

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）
総合研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と病因病態の解明に関する研究

研究代表者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター遺伝科部長

研究要旨

診断未定多発奇形・発達遅滞（MCA/MR（multiple congenital anomalies/mental retardation）、あるいは、MCA/DD・ID（developmental delay・intellectual disability））の診断法の確立と原因を解明し、病態を把握し、発生頻度の推定を行うことを目的として研究を進めた。MCA/DD・IDは遺伝的異質性が極めて高く、全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査での解析が診断検査として最も有用であった。マイクロアレイ染色体検査を実際に診断として用いた場合の陽性検出率も、施設やプラットフォームが異なるにもかかわらず、海外報告とほぼ一致（10 - 15%）したことは、臨床検査としての普遍性を証明した。マイクロアレイ染色体検査適応症例、つまりMCA/DD・IDは少なくとも500出生に1例と考えられ、検査需要推定の参考データとなった。マイクロアレイ染色体検査により検出された疾患特異的CNVが、従来原因不明とされてきたメンデル遺伝病形質の原因解明の手掛かりとなることが明らかになった。診断のみならず病態の把握の点でもマイクロアレイ染色体検査は極めて有用であることが判明した。データの集約により日本人のCNV多型データベースの構築が可能であることが確認された。マイクロアレイ染色体検査は我が国においても早急に臨床検査として導入すべき遺伝学的検査であると考えられた。原因が依然として明らかとなっていない約9割におよぶ症例集団への対応、生体試料を用いた分子レベルでの病態解明、次世代シーケンスの導入などが今後の課題となる。

研究組織

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）
小崎里華（国立成育医療研究センター遺伝診療科 医長）
大橋博文（埼玉県立小児医療センター遺伝科 科長）
岡本伸彦（大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科 主任部長）
水野誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院臨床 第1部長）
山本俊至（東京女子医科大学統合医科学研究所 准教授）
川上紀明（国家公務員共済組合連合会名城病院整形外科 部長）

研究協力者

黒田友紀子（神奈川県立こども医療センター遺伝科 医師）
成戸卓也（同 研究員）
井田一美（同 研究員）
大橋育子（同 医師）
榎本啓典（JA とりで総合医療センター小児科 医師）
富永牧子（昭和大学横浜市北部病院小児科 医師）
清水健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科 医長）

A. 研究目的

我が国の乳児死亡および新生児死亡の原因の第1位は「先天奇形、変形および染色体異常」で20年以上変わらない。生産児の2-3%は、先天性の奇形を有している。死産児ではさらに頻度は上がり、15-20%で先天性の奇形が認められる。しかし病因別にみると多くは原因不明に分類される。特に原因が不明で診断がつかない多発奇形・発達遅滞症例は、MCA/MR (multiple congenital anomalies/mental retardation) あるいは、MCA/DD・ID (developmental delay・intellectual disability) と記述され、一つの疾患群としてまとめられる。しかし、診断がつかないこの一群は、診断名がないために疾病統計に表れることがなく、具体的な発生頻度の評価や病態把握もなされ

ない。なおかつ多くの合併症を有し、また発達遅滞に対しては養育・教育環境の整備が必要であり、患者および患者家族の負担は病名のある希少難病の場合と差はない。本研究は、この診断未定多発奇形・発達遅滞 (MCA/DD・ID) の診断法の確立と原因を解明し、病態を把握し、発生頻度の推定を行うことを目的としている。研究班は実際にMCA/DD・IDの解析研究、および医療管理の専門家から構成した。発生頻度の推定、診断技術として期待されるマイクロアレイ染色体検査の有用性と需要、診断アルゴリズムの確立などをまとめた。1年目の目標である、診断そのものが困難である本疾患の診断アルゴリズムは学会報告をし、本疾患の診断技術の一つとして注目されるマイクロアレイ染色体検査の有用性

も明らかにした(黒澤健司、第115回日本小児科学会、第54回日本小児神経学会発表、第57回日本人類遺伝学会)。2年目には、確立された診断アルゴリズムの有用性を検証し、具体的な診断指針と医療管理指針をまとめた。

B. 研究方法

小児病院遺伝外来受診群を手掛かりとしたMCA/DD・ID発生頻度の推定

a) 神奈川県立こども医療センター(黒澤分担研究者)

