

201231079A

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 三宅 紀子

平成25(2013)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)	-----	1
--	-------	---

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)	-----	10
--	-------	----

2. Aicardi症候群の全エキソーム解析 松本直通 (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	-----	17
---------------------	-------	----

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。より良い医療の提供を可能にするためにも、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られる。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。

本年度は、本症候群に併発するてんかん発作と脳波の特徴を明らかにするために、我々が行った全国疫学調査の二次調査で把握された本症候群の27症例中、発作所見とともに脳波所見の得られた25症例について、背景活動とてんかん性異常波の内容を調査した。25症例中21例に背景活動の異常を認めた。9例はヒプスアリスミアを呈し、そのうち7例は非対称性ヒプスアリスミアであった。サプレッション・バーストを呈したのは1例のみであった。てんかん性異常波は24例に認められた。點頭てんかんに特徴的なヒプスアリスミアは半数以下で左右非対称が特徴であり、脳梁欠損による左右の連合不全が原因と考えられた。てんかん性異常波の高い併発率は多小脳回などの皮質形成障害による神経ネットワークの異常構築が原因と考えられた。

昨年度までに施行した、全ゲノムアレイおよびX染色体に特化した高密度アレイ解析においても病的なコピー数異常は同定されなかったことから、本年度の遺伝子解析は、染色体コピー数異常解析よりも全エキソーム解析に重点を置き解析を行うこととした。まず、常染色体優性遺伝形式およびX染色体優性遺伝形式（男性致死）を想定し、患者及び両親検体のそろった21家系において *de novo* の変異を抽出した。さらに複数検体に共通して *de novo* 変異の認められる遺伝子 A を同定した。今回同定された変異はいずれも *truncation* 変異であったが、37 症例中 2 症例でしか本遺伝子の変異が同定されず、また本遺伝子の機能や発現に関しては不明な点も多く責任遺伝子との確定には至っていない。今後は、遺伝子 A に同定された変異の病的意義を検証しつつ、遺伝的異質性を考慮し別の候補遺伝子を検索する。我々の研究班同様、微細染色体構造異常解析やエキソーム解析により遺伝子同定には至っていないという海外の研究グループの報告もあり、全ゲノム解析等を考慮した別のアプローチの必要性が示唆された。

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し、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。

本年度は、臨床像の把握の一つとして、てんかん発作の原因となる脳波の特徴を明らかにするために、本症候群患者における背景活動とてんかん性異常波の内容を調査した。また、遺伝学的解析は昨年度までのコピー数解析により病的な染色体構造異常が検出されなかったことを受け、近年注目されている全エクソーム解析に重点を置いて解析を行うこととした。

B. 研究方法

I. 脳波所見の評価

我々の行った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二次調査として脳波の送付を依頼し、返答のあった27例中、脳波所見の得られた25例（女23例、男2例）を対象として、背景活動とてんかん性異常波に関して評価を行った。

II. 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

現在までに集積された本症候群患者は、37症例である。そのうち、両親検体の協力が得られたのは21家系のみであった。今回、常染色体優性遺伝形式およびX染色体優性遺伝形式（男性致死）を想定し、*de novo*の変異を抽出することとした。

まず、患者及び両親検体の末梢血細胞から、ゲノムDNAを抽出し、double strand DNAとして3 microgramをCovaris S2 (Covaris社)を使用して、target size 200 bpsとして断片化を行った。初期に行った5家系に関しては、SureSelect All Human Exome kit 50Mb Kit (Agilent社)でゲノム分画を行い、Genome Analyzer IIX (Illumina社)で塩基解読(108 cycles x2, pair end)を行った。後に行った16家系に関してはSureSelect All Human Exome v4 kit (51Mb) (Agilent社)もしくはSureSelect All Human Exome v4+UTRs kit (71Mb) (Agilent社)を用いてゲノム分画を行い、HiSeq2000 (Illumina社)で

塩基解読(101 cycles x2, pair end, 7 index reads)を行った。

一次解析 (Image analysis, Base calling) はCASAVA (Illumina社)で行い、qualityの情報の付いた塩基配列情報であるfastq.txtファイルを出力させた。

