

20123/112A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした  
原因遺伝子変異データベースの構築

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター  
松田文彦

2013（平成 25）年 3 月

## 目 次

I. 本研究事業について	1
II. 研究班構成	2
III. 本事業のロードマップ	3
IV. 総括研究報告 難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした 原因遺伝子変異データベースの構築	5
研究代表者・松田 文彦（京都大学医学研究科・教授）	
V. 分担研究報告	
1. 辻 省次（東京大学医学系研究科・教授）	9
2. 松原 洋一（東北大学医学系研究科・教授）	11
3. 梅澤 明弘（国立成育医療研究センター 再生医療センター長）	14
4. 松本 直通（横浜市立大学医学研究科・教授）	16
5. 山田 亮（京都大学医学研究科・教授）	21
6. 日笠幸一郎（京都大学医学研究科・特定助教）	24
7. 寺尾知可史（京都大学医学研究科・特定助教）	26
VI. 研究成果の刊行に関する一覧表	29
VII. 学会発表に関する一覧表	37
VIII. 研究成果による特許等の知的財産権の出願・登録状況	41
IX. 研究成果の刊行物・別刷	43

## I. 本研究事業について

ヒト疾患の解析に全ゲノムシーケンスが利用可能となったことで、稀少難治性疾患の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられるが、効率的な研究の実施、医科学的価値の高い成果の創出、患者の適切な診断治療において、疾患遺伝子情報を共有するシステムは不可欠である。そこで、本研究事業では「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」の拠点研究機関が連携して、疾患と関連する遺伝子変異情報を集約・共有するためのデータベースを構築することを目標とする。

厚労省「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）」の各研究班に検体が集積された疾患を対象に、拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、遺伝子リファレンスライブラリーの構築を試みる。具体的には、SNPアレイを用いた網羅的解析による4,000～5,000人の健常者のSNP頻度情報、約1,000検体の網羅的エクソン領域塩基配列決定（Exome解析情報）および、稀少難治性疾患の遺伝子変異情報を蓄積し、広く研究者に公開する。日本人固有のゲノム変異情報を含む稀少難治性疾患の遺伝子データベースは、稀少難治性疾患のみならず、多くのヒト疾患の研究者にとって極めて価値の高いものであり、その共有と利活用が進むことで、疾患遺伝子情報を手がかりとして当該疾患領域の医療・研究が加速され難病研究領域の全体的なレベルアップに繋がるとともに、臨床現場で役立つ難病の基盤情報が提供されることで遺伝子診断における標準化が進むなど、稀少難治性疾患の患者の治療にも裨益することが期待される。

稀少難治性疾患では、患者数が少ないことが病態解明や治療法の開発等における阻害要因となっている。本研究事業で構築されたデータベースを将来さらに発展させることで、疾患遺伝子情報のみならず、疾患背景や治療経過などの情報の収集が可能となれば、疾患の全体像の理解が飛躍的に進み、患者に対して適切な医療体制を敷く基礎となるデータを提供できる。これらは、国の第4期科学技術基本計画の中の「革新的な予防法の開発」、「新しい早期診断法の開発」に沿ったものである。また、本事業を通して、難病の早期診断や予防に資する創薬が期待され、新たな産業の創出にもつながる。このような将来の発展を見据えつつ、まずはこの2年間で稀少難治性疾患に関わるゲノム情報を統合する情報基盤が確立され、多くの難病研究者や医療者に加えて難病に苦しむ患者にとって質のよい情報源として利活用が進むことを願ってやまない。

京都大学医学研究科附属ゲノム医学センター  
松田 文彦

## II. 研究班構成

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	松田文彦	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	センター長 教授
研究分担者	辻 省次	東京大学医学系研究科 神経内科	教授
	松原 洋一	東北大学医学系研究科 遺伝病	教授
	梅澤 明弘	国立成育医療研究センター 再生医療センター	再生医療 センター長
	松本直通	横浜市立大学医学研究科 遺伝	教授
	山田 亮	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	教授
	日笠幸一郎	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	特定助教
	寺尾知可史	京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター	特定助教
事務局	金澤雅美	606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53 京都大学医学研究科 附属ゲノム医学センター 電話：075-751-4157 Fax：075-751-4167 mkana@genome.med.kyoto-u.ac.jp	
経理事務 担当者	有井秀幸	606-8501 京都市左京区吉田近衛町 京都大学医学・病院構内共通事務部 経理・研究協力課 電話：075-753-4686 Fax：075-753-4347 igakukenko@mail2.adm.kyoto-u.ac.jp	

III. 本事業のロードマップ

大項目	実施項目	実施期間		中・長期的展望	
		2012 年度	2013 年度	2016 年度	2021 年度
組織構築・制度設計	運営委員会の設立と開催	■	■	■	■
	実務者会議の設立と開催	■	■	■	■
	班会議・ワークショップの開催	■	■	■	■
	事業計画策定(運営委員会)と細部検討(実務者会議)				
	データフォーマットの標準化、データ提供方法の検討	■	■		
	データ提供の時期、データの公開範囲の検討	■	■		
	公開データのフォーマット、公開時期の検討	■	■		
	データの試験的公開における問題点と改良点の検討			■	■
	事業の進捗報告と事業計画の変更(必要に応じて)		■	■	■
	データベース構築	データベース設計			
	メタデータ・オントロジーの定義	■	■		
	データフォーマット定義と最適なフォーマット選定	■	■		
	データベーススキーマの設計	■	■		
	データベースの修正・機能付加・改訂			■	■
	ウェブインターフェイス開発(閲覧・ダウンロード)	■	■		
	ウェブインターフェイスの改良			■	■
データエントリー	各班からの疾患基礎情報の収集と蓄積	■	■		
	日本人リファレンス遺伝子情報の蓄積		■	■	
	難病関連遺伝子変異情報の蓄積			■	■
情報の発信	ウェブページの立ち上げ	■	■		
	事業内容および研究班の活動内容の公開と更新		■	■	■
	小規模データの試験的公開			■	■
	日本人リファレンス遺伝子情報の公開			■	■
	難病関連遺伝子変異情報の公開			■	■

遺伝情報を用いた確度の高い発症前診断と予防的介入による発症防止と遅延  
 (希少難治性疾患における先制医療の実現)  
 疾患の分子機構の解明に基づく治療法の開発と創薬  
 迅速で精度の高い診断技術の開発と診断キットの実用化  
 集約された疾患情報を活用した精度の高い診断・予知と治療方針の決定  
 多数の希少難治性疾患における日本人に固有の遺伝子変異情報の発信