遺伝外来初診症例を対象とし、1999年から2010年までの12年間の状況をまとめた。臨床診断および評価は、MCA/DD・IDの診断医療管理に経験が豊富な小児科専門医・臨床遺伝専門医によった。評価は臨床診断の他に、診断に基づく種々の遺伝学的検査(染色体標準G分染法、遺伝子シーケンス解析、サブテロメアFISHスクリーニング、High resolution melting 解析スクリーニング、マイクロアレイ染色体検査など)を組み合わせて診断解析を進めた。診断分類としては、a) 既知症候群、b) 染色体異常症(染色体標準G分染法で確定が可能)、c) MCA/DD・ID(症状から既知症候群が想定できない)、d) その他(遺伝カウンセリング)の4つの範疇に受診症例を分類した。受診は院内併診と院外からの紹介によった。

b) 埼玉県立小児医療センター(大橋研究分担者)

埼玉県という比較的人口の多い県(人口約700万人;年間出生数約6万人)の第三次小児医療施設である埼玉県立小児医療センターにおける直近の平成23年度1年間の遺伝科初診の統計を参考として集計した。

小児病院遺伝外来受診MCA/DD・ID集団に対するマイクロアレイ染色体検査の有用性

a) 神奈川県立こども医療センター(黒澤分担研究者)

遺伝外来初診症例を対象とし、2011年4月から2013年2月までの1年11カ月間に提出されたMCA/DD・ID症例557例に対してマイクロアレイ染色体検査をおこなった。変異検出率や診断の状況、その後の医療管理状況をまとめた。臨床診断および評価は、MCA/DD・IDの診断医療管理に経験が豊富な小児科専門医・臨床遺伝専門医によった。評価は臨床診断の他に、診断に基づく種々の遺伝学的検査(染色体標準G分染法、遺伝子シーケンス解析、サブテロメアFISHスクリーニング、High resolution melting 解析スクリーニングなど)を組み合わせて診断解析を進めた。診断確定に至らない症例については、次世代シーケンス解析を考慮した(症例選択による)。

b) 埼玉県立小児医療センター

埼玉県立小児医療センターでは遺伝検査室を設置して当センターに受診する患者の遺伝学的診断を一元的に行っている。平成23年度の遺伝学的検査の実施の実態を検討した。マイクロアレイ染色体検査は76例を対象とした。

c) 愛知県心身障害者コロニー中央病院

汎用データベースソフトにて先天異常症候群診断用の施設内データベースを作成。2010年~2012年12月の間に受診歴のある患児から、先天多発奇形/精神遅滞(MCA/MR)症例を抽出し、42例の同意を得られた症例に対してマイクロアレイ染色体検査を行った。平成25年度には引き続き解析症例を31例追加し検討を加え

た。

d) 国立成育医療研究センター（小崎里華分担研究者）

診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞児が集積された診療症例を対象に、アレイ CGH,MLPA 法などの新規診断技術を用いて、確定診断のために遺伝学的解析を行った。解析法は、昨年同様である。分子遺伝学的に診断が確定された症例については、国内外のデータベースの検索を通じて近縁症例を収集し、臨床症状と遺伝学的異常の関係について検討した。

診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する研究（大橋研究分担者）

埼玉県という比較的人口の多い県（人口約 700 万人；年間出生数約 6 万人）の第三次小児医療施設である埼玉県立小児医療センターで開催された診断後の患児家族支援としての先天異常症候群の集団外来をまとめた。埼玉県立小児医療センターでは、同じ疾患をもつ患児・家族が一緒に集まって、情報の提供と共有、そして患者家族間の交流を通じた心理支援（ピアカウンセリング）を目指した“先天異常症候群集団外来”に取り組んでいる。この集団外来が患者・家族の支援にどのように貢献しているかについて、本年度の集団外来参加家族へアンケート調査を行った。アンケートの内容は、今の気持ちとして、外来に参加してよかったか？、目的を果たすことができたか？、役に立つ情報が得られたか？、次回の集団外来に参加したいか？という観点から、とてもそう思う、そう思う、どちらでもない、そう思わない、全くそう思わない、の 5 段階の中から選択し、さらに具体的な気持ちを自由に記載してもらう。

また、現在子育てに困っていること、または工夫していることなどについても記載してもらうこととした。

マイクロアレイ染色体における日本人正常集団のコピー数バリエーション（Copy Number Variant, CNV）データベースの基盤整備（小崎健次郎分担研究者）

コピー数バリエーション（Copy Number Variant, CNV）はレファレンス配列に対して重複や欠失が少なくとも 1 kb 以上ある DNA 断片のことである（ACMG, Hutton, 2011）。CNV の解釈には含まれている遺伝子や不均衡のサイズを考慮する必要がある。加えて、両親に存在するか、あるいは新生突然変異であるか、臨床的に意義があると知られている領域と完全にもしくは部分的にオーバーラップしているかどうか、健常コントロールのデータベースで報告されているかどうかを評価する。諸外国においては、病的意義のない CNV を集積したデータベース（例：DCIPHER）が作成されている。一方で、CNV には民族間で差があるとも考えられているため、日本人特有の CNV もあると考えられる。未診断の多発奇形症候群の診断のために行われた患者の検査の健常な両親の CNV データを集積し、病的意義のない CNV 領域を特定した。