二次解析は以下の流れで行った。

1. Mapping: Novoalign
(<http://www.novocraft.com/main/index.php>)
2. Remove duplicate: Picard tool
(<http://picard.sourceforge.net/command-line-overview.shtml#MarkDuplicates>)
3. Variant call: Genome Analysis Toolkit: GATK
(<http://www.broadinstitute.org/gatk/>)
4. Annotation: ANNOVAR
(<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>)

現在までに上記解析の完了している14家系に関して以下の設定により*de novo*候補を抽出した。

1. dbSNP135 (MAF > 0.01) 以外
2. exon内およびexon-intron border +/-2塩基
3. 患者においてヘテロ接合性変異
4. 両親において認められない変異
5. In-house control exome (n = 456) に認められない変異
6. Synonymous変異以外

各家系で*de novo*候補として抽出されたバリエーションの内から2家系以上に共通してバリエーションが認められる遺伝子を抽出し、Sanger法による確認を行った。

C. 研究結果

I. 脳波所見の評価

25症例中21例に背景活動の異常を認めた。9例はヒプスアリスミアを呈し、そのうち7例は左右非対称性であった。非同期性の記載は1例のみであった。その他、高振幅徐波活動が2例、基礎波やhump、spindleなど正常な脳波活動が認められない症例が3例、suppression-burstが1例に認められた。てんかん性異常波は25症例中24例に認められた。ヒプスアリスミアとサプレッション・バーストを除く14例中、8例は焦点性もしくは多焦点性異常波を呈し、5例は広汎性異常波を示した。1例は焦点性と広汎性の両者を示した。

II. 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

全エクソーム解析および上述の二次解析により、14家系それぞれに1~8個の*de novo*のバリエーションが検出された。そのうち、2家系以上に共通して変異が認められた遺伝子は遺伝子A (仮名) 1個だけであった。本遺伝子に認められたバリエーションは、ナンセンス変異とフレームシフト変異であった。これらをSanger法で確認し、*de novo*変異であることを確認した。

今回の全エクソームによる本遺伝子のカバー率は、x5で94%、x10で92%、x20で90% (平均値) であったこと、また本遺伝子の一部がsegmental duplicationの領域であったため、エクソーム解析におけるmapping error等で変異を検出できない可能性も考慮し、ユニークに増幅できるようにprimerを設計し、全症例に関してHigh Resolution Melting法とSanger法を組み合わせた変異解析を行った。しかしながらエクソーム解析で変異を同定した2症例以外に、同遺伝子に病的変異を同定しなかった。

D. 考察

I. 脳波所見の評価

ヒプスアリスミアは点頭てんかん患者の66-89%にみいだされるが、本研究では半数以下(36%)にしか認められなかった。Aicardiらの報告でもヒプスアリスミアは184例中18%にしか認められていない[Chevrie and Aicardi, The Aicardi syndrome. Recent advances in epilepsy, 3:189-210, 1986]。点頭てんかんはAicardi症候群の三主徴の1つであり、我々の調査でも点頭てんかんもしくはスパズム発作を96%に認めているが、脳波に関しては逆にヒプスアリスミアを呈する例が少ないことが特徴的といえる。

ヒプスアリスミアを呈する例の9例中7例(78%)は左右非対称であり、脳梁欠損による左右の連合不全が原因と考えられる。非対称性ヒプスアリスミアは一側半球の大きな損傷(孔脳症など)によって起きるが、Aicardi症候群では、非対称性の他に、非同期性が特徴とされている。本研究では非同期性が確認された症例は1例のみであり、必ずしも両側性にヒプスアリスミアの焦点が存在するわけではないと考えられる。

てんかん性異常波は25例中24例(96%)に認めら

れ高率であった。てんかん発作の全般化抑制を目的に脳梁離断術が行われることから推測されるように、脳梁欠損自体はてんかん源性を生じないと考えられる。Aicardi症候群の高位てんかん源性は、併発する多小脳回などの皮質形成障害による神経ネットワークの異常構築が原因と考えられる。

