

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 (NH<sub>4</sub>Cl:155mM, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>: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 5500x1 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 5500x1 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、5500x1 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、通常の 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) ホルマリン固定等の実験条件最適化：ChIP-Seq 法では、ホルマリンによる 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

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。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, Nomiyama 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. 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, Fassihi 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. May 2; 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, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *AM J Med Gene 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, Pjotr Prins: Biogem, Ruby UCSC API, and Bioruby. (口演) Hiroyuki Mishima, Raoul J.P. Bonnal, Naohisa Goto, Francesco Strozzi, Toshiaki Katayama, Pjotr 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.

**6<sup>th</sup> 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ランス-放射線災害医療の国際教育拠点確立に向けた機関連携事業- 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: 広島大学電キャンパス, 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乳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