## IV. 総括研究報告

**厚生労働科学研究費補助金**  
**(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業))**  
**総括研究報告書**

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした  
原因遺伝子変異データベースの構築

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦

**研究要旨**

難治性疾患の遺伝子解析研究で収集した臨床情報や解析された遺伝子情報を全国で統一的に管理・運用するナショナルデータベースを構築する。本年度は、難病研究班との連携体制を確立したうえで、データフォーマットの策定と、データベースのプロトタイプ構築を実施し、5 拠点の Exome 解析により同定された遺伝子変異情報の登録を開始した。これらの情報に加えて、遺伝子変異の機能的役割を解釈する上で付加価値の高い、遺伝子変異と遺伝子発現量の関連解析 (eQTL) 情報を蓄積し、目標以上にデータベースの内容を充実化した。本研究事業で構築されるデータベースを通して広く疾患遺伝子・発現情報を公開し、当該疾患領域の医療開発の効率化や、遺伝子診断における標準化など、臨床に直結する基礎研究を推進する。

**A. 研究目的**

ヒト疾患の解析に全ゲノムシーケンスが利用可能となったことで、稀少難治性疾患の原因遺伝子変異の情報が加速度的に蓄積されると考えられるが、効率的な研究の実施、医科学的価値の高い成果の創出、患者の適切な診断治療においては、疾患遺伝子情報を共有するシステムの構築が不可欠である。本課題では、稀少難治性疾患研究拠点が連携し、疾患と関連する遺伝子変異情報を集約・共有するためのデータベース構築を目標とする。

**B. 研究方法**

厚労省「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関連研究分野)」の各研究班に検体が集積された疾患を対象に、拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、遺伝子リファレンスライブラリーの構築をおこなう。そのために、運営委員会を設立し事業計画の策定や制度設計等を行う。データベースに登録する情報の種類やフォーマットは運営委員会で策定し、公開用システムの構築を進める。データベースには、日本人遺伝子リファレンス情報 (4,000~5,000 人の健常者の SNP 頻度情報、約 1,000 検体のエクソーム解析情報)、稀少難治性疾患の遺伝子変異情報を蓄積し、次年度後半に公開する。

(倫理面への配慮)

研究代表者、分担者がそれぞれの機関において審査を受け、適切に実施する。連携機関とのデータのやりとりは、匿名化された情報のみを扱う。

**C. 研究結果**

拠点と一般研究班の緊密な連携のもと、各研究班に検体が集積された疾患を対象に、遺伝子リファレンスライブラリーの構築を以下のように実施した (詳細は、分担研究者の報告書を参照)。

**組織構築・制度設計**

- ・研究拠点の代表者による運営委員会を設立し、3 回の連絡会議を実施し、事業計画策定と制度設計を進めた。提供されるデータフォーマットの標準化、データ提供方法・時期、公開範囲、公開の時期等について検討した。
- ・研究代表者、研究分担者および一般研究班の連携協力者の参加による関係者会議およびワークショップを 2 回開催し、各研究班の実務担当者による協議を進行、運営委員会で策定された計画に沿って事業を推進した。

**データベース構築**

- ・データベース設計のため疾患基礎情報を収集し、各班に必要な疾患情報項目一覧と実データ提供を依頼した。
- ・次世代シーケンサーを用いたエクソーム

解析パイプラインを構築し、ゲノム変異の判定方法、データの QC 等の、標準化プロトコールを作成した。

- ・既収集データを用い、データフォーマットの定義、遺伝子データベースの設計と構築を実施した。また、公開用インターフェイス開発にも着手し、公開に向けた情報基盤を整備した。

- ・データベースの機能や利用における利便性の評価とそれに基づく修正・改良を実施するため、本年2月からセキュリティに細心の注意を払いつつ研究分担者、連携研究者を対象に限定的に公開し、フィードバックされた情報を集約してデータベースの改良と機能の向上を行った。

#### データエントリー

- ・日本人集団のゲノム変異情報の集積を開始した。具体的には、SNP アレイを用いたゲノムスキャンニング法により得られた約3,600人の健常者の SNP 頻度情報の標準化を行い、データベースに蓄積した。次世代シーケンサーによる日本人ゲノム変異情報については、解析終了済み100検体のエクソームシーケンス情報より多種多様なゲノム変異情報を抽出し、それらの頻度情報をデータベースへ蓄積した。加えて200検体のエクソーム情報も解析がほぼ終了し、データベース登録作業を開始している。さらに、研究分担者から約900検体のエクソーム情報が提供される予定であり、今年度末には約1200検体の情報が揃うことになる。

- ・エクソーム解析を実施した DNA 検体300例は、末梢血 RNA の発現アレイによる解析遺伝子発現量解析も終了している。そこで、エクソーム解析が終了している100例の検体について、試験的に新規に同定された遺伝子多型と発現量との関連解析 (eQTL 解析) を実施し、得られた情報をデータベースに加えた。このデータは当初はデータベースに加えることを想定していなかったが、エクソーム解析で見出された新規のゲノム変異の機能的役割を解釈する上で有用な付加価値情報となるため、事業計画に加えた。全検体を用いた関連解析は事業二年目前半に実施し、完全な形でデータベースに登録し、公開する。

- ・希少難治性疾患の関連遺伝子・変異情報は、データベースの限定的公開中に班員に情報提供を呼びかけ、順次登録を実施する。

#### 情報の発信

本事業のウェブページ (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/IntractableDiseases>) を立ち上げ、来年度後半の公開を目指し、プロジェクトの概要・データソースとしての各研究班の情報の発信準備を整えた。また、国際連携については、運営委員会で検討しながら諸外国との連携体制を構築する。

#### バイオサイエンスデータベースセンター (NBDC) との連携

NBDC 運営委員会データ共有分科会に参加し、データの公開・共有にともなうガイドラインの策定を実施した。また、データフォーマットの規格化、NBDC が定義するオントロジーやスキーマとの整合性についての検討を行い、標準的な規格の構築を進めている。

