

201224100B

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業(神経・筋疾患分野)

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

平成22～24年度 総合研究報告書

主任研究者 松本 直通

(横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学・教授)

平成25(2013)年 4月

目 次

I. 総合研究報告

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究 研究代表者 松本直通 (資料) 研究全体の流れと進行状況	----- 1
自閉症における <i>SHANK 3</i> 異常症例の臨床的検討 (平成 22 年度) マイクロアレイ解析で微細異常が判明した自閉症の臨床的検討 (平成 23 年度) 16 番染色体短腕のゲノムコピー数増加と自閉症 (平成 24 年度) 研究分担者 岡本伸彦	----- 17
広汎性発達障害関連遺伝子による病態解明研究 研究分担者 橋本亮太	----- 25
年齢依存性てんかん性脳症の遺伝型と臨床型の関連性の解明 研究分担者 加藤光広	----- 47
クレアチン欠損症の簡便なスクリーニング法の開発 (平成 22 年度) 本邦におけるクレアチン欠損症のスクリーニング法確立に向けて (平成 23 年度) 本邦におけるクレアチン欠損症のスクリーニング (平成 24 年度) 研究分担者 小坂仁	----- 51
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 61
III. 研究成果の刊行物・別刷	----- 63

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
総合研究報告書

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

研究代表者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科教授

Copy Number Variation (CNV)の発見によりヒト脳神経疾患ゲノム解析は新たな局面を迎えている。ほぼ同一のCNVが精神遅滞症候群やてんかんあるいは自閉症などの発達障害を含む多様なヒトの疾患を惹起していることが明らかになり、これら多様な疾患群の共通項がCNV（のみ）であるという新たな「genotype-first」の時代を迎えた。本研究は、先端技術を用いてこれらの発達期の様々な障害を対象に網羅的な解析を行いCNVの視点からこれらの疾患群を再定義し、CNVを利用した新たな効率的診断法と責任分子単離を行うことを目的とする。対象疾患は、ヒト発達障害の中でも重要な、自閉症、精神遅滞症候群、てんかん関連疾患とする。症例集積は順調に進行し自閉症は200例・精神遅滞関連症候群980例・てんかん関連症候群480例を集積し高解像度マイクロアレーを用いたCNV解析は500例超を完了、数多くの興味深いCNVの知見を得ることに成功した。これらの個々の症例の詳細な解析から疾患に関与する分子群の特定を進めた。研究期間3年間において複数の疾患の責任遺伝子の解明に成功した：四肢異常を伴う小眼球症候群（Am J Hum Genet, 2011）・びまん性大脳白質形成不全症（Am J Hum Genet, 2011）・Coffin-Siris症候群（Nat Genet 2012）・大田原症候群（Ann Neurol 2012）、Kabuki症候群（Hum Mut 2012）などの新規遺伝子同定を行った。

分担研究者

岡本伸彦・大阪府立母子保健総合医療センター・遺伝診療科・科長

橋本亮太・大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学連合小児発達学研究科附属子どものこころの分子統御機構研究センター/大阪大学大学院医学系研究科・精神医学・准教授

加藤光広・山形大学医学部発達生体防御学講座・小児医科学分野・講師

小坂仁・神奈川県立こども医療センター神経内科・科長/神奈川県立がんセンター臨床研究所

発達障害を含む多様なヒトの疾患を惹起していることが明らかになり、これら多様な疾患群の共通項がCNV（のみ）であるという新たな「genotype-first」の時代を迎えた。本研究は、先端技術を用いてこれらの発達期の様々な障害を対象に網羅的な解析を行いCNVの視点からこれらの疾患群を再定義し、CNVを利用した新たな効率的診断法と責任分子単離を行うことを目的とする。研究代表・松本は、全ての高解像度プラットフォームに対応したアレー解析機器を完備し（Affymetrix社・Agilent社に加えてIllumina社のアレー解析機器を新たに導入）、世界最高レベルの解析環境を有す。この研究環境・実績を応用し、ヒト発達障害の中でも重要な自閉症、精神遅滞症候群、てんかん関連疾患に対して世界最高解像度のCNV解析と塩基レベルでの解析を行い発達障害に関与する遺伝的効果の高い遺伝子を同定する。本邦ではCNVを解析対象としたまとまった研究は皆無でその実体解明は急務である。平成24年度までに自閉症、精神遅滞症例

A. 研究目的

Copy Number Variation (CNV)の発見によりヒト脳神経疾患ゲノム解析は新たな局面を迎えている。ほぼ同一のCNVが精神遅滞症候群やてんかんあるいは自閉症などの発

、てんかん関連疾患を対象に500例超の解析を終了、超細密レベルでの染色体異常カタログと候補遺伝子探索を進めた。一方、明らかに病的なCNVを有さない症例においてCNVを端緒にしたアプローチは無力である。この欠点を克服するため次世代シーケンサーを用いた全エクソン領域（エクソーム）シーケンスの開発を進め、解析系を確立した。多数の疾患の責任遺伝子解明を進め四肢異常を伴う小眼球症候群・びまん性大脳白質形成不全症・Coffin-Siris症候群・大田原症候群・Kabuki症候群等において世界に先駆けて責任遺伝子を同定した。

B. 研究方法

①症例の集積

各研究分担者および遺伝医学に関する独自のネットワーク・蔵王セミナー等で形成された小児神経臨床研究ネットワークを中心に、てんかん関連疾患・精神遅滞関連症候群ならび自閉症を広く集積する。末梢血の得られた検体は基本的にリンパ芽球株化を行いゲノムDNAと併に染色体が可能なプラットフォームを形成する。

②高密度アレーの比較検討

Affymetrix社 Cytogenetics Array 2.7M (全ゲノムにわたって270万マーカーを搭載)あるいはCytoscan HD (遺伝子を中心に最適化された260万マーカーを搭載)、Agilent社 1M/400K (全ゲノムにわたってそれぞれ100万/40万マーカー搭載)、NimbleGen社 2.1M/700K アレー (それぞれ210万/70万マーカー搭載)を用いてCNV検出の感度や精度等を比較検討しCytoscan HDの感度および正確性を確認することができた。