II. 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

全エクソーム解析により、2症例に共通して非同義置換(いずれもtruncation mutation)が認められた候補遺伝子Aを同定した。しかしながら、本遺伝子の発現や機能はあまり解明されておらず、疾患責任遺伝子であると結論づけることはできない。また、少なくとも本遺伝子が本症候群の大部分を説明できないことから、他の候補遺伝子を探索する必要がある。

E. 結論

I. 脳波所見の評価

Aicardi症候群の脳波所見として左右非対称性のヒプスアリスミアを認めるが、頻度は半数以下であり、他が原因の点頭てんかんとは異なる。

II. 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

全エクソーム解析により、2症例に共通して遺伝子Aに非同義置換の*de novo*変異を同定した。今後、本遺伝子の発現や機能を明らかにし、本遺伝子に同定された変異の影響を検証していくことは、病態解明の糸口になる。しかしながら、37症例中2症例にしか本遺伝子に変異が同定されず、本候補遺伝子以外に責任遺伝子が存在すること(遺伝的異質性)が示唆された。今後は、候補遺伝子Aを軸としたパスウェイ解析等を行い、その結果も考慮しつつ、別の候補遺伝子の探索を継続して行う。更に、エクソーム解析では網羅できない領域もあるため、今後は全ゲノムシーケンスを用いた解析も検討する。

G. 研究発表

1. 論文発表

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
- *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, Saitsu 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)
- *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.
- 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
- 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)
- 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)
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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, 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 *NFIX* cause Sotos-like syndrome. *J Hum Genet* 50(3): 207-211, 2012
- Tsurusaki Y[#], *Kosho T[#] (# denotes equal contribution), Hatahaki 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)
- 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 *DYNCH1* mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance. *Neurogenet* (in press)
- 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
- Hamdan FF[#], Saitsu H[#] (# denotes equal contribution), Masuko K, Gauthier J, Dobrzyniecka 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 *STXBP1* 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
- 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, Stražičar 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
- 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
- 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)
- 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)
- Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, , Miyake N, 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)
- 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)
- Nakamura K, Kato M, Sasaki A, Kanai M, Hayasaka K: Congenital dysplastic microcephaly and hypoplasia of the brainstem and cerebellum with diffuse intracranial calcification. *J Child Neurol* 27:218-221, 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)
- Saitsu H, Kato M, Matsumoto N. Haploinsufficiency of *STXBP1* 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.
- 加藤光広：ARX遺伝子と介在ニューロン病.抑制性シナプスの基礎と臨床 *Clinical Neuroscience* 30(12);1401-1403,2012
- 加藤光広：脳・脊髄形成異常、皮質形成異常、Dandy-Walker奇形、Chiari奇形、二分脊椎 遠藤文夫総編集 小児科診断・治療指針 中山書店 p.744-748 2012年9月
- 加藤光広：小脳奇形 小児疾患の診断治療基準 第4版 小児内科増刊号 東京医学社 44;678-679, 2012
2. 学会発表
- 人類遺伝学会第57回大会・一般口演・臨床遺伝学 3・三宅紀子・「X連鎖性を疑われたがミトコンドリア遺伝病であった一難聴家系の解析」平成24年10月27日京王プラザホテル(東京)
- 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」・H24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」H24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」・H24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」H24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」・H24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」H24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」平成24年10月5日@東京(シェーンバッハサボア)
- 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」平成24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)平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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)平成24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」平成 24 年 12 月 15 日
ホテルグランドパレス・東京

Mitsuhiro Kato: Lissencephaly and related disorders.
International Child Neurology Congress (ICNC)
Pre Congress Symposium Malformations of
Cortical Development, May 27, 2012, Brisbane,
Australia

加藤光広：脳形成異常と遺伝子. 第 32 回日本脳神経外科
科コンgres総会：横浜 2012 年 5 月 11 日

加藤光広：新しい疾患概念“介在ニューロン病”について.
第 9 回小児病理セミナー：大阪 2012 年 9 月 8
日

加藤光広：大脳介在ニューロンの分子機構障害による
形態異常と機能異常 一介在ニューロン病一. シ
ンポジウム“小児神経の「臨床」における「分子・
形態」アプローチ”第 44 回日本臨床分子形態学会総
会・学術集会：高知 2012 年 9 月 28 日