#### D. 考察

拠点研究班の代表者による運営委員会を設立し、事業計画策定と制度設計を実施した。提供されるデータフォーマットの標準化、データ提供方法・時期、公開範囲、公開の時期等について検討した。また、一般研究班との連携を構築し、各研究班の実務担当者による協議を進行、運営委員会で策定された計画に沿って事業を推進した。次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析パイプライン構築は順調に進んでおり、格納データに関連するゲノム変異の判定方法、データの QC 等の標準化プロトコールも作成を終了した。また、遺伝子データベースの設計と構築を実施し、プロトタイプ作成と公開用インターフェイスの開発をほぼ完了した。これらの実施項目は当初の計画通り進行している。今後は班員への限定的公開とフィードバック情報の集約を進め、一般公開に向けてバージョンアップや改訂、新規機能の付加を当初の予定通り進める。日本人健常者集団のゲノム変異情報の集積も、最終目標である4,000~5,000人の健常者の SNP 頻度情報に加え、約1,000検体のエクソーム解析による各種ゲノム変異の頻度情報の蓄積に向けて順調に進んでいる。これらの情報に加えて、新規に同定された遺伝子変異の機能的役割を解釈する上で付加価値の高い、遺伝子変異と遺伝子発現量の関連解析 (eQTL) 情報を加えることができ、これにより本研究事業で構築されるデ



データベースがさらに利用価値の高いものとなる可能性が高く、目標以上にデータベースの内容を充実させることができたと考えている。

## E. 結論

事業計画策定と制度設計については運営委員会で策定された計画に沿って計画通り順調に進んでいる。データベース構築に関しても、プロトタイプ作成と公開用インターフェイスの開発を計画通り遂行した。データエントリーについては、日本人集団のゲノム変異情報の集積は当初の目標通り進行しており、研究終了時の最終目標の達成がほぼ確実となった。加えて、当初の計画には含まれていないが極めて付加価値の高い eQTL 情報を加えることができ、本データベースがさらに利用価値の高いものとなることが期待できる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Terao, C., Ohmura, K., Kawaguchi, Y., Nishimoto, T., Kawasaki, A., Takehara, K., Furukawa, H., Kochi, Y., Ota, Y., Ikari, K., Sato, S., Tohma, S., Yamada, R., Yamamoto, K., Kubo, M., Yamanaka, H., Kuwana, M., Tsuchiya, N., Matsuda, F. and Mimori, T. (2013) PLD4 as a novel susceptibility gene for systemic sclerosis in a Japanese population. *Arthritis Rheum.* **65**, 472-480.
2. Terao, C., Ohmura, K., Ikari, K., Kochi, Y., Maruya, E., Katayama, M., Yurugi, K., Shimada, K., Murasawa, A., Honjo, S., Takasugi, K., Matsuo, K., Tajima, K., Suzuki, A., Yamamoto, K., Momohara, S., Yamanaka, H., Yamada, R., Saji, H., Matsuda, F. and Mimori, T. (2012) ACPA-negative RA consists of two genetically distinct subsets based on RF positivity in Japanese. *PLoS One* **7**, e40067.
3. Kawaguchi, T., Sumida, Y., Umemura, A., Matsuo, M., Takahashi, M., Takamura, T., Yasui, M., Saibara, T., Hashimoto, E., Kawanaka, M., Watanabe, S., Kawata, S., Imai, Y., Kokubo, M., Shima, T., Park, H., Tanaka, H., Tajima, K., Yamada, R., Matsuda, F. and Okanoue, T. for Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD) (2012) Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One* **7**, e38322.
4. Okada, Y., Terao, C., Ikari, K., Kochi, Y., Ohmura, K., Suzuki, A., Kawaguchi, T., Stahl, E. A., Kurreeman, F. A., Nishida, N., Ohmiya, H., Myouzen, K., Takahashi, M., Sawada, T., Nishioka, Y., Yukioka, M., Matsubara, T., Wakitani, S., Teshima, R., Tohma, S., Takasugi, K., Shimada, K., Murasawa, A., Honjo, S., Matsuo, K., Tanaka, H., Tajima, K., Suzuki, T., Iwamoto, T., Kawamura, Y., Tanii, H., Okazaki, Y., Sasaki, T., Gregersen, P. K., Padyukov, L., Worthington, J., Siminovitch, K. A., Lathrop, M., Taniguchi, A., Takahashi, A., Tokunaga, K., Kubo, M., Nakamura, Y., Kamatani, N., Mimori, T., Plenge, R. M., Yamanaka, H., Momohara, S., Yamada, R., Matsuda, F. and Yamamoto, K. (2012) Meta-analysis identifies nine new loci associated with rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Nat. Genet.* **44**, 511-517.
5. Kato, L., Beguma, N. A., Burroughs, M., Doi, T., Kawai, J., Daub, C. O., Kawaguchi, T., Matsuda, F., Hayashizaki, Y. and Honjo, T. (2012) Nonimmunoglobulin target loci of activation-induced cytidine deaminase (AID) share unique features with immunoglobulin genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 2479-2484.
6. Okada, Y., Shimane, K., Kochi, Y., Tahira, T., Suzuki, A., Higasa, K., Takahashi, A., Horita, T., Atsumi, T., Ishii, T., Okamoto, A., Fujio, K., Hirakata, M., Amano, H., Kondo, Y., Ito, S., Takada, K., Mimori, A., Saito, K., Kamachi, M., Kawaguchi, Y., Ikari, K., Mohammed, O. W., Matsuda, K., Terao, C., Ohmura, K., Myouzen, K., Hosono, N., Tsunoda, T., Nishimoto, N., Mimori, T., Matsuda, F., Tanaka, Y., Sumida, T., Yamanaka, H., Takasaki, Y., Koike, T., Horiuchi, T., Hayashi, K., Kubo, M., Kamatani, N., Yamada, R., Nakamura, Y. and Yamamoto, K. (2012) A Genome-wide association study identified AFF1 as a susceptibility locus for systemic lupus erythematosus in Japanese. *PLoS Genet.* **8**, e1002455.

7. Terao, C., Ikari, K., Ohmura, K., Suzuki, T., Iwamoto, T., Takasugi, K., Saji, H., Taniguchi, A., Momohara, S., Yamanaka, H., Matsuda, F. and Mimori, T. (2012) Quantitative effect of HLA-DRB1 alleles to ACPA levels in Japanese rheumatoid arthritis: no strong genetic impact of shared epitope to ACPA levels after stratification of HLA-DRB1\*09:01. *Ann. Rheum. Dis.* **71**, 1095-1097.