③疾患責任遺伝子の単離

CNV異常を認めなかった四肢異常を伴う小眼球症候群、びまん性大脳白質形成不全症、Coffin-Siris症候群とSTXBP1・ARX異常を認めない大田原症候群、あるいは原因が長らく不明であったKabuki症候群に対して、SNPアレータイピングを用いた小家系マッピングからのポジショナルクローニングや次世代シーケンサーを用いた全エクソン領域の解析により新規責任遺伝子を特定する。さらに2012年に明らかになった複数の微

細欠失例の存在から責任遺伝子であることを強く疑われていたKDM6A遺伝子の変異解析をMLL2遺伝子変異陰性例のKabuki症候群に対して行う。

C. 研究結果

①症例の集積

症例集積は順調に進行し既に自閉症は200例・精神遅滞関連症候群980例・てんかん関連症候群480例を超えた。本年度に責任遺伝子が明らかになったKabuki症候群も既に80例を超える集積状況となった。

②高密度アレーの比較検討とCNV検出

Affymetrix社のCytogenetics array 2.7MあるいはCytoscan HDをprimary platformとして、疾患ゲノム解析を進めた。既に200例を超える症例の1次解析は終了した。高解像度であるため通常1例に於いて数十カ所のCNVおよび染色体微細構造異常候補領域を検出するため、それぞれを個別にCNVの真偽を検証していくことは物理的・費用的にも相当困難である。検証系の効率化・簡素化の目的で他のプラットフォームの高密度アレーを用いていわゆるdouble arraysによる解析を進めた。この過程で各種商業プラットフォームの特性と解析上の注意点が明らかになった。Affymetrix社のcytogenetics array 2.7Mでは、プローブ密度は現存アレーで最高レベルであるが、専用ソフトウェア(ChAS)のversion up後に測定値が不安定なプローブがかなり削除されているため実質2.1 M程度に解像度が減じていた。一方、cytogenetics arrayのさらなる改良版であるCytoscan HDアレーはCNV解析に加えてた系情報を加味したAllele peakの情報が極めて有用で高い信頼度でCNV検出が可能であった。また他のプラットフォーム特性を考慮しながら適宜double array解析を追加し必要に応じて個別にFISHや定量PCRによる検証も追加し異常CNV、染色体微細構造異常領域のカタログ作成を進め興味深いCNV異常が多数検出された。Double array検証でCytoscan HDアレーの秀逸性を確認することができたので本年度は特にCytoscan HDアレーを軸に解析を進めた。

③疾患責任遺伝子の単離

I. 四肢異常を伴う小眼球症候群 (Microphthalmia with limb anomalies, MLA)

MLA は視神経の形成不全と小(無)眼球症に四肢(手足の合指症や乏指症など)の異常を伴う常染色体劣性疾患である。通常精神発達遅滞を伴う。日本人家系1例、レバノン家系1例、トルコ家系1例を対象に、マイクロアレイによる全ゲノム SNP タイピングおよびマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析を行い、3家系4症例に共通する原因遺伝子候補領域を第14番染色体上に見出した。そして同領域に位置する *SMOC1* 遺伝子のホモ接合性変異を、4人の患者さん全てに同定した(図2)。マウスに於いて *Smoc1* は形態形成期の眼や手足で発現していた。さらに、*Smoc1* 変異マウスでは、MLA 患者で特徴的な視神経の形成不全と小眼球症、および合指症や腓骨の低形成などの四肢形成異常が認められた。さらに、発生上重要である BMP シグナルの減少が、趾間部での細胞死の減少をもたらし、合指症を惹起することが強く示唆された (Am J Hum Genet, 2011)。

II. HCAHC

小脳萎縮と脳梁低形成を伴うび慢性大脳白質形成不全症 (Diffuse cerebral hypomyelination with cerebellar atrophy and hypoplasia of the corpus callosum : HCAHC) は、2009年に国立精神・神経医療研究センター・佐々木征行部長らが初めて報告した新しい白質形成不全症である。全エクソシークエンスを3名の患者で行い、1名において *POLR3A* 遺伝子の、2名において *POLR3B* 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を同定した。*POLR3A* および *POLR3B* 遺伝子は RNA polymerase III (PolIII) 複合体のコアになるサブユニット (RPC1 および RPC2) をコードし、同定された変異は PolIII 活性を低下させると予想された。PolIII は tRNA と 5SrRNA を含む大多数の低分子 RNA をコードする遺伝子を転写しており、これらの低分子 RNA 量が不足することにより髄鞘化不全が起きると考えられた (Am J Hum Genet, 2011)。

III. Coffin-Siris 症候群

Coffin-Siris 症候群(以下 CSS と称す)は、軽度～中等度の精神遅滞・中等度以上の低緊張・てんかん・粗な顔貌と手足第5指の低形成などの奇形兆候を特徴と多発奇形・精神遅滞症候群の一つである。稀な疾患でその頻度や遺伝要因の解明は進んでいなかった。CSS を対象に高密度マイクロアレイで解析を行ったが非典型例でのみ染色体微細欠失(6q25 領域の 9.2 Mb 欠失)を認めるも、典型例10例で CNV 異常は同定されなかった。典型例5例を対象に全エクソーム解析を行い責任遺伝子 *SMARCB1* 異常を2例に同定した。更なる解析で計4例で異常を認めた。*SMARCB1* はクロマチンリモデリング活性を有する SWI/SNF 複合体の1つのサブユニットをコードする。*SMARCB1* 異常で説明されない CSS 症例に対して SWI/SNF 複合体のサブユニットをコードする16遺伝子をスクリーニングし、*SMARCA4* 異常を6例、*SMARCE1* 異常を1例、*ARID1A* 異常を3例、*ARID1B* 異常を5例で認め、解析した CSS22 症例中19症例で SWI/SNF 複合体サブユニットの何れかの異常を認めた (Nat Genet 2012)。尚、非典型例で認めた 6q25 微細欠失の中に *ARID1B* が含まれており *ARID1B* 欠失によって非典型的 CSS が生じたと考えられた(図1) (Nat Genet 2012)。プロジェクトにおける非典型例の解釈という課題が浮き彫りとなった。

