から

第 41 回九州・沖縄支部学術集会（九州リウマチ学会）2011.3.19-20 宮崎市

本多靖洋，勝目茉紗子，井田弘明，海江田信二郎，吉田つかさ，矢野真弓，竹尾正影，松岡昌信，日高由紀子，弓削健太郎，福田孝昭 猛暑の真夏に発症したりベドを伴う有通性皮膚潰瘍

本多靖洋，海江田信二郎，井田弘明，矢野真弓，竹尾正影，松岡昌信，日高由紀子，福田孝昭，弓削健太郎 拳児希望関節リウマチ患者へエタネルセプトの継続投与を行い、妊娠・出産・授乳した 3 症例

第 32 回日本炎症・再生医学会
2011.06.02-03 京都市

井田弘明，有馬和彦，金澤伸雄，江口勝美 プロテアソーム機能不全症(中條-西村症候群)の病態解析

金澤伸雄，井田弘明 中條-西村症候群(家族性日本熱)と脂肪萎縮を伴う自己炎症疾患

44th Annual Meeting for the Japanese Society of Developmental Biologists
(cosponsor: the Asia-Pacific Developmental Biology Network)

Okinawa Convention Center, Okinawa, May

18-21, 2011

P-1189: Analysis of interaction between CD96 and extracellular matrix proteins. T. Kaname, K. Yanagi, K. Naritomi

国際学会

Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2011.8.30-9.2 (Geneva)

Long-term survival and restoration of GLCNAC-1-phosphotransferase activity in peripheral lymphocytes of a patient with I-cell disease who received allogenic bone marrow transplantation. Yoshino M, Watanabe Y, Yabe H, Kato S, Otomo T, Sakai N, Gasa S, Hayasaka-Sukegawa K.

12th International Congress of Human Genetics and The American Society of Human Genetics, 61st Annual Meeting, Montreal, Canada, October 11-15, 2011

556T: Identification of novel schizophrenia loci by homozygosity mapping using DNA microarray analysis. N. Kurotaki, H. Mishima, S. Ono, A. Imamura, S. Tasaki, T. Kikuchi, N. Nishida, K. Tokunaga, K. Yoshiura, H. Ozawa.

1036/F: Ehlers-Danlos syndrome and bilateral periventricular heterotopia due to the novel mutation of p.Gly132Val in the CHD1 in FLNA: An infantile case presented with congenital

tracheobronchopulmonary disease. Watanabe Y, Okada J, Kimura K, Okamatsu Y, Oya T, Yoshino M, Yagi H, Sato M.

1095T: Detection of a mutation in Lents microphthalmia family by exome sequencing. T. Kaname, K. Yanagi, Y. Muramatsu, T. Tohma, H. Hanafusa, K. Morita, S. Ikematsu, Y. Itagaki, S. Mizuno, K. Yoshiura, K. Naritomi.

10th World Congress on Inflammation 2011.06.25-29 Paris

Ida H, Arima K, Kinoshita A, Mishima H, Kanazawa N, Furukawa F, Murata S, Yoshiura K-I, Eguchi K A novel mutation of proteasome subunit causes decrease of proteasome activity in Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever).

Kanazawa N, Kunimoto K, Mikita N, Furukawa F, Yoshiura K-I, Ida H Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever) and related autoinflammatory disorders accompanied with lipodystrophy.

Annual European Congress of Rheumatology (EULAR 2011) 2011.5.25-28 London

Arima K, Kanazawa N, Mishima H,

Kinoshita A, Ida H, Yoshiura K, Eguchi K
Decrease of proteasome activity is associated with a novel mutation of the proteasome catalytic subunit in an autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome.

匡

バイオインフォマティクス・フォーラム
in 沖縄 2011 2011年6月26日(日), 那覇 ; 沖縄
医学研究とバイオインフォマティクス. 要
匡

75th annual meeting of the American College of Rheumatology(ACR 2011) 2011.11.5-9 Chicago

Ida H, Arima K, Kanazawa N, Yoshiura KI
Proteasome disability syndrome: an analysis of the pathogenesis of a new autoinflammatory syndrome, Nakajo-Nishimura syndrome.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許得取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

その他

第 136 回遺伝子技術講習会 2012 年 2 月
13 日 (月), 熊本大学 ; 熊本
次世代シーケンサを活用した、パーソナルゲノムに基づくヒト遺伝性疾患の解析. 要

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野))
平成23年度分担研究報告書

研究課題：地域集積・収集した稀少疾患の系統的原因究明

分担研究項目：次世代シーケンス解析，マッピング，候補遺伝子解析および変異解析

分担研究者：

吉浦孝一郎（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・教授）

木下 晃（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・助教）

荻 朋男（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・分子医学・准教授）

研究協力者：

松本直通（横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝医学・教授）

新川詔夫（北海道医療大学・学長）

太田 亨（北海道医療大学個体差健康科学研究所・准教授）

研究要旨

本研究分担班の研究目的は（1）患者試料を用いて実際の exome 解析等のゲノム情報の取得，（2）原因遺伝子の同定，（3）新規試料発見のための遺伝子解析，（4）SOLiD5500の塩基配列決定の performance 向上のためのプロトコール改良である。

A. 研究目的

本年度は，次世代シーケンサーを用いて UV 感受性の皮膚疾患（UV sensitive syndrome），筋萎縮性側索硬化症，LCM 症候群の exome 解析を行った。

昨年度，歌舞伎症候群（新川-黒木症候群）の原因遺伝子の一つが MLL2 であることを

報告しているが，これまでに収集していた患者試料と新規収集した試料あわせて 53 例の歌舞伎症候群の変異解析をおこなった。本変異解析は，通常のキャピラリーシーケンサーによる一般的な PCR-direct シーケンス法と次世代型シーケンサー SOLiD5500 による塩基配列決定を併せて行った。我々