

- 123) Ishikawa T, Shimizu T, Ueki A, Yamaguchi SI, Onishi N, Sugihara E, Kuninaka S, Miyamoto T, Morioka H, Nakayama R, Kobayashi E, Toyama Y, Mabuchi Y, Matsuzaki Y, Yamaguchi R, Miyano S, Saya H. Twist2 functions as a tumor suppressor in murine osteosarcoma cells. *Cancer Sci.* 2013;104(7):880-888.
- 124) Atsumi Y, Inase A, Osawa T, Sugihara E, Sakasai R, Fujimori H, Teraoka H, Saya H, Kanno M, Tashiro F, Nakagama H, Masutani M, Yoshioka K. The Arf/p53 protein module, which induces apoptosis, down-regulates histone H2AX to allow normal cells to survive in the presence of anti-cancer drugs. *J Biol Chem.* 2013;288(19):13269-13277.
- 125) Osawa T, Atsumi Y, Sugihara E, Saya H, Kanno M, Tashiro F, Masutani M, Yoshioka K. Arf and p53 act as guardians of a quiescent cellular state by protecting against immortalization of cells with stable genomes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013 ;432(1):34-39.
- 126) Higurashi N, Uchida T, Christoph L, Misumi Y, Okada Y, Akamatsu W, Imaizumi Y, Zhang B, Nabeshima K, Mori M, Katsurabayashi S, Shirasaka S, Okano H and Hirose S. A human Dravet syndrome model from patient induced pluripotent stem cells. *Mol Brain* 2013 May 2;6(1):19.
- 127) Kim C, Kim W, Lee H, Ji E, Choe YJ, Martindale JL, Akamatsu W, Okano H, Kim HS, Nam SW, Gorospe M, Lee EK. The RNA binding protein, HuD regulates autophagosome formation in pancreatic β cells by promoting autophagy-related gene 5 expression. *J Biol Chem.* 2013 Nov 25. [Epub ahead of print]
- 128) Bundo M, Toyoshima M, Ueda J, Nemoto-Miyake T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Okada Y, Akamatsu W, Kato M, Okano H, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased L1 Retrotransposition in the Neuronal Genome in Schizophrenia. *Neuron* in press.
- 129) Kohara, N. Hirayama, S. Shioda, M. Ozawa, A. Ohtani, E. Kawaguchi, M. Iemura, N. Matsunaga, A. Momiyama, M. Kobori, T. Masui, Japanese Cultured Cell Lines Collection from Hereditary Disease, ISBER 2013 Annual Meeting & Exhibits, May 6-8, 2013
2. 学会発表
- 1) 渡辺 聡, 三嶋博之, 朝重耕一, 木下晃, 吉浦孝一郎. Ion AmpliSeq™ Custom Panel を用いたKabuki症候群の変異解析. 第58回日本人類遺伝学会2013年11月20日(水)~23日(土), 仙台
- 2) 大塚康史, 佐々木健作, 城崎幸介, 東元 健, 岡本伸彦, 高間勇一, 窪田昭男, 松本富美, 中山雅弘, 吉浦孝一郎, 副島英伸. シスチン尿症を伴うゲノムワイド父性片親性ダイソミー症例の遺伝子解析. 第58回日本人類遺伝学会2013年11月20日(水)~23日(土), 仙台
- 3) 三嶋博之, 西澤達也, 吉浦孝一郎, 片山俊明. TogoWS REST サービスによるUCSCゲノムデータベースの利用. 第58回日本人類遺伝学会2013年11月20日(水)~23日(土), 仙台
- 4) 黒滝直弘, 小野慎治, 木下 晃, 新川詔夫, 小澤寛樹, 吉浦孝一郎. PRRT2の変異は発作性運動誘発性ジスキネジアだけでなく良性家族性乳児けいれんの原因でもある. 第58回日本人類遺伝学会2013年11月20日(水)~23日(土), 仙台
- 5) 青山幸平, 水野晴夫, 齋藤伸治. Greig cephalopolysyndactyly 症候群とMODY2を伴う隣接遺伝子症候群の1例. 第36回日本小児遺伝学会学術集会 平成25年4月18日
- 6) 副島英伸. ゲノム・インプリンティングとヒト疾患-間葉性異形成胎盤の分子遺伝学的解析 群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点セミナー 2013.9.20. 群馬大学
- 7) 副島英伸. インプリンティング疾患Beckwith-Wiedemann症候群と類縁疾患におけるエピゲノム・ゲノム異常. 第5回金沢大学学際科学実験センターシンポジウム「深遠なる疾患エピジェネティクス」2013.7.5. 金沢大学
- 8) 宮崎仁美, 東元 健, 矢田有加里, 遠藤高帆, Sharif Jafar, 小森敏治, 松田正史, 古関庸子, 中山学, 副島英伸, 半田宏, 古関明彦, 広瀬進, 西岡憲一. Ash11 methylates Lys36 of histone H3 independently of transcriptional elongation to counteract Polycomb silencing. 第36回日本分子生物学会年会 2013.12.3-6. 神戸 (1P-0177)
- 9) 副島英伸. Beckwith-Wiedemann症候群と関連疾患におけるゲノム・エピゲノム異常. 日本人類遺伝学会第58回大会「シンポジウム8 先天異常とゲノム・エピゲノム」203.11.20-23. 仙台 (S8-3プログラム・抄録集 p108)
- 10) 中林一彦, Trujillo Alex Martin, 田山千春, 兼城英輔, 和氣徳夫, 副島英伸, 緒方勤, Monk David, 秦健一郎. ゲノムワイドDNAメチル化解析によるヒトインプリントーム解明. 日本人類遺伝学会第58回大会 203.11.20-23. 仙台 (O27プログラム・抄録集 p126)
- 11) 大塚泰史, 佐々木健作, 城崎幸介, 東元健, 岡本信彦, 高間勇一, 窪田昭男, 松本富美, 中山雅弘, 吉浦孝一郎, 副島英伸. シスチン尿症を伴うゲノムワイド父性片親性ダイソミー症例の遺伝子解析. 日本人類遺伝学会第58回大会 203.11.20-23. 仙台 (O32プログラム・抄録集 p127)
- 12) 副島英伸, 東元健, 城崎幸介, 八木ひとみ, 大塚泰史, 前田寿幸, 青木早織, 岡島翠, 坂口勲, 大場隆, 片渕秀隆. 間葉性異形成胎盤における11p15刷り込み領域の分子遺伝学的