IV. 大田原症候群

大田原症候群 (early infantile epileptic encephalopathy with suppression burst : EIEE) は、新生児～乳児期早期に頻回の短い単発性あるいはシリーズ形成性の全般性強直発作で発症し、脳波上顕著な suppression burst を示す、精神運動発達遅滞を伴う難治性のてんかん性脳症である。発症は10万に1例程度とされるが詳細は不明である。約75%の EIEE 症例が West 症候群(點頭てんかん)に移行し、一連の年齢依存性てんかん性脳症群と考えられる。EIEE の多くは脳形成異常を伴うが、脳形態異常を認めない症例が存在し、遺伝的な素因が示唆されていた。これまでに X 染色体上に位置する *ARX* の変異が男児例で、9番染色体上の *STXBPI* の異常が男女の両方の症例で報告されている。

しかしEIEE症例の過半数は上記2遺伝子異常で説明がつかない。*ARX* 及び *STXBP1* 異常の無い EIEE12 例において全エクソーム解析を行った。内訳は男児 6 例、女児 4 例であった。12 例で 964 バリエントを検出した。このうち 3 例で *KCNQ2* のミスセンス変異を検出した。両親検索の結果 de novo で生じた変化であった。このことは EIEE の原因として *KCNQ2* が重要な位置を占めていることを強く示唆する (Ann Neurol 2012)。*KCNQ2* は、元々 Benign familial neonatal seizure 1 の責任遺伝子の一つとして報告されていた。今回の我々の発見と他のグループによる neonatal epileptic encephalopathy の変異報告と合わせ、*KCNQ2* 変異が良性のてんかんに限らず重症型のてんかんの原因であることが強く示唆された

V. Kabuki 症候群

Kabuki 症候群は、歌舞伎役者のクマドリを思わせる特異顔貌と知的障害を特徴とする先天多発奇形症候群である。長らく原因が不明であったが、2010 年ついに全エクソーム解析を用いて責任遺伝子である *MLL2* の単離に至った(ワシントン大学との共同研究、Nat Genet 2010)。一方、世界中で解析が進行し Kabuki 症候群の *MLL2* 変異率は 56-76%程度で、およそ 1/3 の症例は *MLL2* 変異を認めない。2012 年に *MLL2* 陰性の Kabuki 症候群で *KDM6A* を含む CNV 異常 (微細欠失) が他グループより報告され (Am J Hum Genet, 2012)、*KDM6A* が第二の責任遺伝子として浮上した。我々は、*MLL2* 異常を認めない KMS 症例 32 例の *KDM6A* 変異スクリーニングを施行し 3 例で *KDM6A* 変異を認め、*KDM6A* が Kabuki 症候群の第二の責任遺伝子であることを証明した (Hum Mut in press)。

④次世代シーケンスを用いた CNV 同定法
難治性てんかん性脳症を対象にてんかん関連遺伝子 35 遺伝子 (156 kb) を網羅的に解析するターゲットキャプチャー法を開発した。この方法により 24 症例を卓上型シーケンサー Miseq で 1 ランで解析した。全症例において対象遺伝子領域を 250 リード以上でシーケンスが可能であった。ポジティブコントロールとして 3 種の異なるミスセン

ス変異、6 種類の 10 bp 未満の塩基欠失挿入は全て検出可能であった。またマイクロアレー解析で明らかになった 6 つの 4.6 Kb~2.8 Mb までの染色体微細欠失が全て Alex Nord プログラムで確実に検出され次世代シーケンスを用いて点変異のみならず CNV 解析までが可能であることが判明した (投稿準備中)。

D. 考察

最終年度である平成 24 年度までに極めて質の高い発達障害関連疾患 1500 例超を集積した。高解像度のマイクロアレー解析において 500 例を超える症例の 2 次解析 (アレー解析+他方での検証) を終了し、多数の疾患関連 CNV を同定した。一方で CNV 異常の無い症例について次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析法の開発を進め、高率に点変異を同定するシステムを確立した (平成 22-23 年度中期まで)。CNV 解析とバックアップシステムとしての次世代解析を組み合わせて 5 疾患の遺伝子単離を行った。MLA は SNP アレーを用いて小家系マッピングを行い遺伝子領域を特定、従来型のポジショナルクローニングから、CSS の SWI/SNF サブユニット遺伝子異常と大田原症候群の *KCNQ2* は、エクソーム解析の成果、Kabuki 症候群の *KDM6A* 異常は、染色体微細異常欠失からの遺伝子異常の同定である。さらに次世代シーケンスデータを用いた CNV 解析も十分可能であることを確認した。

E. 結論

CNV 解析と次世代解析は補完的で発達障害関連疾患の解析には両プラットフォームが必要である。本研究の当初の目標であった、多数の発達障害関連疾患遺伝子の単離は、十分に達成されたと考える。