対象は、MCA/MR によりアレイ CGH 法を実施された患児の両親とした。専用ソフトウェアを作成し、各施設ごとに粗データファイル（エクセル形式）から個人情報削除し、CNV 領域の情報のみを取り出し、bed ファイルとしてアSEMBルし、出力させた。出力されたファイルからは、個人別の CNV 情報を再現することは不能であるようにプログラミングを行った。bed ファ

イルは染色体番号、欠失もしくは重複の開始位置・終了位置、トラック名、DNA strandの向き、重複もしくは欠失の記載からなる。インターバルが 50 kb 未満のものを破棄した。CNV 領域の bed ファイルをヒト参照配列 (hg19) に統一した後、データベース UCSC genome browser 上で可視化した。

マイクロアレイ染色体検査で検出したゲノム再構成を手掛かりとした病態の解明 (岡本分担研究者・山本分担研究者)

小児科領域では多発奇形・発達遅滞は、多く存在する。G 分染法では 3 % の症例で異常が同定される。マイクロアレイ染色体検査では 20 % 程度で異常が同定される。さらには近年では次世代シーケンサーによる解析で責任遺伝子同定に至る例も増加した。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科受診中の多発奇形・発達遅滞症例で、マイクロアレイ染色体検査により、新規に診断が判明する症例は年々増加している。さらには次世代シーケンサーを用いた解析で原因が判明する症例も増加した。

東京女子医科大学統合医科学研究所では、診断ガイドラインに沿って新規 193 検体を解析し、ほぼ 15% 程度で病的な変化を同定できた。診断率は他施設とほぼ同等であり、マイクロアレイ染色体検査を行うための対象の選定に問題がないことを示している。得られた所見の中には、これまでに知られていない微細染色体異常を示すものが複数例あった。

次世代シーケンサーによる染色体欠失の試み (小崎健次郎研究分担者)

全遺伝子の翻訳領域をアジレント社 SureSelect を用いて濃縮した後、イルミナ

社 MiSeq によりシーケンシングを行った。シーケンス断片をソフトウェア bwa を用いてヒトの参照配列 (hg19) に整列させた。さらに、ソフトウェア GATK により局所的な整列を行った。完全に重複して PCR のアーチファクトと考えられる断片についてはソフトウェア Picard を用いて除去したのち、各塩基あたりの読み深度を評価した。正常検体由来の読み深度の平均値を求め、検体の読み深度と比較した。分析のアルゴリズムに Li らの Contra プログラムを用いた。対話的に解析を進めるための独自のスクリプトを作成した。

分析のパラメータはデフォルトの値を用いた。得られた領域は bed ファイル形式に変換し、ゲノムデータ表示ソフトウェア igv により表示した。既知のコピー数多型 (欠失・挿入) を、公的データベースより入手し、同時に表示させた。

MCA/DD・ID を対象とした診療データベースの構築とマイクロアレイ染色体検査 (水野研究分担者)

汎用データベースソフトにて先天異常症候群診断用の施設内データベースを作成。2010 年～2012 年 12 月の間に受診歴のある患児から、本データベースを用いて特定の検索語句を用いて先天多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) 症例を抽出する。いずれも染色体 G バンド分染法で異常が検出されていない症例を抽出対象とした。

C. 研究結果

小児病院遺伝外来受診群を手掛かりとした MCA/DD・ID 発生頻度の推定

a) 神奈川県立こども医療センター (黒澤分担研究者)

遺伝外来受診状況は、神奈川県内の小児

遺伝性疾患・先天異常の発生状況を反映し、さらに医療ニーズも反映していることが推察される。1999年から2010年までの12年間に神奈川県立こども医療センター遺伝外来を受診した3663例を診断・受診内容別に分類し、その受診傾向からMCA/DD・IDは少なくとも500出生に1例で、この推測値は最小見積もりとみなされた。

b) 埼玉県立小児医療センター（大橋研究分担者）

平成23年度の遺伝科初診341例を検討した。染色体異常症が130例、診断不明（MCA/MR）が66例（19%）であった。ダウン症を除いた場合にはMR/MCAは27%を占めた。