- 解析. 日本人類遺伝学会第58回大会 203.11.20-23. 仙台 (O70プログラム・抄録集 p137)
- 13) 秋山辰穂、勝村啓史、埴原恒彦、太田博樹、中込滋樹、藤本一真、副島英伸、城圭一郎、木村亮介、石田肇、安河内朗、樋口重和. 時計遺伝子 PERIOD2 の多型と光刺激応答の生理的多様性の関係及びその人類学的考察. 第67回日本人類学会大会 203.11.1-4. 筑波 (Y-1抄録集 p43)
 - 14) 小金渕佳江、中込滋樹、間野修平、石崎直也、河村正二、木村亮介、石田肇、城圭一郎、副島英伸、藤本一真、佐藤公俊、湯澤泉、安井美江、隈部俊宏、藤井清孝、秋山辰穂、埴原恒彦、太田博樹. モヤモヤ病原因遺伝子RNF213の琉球諸島・北部九州ヒト集団における遺伝的多型. 第67回日本人類学会大会 203.11.1-4. 筑波 (A-28抄録集 p57)
 - 15) 副島英伸、東元健、城崎幸介、八木ひとみ、大塚泰史、前田寿幸、青木早織、岡島翠、坂口勲、大場隆、片渕秀隆. 間葉性異形成胎盤における11p15インプリント領域の分子遺伝学的解析. 第21回日本胎盤学会学術集会 2013.10.25-26. 名古屋市 (一般演題2-1、プログラム・抄録集p55)
 - 16) 青木早織、大場隆、岡島翠、坂口勲、東元健、副島英伸、福永真治、片渕秀隆. 本邦における間葉性異形成胎盤の臨床像. 第21回日本胎盤学会学術集会 2013.10.25-26. 名古屋市 (一般演題2-2、プログラム・抄録集p55)
 - 17) 鮫島梓、米田徳子、森尻昌人、米澤理可、米田哲、塩崎有宏、夫律子、中山雅弘、副島英伸、齋藤滋. 母体血中sFlt-1が異常高値を示したPlacental Mesenchymal Dysplasiaの一例. 第21回日本胎盤学会学術集会 2013.10.25-26. 名古屋市 (一般演題2-3、プログラム・抄録集p56)
 - 18) 副島英伸、東元健、八木ひとみ、青木早織、鮫島梓、齋藤滋、夫律子、中山雅弘、坂口勲、大場隆、片渕秀隆. 11p15インプリントドメインのメチル化異常を認めた間葉性異形成胎盤の1例. 第20回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会 2013.9.28. 鹿児島 (一般演題3、抄録集p10)
 - 19) Takamatsu Y, Maeda T, Matsuo M, Higashimoto K, Kawashima M, Matsushima T, Soejima H. Practical use of pyrosequencing analysis to detect Moyamoya disease susceptible gene RNF213 variant c.14576G>A. 3rd International Moyamoya Meeting. 2013.7.12-13. Sapporo (Workshop IV, invited oral speaker)
 - 20) 大塚泰史、佐々木健作、城崎幸介、東元健、岡本信彦、高間勇一、窪田昭男、松本富美、中山雅弘、吉浦孝一郎、副島英伸. シスチン尿症を伴うゲノムワイド父性片親性ダイソミー症例の遺伝子解析. 第48回日本小児腎臓病学会2013.6.28-29. 徳島 (抄録集p110, 口演O-05, 優秀演題奨励賞受賞)
 - 21) 東元健、城崎幸介、八木ひとみ、古庄知己、松原圭子、山田大輔、前田寿幸、大塚泰史、古関明彦、緒方勤、副島英伸. H19 DMRメチル化異常で発症するインプリント疾患におけるH19DMRの変異解析. 第7回日本エピジェネティクス研究会年会 2013.5.30-31. 奈良 (抄録集p60, ポスターP-36)
 - 22) 前田寿幸、東元健、中林一彦、城崎幸介、八木ひとみ、緒方勤、秦健一郎、副島英伸. Beckwith-Wiedemann症候群におけるインプリントDMRのマルチローカスメチル化解析. 第7回日本エピジェネティクス研究会年会 2013.5.30-31. 奈良 (抄録集p61, ポスターP-38)
 - 23) 長嶋一昭、田中大祐、東元健、八木ひとみ、杉崎和、田原裕美子、小倉かさね、佐藤広規、佐藤雄一、山野言、副島英伸、稲垣暢也. 新生児期低血糖合併Beckwith-Wiedemann症候群患者における病態形成機序の検討. 第56回日本糖尿病学会年次学術集会 2013.5.16-18. 熊本
 - 24) 森崎裕子. Marfan症候群と類縁疾患の原因遺伝子による臨床所見の比較検討. in 第49回日本小児循環器学会. (東京) 2013.7.11.
 - 25) 森崎隆幸、森崎裕子. フィラミン異常症による大動脈瘤・解離. in 第59回日本人類遺伝学会 (仙台) 2013.11.20.
 - 26) 森崎裕子. 「遺伝性稀少難病に対する国立循環器病研究センターの取り組み」 in 第1回難病医療ネットワーク学会 (大阪) シンポジウム2013.11.9
 - 27) 宮本達雄 他. 分裂期キネシンKIF2Aを介した細胞増殖に共役した繊毛退縮機構. 第35回日本分子生物学会年会 (神戸) 2013年12月
 - 28) 宮本達雄 他. 人工ヌクレアーゼを用いたヒト培養細胞での一塩基編集: 放射線感受性SNPの評価系構築への試み. 第56回日本放射線影響学会 (青森) 2013年10月
 - 29) 小林純也 他. 酸化ストレスによるATMキナーゼの活性制御. 第56回日本放射線影響学会 (青森) 2013年10月
 - 30) 松浦伸也 他. 人工ヌクレアーゼによる一塩基編集法を利用したPCS (MVA)症候群の遺伝子間領域変異の同定. 第58回日本人類遺伝学会 (仙台) 2013年11月
 - 31) 富永牧子、黒田友紀子、松井潔、古谷憲孝、升野光雄、黒澤健司. 新しいゲノム病13q12欠失症候群の1例. 第116回日本小児科学会学術集会 2013.4.19-21. 広島
 - 32) 黒澤健司、黒田友紀子、大橋育子、田上幸治、高野亨子、和田敬仁、井合瑞江、松井潔、小坂仁. 自閉症・発達遅滞病因検索としてのマイクロアレイ染色体検査. 第55回日本小児神経学会学術集会 2013.5.30-6.1 大分
 - 33) 大橋育子、黒田友紀子、黒澤健司、和田敬二、小坂仁. 17P13.3重複症候群の1例. 第55回日本小児神経学会学術集会 2013.5.30-6.1 大分
 - 34) 大橋育子、黒田友紀子、井田一美、成戸卓也、永井淳一、水野誠司、升野光雄、黒澤

- 健司 マイクロアレイ染色体検査における「臨床的意義不明」の結果報告と問題点. 第37回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 2013.6.20-23. 川崎
- 35) 西悠里、黒田友紀子、大橋育子、成戸卓也、西村玄、黒澤健司 IFT122に変異と遺伝子内重複を認めたCranioectodermal dysplasia (CED)の姉妹例 日本人類遺伝学会第58回大会 2013.11.20-23. 仙台
- 36) 水野誠司、橋本真帆、菱川容子、木村礼子、山田憲一郎、山田裕一、若松延昭 COACH症候群(JS-H:Joubert syndrome with hepatic disease)の双生児例 第58回日本人類遺伝学会 平成25年11月23日 仙台
- 37) 水野誠司、村松友佳子、谷合弘子、伊藤弘紀、三宅紀子、松本直通 カブキ症候群患児にみられたDIP関節拘縮と屈曲線消失 第53回日本先天異常学会学術集会 2013年7月21日 大阪
- 38) 村松友佳子、岡本伸彦、鈴木伸宏、要匡、柳久美子、谷合弘子、熊谷恭子、大林伸太郎、成富研二、齋藤伸治、杉浦真弓、水野誠司 BCOR遺伝子変異を認めたLenz microphthalmia syndromeにおける表現型の検討 第53回日本先天異常学会学術集会 2013年7月21日 大阪
- 39) 岡本伸彦 他 GPI アンカー合成異常症であるPIGN 異常症の同胞例 日本人類遺伝学会
- 40) 岡本伸彦 他 次世代シーケンサー解析により診断したSENDA 小児例 日本人類遺伝学会シンポジウム8 先天異常とゲノム・エピゲノム
- 41) 岡本伸彦 他 1q41q42欠失症候群の1例 日本小児遺伝学会
- 42) 古庄知己 (信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部)、三宅紀子 (横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学)、福嶋義光 (信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部)、松本直通 (横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学). D4ST1欠損に基づくEhlers-Danlos症候群の遺伝子解析状況. 第36回日本小児遺伝学会 (平成25年4月18日 於 エソール広島、広島)
- 43) 古庄知己 (信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部)、三宅紀子 (横浜市立大学大学院医学研究科 遺伝学)、福嶋義光 (信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部). デルマタン4-O-硫酸基転移酵素-1欠損に基づく新型エーラスタンロス症候群の発見. 第116回日本小児科学会学術集会 (平成25年4月19日 於 広島)
- 44) 古庄知己、石川 真澄、黄瀬 恵美子、鳴海 洋子、関島 良樹、櫻井 晃洋、丸山 孝子、佐藤 瞳、水内 麻子、山下 浩美、玉井 真理子、河村 理恵、涌井 敬子、福嶋 義光 (信州大学医学部附属病院 遺伝子診療部). 遺伝性・先天性疾患に関する横断的診療連携体制の構築: 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部の挑戦. 第37回日本遺伝カウンセ
- リング学会学術集会 (平成25年6月20日~23日 於 信州大学医学部附属病院、松本)
- 45) 古庄知己、岳鳳鳴、坂翔太、積田奈々、笠原優子、岡田尚巳、水本秀二、小林身哉、中山淳、三宅紀子、野村義宏、江良択実、簗持淳、石川真澄、涌井敬子、福嶋義光、松本直通、菅原一幸、佐々木克典、武田伸一. デルマタン4-O-硫酸基転移酵素 (D4ST1) 欠損によるEhlers-Danlos症候群 (DDEDS) の疾患モデルの構築と検証. 日本人類遺伝学会第58回大会 (平成25年11月21-23日 於: 江陽グランドホテル)
- 46) 赤松 和土: 招待講演: 多能性幹細胞・神経幹細胞を用いた再生医療と病態解析: 愛知医科大学 細胞治療研究会 2013年3月5日 愛知
- 47) 赤松 和土: シンポジウム 疾患特異的iPS細胞を用いた病態解明および治療法確立研究: 神経疾患患者由来細胞からの神経系細胞の誘導と病態解析: 日本再生医療学会総会 2013年3月22日 横浜
- 48) 赤松 和土、岡野 栄之: シンポジウム45 iPS細胞技術を用いた中枢神経系の再生と創薬研究: iPS technology-based cell therapy for damaged CNS and investigation of neural disorders.: 第90回日本生理学会大会2013年3月29日東京
- 49) 赤松 和土: 特別講演: iPS細胞技術の神経疾患研究・治療への応用 第116回日本小児科学会学術集会2013年4月19日 広島
- 50) 赤松 和土: 招待講演: iPS細胞技術を用いた神経系の再生医療と疾患解析 第11回横浜小児先端医療セミナー 2013年5月24日 横浜
- 51) 赤松 和土: 招待講演: iPS細胞技術を用いた神経系の再生医療と疾患解析 第2回小児泌尿器科研究会 2013年6月1日 東京
- 52) 赤松 和土: 招待講演: iPS細胞を使った神経疾患の治療法の開発: 第20回東京血管疾患研究所セミナー 2013年6月8日東京
- 53) 赤松 和土: シンポジウム 疾患iPS細胞と創薬: 神経疾患患者由来細胞からの神経系細胞の誘導と病態解析: 炎症再生学会 2013年7月2日 京都
- 54) 赤松 和土: 「iPS technology-based regenerative medicine for damaged central nervous system」第11回遺伝子治療学会シンポジウム 2013年7月6日 岡山
- 55) 赤松 和土: 「iPS細胞技術を用いた神経疾患研究と治療」第37回日本血液事業学会総会シンポジウム 2013年10月21日 札幌
- 56) 増井徹 「人体由来試料の商業利用の課題について ーわたしの体はだれのもの?」第12回日本組織移植学会・学術集会 ラフレさいたま 2013年8月3日
- 57) 増井徹 「医学研究における包括的同意」、日本医師会「第5回 第XIII次生命倫理懇談会」日本医師会館 2013年8月22日
- 58) 増井徹、坂手龍一、高橋一郎「遺伝子解析研究の基盤的支援一難病研究資源バンクの