F. 健康危険情報

本研究遂行上、健康危機に関わる問題は生じていないが、その可能性・危険性等について把握した際には、迅速に対応していきたい。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Shiihara T, Maruyama K-i, Yamada Y, Nishimura A, Matsumoto N, Kato M, Sakazume S. A case of Baraitser-Winter syndrome with unusual brain MRI findings of pachygyria, subcortical band heterotopia and periventricular heterotopias. *Brain Dev* 32(6), 502-505, 2010.
- Saitsu H, Tohyama J, Kumada T, Egawa K, Hamada K, Okada I, Mizuguchi T, Osaka H, Miyata R, Furukawa T, Haginoya K, Hoshino H, Goto T, Hachiya Y, Yamagata T, Saitoh S, Nagai T, Nishiyama K, Nishimura A, Miyake N, Komada M, Hayashi K, Hirai S, Ogata K, Kato M, Fukuda A, Matsumoto N. Dominant negative mutations in α -II spectrin cause early onset West syndrome with severe cerebral hypomyelination, spastic quadriplegia, and developmental delay. *Am J Hum Genet* 86(6):881-889, 2010.
- Saitsu H, Kato M, Okada I, Orii KE, Kondo N, Wada T, Hoshino H, Kubota M, Arai H, Tagawa T, Kimura S, Sudo A, Miyama S, Takami Y, Watanabe T, Nishimura A, Nishiyama K, Miyake N, Osaka H, Hayasaka K, Matsumoto N. *STXBPI* mutations in severe infantile epilepsies with suppression-burst pattern. *Epilepsia* 51(12): 2397-2405, 2010
- Sakai H[#], *Yoshida K[#] ([#]denotes equal contribution), Shimizu Y, Morita H, Ikeda S-i, Matsumoto N. Analysis of an insertion mutation in a cohort of 93 patients with spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31) from Nagano, Japan. *Neurogenet* 11(4): 409-415, 2010
- Osaka H, Yamamoto R, Hamanoue H, Nezu A, Sasaki M, Saitsu H, Kurosawa K, Shimbo H, Matsumoto N, Inoue K. Disrupted SOX10 regulation of GJC2 transcription causes Pelizaeus-Merzbacher-Like Disease. *Ann Neurol* 68(2): 250-254, 2010
- Nishimura A, Hiraki Y, Shimoda H, Tadaki H, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. *De novo* deletion of 1q24.3-q31.2 in a patient with severe growth retardation. *Am J Med Genet* 152A:1322-1325, 2010
- Komoike Y, Fujii K, Nishimura A, Hiraki Y, Michiko, Hayashidani M, Shimojima K, Nishizawa T, Higashi K, Yasukawa K, Saitsu H, Miyake N, Mizuguchi M, Matsumoto N, Osawa M, Kohno Y, Higashinakagawa T, Yamamoto T. Zebrafish gene knockdowns imply roles for human *YWHAG* in infantile spasms and cardiomegaly. *Genesis* 48(4): 233-243, 2010.
- Doi H, Koyano S, Miyatake S, Matsumoto N, Kameda T, Tomita A, Miyaji Y, Suzuki Y, Sawaishi Y, Kuroiwa Y. Siblings with the adult-onset slowly progressive type of pantothenate kinase-associated neurodegeneration and a novel mutation, Ile346Ser, in PANK2: Clinical features and (99m)Tc-ECD brain perfusion SPECT findings. *J Neurol Sci* 290 (1-2): 172-176, 2010.
- Miyake N, Kosho T, Mizumoto S, Furuichi T, Hatamochi A, Nagashima Y, Arai E, Takahashi K, Kawamura R, Wakui K, Takahashi J, Kato H, Yasui H, Ishida T, Ohashi H, Nishimura G, Shiina M, Saitsu H, Tsurusaki T, Doi H, Fukushima Y, Ikegawa S, Yamada S, Sugahara K, Matsumoto N. Loss of decorin dermatan sulfate impairing collagen bundle formation in a new type of Ehlers-Danlos syndrome. *Hum Mut* 31(8): 966-974, 2010
- Kosho T, Miyake N, Hatamochi A, Takahashi J, Kato H, Miyahara T, Yasui H, Ishida T, Ono K, Kosuda T, Inoue A, Kohyamab M, Hattori T, Ohashi H, Nishimura G, Kawamura R, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N. A New Ehlers-Danlos Syndrome With Craniofacial Characteristics, Multiple Congenital

- Contractures, Progressive Joint and Skin Laxity, and Multisystem Fragility-related Manifestations. *Am J Med Genet* 152A (6): 1333-1346, 2010.
- Kimura S, Saitsu H, Blanka A, Schaumann BA, Shiota K, Matsumoto N, and Ishibashi M. Rudimentary Claws and Pigmented Nail-like Structures on the Distal Tips of the Digits of *Wnt7a* Mutant Mice: *Wnt7a* Suppresses Nail-like Structure Development in Mice. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 88(6):487-496, 2010
- Kanazawa K, Kumada S, Mitsuhiro K, Saitsu H, Kurihara E, Matsumoto N. Choreo-ballistic movements in a case carrying a missense mutation in syntaxin binding protein 1 gene. *Mov Disord* 25(13):2265-2267, 2010
- Ng S, Bigham A, Buckingham K, Hannibal M, McMillin M, Gildersleeve H, Beck A, Tabor H, Cooper G, Mefford H, Lee C, Turner E, Smith J, Rieder M, Yoshiura K, Matsumoto N, Ohta T, Niikawa N, Nickerson D, Bamshad M, Shendure J. Exome sequencing identifies *MLL2* mutations as a cause of Kabuki syndrome. *Nat Genet* 42(9): 790-793, 2010.
- Yamada-Okabe T, Imamura K, Kawaguchi N, Sakai H, Yamashita M, Matsumoto N. Functional characterization of the zebrafish *WHSC1*-related gene, a homologue of human *NSD2*. *Biochem Biophys Res Commun* 402(2): 335-339, 2010.
- 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, *Saitsu H. *SMOCl* 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
- *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
- 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* 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, 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* 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, Bigam 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.

*Saitsu H, Kato M, Matsumoto N. Haploinsufficiency of *STXBPI* and Ohtahara syndrome. Jasper’s basic mechanism of the epilepsies, 4th edition, edited by Noebels J, Avoli M, Rogawski M, Olsen RW, and Delgado-Escueta AV. Oxford University Press Page 824-834, 2012.