小児病院遺伝外来受診MCA/DD・ID集団に対するマイクロアレイ染色体検査の有用性

a) 神奈川県立こども医療センター（黒澤）

MCA/DD・ID557例に対して診断目的にマイクロアレイ染色体検査を行い、14%に臨床的意義あるCNVを検出した。

b) 埼玉県立小児医療センター

マイクロアレイ解析は76例に行い異常率は11%であった。

c) 愛知県心身障害者コロニー中央病院

診断が未確定の先天多発奇形/精神遅滞（MCA/MR）患者を特定のキーワードを用いて抽出した42例を対象に、マイクロアレイ染色体検査（限界感度約150Kb）を順次施行し、4名のコピー数異常を診断した。平成25年度には、診断未定多発奇形症例の集積を行い対象患者約50名中既知の症候群に該当しない患児31名に対してマイクロアレイ解析を実施した。結果31名中5名に従来の染色体G分染法で診断し得ない微

細欠失/重複症候群を診断した。さらに陽性検出例16p13.11重複では、臨床像と遺伝カウンセリングについて検討した。重複は、16p12.3p13.11の2.6Mbで、過去の報告例で16q13.11領域の微細重複は先天性心疾患や多指などの多発奇形や軽度精神遅滞を呈することがある一方、表現形の特徴を伴わない例もある。多発奇形を伴う染色体構造異常症例の遺伝カウンセリングにおいて、微細欠失症例においては通常de novoである確率が極めて高いが、微細重複症例については親や同胞が同一のコピー数異常を有する場合がある。遺伝カウンセリングにおいてはその情報提供が必要である。今後の症例の集積によりさらなる表現形スペクトラムの解析が望まれる。

d) 国立成育医療研究センター

マイクロアレイCGH解析を行った49症例のうち、解析終了37症例、結果陽性6症例であった（2012年4月 - 2013年3月）。2013年度（2012年4月 - 2013年12月）にアレイCGH解析を行った症例は35例、そのうち31例解析終了し、陽性2症例であった。8q24.3欠失（1.8Mb）、15q11.2欠失（4.9Mb）であり、1症例は既知症候群であった。病的意義不明のCNVも認め、両親解析も含め検討を行った。

臨床現場への研究成果の活用として、確定診断された児・家族に対し合併症の予測、予後など今後の医療管理の方向性を示すことが可能となった。また、次子再発率の予測など、遺伝カウンセリング上、家族には有意義な情報提供をすることができた。本研究で整備された基盤を用いることにより、診断不明例に対する段階的な診断アプローチを実施可能となった。今後は、アレイCGH陰性例については、次世代シー

ケンサーによる解析を検討したい。

診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する研究（大橋研究分担者）

2013年度は、4月から12月まで、月2回を基本に、計15回開催した。参加家族数は4～27家族（平均12家族）、他県からの参加も平均3家族であった。すべての外来を合計すると、参加家族数は延べ181家族、参加人数は407名となった。本年度新たな集団外来の試みとして、個別の疾患の枠を超えた疾患横断的な集団外来を開催した。

1)ピット・ホプキンス症候群とモワット・ウィルソン症候群の合同集団外来。互いに稀少疾患であり、それぞれ3家族と2家族をフォロー中であった。2疾患ともに重度の発達遅滞などの共通する症状をもつ。共通点と差異とを意識しつつ、疾患の自然歴と健康管理の情報提供と家族間の交流を行ったが、アンケート結果では大変有意義との回答を得た。2)就学をテーマとして疾患横断的な集団外来。疾患の種類を問わず、共通して多くの患児・家族が遭遇する課題がある。その代表の1つが就学問題である。本年、この就学をテーマとして疾患横断的な集団外来を開催した。具体的には、個別の集団外来を開催している23疾患（発達遅滞を伴う）の患児の中で、2015年度就学予定(5才児)と2016年就学予定(4才児)のもの62名を選び、外来の案内を行った。その結果16人(総人数31人)が参加した。臨床心理士が講義を担当した。疾患は異なっても、共通した心配点をもつことは稀ではない。症状が類似する疾患同士、あるいは共通したテーマを設定しての集団外来は、きわめて稀少な疾患の集団外来開催の実現、また効率のよい情報提供と家族間での意見

交換に役立つ一つの方法と考えられた。

マイクロアレイ染色体における日本人正常集団のコピー数バリエーション(Copy Number Variant, CNV)データベースの基盤整備（小崎健次郎分担研究者）