加藤光広：中枢神経系疾患の出生前診断の現状と課題.
シンポジウム 5：個別化治療 up to date：遺伝子診
断の現状と治療への応用 第 46 回日本てんかん学
会：東京 2012 年 10 月 11 日

瀬戸俊之、加藤光広、三木幸雄、植松貢、新宅治
夫：自傷行為を繰り返す多発性多小脳回と片側
性脳梁体部欠損の男児例. 第 54 回日本小児神経
学会総会：札幌 2012 年 5 月 17-19 日

中澤友幸、寒竹正人、鈴木恭子、八木澤裕美、田
中登、大日方薫、加藤光広：乳児期からてんか
んを発症した皮質形成異常の 2 例. 第 24 回千葉県
小児神経懇話会：千葉 2012 年 11 月 24 日

3. 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-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

4. 報道等

短体幹症

2012 年 8 月 10 日科学新聞・難治性骨疾患「短体
幹症」・理研原因遺伝子を発見

II. 分担研究報告

平成24年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

Aicardi症候群の遺伝的要因の実態に関する研究

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

Aicardi症候群は点頭てんかんの併発が特徴であるが、それ以外のてんかんの詳細は明らかではない。Aicardi症候群に併発するてんかん発作と脳波の特徴を明らかにするために、全国疫学調査の二次調査で把握されたAicardi症候群の27症例中、二次調査として発作所見とともに脳波所見の得られた25症例について、背景活動とてんかん性異常波の内容を調査した。21例に背景活動の異常を認めた。9例はヒプスアリスミアを呈し、そのうち7例は非対称性ヒプスアリスミアであった。サプレッション・バーストを呈したのは1例のみであった。てんかん性異常波は24例に認められた。点頭てんかんに特徴的なヒプスアリスミアは半数以下で左右非対称が特徴であり、脳梁欠損による左右の連合不全が原因と考えられる。てんかん性異常波の高い併発率は多小脳回などの皮質形成障害による神経ネットワークの異常構築が原因と考えられる。

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、平成22年度から本研究において、患者実数と臨床像を明らかにするために全国疫学調査の一次調査を行い、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。Aicardi 症候群は点頭てんかんの併発が特徴であるが、それ以外のてんかんの詳細は明らかではない。てんかん発作の原因となる脳波の特徴を明らかにするために、二次調査を行い脳波所見の解析を行った。

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二次調査として脳波の送付を依頼し、返答のあった27例中、脳波所見の得られた25例（女23例、男2例）を対象とした。

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. 背景活動、2. てんかん性異常波。

C. 研究結果

1. 21例に背景活動の異常を認めた。9例はヒプスアリスミアを呈し、そのうち7例は左右非対称性であった。非同期性の記載は1例のみであった。その他、高振幅徐波活動が2例、基礎波やhump、spindleなど正常な脳波活動が認められない症例が3例、suppression-burstが1例に認められた。2. てんかん性異常波は24例に認められた。ヒプスアリスミアとサプレッション・バーストを除く14例中、8例は焦点性もしくは多焦点性異常波を呈し、5例は広汎性異常波を示した。1例は焦点性と広汎性の両者を示した。

D. 考察

ヒプスアリスミアは点頭てんかん患者の66-89%にみだされるが、本研究では半数以下（36%）にしか認められなかった。Aicardi らの報告でもヒプスアリスミアは184例中18%にしか認められていない [Chevrie and Aicardi, The Aicardi syndrome. Recent advances in epilepsy, 3:189-210, 1986]。点頭てんかんはAicardi 症候群の三主徴の1つであり、我々の調査でも点頭てんかんもしくはスパズム発作を96%に認めているが、脳波に関しては逆にヒプスアリスミアを呈する例が少ないことが特徴的といえる。

ヒプスアリスミアを呈する例の9例中7例（78%）は左右非対称であり、脳梁欠損による左右の連合不全が原因と考えられる。非対称性ヒプスアリスミアは一側半球の大きな損傷（孔脳症など）によって起