なし

## 2. 実用新案登録

なし

## 3. その他

なし

## 2. 学会発表

1. 松田文彦 ゲノムワイド関連解析を用いた非アルコール性脂肪性肝疾患の関連遺伝子の探索 第48回日本肝臓学会 ポルテ金沢(金沢) 2012年6月7日
2. 松田文彦 分子を通して自分を知る未病社会の健康観～大規模コホート研究とゲノム、タンパク、代謝物～ 未病社会の診断技術研究会第7回講演会 東京大学武田ホール(東京) 2012年10月11日
3. 松田文彦 Human Biology とゲノム情報 日本DNA多型学会第21回学術集会シンポジウム 京都教育文化センター(京都) 2012年11月7日
4. 松田文彦 ヒト生命情報統合研究とそのモデルケースとしてのながはまゲノムコホート事業 第59回日本臨床検査医学会学術集会シンポジウム 国立京都国際会館(京都) 2012年11月30日

### シンポジウム等の開催

1. 「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回ワークショップ 京都大学医学研究科芝蘭会館稲盛ホール(京都) 2012年9月6日
2. 「次世代シーケンサーを用いた新しいゲノム医学シンポジウム」  
Kyoto Course and Symposium on Bioinformatics for Next Generation Sequencing with Applications in Human Genetics 京都大学医学研究科芝蘭会館(京都) 2012年1月15日～19日
3. 「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成24年度第2回ワークショップ 東京国際フォーラム(東京) 2013年3月23日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

## V. 分担研究報告

**厚生労働科学研究費補助金**  
**(難治性疾患等克服研究事業 (難治性疾患克服研究事業))**  
**分担研究報告書**

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした原因遺伝子  
変異データベースの構築

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦  
研究分担者：東京大学医学部附属病院神経内科・教授 辻省次  
共同研究者：東京大学医学部附属病院神経内科 三井純、石浦浩之、後藤順

**研究要旨**

日本人健常者群 373 例のエクソーム解析を行い、従来のデータベースにない膨大な数の新規 rare variants を同定した。このようなデータを活用することで、遺伝的異質性の高い希少難治性疾患に対して網羅的な遺伝子解析が可能になる。日本人における遺伝子診断、疾患遺伝子研究の質を高めるためには、変異情報の蓄積と集約が必須である。

**A. 研究目的**

エクソーム解析、全ゲノム解析により、迅速かつ網羅的な遺伝子解析・遺伝子診断が可能となり、希少難治性疾患への適用が進んでいる。一方、近年の大規模エクソーム解析の結果、人種ごとに膨大な数の rare variants が存在することが分かり、遺伝子診断に伴う変異の意義づけに際しては、日本人における疾患遺伝子の変異情報の蓄積と集約が重要であると考えられる。

我々は、コントロールとなる健常者群のエクソーム解析による日本人レファレンスデータベースの構築を重点的に行っている。

**B. 研究方法**

エクソーム解析、全ゲノム解析の施行の同意が得られている健常者群の検体に対して、集団内の変異頻度情報を公的データベースへ登録・公開することについて、過去検体を含めて東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得た。

11 例については新規の同意を得て、362 例については過去検体を用いて、健常者群 373 例のエクソーム解析を実施した。キャプチャーは Agilent 社 SureSelect v4+UTR または v5+UTR キットを用いて翻訳領域、UTR 領域を中心に濃縮し、Illumina 社 HiSeq2000/2500 を用いてシーケンスを行った。参照配列は hg19 を用いて、BWA によりアライメントを行い、Samtools により変異のコールを行った。

(倫理面への配慮)

本研究については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会からの承認を受けて実施する。

**C. 研究結果**

健常者群 373 例において、翻訳領域内の非同義性変異に絞り、質の高い 106,984 個の一塩基置換変異を抽出した。うち 84,862 個 (79.3%) はアレル頻度 1%以下の rare variants であり、そのうち 66,958 個 (78.9%) は、従来の変異データベース (dbSNP, ESP, 1kG) には登録がなく、新規の変異であることが分かった。

**D. 考察**

変異のアレル頻度分布は、ヨーロッパ由来のアメリカ人集団の分布とよく類似しており (Nature 2013;493:216-220)、人種ごとに膨大な数の比較的特有な rare variants を持っていることが示唆された。従来の欧米を中心に整備された変異データベースだけでは、日本人における疾患遺伝子変異の意義づけは困難である。

**E. 結論**

日本人健常者群 373 例のエクソーム解析を行い、従来のデータベースにない膨大な数の新規 rare variants を同定した。我々はこのようなデータを活用することで、遺伝的異質性の高い希少難治性疾患に対して網羅的な遺伝子解析を実施している (Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.

2012;159B:951-957, *J Neurol Sci* 2013 in press)。日本人における遺伝子診断、疾患遺伝子研究の質を高めるためには、変異情報の蓄積と集約が必須である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Mitsui, J., Matsukawa, T., Ishiura, H., Higasa, K., Yoshimura, J., Saito, T.L., Ahsan, B., Takahashi, Y., Goto, J., Iwata, A., Niimi, Y., Riku, Y., Goto, Y., Mano, K., Yoshida, M., Morishita, S. and Tsuji, S. CSF1R mutations identified in three families with autosomal dominantly inherited leukoencephalopathy. (2012) *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr Genet.* **159B**, 951-957.
2. Ishiura, H., Sako, W., Yoshida, M., Kawarai, T., Tanabe, O., Goto, J., Takahashi, Y., Date, H., Mitsui, J., Ahsan, B., Ichikawa, Y., Iwata, A., Yoshino, H., Izumi, Y., Fujita, K., Maeda, K., Goto, S., Koizumi, H., Morigaki, R., Ikemura, M., Yamauchi, N., Murayama, S., Nicholson, G.A., Ito, H., Sobue, G., Nakagawa, M., Kaji, R. and Tsuji, S. (2012) The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement. *Am. J. Hum. Genet.* **91**, 320-329.
3. Ishii, A., Saito, Y., Mitsui, J., Ishiura, H., Yoshimura, J., Arai, H., Yamashita, S., Kimura, S., Oguni, H., Morishita, S., Tsuji, S., Sasaki, M. and Hirose, S. Identification of ATP1A3 mutations by exome sequencing as the cause of alternating hemiplegia of childhood in Japanese patients. (2012) *PLoS One.* **8**, e56120.
4. Tsuji, S. The neurogenomics view of neurological diseases. (2013) *JAMA Neurol.* **9**, 1-6.
5. Ichikawa, Y., Ishiura, H., Mitsui, J., Takahashi, Y., Kobayashi, S., Takuma, H., Kanazawa, I., Doi, K., Yoshimura, J., Morishita, S. and Tsuji, S. Exome analysis reveals a Japanese family with spinocerebellar ataxia, autosomal

recessive 1. (2013) *J. Neurol. Sci. in press.*

##### 2. 学会発表

1. 三井 純、後藤 順、辻 省次 エクソーム解析による遺伝的異質性の高い疾患に対する遺伝子検査 第20回日本遺伝子診療学会 アクトシティ浜松 (浜松) 2013年7月19日