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

Sakai H, Suzuki S, Mizuguchi T, Imoto K, Doi H, Kikuchi M, Tsurusaki T, Saitsu H, Miyake N, Masuda M, *Matsumoto N. Rapid detection of gene mutations responsible for non-syndromic aortic aneurysm and dissection using two different methods: resequencing microarray technology and next-generation sequencing. *Hum Genet* 131: 591-599, 2012

Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Nishiyama K, Tsurusaki T, Doi H, Miyake N, Ryoo N-K, Kim JH, Yu KS, *Matsumoto N. A family of oculofaciocardiodental syndrome (OFCD) with a novel *BCOR* mutation and genomic rearrangements involving *NHS*. *J Hum Genet* 57(3): 197-201, 2012

Yoneda Y, Saitsu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Ogata K, Naritomi K, *Matsumoto N. Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of *NFLX* cause Sotos-like syndrome. *J Hum Genet* 50(3): 207-211, 2012

*Saitsu H, Osaka H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N. A girl with early-onset epileptic encephalopathy associated with microdeletion involving *CDKL5*. *Brain Dev* 34(5): 364-367, 2012

Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, *Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A Variant of *RNF213* Predicts Early-Onset and Severe Form of Moyamoya Disease.

Neurology 78: 803-810, 2012

- *Hamdan FF[#], Saitsu H[#] (# denotes equal contribution), Masuko K, Gauthier J, Dobrzeniecka S, Spiegelman D, Lacaille JC, Décarie JC, Matsumoto N, Rouleau GA, Michaud JL. Mutations in *SPTAN1* in intellectual disability and pontocerebellar atrophy. *Eur J Hum Genet* 20 (7): 796-800, 2012.
- *Saitsu H[#], Kato M[#] (# denotes equal contribution), Shimono M, Senju A, Tanabe S, Kimura T, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N. Association of genomic deletions in the *STXBPI* gene with Ohtahara syndrome. *Clin Genet* 81(4): 399-402, 2012
- Motobayashi M, Nishimura-Tadaki A, Inaba Y, *Kosho T, Miyatake S, Niimi T, Nishimura T, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Koike K. Neurodevelopmental features in 2q23.1 microdeletion syndrome: Report of a new patient with intractable seizures and review of literature. *Am J Med Genet Part A* 158 (4): 861-868, 2012
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Kosho T, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kaname T, Naritomi K, Kawame H, Wakui K, Fukushima Y, Homma T, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Mizuno S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Shiina M, Ogata K, Ohta T, Niikawa N, Miyatake S, Okada I, Mizuguchi T, Doi H, Saitsu H, *Miyake N, *Matsumoto N (*: co-corresponding). Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Genet* 44(4):376-378, 2012
- *Osaka H, Takagi A, Tsuyusaki Y, Wada T, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Saitsu H, Salomons GS, Jakobs C, Aida N, Shinka T, Kuhara T, Matsumoto N. Contiguous deletion of *SLC6A8* and *BAP31* in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness. *Mol Genet Metab* 106(1): 43-47, 2012
- *Writzl K, Primec ZR, Stražišar BG, Osredkar D, Pečarič-Meglič N, Kranjc BS, Nishiyama K, Matsumoto N, Saitsu H. Early onset West syndrome with severe hypomyelination and coloboma-like optic discs in a girl with *SPTAN1* mutation. *Epilepsia* 53(6): e106-110, 2012
- *Saitsu H, Kato M, Koide A, Goto T, Fujita T, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N. Whole exome sequencing identifies *KCNQ2* mutations in Ohtahara syndrome. *Ann Neurol* 72(2): 298-300, 2012
- *Saitsu H, Kato M, Osaka H, Moriyama N, Horita H, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N. *CASK* aberrations in males with Ohtahara syndrome and cerebellar hypoplasia. *Epilepsia* 53(8): 1441-1449, 2012
- Miyake N[#], Elcioglu NH[#] (# denotes equal contribution), Iida A, Isguven P, Dai J, Murakami N, Takamura K, Cho T-J, Kim O-H, Nagai T, Ohashi H, Nishimura G, Matsumoto N, Ikegawa S. *PAPSS2* mutations cause autosomal recessive brachyolmia. *J Med Genet*49(8): 533-538, 2012
- *Terao Y, Saitsu H, Segawa M, Kondo Y, Sakamoto K, Matsumoto N, Tsuji S, Nomura Y. Diffuse central hypomyelination presenting as 4H syndrome caused by compound heterozygous mutations in *POLR3A* encoding the catalytic subunit of polymerase III. *J Neurol Sci* 320(1-2): 102-105, 2012
- Miyatake S, Miyake N, Doi H, Ogata K, Kawai M, *Matsumoto N. A novel *SACS* mutation in a Japanese family with atypical phenotype of autosomal recessive spastic

- ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS). Intern Med 51: 2221-2226, 2012
- Tsurusaki Y, *Kosho T (# denotes equal contribution), Hatasaki K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, *Matsumoto N (*: co-correspondence). Exome sequencing identifies an *OFDI* mutation in a family of X-linked lethal congenital malformation syndrome: delineation of male Oral-facial-digital syndrome type 1. Clin Genet (in press)
- Yamashita S, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Iai M, Aida N, Tanaka Y. Neuropathology of Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal Cord Involvement and High Lactate caused by a homozygous mutation of DARS2. Brain Dev (in press)
- *Nonoda Y, Saito Y, Nagai S, Sasaki M, Iwasaki T, Matsumoto N, Ishii M, Saitsu H. Progressive diffuse brain atrophy in West syndrome with marked hypomyelination due to SPTAN1 gene mutation. Brain Dev (in press)
- Tsurusaki Y, *Saitoh S, Tomizawa K, Sudo A, Asahina N, Shiraishi H, Ito J, Tanaka H, Doi H, Saitsu H, Miyake N, *Matsumoto N (* denotes co-corresponding). A *DYNC1H1* mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance. Neurogenet (in press)
- Yoneda Y, Haginoya K, Kato M, Osaka H, Yokochi K, Arai H, Kakita A, Yamamoto T, Otsuki Y, Shimizu S, Wada T, Koyama N, Mino Y, Kondo N, Takahashi S, Hirabayashi S, Takanashi J, Okumura A, Kumagai T, Hirai S, Nabetani M, Saitoh S, Hattori F, Yamazaki A, Subo Y, Nishiyama K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N, *Saitsu H. Phenotype spectrum of *COL4A1* mutations: porencephaly to schizencephaly. Ann Neurol (in press)
- Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Miyake N, Saitsu H, *Matsumoto N. A De Novo Deletion at 16q24.3 Involving ANKRD11 in a Japanese Patient With KBG Syndrome. Am J Med Genet Part A (in press)
- *Miyatake S, Touho H, Miyake N, Ohba C, Doi H, Matsumoto N. Sibling cases of Moyamoya disease with different *RNF213* genotypes and varying clinical course and severity. J Hum Genet (in press)
- Tsurusaki Y, Kobayashi Y, Hisano M, Ito S, Doi H, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N, *Miyake N. The diagnostic utility of exome sequencing in Joubert syndrome related disorders. J Hum Genet (in press)
- Higashiyama Y, *Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, PhD, Miyake N, MD, PhD, Saitsu H, Ohba C, Fukai R, Miyatake S, Koyano S, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Matsumoto N. A novel homozygous *SCARB2* mutation causes late-onset progressive myoclonus epilepsy without renal failure. Mov disord (in press)
- *Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, *Matsumoto N (*: co-corresponding). *KDM6A* point mutations cause Kabuki syndrome. Hum Mut 34 (1): 108-110, 2012.
- Ikegawa S, Nakashima M, Matsumoto N. TGF- β and Genetic Skeletal Diseases. "TGF β in Human Disease" edited by Moustakas A and Miyazawa K. Springer (submitted)
- Kimura-Ohba S, Kagitani-Shimono K, Hashimoto N, Nabatame S, Okinaga T, Murakami A, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Hojo K, Tomita R, Taniike M, *Ozono K. A case of cerebral hypomyelination with spondylo-epi-metaphyseal dysplasia. Am J

Med Genet Part A (in press)

*Miyake N[#], Yano S[#] (# denotes equal contribution), Sakai C, Hatakeyama H, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Saito H, Ogata K, Goto Y, *Matsumoto N. Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous *UQCRC2* mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. Hum Mut (in press)

2. 学会発表

第 113 回日本小児科学会学術集会 (2010 年 4 月 23 日於岩手県民情報交流センター、盛岡)・シンポジウム「先天性疾患における最近の進歩:病態解明から遺伝子診断へ」・松本直通「染色体異常からの疾患遺伝子探索」(シンポジスト)

European Human Genetic Conference 2010・Naomichi Matsumoto, Akira Nishimura, Yoko Hiraki. De novo deletion of 1q24.3-q31.2 in a patient with severe growth retardation. (Poster presentation) (June 12-15, 2010 at Gothenburg, Sweden)

久留米大学 Pediatric Ground Rounds・松本直通「年齢依存性てんかん性脳症の新知見」(招待講演)(久留米大学医学部、2010 年 7 月 16 日)

BioJapan2010 アカデミックシーズ発表会・松本直通「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 は新しいタイプのエーラス・ダンロス症候群を引き起こす」パシフィコ横浜、2010 年 9 月 30 日)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop, “A new era of genetic diseases” (organized by Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi Matsumoto) (National Research Center, Cairo, Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto “Microarray technologies: Hightways to genomic aberrations” (invited lecture)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop, “A new era of genetic diseases” (organized by Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi Matsumoto) (National Research Center, Cairo, Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto “Isolation of the gene responsible for a new type of Ehlers-Danlos syndrome” (invited lecture)

Joint Egyptian-Japanese Scientific Workshop, “A new era of genetic diseases” (organized by Ghada M.H. Abdel Salam and Naomichi Matsumoto) (National Research Center, Cairo, Egypt, Oct 3-4, 2010) Naomichi Matsumoto “Haploinsufficiency of *STXBPI* causes Ohtahara syndrome” (invited lecture)

The 4th Asian Chromosome Colloquium (Beijing, China, Oct 11-14, 2010) Naomichi Matsumoto “Identification of two epilepsy-related genes from a 2.25-Mb deletion in one patient.” (invited lecture)

日本人類遺伝学会第 55 回大会 (大宮、2010 年 10 月 30 日) 松本直通「疾患ゲノム解析: 遺伝性疾患のエクソーム解析」(次世代シーケンサーを用いたヒト (疾患) ゲノム解析の現状セッション・シンポジスト・座長)

第 22 回 NIH 金曜会 (National Institute of Health, Bethesda, MD 2010 年 11 月 5 日) Naomichi Matsumoto 「Identification of two genes responsible for age-dependent epileptic encephalopathy」(invited lecture)

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 2011 年 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・東京2011年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2011年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2011年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2011年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2011年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)

2012 Illumina Asica Pacific Scientific Summit [Exome analysis in mendelian disorders]Naomichi Matsumoto (Invited speaker) (Sheraton Mirage Resort & Spa Gold Coast, Gold Coast, Australia, April

24, 2012)

神戸大学大学院医学研究科講義・松本直通「遺伝性疾患のエクソーム解析」・2012年5月29日・神戸大学医学部

第5回みやこ小児神経臨床懇話会(特別講演)・松本直通・「小児神経疾患における遺伝子研究の最新潮流」2012年6月9日・メルパルク京都

2012 イルミナ次世代シーケンサーユーザーフォーラム・松本直通(招待講演)・「遺伝性疾患のエクソーム解析」・2012年6月20日・東京国際フォーラム

European Human Genetics Conference 2012 Naomichi Matsumoto“Genetic abnormalities in Coffin-Siris syndrome”(poster) (Nuremberg Conference Center, Nuremberg, Germany, June 24-24, 2012)

次世代シーケンス拠点班(松本班)講演会 松本直通「次世代シーケンスを用いた遺伝性疾患へのアプローチ」2012年7月10日・大宮ソニックシティ・大宮

埼玉医科大学ゲノム医学研究センター学術セミナー 松本直通「遺伝性疾患のエクソーム解析」・2012年7月13日・埼玉医科大学

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成24年度第1回公開ワークショップ・松本直通「遺伝性難治疾患の網羅的エクソーム解析拠点の構築」2012年9月6日京都大学医学研究科芝蘭会館