4施設・健常人63名から575か所のCNVデータが得られた。複数施設の複数検体で共通して重複もしくは欠失している部位が確認された。

マイクロアレイ染色体検査で検出したゲノム再構成を手掛かりとした病態の解明（岡本分担研究者・山本分担研究者）

Rett症候群はMECP2遺伝変異によるX連鎖優性遺伝性疾患である。Rett症候群同様の知的障害、常同運動を認め、MECP2に異常がない「Rett症候群類縁疾患」が多数存在する。Pitt-Hopkins症候群はRett症候群との鑑別が重要である。重度精神運動発達遅滞、特徴的顔貌、無呼吸を伴う間欠的過呼吸、小頭症、近視・斜視・乱視などの眼科異常、てんかん、協調運動障害、手の常同運動などを主要症状とする。TCF4が責任遺伝子である。現在、国内症例12例で変異を同定した。変異のない例について次世代シーケンサを用いて、さらに検討中である。GPIアンカー欠損症が、診断未定の神経疾患症例中に存在することが判明しつつある。150種以上の蛋白質がGPIアンカーを介して細胞表面に発現する。GPIアンカー生合成とその後の修飾には25以上の遺伝子が係わっているが、遺伝子変異があると多くのGPIアンカー型蛋白質が細胞表面に発現できず、多彩な症状が出現する。症状としては高アルカリフォスファターゼ血症、精神運動発達遅滞、てんかん発作などが見られる。分担研究者の

施設で10症例異常の GPI アンカー欠損症を診断することができた。

東京女子医科大学統合医科学研究所では、新規193検体を解析し、ほぼ15%程度で病的な変化を同定できた。診断率は他施設とほぼ同等であり、マイクロアレイ染色体検査を行うための対象の選定に問題がないことを示している。得られた所見の中には、これまでに知られていない微細染色体異常を示すものが複数例あり、これらについては現在論文作成中である。

次世代シーケンサーによる染色体欠失の試み（小崎健次郎研究分担者）

アレイ CGH 検査で16番染色体短腕に欠失を認める患者について次世代シーケンサーを用いた解析でも、欠失を証明することができた。一方で、アレイ CGH では欠失の無い範囲についても欠失が示唆された。アレイ CGH 検査をゴールドスタンダードと考えるならば、Contra による解析結果の特異度が低いと予測される。

D. 考察

MCA/DD・ID は遺伝的異質性が極めて高く、結果として全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査での解析が診断検査として最も確実であることが分かった。適応症例（需要）は少なくとも500出生に1例と考えられ、遺伝外来受診集団を手掛かりとした場合、2つの小児病院の結果はほぼ一致したものであった。マイクロアレイ染色体検査を実際に診断として用いた場合の検出率も、神奈川こども医療センター（14%）、埼玉県立小児医療センター（11%）、愛知県心身障害者コロニー（9.5%）、国立成育医療研究センター（16.2%）、と従来報告されている検出率

10 - 15%とほぼ一致した値であることを確認できた（2013年度も含めた検出率は、現在集計中）。施設やプラットフォームが異なりながらも、海外報告および国内施設での実施結果がほぼ一致していることは、臨床検査としての普遍性を証明した。我が国ではまだ保険収載となっていないマイクロアレイ染色体検査の臨床検査としての早期の導入の根拠となる。また、病態の把握では、実施施設から報告された各症例はゲノムベースで疾患の成り立ちが検討可能となっている。つまり、診断のみならず病態の把握の点でもマイクロアレイ染色体検査は極めて有用であることが判明した。さらに、これまでメンデル遺伝病と考えられていた複数の疾患の病因解明の手掛かりとなる情報もえることができた。

マイクロアレイ染色体検査を施行するにあたっての注意点は日本小児遺伝学会ホームページでも喚起されており、今回の多施設研究でも Dymorphology の経験が豊富な臨床遺伝専門医が行っているため、適正に施行されたと言える。今後の課題としては、さらに原因が依然として明らかとなっていない約9割におよぶ症例集団への対応、生体試料を用いた分子レベルでの病態把握、などが大きな課題となる。こうした8 - 9割の残された症例に対する更なる解析として次世代シーケンサーの有用性も提示することができた。しかも、次世代シーケンサーの有用性は網羅的解析としての有用性だけでなく、シーケンスのリード数を CNV 変換することによる、マイクロアレイ染色体検査の代替の可能性も提示することができた。今後の MCA/DD・ID 解析の極めて有用な手段と新しい解析法を提示したことになる。

一方で、基本となる解析アルゴリズムを

具体的検出率と合わせて提示して提言することもできた。マイクロアレイ染色体検査が広く臨床検査として用いられる基礎資料となることが期待される。

1) 達成度

第1年目の目標である診断未定多発奇形・発達遅滞(MCA/DD・ID)の発生頻度の推定、MCA/DD・IDの診断確定のためのマイクロアレイ染色体検査の解析精度と需要、診断アルゴリズムの確立、「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」との連携、MCA/DD・ID症例の病態の把握、を達成することができた。第2年目の目標の、診断アルゴリズムに基づく具体的な診断指針は、マイクロアレイ染色体検査の適応、検出されたCNVの解釈アルゴリズム、CNVの解釈分類、などとして、レビューとしてまとめることができた(2013)。医療管理指針は、マイクロアレイ染色体を臨床検査として進める際の具体的な注意事項をレビューとしてまとめた(2013)。ホームページでの公開を予定としているが、現在計画途中で、未達成となっている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