取組」講演 日本人類遺伝学会第 58 回大会
セミナー 江陽グランドホテル 宮城
2013 年 11 月 23 日

59) 増井徹、坂手龍一、高橋一郎 「希少疾患
の克服に向けて～研究基盤の重要性と課題」
34回日本臨床薬理学会学術総会 ランチ
ンセミナー 東京国際フォーラム 2013年
12月5日

60) Masui, T. What's mine is my own? The
First International Workshop onRegistration of
Rarediseases, Tokyo Forum, July 26, 2013

61) 倉田 真由美, 深川 明子, 坂手 龍一,
堤 正好, 増井 徹「個人情報≠遺伝情報
の取扱について—各指針の比較検討から」
トーゴの日シンポジウム 2013 時事通
信ホール 東京、2013年 10 月 4

62) 坂手龍一、深川明子、平田誠、山下智也、
山田弘、高橋一郎、増井徹「創薬・疾患研
究をサポートする医薬基盤研究所のデータ
ベース」トーゴの日シンポジウム 2013
時事通信ホール 東京、2013年 10 月 5 日

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

〔Ⅲ〕

分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

遺伝子変異陽性患者の全国分布の把握と登録

研究分担者 小崎 健次郎
慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授

研究要旨

先天異常症候群（奇形症候群）の多くは希少疾患である。治療研究を展開する上では、診断が確定している患者を把握することは重要である。本研究では、遺伝子変異陽性例の受療施設をデータベース化することにより、患者個人のプライバシーを保護しつつ、患者・主治医と研究者の継続的な連携を確保することを企図した。15疾患22遺伝子1286名を登録した。これらの症例は診断が確実な症例であり、臨床症状等の情報は今後、臨床研究を進めるうえでエビデンスの高い資料と考え得る。

研究協力者

武内 俊樹(慶應義塾大学医学部小児科学教室)
柳橋 達彦(慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター)
鳥居 千春(慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター)

A. 研究目的

先天異常症候群（奇形症候群）の多くは希少疾患である。過去の研究により、全国の患者数の概数については把握がなされているが、診断の妥当性等についての検証は行われていない。従来、遺伝性疾患の治療は困難と考えられてきたが、遺伝性疾患に対して有効な低分子化合物が開発されたり、遺伝子編集技術の急速内進歩により、遺伝性疾患に対する治療可能性が現実のものとなりつつある。今後、治療研究を展開する上では、診断が確定している患者を把握することは重要である。一般に遺伝子診断の感度は100%ではないが、特異度はほぼ100%であるので、遺伝子変異陽性者を把握することは、今後の研究の発展を考える上で重要である。

全国の遺伝子変異陽性患者数の所在の概要に関する把握が求められる。患者の個人情報に抵触しない形で、患者の所在を把握する手法の確立が必要である。

本研究では、遺伝子変異陽性例の受療施設をデータベース化することにより、患者個人のプライバシーを保護しつつ、患者・主治医と研究者の継続的な連携を確保することを企図した。

今後、遺伝子診断が確定診断の手法として普及することが期待される。遺伝子検査法として網羅的な手法である次世代シーケンサーが標準

的な解析法になると予測される。次世代シーケンサーの国際標準データフォーマットとして一般的なVCF（Variant Call Format）であることを鑑み、受療施設情報を取り去り、日本人における先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したVCFファイルを作成し、全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できるデータを生成することを目指した。

B. 研究方法

各施設から集積されたデータをHGVS(Human Genome Variation Society)が定めるフォーマットに統一した(例1)。HGVSフォーマットに統一後、Leiden university medical centerが提供するMutalyzerを用いて表記ミスがないかどうかチェックした。レファレンス配列との記載が一致しない変異に関しては修正し、再度チェックを行い、最終的にレファレンス配列と整合性の取ることができなかったフォーマットに関しては、データ提供施設に問い合わせを行った。データ修正後、重複を削除した。提出されたデータがアミノ酸表記のみのもものは除外した。

本学で集積したデータに関しては、上述の一連のチェックを行った後、IGV(Integrative Genomics View)の画面をAlamuteで確認し、Mutalyzer等を用いた一連の作業がレファレン

ス配列との整合性をチェックするのに適切であるか、アミノ酸表記が正しいかを確認した。

なお、遺伝子診断は各施設の倫理委員会の承認を経て実施した。倫理的配慮から、各施設内で個人情報削除の上、全データを単一データファイルとした。当該ファイルから個人のゲノム情報を特定することは不可能である。上記の処理作業は各施設で完遂した。

C. 研究結果

15疾患22遺伝子1286名を登録した。これらの症例は診断が確実な症例であり、臨床症状等の情報は今後、臨床研究を進めるうえでエビデンスの高い資料と考え得る。さらに、詳細な情報が得られた21遺伝子471変異から確実に病的変異と考えられるもの（フレームシフト、ナンセンス、de novoのミスセンス）を抜き出すと、21遺伝子261変異のデータとなった。これを次世代シーケンサー等で一般的なVCF (Variant Call Format) に変換し（例2）、日本人における先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したVCFを作成した。内訳に関しては表1に示す。これは、今後一般的な遺伝子検査法として普及が見込まれる次世代シーケンサーのデータフォーマットとなっており、日本人における先天異常症候群の病的遺伝子変異を統合したデータベースとなった。本研究班の活動範囲を超えて、全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できるデータとなった。

D. 考察

遺伝子診断等により診断が確実である患者群について受療施設を含めてデータベース管理することで、各疾患の医療ニーズ・医療経済的ニーズの把握が可能となった。同時に全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できる疾患原因変異のデータを編纂することができた。

①遺伝子変異陽性患者の登録

既に遺伝子診断により確定診断されている患者のレジストリー情報を用いて、レジストリーに個人情報は登録せず、主治医名（受療施設名）のみ登録した。レジストリーの登録を進めるとともに遺伝子変異のリストを(独)医薬基盤研究所の増井の協力を得てウェブサイト公開した。レジストリーを活用して、先天異常症候群に関する全国共同研究を進めた。(基盤研：

http://raredis.nibio.go.jp/malformation/management_guidelines、日本小児遺伝学会

http://p-genet.umin.jp/downloads/management_guidelines16.pdf)

②患者の変異の登録

登録された変異を有する細胞の作製(iPSを介するまたはヒト疾患モデル)→既承認薬のライブラリー・スクリーニングという一連の流れの各要素の最適化を行うことができた。一部の疾患については候補薬を得ることができた。今後は、疾患数を増やし、より多くの疾患に対する候補薬の同定に結び付けてゆく計画である。候補薬が得られた場合、登録した主治医・受療施設のデータベースを通じて、臨床治験への参加希望者をリクルートすることになる。

E. 結論

遺伝子診断等により診断が確実である患者群について受療施設を含めてデータベース管理することで、各疾患の医療ニーズ・医療経済的ニーズの把握が可能となった。同時に全国の大学病院や検査会社等で参照・活用できる疾患原因変異のデータを形式で編纂することができた。国際的な病的変異データベースであるLOVDの規定する形式でもデータを整えた。

BRAF	10
BUB1B	2
CDKN1C	8
CHD7	76
CREBBP	26
FBN1	30
HRAS	7
KMT2D	34
KRAS	1
MEK1	2
MEK2	1
MLL2	3
NSD1	7
PTPN11	15
RAF1	4
RIT1	9
SHOC2	1
SOS1	2
TGFBR1	4
TGFBR2	5
UBE3A	14
合計	261

表 1.