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

特になし

##### 2. 実用新案登録

特になし

##### 3. その他

特になし

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

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした  
 原因遺伝子変異データベースの構築

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦  
 研究分担者：東北大学医学系研究科・教授 松原 洋一

**研究要旨**

次世代シーケンサーの導入によって、欧米の研究室を中心に希少遺伝性難病の原因遺伝子が次々と解明されつつある。日本国内の研究体制を整備し解析拠点を構築することが急務である。本分担研究における目的は、東北大学の次世代遺伝子解析コア施設を活用した希少遺伝性疾患解明の拠点施設を構成した上で、他の希少難治性疾患研究拠点と連携し、データベース構築に必要な、疾患と関連する遺伝子変異情報を収集することである。次世代遺伝子解析のパイプラインを用いて種々の病因遺伝子探索が進行中である。これまでに神経器疾患、先天奇形、呼吸器疾患、消化器疾患、先天性代謝異常症、皮膚疾患、眼疾患、血液疾患などを有する患者より得られた検体 155 についてのエクソーム解析を実施した。そのうちの数疾患において新規病因遺伝子を同定することができた。また、既知の病因遺伝子が同定されたものも存在した。現在、これらについて機能解析を行うとともに、論文として発表を予定している。

**A. 研究目的**

次世代シーケンサーの導入によって、欧米の研究室を中心に希少遺伝性難病の原因遺伝子が次々と解明されつつある。日本国内の研究体制を整備し解析拠点を構築することが急務である。

東北大学では、代表研究者の研究室を中心に過去 30 年にわたり一貫して希少遺伝性難病の原因遺伝子の同定、病態解明、治療法開発に成果を挙げてきた。また、難治性疾患克服研究事業の支援を得た研究の成果を患者家族に還元してきた。このような背景を元に、東北大学医学部では次世代遺伝子解析コア施設を計画し、専任のバイオインフォマティクス研究者と技術補佐員とともに整備をすすめてきた。

本分担研究の目的は、東北大学の次世代遺伝子解析コア施設を活用した希少遺伝性疾患解明の拠点施設を構成した上で、データベース構築に必要な、疾患と関連する遺伝子変異情報を収集することである。

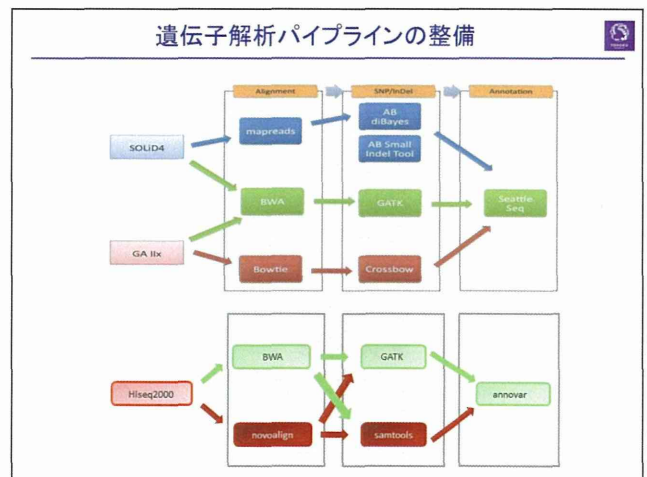
**B. 研究方法**

1) 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析システム

東北大学に設置された SOLiD4, GAIIX, HiSeq2000, MiSeq の機器を用いて次世代遺伝子解析を実施した。得られたデータの情

報解析は図 1 のようなプロトコールに従って実施した。

図 1



情報解析の結果には偽陽性、偽陰性を含むため、SNP アレイおよびキャピラリーシーケンサーでの結果と照らし合わせて各パラメータ調整を行った。

2) 全国の難治性疾患克服研究事業研究班からの検体収集と東北大学における遺伝子解析

拠点施設として、全国の研究班からの臨床検体を受託して解析をおこなった。北海道から九州までの広範囲の地域から臨床検体

が寄せられた。これらの症例や家系について、臨床的な評価、これまでの遺伝子解析状況を検討し、必要に応じてマイクロアレイ解析による遺伝子欠失・重複の検索、SNPを用いた連鎖解析をおこなったうえで、次世代遺伝子解析を実施した。

### 3) デスクトップ型次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断システムの構築

本研究での難病の遺伝子データベース構築には病因遺伝子が既知の疾患も対象となっており、網羅的な遺伝子解析のみならず対象遺伝子を絞り込んだ解析も必要である。既知疾患遺伝子のスクリーニングのため、Agilent社 Haloplex と Illumina 社の次世代シーケンサー Miseq を用いておこなった。

#### (倫理面への配慮)

本研究は3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。

## C. 研究結果

### 1) 次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析

種々の疾患を有する患者より得られた検体155についてエクソーム解析を実施した。疾患群の分類とその内訳を図2に示す。

東北大学拠点班でのエクソーム解析	
エクソーム解析数	155
健常人	40
神経筋疾患	8
呼吸器疾患	24
消化器疾患	15
血液疾患	4
先天奇形	44
先天代謝異常	5
眼疾患	5
皮膚疾患	10

(図2)

これまでに報告されていない新規病因遺伝子が同定されたものは5疾患、既知の病因遺伝子が同定されたものが6疾患、解析を終了したものが5疾患、解析中のものが2疾患、解析準備中のものが4疾患となっている。

### 2) 遺伝子診断のためのデスクトップ型次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンスシステムの構築

対象とした疾患群とそれぞれの遺伝子数は、Ras/MAPK 症候群 (24 遺伝子)、成人発症型ミオパチー (44 遺伝子)、遺伝性膵炎 (69 遺伝子)、筋萎縮性側索硬化症 (35 遺伝子) であった。これらの疾患についてシステム構築を行い、それぞれの対象となる遺伝子セットによって解析可能領域、必要なデータ量が異なってくるため、検証を行った。