海外発表および英文発表合わせ、複数提示することができ、我が国の多発奇形・発達遅滞研究のレベルの高さを示すことができた。社会的意義については、アルゴリズムを示すことによって、一般臨床医がこうした多発奇形・発達遅滞の医療に一定の理解を示し、検査プランが立てやすくなることが期待される。こうした医療サイドの理解は結果としてその疾患の予後改善につながる。また、疾患の診断と原因を明らかにすることにより、遺伝カウンセリング

を通して再発リスクの評価と予後を明確に示すことができるので、結果として予後改善につながると思われる。根本治療は得られないものの、こうした社会的意義を通しての予後改善に期待したい。

3) 今後の展望について

マイクロアレイ染色体検査は既に海外では、通常の診療に組み込まれつつある。我が国においては、なおも普及していない。普及のためのデータの蓄積は今後の課題ある。また、パネル解析から臨床エクソーム解析への拡大も海外では、議論が始まりつつあり、我が国でも早急に、こうした遺伝的異質性の高い多発奇形・発達遅滞集団に対して適応を広げるべきであると思われる。

4) 研究内容の効率性について

マイクロアレイ染色体検査の対費用効率については、極めて安定した陽性検出率から確認することができた。これは、適応症例を適切に選択した各分担研究者・研究協力者の臨床判断に由来する。研究の効率を考える上で、複数の施設を比較検討したことは極めて意義深いと思われた。

研究成果から一足飛びに我が国の多発奇形・発達遅滞症例の医療の向上は期待できない。基準や指針を明らかにしたことは、一般臨床医の理解を得ることに有用な資料の提示につながる。我が国の多発奇形・発達遅滞症例の医療の向上の基盤整備に相当すると思われる。

E. 結論

診断や原因が明らかにされていない、しかも遺伝的異質性が極めて高く、その医療負担が決して少なくない診断未定の多発

奇形・発達遅滞の臨床検査としてマイクロアレイ染色体検査は早期に導入すべきである。また、次世代シーケンス技術との組み合わせが今後期待される。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表

1．論文発表

【黒澤健司】

Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K. A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy. *Pediatr Radiol* 2012;42:380-2.

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui M, Masuno M. Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. *Cong Anom* 2012;52:78-81.

Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.2;p12.3). *Cong Anom* 2012;52:106-110.

Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M, Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masun M, Yamada K, Kurosawa K. Expression Analysis of a 17p Terminal Deletion, including YWHAЕ, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:2347-2352.

Soneda A, Teruya H, Furuya N, Yoshihashi H, Enomoto K, Ishikawa A, Matsui K, Kurosawa K. Proportion of malformations and genetic disorders among cases encountered at a high-care unit in a children's hospital. *Eur J Pediatr* 2012;171:301-5.

Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K. Pure duplication of 19p13.3. *Am J Med Genet A*. 2013 Sep;161(9):2300-4

Yasuda S, Imoto K, Uchida K, Machida D, Yanagi H, Sugiura T, Kurosawa K, Masuda M. Successful Endovascular Treatment of a Ruptured Superior Mesenteric Artery in a Patient with Ehlers-Danlos Syndrome. *Ann Vasc Surg*. 2013;27(7):975.e1-5.

Nagase H, Ishikawa H, Kurosawa K, Furuya N, Itani Y, Yamanaka M. Familial severe congenital diaphragmatic hernia: left herniation in one sibling and bilateral herniation in another. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2013;53(1):54-7.

【小崎里華】

Sasaki A, Sumie M, Wada S, Kosaki R, Kuroswa K, Fukami M, Sago H, Ogata T, Kagami M. Prenatal genetic testing for a microdeletion at chromosome 14q32.2 imprinted region leading to UPD(14)pat-like phenotype. *Am J Med Genet A*. 2013 Nov 20. doi: 10.1002/ajmg.a.36185. [Epub ahead of print]

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 Dec;161(12):3057-62.

Takenouchi T, Saito H, Oishi N, Fukushima H, Kosaki R, Torii C, Takahashi T, Kenjiro K. Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013 Jul;161A(7):1803-5.

【大橋博文】

Ochiai D, Ohashi H, Hisazumi-Watanabe H, Sato Y, Yakubo K, Fukuiya T. Simpson-Golabi-Behmel syndrome diagnosed by postmortem magnetic resonance imaging, restricted autopsy, and molecular genetics: a case report. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 [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 Genet A.* 2013 161:2234-43.