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nomura T, Takenouchi T, Fukushima H, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Catastrophic Autonomic Crisis With Cardiovascular Collapse in Spinal Muscular Atrophy With Respiratory Distress Type 1. *J Child Neurol.* 2013 ;28(7):949-951.
- 2) Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. *Eur J Med Genet.* 2013 ;56(1):50-53.
- 3) Ueda K, Awazu M, Konishi Y, Takenouchi T, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Persistent hypertension despite successful dilation of a stenotic renal artery in a boy with neurofibromatosis type 1. *Am J Med Genet A.* 2013 ;161(5):1154-1157.
- 4) Takenouchi T, Kosaki R, Torii C, Kosaki K. Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome. *American Journal of Medical Genetics .* 2013;161(7):1803-1805.
- 5) Takenouchi T, Saito H, Maruoka R, Oishi N, Torii C, Maeda J, Takahashi T, Kosaki K. Severe obstructive sleep apnea in Loey-Dietz syndrome successfully treated using continuous positive airway pressure. *Am J Med Genet A.* 2013 ;161(7):1733-1736.
- 6) Hirasawa A, Zama T, Akahane T, Nomura H, Kataoka F, Saito K, Okubo K, Tominaga E, Makita K, Susumu N, Kosaki K, Tanigawara Y, Aoki D. Polymorphisms in the UGT1A1 gene predict adverse effects of irinotecan in the treatment of gynecologic cancer in Japanese patients. *J Hum Genet.* 2013;58(12):794-798.
- 7) Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A.* 2013;161(12):3057-3062.
- 8) Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K. Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. *Am J Med Genet A.* 2014 Apr;164(4):993-7
- 9) Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsunashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis. *Am J Hum Genet.* 2013 ;93(5):945-956.
- 10) Takagi M, Ishii T, Torii C, Kosaki K, Hasegawa T. A novel mutation in SOX3 polyalanine tract: a case of kabuki syndrome with combined pituitary hormone deficiency harboring double mutations in MLL2 and SOX3. *Pituitary.* 2013(in press)
- 11) Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. *Am J Med Genet A.* 2014 Feb;164(2):456-60
- 12) Mutai H, Suzuki N, Shimizu A, Torii C, Namba K, Morimoto N, Kudoh J, Kaga K, Kosaki K, Matsunaga T. Diverse spectrum of rare deafness genes underlies early-childhood hearing loss in Japanese patients: A cross-sectional, multi-center next-generation sequencing study. *Orphanet J. Rare Dis.* 2013;8(1):172

2. 学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

例 1 :

CHD7	NM_017780.3:c.469C>T	p.(Arg157X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.490C>T	p.(Gln164X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.550C>T	p.(Gln184X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.604C>T	p.(Gln202X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.613C>T	p.(Gln205X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.640delT	p.(Ser214ProfsX91)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.934C>T	p.(Arg312X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.1025delA	p.(Gln342ArgfsX10)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.1036A>T	p.(Arg346X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.1281T>A	p.(Tyr427X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.1295delA	p.(His432LeufsX31)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.1414_1417delACTG	p.(Thr472GlyfsX3)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.1480C>T	p.(Arg494X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.1683delC	p.(Leu563X)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.1957_1958delCC	p.(Pro653GlufsX22)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.2096G>A	p.(Ser699Asn)	missense
CHD7	NM_017780.3:c.2101A>T	p.(Lys701X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.2180T>G	p.(Leu727X)	Nonsense
CHD7	NM_017780.3:c.2195delC	p.(Pro732HisfsX23)	frameshift
CHD7	NM_017780.3:c.2504_2508delATGTT	p.(Tyr835SerfsX14)	frameshift

例 2 :

##fileformat=VCFv4.0

#CHROM	POS	ID	REF	ALT	QUAL	FILTER	INFO
17	19559711		NM_000382.2:c.504_505insAG		G	GAG	.
12	124229474		NM_012463.3:c.1561_1562delATinsTGCAAAGGA		CAT		
			CTGCAAAGGA				
7	140501336		NM_004333.4:c.736G>C	G	C	.	.
7	140501303		NM_004333.4:c.769C>A	C	A	.	.
7	140501302		NM_004333.4:c.770A>G	A	G	.	.
7	140481402		NM_004333.4:c.1406G>A	G	A	.	.
7	140477853		NM_004333.4:c.1455G>C	G	C	.	.
7	140477848		NM_004333.4:c.1460T>G	T	G	.	.
7	140477813		NM_004333.4:c.1495A>G	A	G	.	.
7	140477807		NM_004333.4:c.1501G>A	G	A	.	.
7	140477806		NM_004333.4:c.1502A>G	A	G	.	.
7	140453987		NM_004333.4:c.1741A>G	A	G	.	.
15	40476003		NM_001211.5:c.670C>T	C	T	.	.
15	40498482		NM_001211.5:c.1833delT	TT	T	.	.
X	41712461		NM_003688.3:c.79C>T	C	T	.	.
X	41604817		NM_003688.3:c.316C>T	C	T	.	.
X	41379807		NM_003688.3:c.2632C>T	C	T	.	.
11	2906581		NM_000076.2:c.139C>T	C	T	.	.
11	2906403		NM_000076.2:c.316_317insGCGC	G	G	GCGC	.
11	2906259		NM_000076.2:c.460delC	AC	A	.	.
11	2906018		NM_000076.2:c.701delG	GG	G	.	.
11	2905999		NM_000076.2:c.721C>T	C	T	.	.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
総合研究報告書

ヒストンアセチル化・メチル化異常症の検出法に関する研究

研究分担者 氏名 吉浦 孝一郎
所属機関・職名 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授

研究要旨

歌舞伎症候群原因遺伝子としてMLL2とKDM6Aが同定され、同症候群の個々の臨床症状は、ヒストンメチル化異常による遺伝子発現低下による可能性が高い。そこで、歌舞伎症候群患者末梢有核血球を用いて、全ゲノムを対象としてヒストンのメチル化プロファイリングを行い歌舞伎症候群症状発現に重要な役割を果たしている遺伝子領域を明らかにすることを目的とした。また、MLL2遺伝子、KDM6A遺伝子ともに変異のない歌舞伎症候群も存在するので、それら患者に共通する変異をExome解析法によって明らかにすることで、ヒストンのメチル化制御を含めたエピジェネティック制御に関わる遺伝子を明らかにすることを第二目的とした。

A. 研究目的

先天性奇形症候群等の単一遺伝子疾患において、遺伝子変異が根本原因でありながら、病態発現には遺伝子変異に付随しておきてくるヒストンアセチル化・メチル化異常が関わってくるものが広く知られてきた。本研究班内および当教室に全国から収集される種々の疾患群の遺伝子検査、遺伝子変異陽性患者登録と研究資源収集を行いつつ、ヒストンアセチル化・メチル化異常、DNAメチル化異常を検出する手法を開発して病態発症予測を行い患者臨床に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

1. エピジェネティック解析に向けた患者試料収集

患者末梢血を収集し、ゲノムDNAを分離・抽出して遺伝子検査に保存および使用する。細胞を分離しそのまま凍結しepigenetics解析用に保存および使用する。

現有している歌舞伎症候群DNA試料は、精製DNAまたはEBウイルスによる株化細胞であり、ヒストンやDNAのエピジェネティック変化の解析は、およそ不可能である。エピジェネティック変化解析には、新鮮細胞あるいはおそらくプライマリー培養細胞（線維芽細胞など）が必要である。新たに遺伝子診断を

依頼される症例、あるいは既収集試料でも臨床サイドで定期的に患者を診ている症例に関しては、新たに全ゲノム解析およびメチル化・アセチル化解析のために再度同意書を取得し直すと同時に、DNA抽出と同時に末梢有核血球の保存事業を行う。末梢有核血球単離は、Blood lysis buffer (NH₄Cl:155mM, KNCO₃:10mM, EDTA:1mM)にて赤血球を溶血させ有核血球を遠心分離すると同時に、HetaSep (Stem Cell technologies)を用いた有核血球分離法により行った。

2. 歌舞伎症候群患者解析

昨年度までに、厚生労働科学研究「ゲノム異常症としての歌舞伎症候群原因遺伝子同定と遺伝子情報に基づく成長障害治療可能性の研究開発」において、MLL2遺伝子が歌舞伎症候群の原因遺伝子の一つであることを明らかにした。その後、KDMA6が報告されるに至った。しかし、MLL2遺伝子およびKDMA6遺伝子ともに変異や挿入・欠失がない例がある。今後のエピジェネティック解析のためには、原因遺伝子を多く探索し、パスウェイ解析が欠かせないため、本年も引き続き歌舞伎症候群患者の変異解析とexome解析を継続した。今後のエピジェネティック解析のためには、MLL2遺伝子とKDMA6の変異探索を行いながら、変異陽性例、変異陰性例を区別しつつ収集保存する。変異陰性例については、新規原因遺伝子による可能性が残されており、本年も引き続き歌舞伎症候群患者の変異解析と

exome 解析を継続した。MLL2 遺伝子と KDM6A 遺伝子変異陰性 15 例を対象として exome 解析を実施した。Exon 濃縮は Agilent 社の SureSelect v4+UTR あるいは SureSelect v5 を用い、シーケンサーは Illumina HiSeq2500 システムと 5500xl SOLiD システムを併用した。