第34回日本生物学的精神医学会・シンポジウム1・松本直通(シンポジスト)「自閉症スペクトラムとてんかんに着目したゲノム解析」2012年9月28日・神戸国際会議場

厚生労働科学研究費・難治性疾患克服研究

事業神経変性疾患に関する調査研究
班・「病態に根ざした ALS の新規治療開
発」分科班・平成 24 年度ワークショップ
・松本直通「次世代シーケンサーを
活用した遺伝性疾患の網羅的エクソ
ーム解析」2012 年 10 月 5 日@東京(シェ
ーンバッハサボー)

Translational Genomics Conference 2012
Naomichi Matsumoto (Keynote speaker)
Exome sequencing in mendelian disorders.
(Hyatt Reagency Jeju, Jeju, Korea, Oct 13,
2012)

生命医薬情報学連合大会 2012・松本直通(招
聘講演)「遺伝性疾患のエクソーム解
析」2012 年 10 月 17 日@東京(タワーホ
ール船堀)

人類遺伝学会第 57 回大会・ランチョンセミ
ナー 1 「遺伝性疾患の効率的な次世代
シーケンス解析」(アジレント共催)
2012 年 10 月 25 日京王プラザホテル(東
京)

The 57th annual meeting, Japanese Society of
Human Genetics・Naomichi Matsumoto
(Symposist)“Isolation of genes causative
for genetic diseases by next generation
sequencer”in Symposium 5 entitled “Next
Generation Sequencing for
disease-genome analysis”. Oct 25, 2012 at
Keoi Plaza Hotel, Tokyo

ゲノム解析懇話会(トランスジェニック共
催)・松本直通「次世代シーケンスを用
いた疾患ゲノム解析」2012 年 10 月 25
日京王プラザホテル(東京)

人類遺伝学会第 57 回大会・基本講座・いま
さら聞けない「遺伝医学」・松本直通(講
師)「次世代シーケンサー入門」2012 年
10 月 26 日京王プラザホテル(東京)

新学術領域研究「転写サイクル」平成 24 年
度第 1 回領域会議・松本直通「SWI/SNF
複合体異常が来す Coffin-Siris 症候群」
2012 年 10 月 29 日・長崎大学医学部良

順会館

American Society of Human Genetics Meeting
2012. Matsumoto N, Tsurusaki Y, Miyake
N Mutations affecting components of the
SWI/SNF complex cause Coffin-Siris
syndrome November 8, 2012 at Moscone
Center, San Francisco, CA, USA

平成 24 年度脳科学戦略推進プログラム成
果報告会・松本直通「発達障害に関わ
る分子異常探索」2012 年 11 月 21 日京
都リサーチパーク・京都

平成 24 年度脳科学戦略推進プログラム課
題 F 発達障害研究チーム第二回分科
会・松本直通「発達障害に関わる分子
異常探索」2012 年 11 月 22 日京都リサ
ーチパーク・京都

The 12th annual meeting of East Asian Union of
Human Genetics Societies. Matsumoto
Naomichi (oral presentation) “Medelian
exome”Nov 29, 2012 at Seoul National
University Hospital, Seoul, Korea.

第 152 回染色体研究会・特別講演・松本直
通「エクソーム解析」2012 年 12 月 1 日・
東京医科大学病院・東京

精神・神経疾患研究開発費 23-5「筋ジスト
ロフィーおよび関連疾患の診断・治療
開発を目指した基盤研究」平成 24 年度
「西野班」班会議特別講演・松本直通
「遺伝性疾患のエクソーム解析」2012
年 12 月 8 日・JA 共済ビル・東京

第 35 回日本分子生物学会年会ワークショ
ップ・精神のオミックス(オーガナイザ
ー内匠透・松本直通)松本直通「発達障
害におけるゲノム解析：次世代技術を用
いて」(シンポジスト) 2012 年 12 月
13 日福岡国際会議場・福岡

Advans 研究会 2012・招聘講演・松本直通「遺
伝性疾患のエクソーム解析」2012 年 12
月 15 日ホテルグランドパレス・東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

PCT/JP2012/83113 松本直通／鶴崎美徳／三宅紀子・コフィンーシリス症候群の検出方法・平成 24 年 12 月 20 日

PCT/JP2012/77903 才津浩智／松本直通・孔脳症又は脳出血のリスクを予測する方法・平成 24 年 10 月 29 日

特願 2012-180356・松本直通／三宅紀子・ミトコンドリア複合体 III 欠乏症の確定診断法・平成 24 年 8 月 16 日

特願 2012-136 松本直通／鶴崎美徳／三宅紀子・コフィンー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

特願 2010-106974・松本直通・Waardenburg 無眼球症候群の検出方法・横浜市立大学・平成 22 年 5 月 7 日

資料：研究全体の流れと進行状況

岡本・大阪府立母子
保健総合医療センター

橋本・大阪大学
精神医学

加藤・山形大学
小児科

小坂・神奈川県立
こども医療センター

横浜市立大学医学部ゲノム研究倫理委員会の承認

横浜市立大学医学研究科環境分子医科学・松本

平成
22
年

A. 解析症例の集積：自閉症・精神遅滞症候群・てんかん関連疾患などの発達障害



B. **アフィメトリクス 2.7M** **ニンプルゲン 2.1M** **アジレント 1M**

世界最高レベルのアレー解析ファシリティーを用いた染色体微細構造異常解析



平成
23
年

C. **染色体FISH解析** **リアルタイム定量PCR** **超細密カスタムアレー**

複数の手法で検出された染色体微細構造異常解析を確認しさらに細密化する



平成
24
年

D. PCRとシーケンスによる染色体微細構造異常の塩基レベルでの構造決定

E. **染色体微細構造異常症候群の確立** **疾患責任・関連遺伝子の特定**



F. **画期的診断法の確立** **知的財産権の確保** **新規バイオマーカーの確立**

現時点

症例集積と詳細な臨床情報収集

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
分担研究報告書

超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究

分担研究課題：平成 22 年度 自閉症における *SHANK 3* 異常症例の臨床的検討
平成 23 年度 マイクロアレイ解析で微細異常が判明した自閉症の臨床的検討
平成 24 年度 16 番染色体短腕のゲノムコピー数増加と自閉症