きるが、Aicardi 症候群では、非対称性の他に、非同期性が特徴とされている。本研究では非同期性が確認された症例は1例のみであり、必ずしも両側にヒプスアリスミアの焦点が存在するわけではないと考えられる。

てんかん性異常波は25例中24例(96%)に認められ高率であった。てんかん発作の全般化抑制を目的に脳梁離断術が行われることから推測されるように、脳梁欠損自体はてんかん源性を生じないと考えられる。Aicardi 症候群の高いてんかん源性は、併発する多小脳回などの皮質形成障害による神経ネットワークの異常構築が原因と考えられる。

E. 結論

Aicardi 症候群の脳波所見として左右非対称性のヒプスアリスミアを認めるが、頻度は半数以下であり、他が原因の点頭てんかんとは異なる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura K, Kato M, Sasaki A, Kanai M, Hayasaka K: Congenital dysplastic microcephaly and hypoplasia of the brainstem and cerebellum with diffuse intracranial calcification. J Child Neurol 27:218-221, 2012
- 2) 加藤光広：ARX 遺伝子と介在ニューロン病.抑制性シナプスの基礎と臨床 Clinical Neuroscience 30(12);1401-1403,2012
- 3) 加藤光広：脳・脊髄形成異常、皮質形成異常、Dandy-Walker 奇形、Chiari 奇形、二分脊椎 遠藤文夫総編集 小児科診断・治療指針 中山書店 p.744-748 2012年9月
- 4) 加藤光広：小脳奇形 小児疾患の診断治療基準 第4版 小児内科増刊号 東京医学社 44;678-679, 2012

2. 学会発表

- 1) Mitsuhiro Kato: Lissencephaly and related disorders. International Child Neurology Congress (ICNC) Pre Congress Symposium Malformations of Cortical Development, May 27, 2012, Brisbane, Australia
- 2) 加藤光広：脳形成異常と遺伝子. 第32回日本脳神経外科コンgres総会：横浜 2012年5月11日
- 3) 加藤光広：新しい疾患概念“介在ニューロン病”について. 第9回小児病理セミナー：大阪 2012年9月8日

- 4) 加藤光広：大脳介在ニューロンの分子機構障害による形態異常と機能異常 一介在ニューロン病一. シンポジウム"小児神経の「臨床」における「分子・形態」アプローチ” 第44回日本臨床分子形態学会総会・学術集会：高知 2012年9月28日
- 5) 加藤光広：中枢神経系疾患の出生前診断の現状と課題. シンポジウム5：個別化治療 up to date：遺伝子診断の現状と治療への応用 第46回日本てんかん学会：東京 2012年10月11日
- 6) 瀬戸俊之、加藤光広、三木幸雄、植松貢、新宅治夫：自傷行為を繰り返す多発性多小脳回と片側性脳梁体部欠損の男児例. 第54回日本小児神経学会総会：札幌 2012年5月17-19日
- 7) 中澤友幸、寒竹正人、鈴木恭子、八木澤裕美、田中登、大日方薫、加藤光広：乳児期からてんかんを発症した皮質形成異常の2例. 第24回千葉県小児神経懇話会：千葉 2012年11月24日

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 症候群の全エキソーム解析

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・点頭てんかん・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。昨年度は、本症候群における X 染色体上の微細染色体異常を検索するため、X 染色体に特化した高解像度 X tiling array を開発し、典型例 20 名に対して解析を行った。しかしながら、病的と考えられるコピー数変化は検出されなかった。そこで、本年度は全エキソーム解析に注力し、まずは常染色体優性遺伝形式・X 染色体優性遺伝形式（男性致死）を想定した解析を行った。現在までに解析の完了した 14 家系中 1 家系でナンセンス変異、別の一家系でフレームシフト変異の計 2 個の *de novo* 変異を遺伝子 A に同定した。しかしながら、37 症例中 2 症例にしか本遺伝子に変異が同定されず、本候補遺伝子以外に責任遺伝子が存在する(遺伝的異質性)ことが示唆された。今後は、候補遺伝子 A を軸としたパスウェイ解析等を行い、その結果も考慮しつつ、別の候補遺伝子の検索を継続して行う。更に、全エキソーム解析では網羅できない領域もあるため、全エキソーム解析で責任遺伝子の同定に至らない場合は、全ゲノムシーケンスを用いた解析を行う。