3. 収集患者試料解析のための

Chromatin-Immunoprecipitation Sequence 法 (ChIP-Seq 法) の効率化, 標準化

ChIP-Seq 法は, 大量のシーケンスが可能となり, また, メチル化ヒストン, アセチル化ヒストン, メチル化シトシン等に対する整備されてきて全ゲノムを対象とした, エピジェネティック変化がもたらされる領域の解析が可能となってきた。我々は, 次世代型シーケンサーとして 5500xl SOLiD システムの利点を活かして ChIP-Seq 法が可能になるように, 5500xl SOLiD のシーケンスプロトコルを改良した。改良点は, 一分子を増幅する emulsion PCR のステップと ChIP された場所が PCR によって偏向して増幅されないように増幅酵素を KAPA DNA polymerase に変更して最適化を行った。また, 同時に次世代シーケンスとして世界標準である Illumina HiSeq2500 も使用してシーケンス解析を進めた。

C. 研究結果

歌舞伎症候群新規患者解析

1. エピジェネティック解析に向けた患者試料収集

平成 24 年度に歌舞伎患者試料は, 熊本大学小児科 2 例, 防衛医科大学小児科 1 例, 名古屋市立大学小児科から 1 例, 遺伝子診断を依頼された。これらについては, 末梢血からの白血球を分離し, 保存した。本平成 25 年度, 埼玉小児医療センターから 4 例 (MLL2 変異陽性例 2 例, 不明 2 例), 北海道医療大学から 2 例 (MLL2 変異陽性例 2 例), 愛知学院大学 1 例 (MLL2 変異陽性例 1 例), 長崎大学 1 例 (MLL2 変異陽性例 1 例), 大阪市立大学から 1 例 (MLL2 変異陽性例 1 例) の 9 例を新規収集した。愛知学院大学の 1 例を除いた 8 例の新鮮血から白血球を分離し, 凍結保存した。

2. 歌舞伎症候群患者解析

MLL2 および KDM6A に変異のない患者試料が 10 例あり, キャピラリーシーケンサーにてそれら 2 遺伝子の変異スクリーニングが終了していない試料が 9 例ある。最終的にはスクリーニングにて MLL2 (KMT2D) および

KDM6A に変異のない患者試料が 15 例認められた。それらに関し exome 解析を行った。データの解析中であるが, 共通に抽出される変異は発見されず, MLL2 (KMT2D), KDM2 以外の新規原因遺伝子は, 見つかっていない。

3. 収集患者試料解析のための

Chromatin-Immunoprecipitation Sequence 法 (ChIP-Seq 法) の効率化, 標準化

1) シーケンサープロトコルの改良: 全ゲノムを対象とした DNA のメチル化, ヒストンのメチル化・アセチル化等のエピジェネティックプロファイリング作成のためには, ChIP 後の塩基配列決定時の PCR 反応を均一化することが必要で, そのために次世代シーケンサープロトコル改良をおこなった。プロトコル改良は, 通常 exome 解析法にて target 領域を広く塩基配列決定が出来ること (カバー率が高いこと) で評価した。

平均 depth 70 程で depth > 15 領域が 90% 以上となり, SureSelect v4+UTR を使った exome 解析としては, Illumina 社の HiSeq システムを使用した時と同等以上の性能を示した。シーケンサーシステムは, HiSeq2500 も使用しており, 今後, ChIP-Seq 実験のデータ比較を SOLiD 法と HiSeq2500 法で行う予定である。

2) ホルモン固定等の実験条件最適化:

ChIP-Seq 法では, ホルモンによる DNA をヒストンの架橋の強度の最適化が必要であり現在検討中である。また, DNA のメチル化, ハイドロキシメチル化の同定のためにそれらの修飾シトシンの化学修飾が必要で, それらの検討を現在進めている。

D. 考察

エピジェネティック解析について, インフラ整備は整い実施できる体制を構築できた。KAPA DNA polymerase を使用し, emulsion PCRにてシーケンス鑄型を調整することで, これまでよりは偏りのない data を出すことが可能で, 全ゲノムを対象としたエピジェネティック解析が可能となった。

MLL2 および KDM6A 遺伝子変異陰性の患者試料 10 例と変異スクリーニングを経ていない試料 9 例の Exome 解析を通じて新規エピジェネティック制御に関わる新規遺伝子の発見にも注力する。

エピジェネティック解析について, インフラ整備は整い実施できる体制を構築できた。KAPA DNA polymerase を使用し, emulsion PCRにてシ

一ケンス鑄型を調整することで、これまでよりは偏りのないdataを出すことが可能で、全ゲノムを対象としたエピジェネティック解析が可能となった。また現在、患者の実試料（血球や線維芽細胞）の調製法について最適化の検討を行っており、最適化が終了次第、ChIP-Seq法と修飾シトシン解析法にて歌舞伎症候群患者末梢血試料を使用して、エピジェネティック変化部位の特定を目指す。これにより、歌舞伎症候群の個々の症状発症の原因となっている遺伝子領域が個別に特定されていくと期待できる。現状は、まだ患者末梢血を用いたヒストンアセチル化領域を目標とした ChIP-Seq法 によるヒストンアセチル化異常部位の探索を進められていない。歌舞伎症候群でのヒストンアセチル化異常領域の特定は、歌舞伎症候群の症状発現の原因となっている個々の遺伝子を明らかに出来るはずである。既に8例のMLL2遺伝子変異陽性の患者末梢白血球、1例のKDM6A遺伝子変異陽性の線維芽細胞、2例の両遺伝子変異陰性の患者末梢白血球が揃っており、ChIP-Seq法 によるヒストンアセチル化部位の解析を進められる状況に至っている。個々の個別症状改善のための、患者症状改善・治療薬開発に有益な情報の取得を進める。

歌舞伎症候群患者のDNA診断は、MLL2 (KMT2D) およびKDM6Aは、すでにパーソナルタイプの次世代シーケンサーで行われている。これらの2遺伝子に変異が無い症例でも、2例以上で“有害”変異が重なることがなかった。しかし、変異陰性の例も熟練した臨床遺伝医が診断しており、診断カテゴリー自体は、過りがない。原因遺伝子探索は、基礎研究としては継続しつつも、臨床研究としては、治療薬（症状改善薬）探索へと足場を移していくことが望ましいと考える。

歌舞伎症候群患者変異解析の結果、MLL2およびKDM6A遺伝子変異陰性15例を確定させた。これらの試料についてexome解析を行ったが、新規の原因遺伝子はまだ同定できていない。これら MLL2遺伝子・KDM6A遺伝子変異陰性例では、新規変異遺伝子の存在を仮定しなくとも、MLL2遺伝子・KDM6A遺伝子のイントロン変異、微少なexon単位での欠失・重複、あるいはMLL2遺伝子・KDM6A遺伝子自身のエピジェネティック変異の可能性が残っており、それらの可能性の検証を行っていく。

歌舞伎症候群は最終的には、個別遺伝子の変異に注目するよりも、大局的に見て歌舞伎症候群＝ヒストンアセチル化異常疾患と捉えて、治療へ向かう方が、患者へのメリットが大きいようである。アメリカ人類遺伝学会で報告されたように、MLL2遺伝子ノックアウトでは、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤（histone deacetylase inhibitor (HDAC inhibitor)）投与がマウスの記憶障害を改善したとの報告がなされ、ますます、歌舞伎症候群＝ヒストンアセチル化異常疾患として症状改善薬の開発が可能となっている。

ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤は、ガン治療薬として進められており、それらのガン治療薬の中から抗ガン作用（細胞増殖阻害作用）よりも歌舞伎症候群症状改善作用の方が強い薬剤があると想像される。

そのような、治療薬開発および評価のためにも、歌舞伎症候群モデルマウス作成と薬効評価のシステム開発が今後の課題である。

E. 結論

研究期間中に、ChIP-Seqの解析までに至らなかった。しかし、プロトコールの確定、試料収集が順調に進んでおり、全ゲノムのヒストンメチル化、ヒストンアセチル化解析、修飾シトシン変化を解析し、歌舞伎症候群の分子病理解明への道筋は付けられた。今後、歌舞伎症候群に現れる個別症状を説明出来る遺伝子を探し、治療および症状軽減のための薬物開発の基礎シーズとしたい。また、原遺伝子が判明していない症例に関しては、exome解析による新規遺伝子の発見をめざす。

歌舞伎症候群は、ヒストンアセチル化異常症との認識が正しいと思われる。すなわち、細胞内のヒストン低アセチル化が原因である。原因遺伝子はMLL2, KDM6A を初めとし多くの遺伝子が関わっている可能性がある。これらの遺伝子変異がもととなり、個別症状発現においては、ヒストンアセチル化異常が引き起こされた別の遺伝子群が関与し、ヒストンアセチル化異常がそれら様々な遺伝子であることに由来して、多彩な臨床症状を呈すると考えられる。

個別症状改善の薬剤開発のためには、ChIP-Seq法 による患者末梢血や線維芽細胞を用いたヒストンアセチル化異常領域（おそらくヒストン低アセチル化領域）の探索は不可欠である。と同時に、歌舞伎症候群の治療薬開発のためには、歌舞伎症候群モデルマウス作成、ヒストンアセチル化異常領域の特定、治療効果評価 in vitro システムの開発（ヒストンアセチル化状態の正常化評価システム等）および治療効果評価マウスシステムの開発が重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakazawa Y, Sasaki K, Mitsutake N, Matsuse M, Shimada M, Nardo T, Takahashi Y, Ohyama K, Ito K, Mishima H, Nomura M, Kinoshita A, Ono S, Takenaka K, Masuyama R, Kudo T, Slor H, Utani A, Tateishi S, Yamashita S, Stefanini M, Lehmann AR, Yoshiura K, Ogi T. Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and impair RNA polymerase II processing in transcription-coupled nucleotide-excision repair. *Nat Genet* 2012 44(5):586-592.