分担研究者 岡本伸彦 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科

研究要旨：近年では自閉症の多くは染色体の微細なゲノムコピー数異常やシナプスの構造神経伝達物質に関わる遺伝子変異が原因と考えられている。マイクロアレイ染色体検査やシーケンス解析により、変異が同定される症例も増加している。平成 22 年度は自閉症の原因として最も注目されている *SHANK 3* 遺伝子を含む欠失を伴う、22q13.3 欠失症候群について臨床的、分子遺伝学的に検討した。平成 23 年度はマイクロアレイ染色体検査により同定された特徴的な所見を持つ自閉症例の検討を行った。平成 24 年度は 16 番染色体短腕に非アレル性相同組み替えが生じやすいことによる生じた微細異常による自閉症について考察を行った。マイクロアレイ染色体検査は自閉症の病態を明らかにする上できわめて有力な検査であるが、実施にあたっては正確な臨床的評価と遺伝カウンセリングが重要であると考えられた。

共同研究者	疾病分類では広汎性発達障害（PDD：
大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科	pervasive developmental disorder）に大きく分類され、アスペルガー症候群も PDD に
大町和美、山本悠斗、井上佳世、三島祐子	分類される。最近では自閉症スペクトラムと
A. 研究目的	いう表現がよく用いられる。自閉症の 3 大
自閉症(MIM 209850)は生後 3 年までに症状があきらかとなる発達障害である。国際	症状は、①対人的相互関係の問題、②コミュニケーション能力の問題、③行動範囲や

興味限定である。自閉症は出生1000人中6人の罹患率で、アスペルガー症候群も含めると全出生の1%をしめる。自閉症の罹患率は男女で大きく異なり、4:1程度で男児が多い。自閉症の原因は後述するように遺伝因子が主であるが、それに環境因子も関与する。自閉症罹患率の増加の背景に、環境因子の関与を危惧する意見があるが、現状では未解明な点が多い。

自閉症の遺伝に関する論文は多数存在する。同胞で自閉症に罹患する率は5~10%で、一卵性双生児の一致率は90%に上る。家族内で自閉症と高機能自閉症が同時に存在する場合もある。

自閉症は染色体異常症や先天異常症候群あるいは結節性硬化症のような遺伝性疾患に伴う場合がある。他に単一遺伝子異常による非症候群性の自閉症が注目を集めている。*Neurexin*、*CNTNAP2*、*Neurologin*、*SHANK3*、*SHANK2*などのシナプスを構成する分子群の異常が、自閉症に関与する。また、自閉症では、マイクロアレイ法で染色体の微細な欠失や重複(CNV)が多数みつかることが注目されている。

自閉症患者のゲノムをマイクロアレイ染色体検査などの方法で分析し、特徴的な病態を明らかにするとともに結果の解釈や遺伝カウンセリングの注意点を明らかにすることが目的である。

B. 研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター受診の自閉症例(知的障害合併例および高機能例)において染色体検査、G分染法、FISH法およびマイクロアレイ染色体検査を実施した。実施にあたっては書面で意思確認を行い、遺伝カウンセリングを実施した。多くの場合、保護者の代諾のもとに検査を行った。

C. 研究結果

平成22年度は22q13.3欠失例7例を臨床的に検討した。

平成23年度はマイクロアレイ染色体検査によって特徴的な所見を呈した自閉症例を5例まとめた。

平成24年度は16番染色体短腕異常例の経過を追うとともに、16p12.2-11.2重複症候群が自閉症を主要症状とする新規染色体異

常症であることを明確にした。親にも同じ変化を認めた例があり、結果の解釈には注意が必要である。

D. 考察

【平成 22 年度】

興奮性シナプスの後シナプス部で重要な役割を持つ *SHANK3* 遺伝子は 22q13 に座位がある。サブテロメア異常の代表疾患のひとつの 22q13 欠失症候群では *SHANK3* のハプロ不全による知的障害と自閉症を合併する。*SHANK3* 異常は、自閉症の 1% をしめるといわれている。22q13 欠失症候群以外に、*SHANK3* 遺伝子の多様な変異がみいだされており、これらを総合すると重要な自閉症の責任遺伝子と考えることができる。自閉症例においては関連分子である *SHANK2* 遺伝子変異も報告されている。

22q13 欠失症候群 7 例はいずれも重度の精神運動発達遅滞に自閉症状を伴っていた。身体発育障害、てんかん、先天性心疾患や腎疾患を合併するものもあった。リング染色体の場合も G-band で異常を認めないような 22q13 端部欠失の場合も発達遅滞の程度に大きな差はなかった。これは *SHANK3*

遺伝子がこの領域では特に重要であることを示唆する。

SHANK3 は、生後シナプス形成・成熟期に多く発現し、神経細胞の発達に重要なグルタミン酸受容体ファミリーのひとつである AMPA 受容体と相互作用する。興奮性シナプスの PSD(post synaptic density)で重要な構成要素であり、scaffold protein(足場蛋白)と呼ばれている。シナプス関連蛋白質の異常が自閉症と関連が注目されているが、Neurexin・Neurologin・SHANK の経路が特に重要視である。しかし、シナプスに存在する蛋白質の種類は非常に多い。自閉症の責任遺伝子はさらに多数存在する可能性があり、個々の患者でどの遺伝子異常が主要因か決定するのは現状では容易ではない。また、単一の遺伝子異常があっても自閉症に罹患するかどうかは、他の遺伝子の多型、エピジェネティックな変化や環境因子などの総合的な結果で決定されると考えられる。単一遺伝子病の自閉症も確かに存在するが、多因子ないし Oligogenic な疾患と考えるべきかもしれない。