A. 研究目的

Aicardi 症候群は脳梁無形成・点頭てんかん・脈絡網膜裂孔を三主徴とする極めて稀な先天性奇形症候群である。殆どが女兒に発症するため X 染色体上の遺伝子異常もしくは常染色体上の限性発現遺伝子の異常が原因であると考えられているが、責任遺伝子は未同定である。本症候群が、上述の三主徴以外にも多臓器にわたり臨床症状を呈することから、隣接遺伝子症候群の可能性を考慮し、昨年度までに全ゲノムアレイおよび X 染色体に特化した高解像度 X tiling array を用いて解析を行ったが、病的と考えられるコピー数変化は検出されなかった。この結果から、コピー数異常より塩基置換による変異が原因である可能性が高いと考え、近年注目されている全エキソーム解析に重点を置いて解析を行うこととした。

B. 研究方法

現在までに集積された本症候群患者は、37 症例である。そのうち、両親検体の協力が得られたのは 21 家系のみであった。今回、常染色体優性遺伝形式および X 染色体優性遺伝形式（男性致死）を想定し、*de novo* の変異を抽出することとした。

まず、患者及び両親検体の末梢血細胞から、ゲノム DNA を抽出し、double strand DNA として 3 microgram を Covaris S2 (Covaris 社) を使用して、target size 200 bps として断片化を行った。初期に行った 5 家系に関しては、SureSelect All Human Exome kit 50Mb Kit (Agilent 社) でゲノム分画を行い、Genome Analyzer Iix (Illumina 社) で塩基解読 (108 cycles x2, pair end) を行った。後に行った 16 家系に関しては SureSelect All Human Exome v4 kit (51Mb) (Agilent 社) もしくは SureSelect All Human Exome v4+UTRs kit (71Mb) (Agilent 社) を用いてゲノム分画を行い、HiSeq2000 (Illumina 社) で塩基解読 (101 cycles x2, pair end, 7 index reads) を行った。

一次解析 (Image analysis, Base calling) は CASAVA (Illumina 社)で行い、quality の情報の付いた塩基配列情報である fastq.txt ファイルを出力させた。

二次解析は以下の流れで行った。

1. Mapping: Novoalign
(<http://www.novocraft.com/main/index.php>)
2. Remove duplicate: Picard tool
(<http://picard.sourceforge.net/command-line-overview.shtml#MarkDuplicates>)
3. Variant call: Genome Analysis Toolkit: GATK
(<http://www.broadinstitute.org/gatk/>)
4. Annotation: ANNOVAR
(<http://www.openbioinformatics.org/annovar/>)

現在までに上記解析の完了している14家系に関して以下の設定により *de novo* 候補を抽出した。

1. dbSNP135 (MAF > 0.01) 以外
2. exon および exon-intron border +/-2塩基
3. 患者でヘテロ接合性変異
4. 両親において認められない変異
5. In-house control exome (n = 456)に認められない変異
6. Synonymous変異以外

各家系で *de novo* 候補として抽出されたバリエーションの内から2家系以上に共通してバリエーションが認められる遺伝子を抽出し、Sanger法による確認を行った。

C. 研究結果

全エキソーム解析により、14家系それぞれに1~8個の *de novo* 変異が検出された。そのうち、2家系以上に共通して *de novo* 変異が認められた遺伝子は1個だけであった。本遺伝子の変異を Sanger法で確認したところ、*de novo* 変異であることが確認された。

今回のエキソームでは、本遺伝子のカバー率は、x5で94%、x10で92%、x20で90%であったこと、また本遺伝子の一部が segmental duplication の領域であったため、エキソーム解析により mapping error 等で変異を検出できない可能性も考慮し、ユニークに増幅できるように primer を設計し、全

症例に関して High resolution melting法と Sanger sequence を組み合わせたスクリーニングを行った。しかしながらエキソーム解析で変異を同定した2症例以外に、同遺伝子に病的変異は同定しなかった。