- Matsuse M, Sasaki K, Nishihara E, Minami S, Hayashida C, Kondo H, Suzuki K, Saenko V, Yoshiura K, Mitsutake N, Yamashita S. Copy number alteration and uniparental disomy analysis categorizes Japanese papillary thyroid carcinomas into distinct groups. *PLoS One* 2012;7(4):e36063. Epub 2012 Apr 30.
- Ono S, Yoshiura K, Kinoshita A, Kikuchi T, Nakane Y, Kato N, Sadamatsu M, Konishi T, Nagamitsu S, Matsuura M, Yasuda A, Komine M, Kanai K, Inoue T, Osamura T, Saito K, Hirose S, Koide H, Tomita H, Ozawa H, Niikawa N, Kurotaki N. Mutations in PRRT2 responsible for paroxysmal kinesigenic dyskinesias also cause benign familial infantile convulsions. *J Hum Genet* 2012 May;57(5):338-341. doi: 10.1038/jhg.2012.23. Epub 2012 Mar 8.
- Arai J, Tsuchiya T, Oikawa M, Mochinaga K, Hayashi T, Yoshiura K, Tsukamoto K, Yamasaki N, Matsumoto K, Miyazaki T, Nagayasu T. Clinical and molecular analysis of synchronous double lung cancers. *Lung Cancer* 2012 Aug;77(2):281-287. Epub 2012 May 3.
- Mishima H, Aerts J, Katayama T, Bonnal JP R, Yoshiura K. The Ruby UCSC API: accessing the UCSC genome database using Ruby. *BMC Bioinformatics* 2012, 13:240.
- Hikida M, Tsuda M, Watanabe A, Kinoshita A, Akita S, Hirano A, Uchiyama T, Yoshiura KI. No evidence of association between 8q24 and susceptibility to nonsyndromic cleft lip with or without palate in Japanese population. *Cleft Palate Craniofac J*. 2012 49(6):714-717.
- Ishikawa T, Toyoda Y, Yoshiura K, Niikawa N. Pharmacogenetics of human ABC transporter ABCC11: new insights into apocrine gland growth and metabolite secretion. *Front. Genet.* 2012;3:306. doi: 10.3389/fgene.2012.00306.
- Kawakami A, Migita K, Ida H, Yoshiura K, Arima K, Eguchi K. [109th Scientific Meeting of the Japanese Society of Internal Medicine: educational lecture: 14. Autoinflammatory syndrome]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2012 Sep 10;101(9):2733-2739.
- Sasaki K, Mishima H, Miura K, Yoshiura KI. Uniparental disomy analysis in trios using genome-wide SNP array and whole-genome sequencing data imply segmental uniparental isodisomy in general populations. *Gene* 2013 Jan 10;512(2):267-74. doi: 10.1016/j.gene.2012.10.035. Epub 2012 Oct 27.
- Yamada A, Ishikawa T, Ota I, Kimura M, Shimizu D, Tanabe M, Chishima T, Sasaki T, Ichikawa Y, Morita S, Yoshiura KI, Takabe K, Endo I. High expression of ATP-binding cassette transporter ABCC11 in breast tumors is associated with aggressive subtypes and low disease-free survival. *Breast Cancer Res Treat* 137(3): 773-782, 2013 Feb. doi: 10.1007/s10549-012-2398-5. Epub 2013 Jan 4.
- Ishikawa T, Toyoda Y, Yoshiura K, Niikawa N. Pharmacogenetics of human ABC transporter ABCC11: new insights into apocrine gland growth and metabolite secretion. *Front. Genet.* 3:306. doi: 10.3389/fgene.2012.00306. 2013, Jan 03.
- Higashijima A, Miura K, Mishima H, Kinoshita A, Jo O, Abe S, Hasegawa Y, Miura S, Yamasaki K, Yoshida A, Yoshiura K, Masuzaki H. Characterization of placenta-specific microRNAs in fetal growth restriction pregnancy. *Prenat Diagn.* 2013 Mar;33(3):214-22. doi: 10.1002/pd.4045. Epub 2013 Jan 27.
- Higashimoto K, Maeda T, Okada J, Ohtsuka Y, Sasaki K, Hirose A, Nomiya M, Takayanagi T, Fukuzawa R, Yatsuki H, Koide K, Nishioka K, Joh K, Watanabe Y, Yoshiura KI, Soejima H. Homozygous deletion of DIS3L2 exon 9 due to non-allelic homologous recombination between LINE-1s in a Japanese patient with Perlman syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2013 Mar 13. doi: 10.1038/ejhg.2013.45. [Epub ahead of print]
- Abe S, Miura K, Kinoshita A, Mishima H, Miura S, Yamasaki K, Hasegawa Y, Higashijima A, Jo O, Sasa K, Yoshida A, Yoshiura K, Masuzaki H. Copy number variation of the antimicrobial-gene, defensin beta 4, is associated with susceptibility to cervical cancer. *J Hum Genet.* 58(5):250-253. 2013 May doi: 10.1038/jhg.2013.7. Epub 2013 Mar 7. doi: 10.1038/jhg.2013.7. [Epub ahead of print]
- Kashiyama K, Nakazawa Y, Pilz D, Guo C, Shimada M, Sasaki K, Fawcett H, Wing J, Lewin S, Carr L, Yoshiura K, Utani A, Hirano A, Yamashita S, Greenblatt D, Nardo T, Stefanini M, McGibbon D, Sarkany R, Fassih H, Takahashi Y, Nagayama Y, Mitsutake N, Lehmann AR, and Ogi T. Malfunction of the ERCC1/XPF endonuclease results in diverse clinical manifestations and causes three nucleotide excision-repair-deficient disorders, Cockayne Syndrome, xeroderma pigmentosum and Fanconi Anemia. *Am J Hum Genet.* 2013 92(5):807-819. May2; doi: 10.1016/j.ajhg.2013.04.007. Epub 2013 Apr 25.
- Hamaguchi D, Miura K, Abe S, Kinoshita A, Miura S, Yamasaki K, Yoshiura KI, Masuzaki H. Initial viral load in cases of single human papillomavirus 16 or 52 persistent infection is associated with progression of later cytopathological findings in the uterine cervix. *J Med Virol.* 2013 Aug 19. doi: 10.1002/jmv.23709. [Epub ahead of print]
- Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T,

Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *AM J Med Genet A*. 2013 Sep;161(9):2234-2243. doi: 10.1002/ajmg.a.36072. Epub 2013 Aug 2.

Nakao K, Oikawa M, Arai J, Mussazhanova Z, Kondo H, Shichijo K, Nakashima M, Hayashi T, Yoshiura K, Hatachi T, Nagayasu T. A Predictive Factor of the Quality of Microarray Comparative Genomic Hybridization Analysis for Formalin-fixed Paraffin-embedded Archival Tissue. 2013. *Diagn Mol Pathol*. Sep;22(3):174-180. doi: 10.1097/PDM.0b013e31828191de.

Hasegawa Y, Miura K, Furuya K, Yoshiura K, Masuzaki H. Identification of Complete Hydatidiform Mole Pregnancy-Associated MicroRNAs in Plasma. *Clin Chem*. 2013. Sep;59(9):1410-1412. doi: 10.1373/clinchem.2013.206391. Epub 2013 Jul 1. No abstract available.

Ogi T, Nakazawa Y, Sasaki K, Guo C, Yoshiura K, Utani A, Nagayama Y. [Molecular cloning and characterisation of UVSSA, the responsible gene for UV-sensitive syndrome]. *Seikagaku*. 2013. Mar;85(3):133-144. Review. Japanese. No abstract available.