## D. 考察

昨年度から本年度にかけての研究により、東北大学での次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析体制が整備・運用された。バイオインフォマティクスを含めた遺伝子解析パイプラインの確立と HiSeq2000 の導入によるスループットの飛躍的な増強により、全国の一般研究班との連携、検体受入を行った。

これまでに155検体のエクソーム解析が終了し、新規病因遺伝子が同定されたものが5疾患、既知の病因遺伝子が同定されたものが6疾患、解析を終了したものが5疾患、解析中のものが2疾患、解析準備中のものが4疾患となった。

このうち、早期の呼吸不全を伴う cytoplasmic body myopathy の大家系では titin の遺伝子変異が同定され、すでに論文として発表した。他に同定された病因遺伝子とその遺伝子変異については、現在機能解析をすすめるとともに論文を準備中である。

今後、さらに一般研究班との連携を増やし、より多くの疾患・症例・家系について次世代遺伝子解析を実施し、データベース構築に必要なデータのさらなる収集を進める予定である。

## E. 結論

東北大学における次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析体制の運用を開始し、一般研究班との連携をおこないながらエクソーム解析を実施した。その結果、新規および既知の病因遺伝子を同定することができた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kikuchi, A., Arai-Ichinoi, N., Sakamoto, O.,

- Matsubara, Y., Saheki, T., Kobayashi, K., Ohura, T. and Kure, S. (2012) Simple and rapid genetic testing for citrin deficiency by screening 11 prevalent mutations in SLC25A13. *Mol. Genet. Metab.* **105**, 553-558.
2. Abe, Y., Aoki, Y., Kuriyama, S., Kawame, H., Okamoto, N., Kurosawa, K., Ohashi, H., Mizuno, S., Ogata, T., Kure, S., Niihori, T. and Matsubara, Y.; Costello and CFC syndrome study group in Japan. (2012) Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: findings from a nationwide epidemiological survey. *Am. J. Med. Genet. A.* **158A**, 1083-1094.
  3. Metoki, H., Ohkubo, T., Obara, T., Akutsu, K., Yamamoto, M., Ishikuro, M., Sakurai, K., Iwama, N., Katagiri, M., Sugawara, J., Hirose, T., Sato, M., Kikuya, M., Yagihashi, K., Matsubara, Y., Yaegashi, N., Mori, S., Suzuki, M. and Imai, Y.; BOSHI Study Group. (2012) Daily serial hemodynamic data during pregnancy and seasonal variation: the BOSHI study. *Clin. Exp. Hypertens.* **34**, 290-296.
  4. Saito, Y., Aoki, Y., Muramatsu, H., Makishima, H., Maciejewski, J.P., Imaizumi, M., Rikiishi, T., Sasahara, Y., Kure, S., Niihori, T., Tsuchiya, S., Kojima, S. and Matsubara, Y. (2012) Casitas B-cell lymphoma mutation in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leuk. Res.* **36**, 1009-1015.
  5. Asano, M., Fujimura, T., Wakusawa, C., Aoki, Y., Matsubara and Y., Aiba, S. (2012) A case of almost unilateral focal dermal hypoplasia resulting from a novel mutation in the PORCN gene. *Acta. Derm. Venereol.* **93**, 120-121.
  6. Patrinos, G.P., Smith, T.D., Howard, H., Al-Mulla, F., Chouchane, L., Hadjisavvas, A., Hamed, S.A., Li, X.T., Marafie, M., Ramesar, R.S., Ramos, F.J., de Ravel, T., El-Ruby, M.O., Shrestha, T.R., Sobrido, M.J., Tadmouri, G., Witsch-Baumgartner, M., Zilfalil, B.A., Auerbach, A.D., Carpenter, K., Cutting, G.R., Dung, V.C., Grody, W., Hasler, J., Jorde L, Kaput, J., Macek, M., Matsubara, Y., Padilla, C., Robinson, H., Rojas-Martinez, A., Taylor, G.R., Vihinen, M., Weber, T., Burn, J., Qi, M., Cotton, R.G. and Rimoin, D.; International Confederation of Countries Advisory Council. (2012) Human Variome Project country nodes: documenting genetic information within a country. *Hum. Mutat.* **33**, 1513-1519.
  7. Komatsuzaki, S., Sakamoto, O., Fuse, N., Uematsu, M., Matsubara, Y. and Ohura, T. (2012) Clinical reasoning: a young man with progressive subcortical lesions and optic nerve atrophy. *Neurology.* **79**, e63-8.
  8. Izumi, R., Niihori, T., Aoki, Y., Suzuki, N., Kato, M., Warita, H., Takahashi, T., Tateyama, M., Nagashima, T., Funayama, R., Abe, K., Nakayama, K., Aoki, M. and Matsubara Y. (2012) Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J. Hum. Genet. in press.*
- ## 2. 学会発表
1. 飯倉 立夏、青木 洋子、新堀 哲也、小松崎 匠子、松原 洋一 東北大学病院遺伝科の現状 日本人類遺伝学会第57回大会 京王プラザホテル (東京) 2012年10月25日
  2. 齋藤 由佳、青木 洋子、村松 秀樹、今泉 益栄、力石 健、笹原 洋二、呉 繁夫、新堀 哲也、小島 勢二、松原 洋一 Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析 日本人類遺伝学会第57回大会 京王プラザホテル (東京) 2012年10月27日
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし



**厚生労働科学研究費補助金**  
**(難治性疾患等克服研究事業(難治性疾患克服研究事業))**  
**分担研究報告書**

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした  
原因遺伝子変異データベースの構築  
“成育疾患にかかるゲノム情報の収集”

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦  
研究分担者：(独) 国立成育医療研究センター・再生医療センター長 梅澤 明弘

**研究要旨**

遺伝学的解析手法の発展により、家系症例を収集可能な単一遺伝性疾患や、大きな染色体構造異常を有する疾患の多くで、原因遺伝子が同定されている。その一方で、多くの小児先天性疾患、異常妊娠は、未だ遺伝要因が明らかでない。これらの疾患は、稀少性に加え、点変異や微細欠失、多因子、あるいは *de novo* 変異等の背景があると推測され、従来の遺伝学的手法では責任遺伝子の同定が困難であり、次世代シーケンサーやマイクロアレイ技術による網羅的配列解析が必須かつ極めて有効と期待される。実際に、すでに様々な疾患で、これらの配列解析技術を利用し、多くの画期的研究成果が上げられている。しかし、小児科・産科疾患の原因遺伝子同定への応用例は少なく、ゲノム解析体制の整備が喫緊の課題である。本研究計画では、小児の難治性疾患を中心とし、原因不明の成育疾患のゲノム解析を行い、ゲノム情報の収集を行った。