Takahashi M, Ohashi H. Craniofacial and dental malformations in Costello syndrome: A detailed evaluation using multi-detector row computed tomography. *Congenit Anom.* 201 53:67-72

【岡本伸彦】

Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T. 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013;161:1465-9.

Okamoto N, Fujii T, Tanaka J, Saito K, Matsui T, Harada N. A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2. *Am J Med Genet A.* 2013 Nov 20. doi: 10.1002/ajmg.a.36217. [Epub ahead of print]

Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics.* 2013 Nov 20. [Epub ahead of print]

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet.* 2013 Jul 1. doi: 10.1111/cge.12225. [Epub ahead of print]

Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients. *Am J Med Genet A.*

- 2013;161A:1779-85.
- Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A*. 2013;161:2078-83.
- Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev*. 2013;35:411-9.
- Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S. Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia.. *J Hum Genet*. 2013;58:391-4.
- Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. *Hum Mutat*. 2013;34:108-10
- Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N. A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis. *Am J Med Genet A*. 2013;161:2291-3.
- Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitsu H. De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Hum Mutat*. 2013 ;34:1708-14.
- Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder. *PLoS One*. 2013 Sep 16;8(9):e74167.
- Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet*. 2013 Oct 3. doi: 10.1038/jhg.2013.104. [Epub ahead of print]
- Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N. Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case. *Brain Dev*. 2013;35:586-9.
- 【水野誠司】**
- Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M. Developmental changes in mental rotation ability and visual perspective-taking in children and adults with Williams syndrome. *Front Hum Neurosci*. 2013 Dec 11;7:856
- Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno

- S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J Med Genet A*. 2013 Dec 5. [Epub ahead of print]
- Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y, Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitoh S, Sugiura-Ogasawara M. Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome. *J Obstet Gynaecol Res*. 2013 Nov;39(11):1545-7
- Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, Horikawa R, Miyoshi Y, Muroya K, Kondoh T, Numakura C, Sato S, Nakabayashi K, Tayama C, Hata K, Sano S, Matsubara K, Kagami M, Yamazawa K, Ogata T. Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome. *PLoS One*. 2013;8(3):e60105.
- 【山本俊至】**
- Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
- Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev* 35: 411-419, 2013.
- Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T: PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev (Early On-line View)*.
- Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T: Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet (in press)*
- Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Okamoto N: Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4. *Am J Med Genet (in press)*
- Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T: A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene* 531:467-71, 2013.
- Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T: Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* (in press)
- Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement. *Am J Med Genet* 161A: 3049-56, 2013.
- Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1465-9, 2013.
- Yamamoto T, Shimada S, Shimojima K: Fiber-FISH analyses as a diagnostic

- application for orientation of the microduplications. *World J Med Genet* 3; 5-8, 2013.
- Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Yamamoto T: Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* 35: 274-279, 2013.
- Shichiji M, Ito Y, Shimojima K, Nakamu H, Oguni H, Osawa M, Yamamoto T: A cryptic microdeletion including MBD5 occurring within the breakpoint of a reciprocal translocation between chromosomes 2 and 5 in a patient with developmental delay and obesity. *Am J Med Genet A* 161A: 850-855, 2013.
- Kobayashi S, Inui T, Wakusawa K, Tanaka S, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Yamamoto T, Haginoya K: A case of atypical benign partial epilepsy with action myoclonus. *Seizure* 22: 242-245, 2013.
- Yamamoto T, Matsuo M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Aso S, Saito K: De novo triplication of 11q12.3 in a patient with developmental delay and distinctive facial features. *Mol Cytogenet* 6: 15, 2013.
- Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Niijima S, Urao M, Yamamoto T: Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 155-159, 2013.
- Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, Takahashi Y, Inoue Y, Imai K, Yamamoto T: Interstitial duplication of 2q32.1-q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet A* 161A: 1078-1084, 2013.
- Sangu N, Shimosato T, Inoda H, Shimada S, Shimojima K, Ando T, Yamamoto T: A novel nucleotide mutation leading to a recurrent amino acid alteration in SH3BP2 in a patient with cherubism. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 166-169, 2013.
- Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T: Whole-exome sequence for a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology* 33: 553-560, 2013.
- Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 101 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A* 161A: 1465-1469, 2013.
- Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A* 161A: 2078-2083, 2013.
- Shimojima K, Tanaka R, Shimada S, Sangu N,