D. 考察

全エキソーム解析により、2症例に共通して非同義置換 (いずれも truncation mutation) が認められた候補遺伝子Aを同定した。しかしながら、本遺伝子の発現や機能はあまり解明されておらず、疾患責任遺伝子であると結論づけることはできない。また、少なくとも本遺伝子が本症候群の大部分を説明できないことから、他の候補遺伝子を検索する必要がある。

E. 結論

全エキソーム解析により、2症例に共通して非同義置換 (いずれも truncation mutation) が認められた候補遺伝子Aを同定した。今後、本遺伝子の発現や機能を明らかにし、本遺伝子に同定された変異の影響を検証していくことは、病態解明の糸口になる。しかしながら、37症例中2症例にしか本遺伝子に変異が同定されず、さらにこの2症例が非典型症例であったことから、本候補遺伝子以外に責任遺伝子が存在する (遺伝的異質性) ことが示唆された。今後は、候補遺伝子Aを軸としたパスイ解析等を行い、その結果も考慮しつつ、別の候補遺伝子の検索を継続して行う。更に、エキソーム解析では網羅できない領域もあるため、エキソーム解析で責任遺伝子の同定に至らない場合は、全ゲノムシーケンスを用いた解析を行う。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

*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 *STXBP1* 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, Saitu 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, Saitu 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, Shiraiishi H, Ito J, Tanaka H, Doi H, Saitu 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, *Saitu H. Phenotype spectrum of *COL4A1* mutations: porencephaly to schizencephaly. Ann Neurol (in press)
- Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Miyake N, Saitu 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, Saitu 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, Saitu 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, Saitu 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, Saitu 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

- 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」・H24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」H24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」・H24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」H24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」・H24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」H24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」平成24年10月5日@東京(シェーンバツハサボー)

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」平成24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)平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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」平成24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)平成24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」平成24年12月15日ホテルグランドパレス・東京

3. 知的財産権の出願・登録状況

PCT/JP2012/83113 松本直通／鶴崎美德／三宅紀子・コフィン・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

4. 報道等
短体幹症

2012年8月10日科学新聞・難治性骨疾患「短体幹症」・理研原因遺伝子を発見

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> , Yano S, Sakai C, others and <u>Matsumoto N</u> .	Mitochondrial Complex III Deficiency Caused by a Homozygous UQCRC2 Mutation Presenting with Neonatal-Onset Recurrent Metabolic De-compensation.	Hum Mutat.			2013 (in press)
Tsurusaki Y, others, <u>Miyake N</u> and <u>Matsumoto N</u>	The diagnostic utility of exome sequencing in Joubert syndrome and related disorders.	J Hum Genet.			2013 (in press)
Yamashita S, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> , Osaka H, Iainstem and spinal cord involvement and high lactate caused by a homozygous mutation of DARS2.	Neuropathology of leukoencephalopathy with brainstem and spinal cord involvement and high lactate caused by a homozygous mutation of DARS2.	Brain Dev.			2013 (in press)
Ito N, Ihara K, Tsubutsumi Y, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> , Hara T.	Hypothalamic pituitary complications in Kabuki syndrome.	Pituitary.			2013 (in press)
<u>Miyake N</u> , Mizuno S, Okamoto N, others and <u>Matsumoto N</u>	KDM6A point mutations cause Kabuki syndrome.	Hum Mutat.	34	108-110	2013
Yoneda Y, Hagino K, Kato M, others, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> , Saito H.	Phenotypic Spectrum of COL4A1 Mutations: Porencephaly to Schizencephaly.	Ann Neurol.	73	48-57	2013
Kimura-Ohba S, Kagitani-Shimono K, others, <u>Miyake N</u> , <u>Matsumoto N</u> and others	A case of cerebral hypomyelination with spondylo-epi-metaphyseal dysplasia.	Am J Med Genet A.	161	203-207	2013
Tsurusaki Y, Okamoto N, others, <u>Miyake N</u> and <u>Matsumoto N</u>	Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome.	Nat Genet.	44	376-378	2012