**A. 研究目的**

稀少難治性疾患研究拠点間の連携で、難病の発症や予後等に関連する遺伝子変異情報を集約したデータベースを構築し、蓄積した情報を広く共有することで、科学的価値の高い成果を創造し、精度の高い診断、迅速な治療方針の決定による質の高い「個の医療」の実現に資することを目的とし、成育疾患を対象としたデータの供出を担当する。

**B. 研究方法**

**全エクソン解析による *de novo* 変異同定**

約 60 Mb の全エクソン配列を網羅したオリゴキャプチャーで、ゲノム DNA からエクソン領域を選択的に捕捉回収し、次世代シーケンサー (HiSeq, GAII, SOLiD) で網羅的に解読した。情報解析は、BWA による Mapping、dbSNP との異同比較、変異の及ぼすアミノ酸置換程度の評価、KEGG パスウェイなどの一連のアノテーションパイプラインにより行った。

**ターゲットリシーケンスによる既知・未知変異同定**

すでに疾患責任領域が同定・推定されている疾患では、責任領域の任意配列を網羅したオリゴプローブを設計し、疾患責任領域を選択的に回収し、次世代シー

クエンサーで網羅的に配列解析した。

**ウイルスベクター挿入部位の解析**

ベクター特異的な配列をプライマーとして、LMA-PCR 法 (linear amplification-mediated PCR) により挿入ベクターおよび隣接する配列を取得し、次世代シーケンサー (ロシュ社 GS juniro, 454 等) を用いてベクター挿入部位を確認した。

**全 cDNA 配列解析**

疾患標的臓器から RNA を回収し、cDNA ライブラリーを作製し、次世代シーケンサーで網羅的配列解析を行い、Whole Transcriptome Analysis (Coverage, Known Exons, Splice junctions, Gene Fusions など) の解析ツールを活用し、transcriptome 解析、疾患特異的 splicing variants、キメラ遺伝子、small RNA 等を同定した。

**網羅的一塩基多型解析**

マイクロアレイ技術を用い、全ゲノム関連解析、未知微細欠失同定を含む染色体構造解析を行った。

**(倫理面への配慮)**

1. 本研究の倫理面での特徴とその対策  
本研究の解析対象疾患は、すでに遺伝

子解析に必要な倫理申請を国立成育医療研究センターの倫理委員会に行い、承認を得ている。また、一部の研究は、次世代シーケンサーを用いた包括的網羅的遺伝子配列解析についても承認を得ている（国立成育医療研究センター倫理委員会 受付番号374）。未承認の解析対象疾患は、改めて包括的網羅的遺伝子配列解析を行う旨を倫理申請し、提供者の再同意を得た後に遺伝子解析を行う。外部の医療機関から臨床検体の提供を受ける際は、双方の機関の倫理委員会に申請を行い、全ての研究を適正に遂行した。

次世代配列解析を行うに当たっては、網羅的配列解析に対する包括的同意を得る必要があるが、加えて本研究の検体提供者は、ほとんどが未成年者であり、代諾により同意を得るといった特異性を伴う。この点に関しては、特段の配慮と検討を行い、決して拙速な結論に至らぬよう、十分な社会的合意のもとに研究を進めていく必要がある。また、当センターでは、定期的（年2回以上）に生命倫理に関する講演を開催し、申請者のみならず大部分のセンター医師・研究者が受講しており、適切な生命倫理観を身につける事に機関として努力を払っている。

### C. 研究結果

全エクソン配列解析では、解析症例とマッチングさせた対照群の配列情報も併せて取得し、変異アレルの出現頻度、アミノ酸置換を伴う *de novo* 変異についてフィルタリングを行い、疾患原因候補を絞り込んだ。データベース構築は、特に、疾患とゲノム変異との相関性の観点に注意し、OMIMや種々の疾患データベース、アップデートに対応した文献情報データベースへのリンクを念頭に入れてデザインを行った。また、個人保護を最大限遵守するため、まず本課題関連研究者（分担者および協力者）と共有できるセキュリティーの高い管理下（ローカルネット

あるいはVPN以上）で実施し、課題ごとに臨床上有用と判断できる状況になったものから、専門医や当該領域研究者がコントロールアクセス可能なシステム構築を行った。

### D. 考察

多くの小児先天性疾患、異常妊娠は、未だ遺伝要因が明らかでない。これらの疾患は、稀少性に加え、点変異や微細欠失、多因子、あるいは *de novo* 変異等の背景があると推測され、従来の遺伝学的手法では責任遺伝子の同定が困難であり、次世代シーケンサーやマイクロアレイ技術による網羅的配列解析が必須かつ極めて有効であった。

### E. 結論

難病の研究や診断治療において、全ゲノムシーケンスを利用した原因遺伝子の探索は極めて強力なアプローチである。成育疾患遺伝子解析研究で収集した臨床情報や解析された遺伝子情報を全国で統一的に管理・運用するナショナルデータベースの構築は重要であり、本データベースに供出可能なデータを取得できたことは非常に有用である。今後はこれらのデータの活用について、班全体で議論していく必要がある。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業の成果を基にした  
原因遺伝子変異データベースの構築

研究代表者：京都大学医学研究科・教授 松田 文彦  
研究分担者：横浜市立大学医学研究科・教授 松本 直通

### 研究要旨

日本人正常対照における全エクソーム解析 (Whole Exome Sequencing, WES) で得られたバリエーションとそれらのアレル頻度を網羅的に同定、集積し、他の研究者が利用できる有用な公開データベースを作成することを目的として研究を進めた。平成 24 年度中に正常対照 382 例の WES データを用い 9,251,458 個の SNPs を同定それぞれのアレル頻度を計算しデータベース化した。

#### A. 研究目的

日本人正常対照における WES で得られたバリエーションとそれらのアレル頻度を網羅的に明らかにし集積することにより、他の研究者が利用できる有用な公開データベースを作成することを目的とする。