2. 学会発表

ESHG2012 (EUROPEAN Human Genetics CONFERENCE), 2012.6.23-26, Nürnberg, Germany Tadashi Kaname, Kumiko Yanagi, Yukako Muramatsu, Takaya Tohma, Hiroaki Hanafusa, Konomi Morita, Shinya Ikematsu, Yusuke Itagaki, Hiroko Taniai, Kenji Kurosawa, Seiji Mizuno, Koichiro Yoshiura, Kenji Naritomi. A mutation detected by exome sequencing and phenotypic variability in a family with Lenz microphthalmia syndrome.

The 13th Annual Bioinformatics Open Source Conference, 2012年7月13-14日, Long Beach Convention Center, Long Beach, CA, USA. Hiroyuki Mishima, Raoul J.P. Bonnal, Naohisa Goto, Francesco Strozzi, Toshiaki Katayama, Piotr Prins: Biogem, Ruby UCSC API, and Bioruby. (口演) Hiroyuki Mishima, Raoul J.P. Bonnal, Naohisa Goto, Francesco Strozzi, Toshiaki Katayama, Piotr Prins: Biogem, Ruby UCSC API, and Bioruby. (ポスター)

20th Annual International Conference on Intelligent Systems for Molecular Biology, 2012.7.15-17, Long Beach Convention Center, Long Beach, CA, USA. (06) Hiroyuki Mishima, Jan Aerts, Toshiaki Katayama, Raoul J.P. Bonnal, Koh-ichiro Yoshiura: The Ruby UCSC API: accessing the UCSC Genome Database using Ruby.

6th International Congress on FMF and SAID (Autoinflammation 2010)

2010.9.2-9.6, Amsterdam Ida H, Arima K, Kinoshita A, Nishima H, Kanazawa N, Furukawa F, Yoshiura K, Eguchi K Functional human protein analysis in the post-genome era learning to new autoinflammatory syndrome (Nakajo-Nishimura syndrome) Kanazawa N, Nakatani Y, Ida H, Yoshiura K, Furukawa F National surveillance of Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever) in Japan

10th World Congress on Inflammation 2011.06.25-29 Paris Ida H, Arima K, Kinoshita A, Mishima H, Kanazawa N, Furukawa F, Murata S, Yoshiura K-I, Eguchi K A novel mutation of proteasome subunit causes decrease of proteasome activity in Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever) Kanazawa N, Kunimoto K, Mikita N, Furukawa F, Yoshiura K-I, Ida H Nakajo-Nishimura syndrome (familial Japanese fever) and related autoinflammatory disorders accompanied with lipodystrophy

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

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

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

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

第35回日本小児遺伝学会学術集会 2012年4月18日(水)~19日(木), 久留米大学筑水会館, 久留米. 11:40~12:30: 次世代シーケンスを中心とした最近の話題. 吉浦孝一郎

第8回広島大学-長崎大学連携研究事業カンファレンス -放射線災害医療の国際教育拠点確立に向けた機関連携事業- 2012年6月2日(土), 場所: 長崎大学医学部良順会館ボードインホール, 長崎 3-7: 次世代シーケンサー SOLiD5500による塩基配列決定の問題点とプロトコルの改良. 吉浦孝一郎, 林田知佐, 川道麻衣子, 佐々木健作, 木下晃, 三嶋博之

第33回日本炎症再生医学会 H24年7月5日~6日 福岡 プロテアソーム機能不全症(中條-西村症候群)の炎症病態. 井田弘明, 有馬和彦, 金澤伸雄, 吉浦孝一郎

第52回日本先天異常学会 2012年7月6日(水)~8日(金), 場所: 東京女子医科大学弥生記念講堂, 東京 Bohring-Opitz症候群およびOpitz C症候群における遺伝子変異. 要 匡, 柳久美子, 福嶋義光, 蒔田芳男, 水野誠司, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 成富研二

第63日本皮膚科学会中部支部学術大会2012年10月13日(土)～14日(日), 場所:大阪国際会議場, 大阪 シンポジウム1【自己炎症疾患研究の目指すもの】SY1-4: 遺伝子ハンティングの実際.

第57回日本人類遺伝学会2012年10月24日(水)～27日(土), 京王プラザホテル, 東京 シンポジウム5(英語セッション)【次世代シーケンサーと疾患ゲノム解析】S5-2: 次世代シーケンサー解析対象疾患の選択.

O-110: Perlman症候群におけるDIS3L2のエクソン9の欠失はLINE-1間の非相同組み換えによって生じる. 東元 健, 前田寿幸, 八木ひとみ, 岡田純一郎, 佐々木健作, 吉浦孝一郎, 渡邊順子, 副島英伸

P-5: G-band 染色により核型

46,XY,der(3)der(7),inv ins(3;7)(q21;q32q21.1)とされた裂手裂足患児の転座点解析. 柳 久美子, 要 匡, 小口良子, 當間隆也, 泉川良範, 吉浦孝一郎, 新川詔夫, 成富研二

P-12: 全胎状奇胎特異的 microRNA の同定とその臨床応用に関する検討. 長谷川ゆり, 三浦清徳, 東嶋 愛, 城 大空, 阿部修平, 三浦生子, 三嶋博之, 木下 晃, 吉浦孝一郎, 増崎英明

P-130: ホルモン非抵抗性先端異骨症のエクソーム解析. 要 匡, 柳 久美子, 小口良子, 成富研二, 當間隆也, 近藤達郎, 二井英二, 外木秀文, 西村 玄, 吉浦孝一郎, 太田 亨, 新川詔夫, 松浦信夫, Dong-Kyu Jin

第24回日本小児口腔外科学会総会・学術大会, 2012年11月24日(土), 名古屋市愛知学院大学教育講演6: 次世代シーケンサーを用いたDisease Gene Hunting. 三嶋博之

第35回日本分子生物学会年会, 2012年12月11日(火)～14日(金), 福岡市福岡国際会議場・マリンメッセ福岡, 福岡 3W2III-6(口演): ヒトゲノム変異解析ワークフローにおける公共データベース活用. 三嶋博之, 吉浦孝一郎 3P-0053(ポスター): ヒトゲノム変異解析ワークフローにおける公共データベース活用. 三嶋博之, 吉浦孝一郎

American Society of Human Genetics, 63rd Annual Meeting, Boston Convention Center & Exhibition Center,

October 22-26, 2013, Boston. An infantile case of hepatomegaly, lactic acidosis, hypoglycemia, ketosis, and hyperlipidemia of unknown etiology. Watanabe Y, Seki Y, Yanagi T, Mizouchi T, Takeuchi T, Iwamoto J, Yoshino M, Watanabe S, Inokuchi T, Yano S, Yoshiura K, Matsuishi T.

第9回広島大学-長崎大学連携研究事業カンファレンス -放射線災害医療の国際教育拠点確立に

向けた機関連携事業- 2013年6月1日(土), 場所: 広島大学霞キャンパス, 広島 地域集積して認められた筋萎縮性側索硬化症6名の exome 解析. 吉浦孝一郎, 木下晃, 三嶋博之, 佐々木健作, 辻野彰, 川上純

公開シンポジウム-次世代遺伝子解析装置を用いた難病の原因究明, 治療法開発研究プロジェクトの成果- 平成25年7月13日13時～17時, 場所: 都市センターホテル コスモスホール 3. 個別疾患に対するアプローチ及び地域での取り組みについて 地域蓄積・収集した稀少難病の遺伝子原因究明と遺伝性疾患診断システムの構築. 吉浦孝一郎

第58回日本人類遺伝学会2013年11月20日(水)～23日(土), 江陽グランドホテル, 仙台

O19: Ion AmpliSeq™ Custom Panel を用いたKabuki 症候群の変異解析. 渡辺 聡, 三嶋博之, 朝重耕一, 木下晃, 吉浦孝一郎

O32: シスチン尿症を伴うゲノムワイド父性片親性ダイソミー症例の遺伝子解析. 大塚康史, 佐々木健作, 城崎幸介, 東元 健, 岡本伸彦, 高間勇一, 窪田昭男, 松本富美, 中山雅弘, 吉浦孝一郎, 副島英伸

O44: TogoWS REST サービスによる UCSC ゲノムデータベースの利用. 三嶋博之, 西澤達也, 吉浦孝一郎, 片山俊明

O67: PRRT2 の変異は発作性運動誘発性ジスキネジアだけでなく良性家族性児児けいれんの原因でもある. 黒滝直弘, 小野慎治, 木下 晃, 新川詔夫, 小澤寛樹, 吉浦孝一郎

P156: Craniosynostosis, collagenopathy 220 疾患を対象とした可変追加型遺伝子診断パネルの作成と実践. 要 匡, 柳 久美子, 比嘉真紀, 知念安紹, 當間隆也, 泉川良範, 新川詔夫, 吉浦孝一郎, 成富研二