- Nakayama J, Iwasaki N, Yamamoto T: A novel homozygous mutation of GJC2 derived from maternal uniparental disomy in a female patient with Pelizaeus–Merzbacher-like disease. *J Neurol Sci* 330: 123-126, 2013.
- Uike K, Matsushita Y, Sakai Y, Togao O, Nagao M, Ishizaki Y, Nagata H, Yamamura K, Torisu H, Hara T. Systemic vascular phenotypes of Loeys-Dietz syndrome in a child carrying a de novo R381P mutation in TGFBR2: a case report. *BMC Research Notes* 6; 456, 2013.
- Torisu H, Watanabe K, Shimojima K, Sugawara K, Sanefuji M, Ishizaki Y, Sakai Y, Yamashita H, Yamamoto T, Hara T. Girl with a PRRT2 mutation and infantile focal epilepsy with bilateral spikes. *Brain Dev* (in press).
- Abe Y, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Yamamoto T, Kunishima S, Haginoya K: Bilateral periventricular nodular heterotopia with megalencephaly: a case report. *J Child Neurol* (in press).
- Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T: Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination. *Brain Dev* (in press)
- Irahara K, Saito Y, Sugai K, Nakagawa E, Saito T, Komaki H, Nakata Y, Sato N, Baba K, Yamamoto T, Chan W, Andrews C, Engle EC, Sasaki M: Pontine malformation, undecussated pyramidal tracts and regional polymicrogyria: a new syndrome. *Pediatr Neurol* (in press)
- 2 . 学会発表
【黒澤健司】
- Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y, Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T, Manabe R, Masuno M. Trio-exome sequencing identifies mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B/MYST4 in individuals with the Young-Simpson syndrome. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Kuroda Y, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Microdeletion of 19p13.3 in a girl with Peutz-Jeghers syndrome, intellectual disability, hypotonia, and dysmorphic features. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Enomoto K, Sugawara Y, Hotate H, Motoyoshi Y, Hatai Y, Mizutani S, Kurosawa K. TSC2-PKD1 contiguous deletion syndrome with aortic stenosis and severe myopia. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Kurosawa K, Tominaga M, Furuya N, Enomoto K, Saito T, Nagai J, Masuno M, Hamanoue S, Shiomi M, Kigasawa H. 1p22 microdeletion represents a novel contiguous gene syndrome associated Diamond-Blackfan anemia. 2012 European Society of Human Genetics 2012.6.23-26. Nürnberg
- Ohashi I, Kuroda Y, Naruto T, Ida K,

- Kurosawa K. A case report of 0.12Mb microdeletion at 19p13.2 including NFIX gene. European Human Genetic Conference 2013 2013.6.8-11. Paris, France.
- Kuroda K, Ohashi I, Ida K, Naruto N, Kurosawa K. Deletion of UBE3A gene in brothers with Angelman syndrome close to breakpoint of inversion at 15q11.2 and 15q26.1. European Human Genetic Conference 2013 2013.6.8-11. Paris, France.
- Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of mandibulofacial dysostosis. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Yoshihara N, Kurosawa K, Ohashi I, Kuroda Y, Osaka H, Yamashita S, Iai M, Takano K, Okuda M, Takagi M, Anzai R, Wada T. A 3.1 Mb deletion at 2q22.1-q22.3 including NXPH2 gene in a boy with intellectual disability. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Naruto T, Kuroda Y, Ohashi I, Kurosawa K. Clinical application for gene disorders in children using bench top sequencer. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Nishi Y, Tominaga M, Ueda H, Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. 6q24.3-q25.1 deletion syndrome. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Ohashi I, Kuroda Y, Masuno M, Kuroki Y, Kurosawa K. Estimation of live birth prevalence of Down syndrome in Japan. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- 【小崎里華】**
- Kosaki R, Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Takahashi T, Kosaki K. Sever congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. European Society of Human Genetics, 2013 6.9
- 【岡本伸彦】**
- Okamoto N, Yamamoto Y, Kawato K. A clinical and molecular study of Pitt-Hopkins syndrome in Japan. European Human Genetic Conference 2013 2013.6.8-11. Paris, France.
- Okamoto N, Miya F, TTsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Y Kanemura Y, Kosaki K. Application of targeted next-generation sequencing in the diagnosis of pediatric neurological disorders. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- 【水野誠司】**
- Mizuno S, Muramatsu Y, Miyake N, Matsumoto N. Distal interphalangeal joint contracture and absence of flexion crease in paediatric patients with Kabuki syndrome with MLL2 mutation. The European Human Genetics Conference Paris, June 8, 2013
- Muramatsu Y, Kakizawa H, Shimizu K, Ohashi H, Hayashi S, Inazawa J, Mizuno S. Atypical interstitial deletion of 7q11.23 containing whole ELN and partial LIMK1: Phenotype comparison

with typical Williams syndrome. The
European Human Genetics Conference
Paris, June 8 , 2013

なし
2 . 実用新案登録
なし
3 . その他
なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

1 . 特許取得