#### B. 研究方法

解析拠点研究で蓄積された 382 名の正常対照の WES データを用いて同定されたバリエーションのリスト化とそれらのアレル頻度を明らかにする。WES データは HiSeq2000 で産出し解析は Novoalign/Picard tools/GATK にて行いバリエーションを得た。WES データで個人特定ができないようにするための仕掛けとしてバリエーションデータを個人間でシャッフルし、特定を不可能とした。合計で 9,251,458 個の SNPs を検出、それぞれのアレル頻度を計算しデータベース化した。

#### (倫理面への配慮)

データベースの公開に向けて改めて横浜市立大学医学部遺伝子ゲノム解析倫理委員会の承認を得て公開の予定である。

#### C. 研究結果

各検体の WES データをマッピング、PCR duplicate 除去、Re-alignment、Base Quality re-calibration、圧縮し、40 検体ごとに genotyping し、40 検体 x10 グループのタイピング結果をマージし、全サンプルの再タイピングを行い、クオリティフィルター情報の付加並びにランダムイズを施行し、データベースを構築した。

#### D. 考察

本データベースは、リードカバレッジが確実な部位のバリエーションをカウントして得られた確実なアレル頻度を反映したもので信頼性が高く、かつ WES により網羅性を備えており、また日本人集団固有のアレル頻度であることから日本人を対象とした各種の研究において使用に耐えうるものである。

#### E. 結論

日本人正常対照における WES で得られたバリエーションのリストとアレル頻度を明らかにしデータベース化した。平成 24 年度中に正常対照 382 例の WES データを用い 9,251,458 個の SNPs を同定それぞれのアレル頻度を計算しデータベース化した。横浜市立大学倫理委員会の承認後、公開予定である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Saitsu, H., Kato, M., and Matsumoto, N. (2012) Haploinsufficiency of *STXBPI* and Ohtahara syndrome. Jasper's basic mechanism of the epilepsies 4<sup>th</sup> edition, edited by Noebels, J., Avoli, M., Rogawski, M., Olsen, R.W., and Delgado-Escueta, A.V. *Oxford University Press* 824-834.
2. Yoneda, Y., Haginoya, K., Arai, H., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., Osaka, H., Kato, M., Matsumoto, N. and Saitsu, H. (2012) *De novo*

- and inherited mutations in the gene encoding a type IV collagen  $\alpha 2$  chain (*COL4A2*) cause porencephaly. *Am. J. Hum. Genet.* **90**, 86-90.
3. Sakai, H., Suzuki, S., Mizuguchi, T., Imoto, K., Yamashita, Y., Doi, H., Kikuchi, M., Tsurusaki, Y., Saitsu, H., Miyake, N., Masuda, M. and Matsumoto, N. (2012) 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.
  4. Kondo, Y., Saitsu, H., Miyamoto, T., Nishiyama, K., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., Ryoo, N-K., Kim, J.H., Yu, K.S. and Matsumoto, N. (2012) A family of oculofaciocardiodental syndrome (OFCD) with a novel *BCOR* mutation and genomic rearrangements involving *NHS*. *J. Hum. Genet.* **57**, 197-201.
  5. Yoneda, Y., Saitsu, H., Touyama, M., Makita, Y., Miyamoto, A., Hamada, K., Nishiyama, K., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., Ogata, K., Naritomi, K., and Matsumoto, N. (2012) Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of *NFIX* cause Sotos-like syndrome. *J. Hum. Genet.* **50**, 207-211.
  6. Saitsu, H., Osaka, H., Nishiyama, K., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., and Matsumoto, N. (2012) A girl with early-onset epileptic encephalopathy associated with microdeletion involving *CDKL5*. *Brain Dev.* **34**, 364-367.
  7. 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. and Matsumoto, N. (2012) Homozygous c.14576G>A variant of *RNF213* predicts early-onset and severe form of Moyamoya disease. *Neurology.* **78**, 803-810.
  8. Hamdan, F.F.<sup>#</sup>, Saitsu, H.<sup>#</sup> (# denotes equal contribution), Masuko, K., Gauthier, J., Dobrzeniecka, S., Spiegelman, D., Lacaille, J.C., Décarie, J.C., Matsumoto, N., Rouleau, G.A. and Michaud, J.L. (2012) Mutations in *SPTAN1* in intellectual disability and pontocerebellar atrophy. *Eur. J. Hum. Genet.* **20**, 796-800.
  9. Saitsu, H.<sup>#</sup>, Kato, M.<sup>#</sup> (# 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. and Matsumoto, N. (2012) Association of genomic deletions in the *STXBPI* gene with Ohtahara syndrome. *Clin. Genet.* **81**, 399-402.
  10. Motobayashi, M., Nishimura-Tadaki, A., Inaba, Y., Kosho, T., Miyatake, S., Niimi, T., Nishimura, T., Wakui, K., Fukushima, Y., Matsumoto, N. and Koike, K. (2012) 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**, 861-868.
  11. 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. and \*Miyake, N. and \*Matsumoto, N. (\*: co-corresponding) (2012) Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. *Nat. Genet.* **44**, 376-378.
  12. Osaka, H., Takagi, A., Tsuyusaki, Y., Wada, T., Iai, M., Yamashita, S., Shimbo, H., Saitsu, H., Salomons, G.S., Jakobs, C., Aida, N., Shinka, T., Kuhara, T. and Matsumoto, N. (2012) Contiguous deletion of *SLC6A8* and *BAP31* in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness. *Mol. Genet. Metab.* **106**, 43-47.
  13. Writzl, K., Primec, Z.R., Stražišar, B.G., Osredkar, D., Pečarič-Meglič, N., Kranjc, B.S., Nishiyama, K., Matsumoto, N. and Saitsu, H. (2012) Early onset West syndrome with severe hypomyelination and coloboma-like optic discs in a girl with *SPTAN1* mutation. *Epilepsia.* **53**, e106-110.
  14. Saitsu, H., Kato, M., Koide, A., Goto, T., Fujita, T., Nishiyama, K., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., Hayasaka, K. and Matsumoto, N. (2012) Whole exome sequencing identifies *KCNQ2* mutations in Ohtahara syndrome. *Ann. Neurol.* **72**, 298-300.
  15. Saitsu, H., Kato, M., Osaka, H., Moriyama, N., Horita, H., Nishiyama, K., Yoneda, Y., Kondo, Y., Tsurusaki, Y., Doi, H., Miyake, N., Hayasaka, K. and Matsumoto, N. (2012) *CASK* aberrations in male patients with Ohtahara syndrome and