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

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）
分担研究報告書

Ras/MAPK シグナル伝達異常関連症候群に関する研究

研究分担者 松原洋一 国立成育医療研究センター・研究所長

研究要旨

Ras/MAPKシグナル伝達異常関連症候群は、コステロ症候群、CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群、ヌーナン症候群などを総称する疾患概念である。いずれも特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性などを示す常染色体優性遺伝性疾患で、細胞内のRas/MAPKシグナル伝達経路に関わる遺伝子の先天性異常によって引き起こされる。これらの疾患群の病因・病態はまだ十分に解明されておらず、また自然歴も不明な点が多い。本年度の分担研究では、ヌーナン症候群の新規病因遺伝子を同定することに成功した。また、コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引を作成した。

研究協力者

青木洋子（東北大学・大学院医学系研究科）
新堀哲也（東北大学・大学院医学系研究科）
井上晋一（東北大学・大学院医学系研究科）
小崎健次郎（慶應義塾大学・医学部）

A. 研究目的

Ras/MAPKシグナル伝達異常関連症候群は、コステロ症候群、CFC (cardio-facio-cutaneous) 症候群、ヌーナン症候群などを総称する疾患概念である。いずれも特異的顔貌・心疾患・骨格異常・精神遅滞・皮膚症状・易発がん性などを示す常染色体優性遺伝性疾患で、細胞内のRas/MAPKシグナル伝達経路に関わる遺伝子の先天性異常によって引き起こされる。これらの疾患群の病因・病態はまだ十分に解明されておらず、また自然歴も不明な点が多い。本年度の分担研究では、ヌーナン症候群の病因解明を目的として新規病因遺伝子の探索をおこなった。また、コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引のための疾患特異的成長手帳を作成した。

B. 研究方法

1) ヌーナン症候群における新規病因遺伝子の探索

既知の病因遺伝子に変異が認められなかったヌーナン症候群患者14名から得られたゲノムDNAを検体とし、次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析によって病因遺伝子の探索を行った。さらに、新規病因遺伝子と考えられる *RIT1*

が同定されたのち、やはりこれまでに遺伝子変異が同定されていない180人の患者検体においてRIT1遺伝子の解析を行った。認められた遺伝子変異については、細胞及びゼブラフィッシュを用いて機能解析を行った。

2) 疾患特異的成長手帳の作成

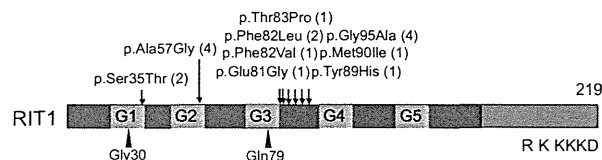
成書の「Preventive Management of Children with Congenital Anomalies and Syndromes」(Wilson GN, Cooley WC著, Cambridge University Press, 2000) をベースとして、本分担研究者及び研究協力者による知見を加えて作成した。

C. 研究結果

1) ヌーナン症候群における新規病因遺伝子の探索

14名の患者検体のエクソーム解析によって、RIT1遺伝子の変異が同定された。次に180名の患者検体においてRIT1遺伝子の解析を行ったところ、17名(9%)に遺伝子変異が同定された。遺伝子変異の種類とその位置を図1に示す。遺伝子変異の多くは、RIT1遺伝子のswitch1と呼ばれる部分に集中していた。

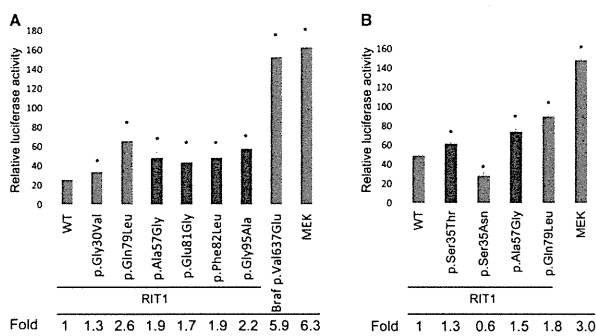
(図1)



臨床病型の検討では、RIT1遺伝子変異をもつ患者はヌーナン症候群の中でも肥大型心筋症の合併率が高いことが判明した。

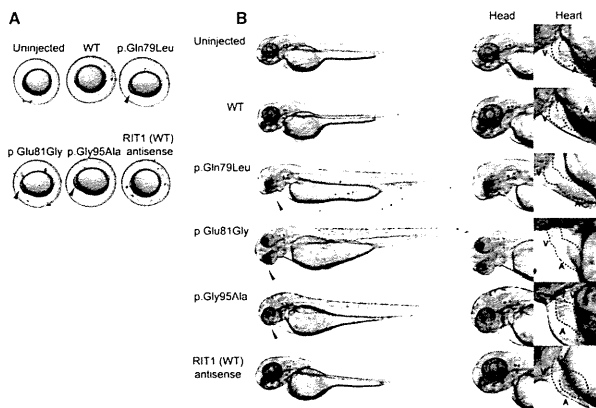
次に、患者で認められた変異RIT1遺伝子をNIH3T3細胞で発現させ、シグナル伝達経路下流にあるELK1による転写活性をルシフェラーゼアッセイで測定したところ、正常対照と比較して亢進していることが明らかとなった（図2の赤で示した部分）。

（図2）



さらに患者で同定された遺伝子変異をゼブラフィッシュに導入したところ、心臓の異常や頭部の変形が確認された（図3）。心拍も正常対照と比較して著明な徐脈を示した。

（図3）



2) 疾患特異的成長手帳の作成

コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引のための疾患特異的成長手帳を作成した（表1および表2）。それぞれ年齢に応じて必要なチェック項目と必要に応じて連携すべき診療部門を示した。

D. 考察

本分担研究者は、これまでに600例以上のRAS/MAPK症候群に対して遺伝子診断を提供してきた。そのうち約40%はいまだ原因が不明であり、新たな原因遺伝子の検索を行っている。今回、次世代シーケンサーを用いた解析によって新たにRIT1遺伝子に異常を持つ症例の存在が明らかとなった。同定された変異は、これまでにRas/MAPKシグナル伝達異常関連症候群で認められた他の遺伝子変異と同様、Ras/MAPKシグナル伝達経路を活性化するものであった。また、変異を導入したゼブラフィッシュで観察された形態学的異常は、ヌーナン症候群患者で認められる表現型に類似しているものと考えられた。本研究結果は、これまで機能が不明であったRASサブファミリーのRIT1が古典的癌原遺伝子RAS(HRAS, KRAS, NRAS)と同じ働きを持つ可能性があることを初めて示すとともに、同疾患の病態の解明や治療への道を切り開くものとして期待される。

臨床的には、コステロ症候群およびCFC症候群の自然歴や合併症が次第に明らかになりつつある。とくに心筋症や悪性腫瘍の合併は生命予後に大きく関与するため、定期的なモニタリングと早期発見・早期介入が不可欠である。この点に鑑み、診療の手引のための疾患特異的成長手帳を作成した。わが国における今後の診療に活用することで、患者のQOLの向上にもつながることが期待される。

E. 結論

ヌーナン症候群の新規病因遺伝子を同定することに成功するとともに、コステロ症候群およびCFC症候群の診療の手引を作成した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Enosawa S, Horikawa R, Yamamoto A, Sakamoto S, Shigeta T, Nosaka S, Fujimoto J, Tanoue A, Nakamura K, Umezawa A, Matsubara Y, Matsui A, Kasahara M. Hepatocyte transplantation using the living donor reduced-graft in a baby with ornithine transcarbamylase deficiency: A novel source for hepatocytes. *Liver Transpl.* 2013 Nov 23. doi: 10.1002/lt.23800. [Epub ahead of print]
- Sekiguchi K, Maeda T, Suenobu S, Kunisaki N, Shimizu M, Kiyota K, Handa YS, Akiyoshi K, Korematsu S, Aoki Y, Matsubara Y, Izumi T. A transient myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm in a patient with cardio-facio-cutaneous

syndrome and a germline BRAF mutation. *Am J Med Genet A.* 161(10):2600-3, 2013.

3) Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 161(9):2234-43, 2013.

4) Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet* 93(1):173-80, 2013.

5) 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, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet.* 58(5):259-66, 2013.

6) Aoki Y, Matsubara Y. Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases. *Int J Hematol.* 97(1):30-6, 2013.

7) Asano M, Fujimura T, Wakusawa C, Aoki Y, Matsubara Y, Aiba S. A case of almost unilateral focal dermal hypoplasia resulting from a novel mutation in the PORCN gene. *Acta Derm Venereol.* 93(1):120-1, 2013.

8) Ninomiya M, Kondo Y, Niihori T, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Sequential analysis of amino acid substitutions with hepatitis B virus in association with nucleos(t)ide analogue treatment detecting by deep sequencing. *Hepatol Res.* 2013 [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1) 松原洋一 次世代シーケンサーによる遺伝性疾患研究・診療のパラダイムシフト 日本人類遺伝学会第58回大会、仙台、平成25年11月

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

