

201324115B

---

間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の  
開発を目指した基盤研究

---

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)

平成24～25年度 総合研究報告書

平成 26(2014)年 5月

研究代表者：副 島 英 伸

佐賀大学医学部分子生命科学講座・教授

## 目 次

I. 総合研究報告書 -----	1
間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の 開発を目指した基盤研究-----	2
副島英伸（佐賀大学医学部・分子生命科学講座・教授）	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	14
III. 研究成果の刊行物・別冊 -----	18

# I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

総合研究報告書

間葉性異形成胎盤の臨床的・分子遺伝学的診断法の開発を目指した基盤研究

研究代表者：副島英伸

佐賀大学医学部分子生命科学講座

分子遺伝学・エピジェネティクス分野 教授

研究要旨

間葉性異形成胎盤(placental mesenchymal dysplasia, PMD)は、原因不明の胎盤形態異常で、妊娠中の超音波断層法にて部分胞状奇胎や胎児共存奇胎と類似した嚢胞状変化を呈する。誤診されると無用の人工流産を招くこと、高率に妊娠高血圧症候群・早産・胎児発育不全(FGR)・胎児死亡(IUFD)を合併することが問題である。本研究では、PMDの臨床診断基準を確立し、原因遺伝子の同定による病因・病態の解明および遺伝子診断の開発基盤を整え、臨床的ケア・治療法の開発を目指すことを目的とした。

臨床学的・病理学的解析では、PMDは相対的に大きな胎盤を呈し、女兒、およびBeckwith-Wiedemann症候群(BWS)との関連が強く、早産、FGRやIUFDの危険が高いことが明らかとなった。FGRであること、およびBMSでないことはIUFDの危険因子である可能性が示された。同一胎盤においてもPMDの病変は均質ではなく、KIP2の発現異常は診断の十分条件ではなかった。PMDを診断するためには検体採取の方法を含めた診断基準の確立が必要と考えられた。一方、遺伝学的解析では、大半の症例に11p15領域のpatUPDのモザイクを認め、SNPアレイで解析した全例がandrogetic/biparentalモザイクであった。このことから、PMDはandrogetic/biparentalモザイクであることが示唆された。HumanMethylation450BeadChipによるエピゲノム解析では、PMDで異常メチル化を示す遺伝子を同定した。胎盤におけるメチル化は、妊娠週数による違い、個体差による違い、同一胎盤内での部位による違いが存在することから、今後これらの遺伝子については詳細且つ慎重に解析していく必要がある。エクソーム解析では、いくつかの候補遺伝子を見いだすことができたため、今後サンガー法にて候補遺伝子の配列の確認を行う必要がある。

研究分担者

1. 片淵 秀隆

熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・教授

2. 大場 隆

熊本大学大学院生命科学研究部・産科婦人科学・准教授

A. 研究目的

間葉性異形成胎盤(Placental mesenchymal dysplasia: PMD)は、胞状奇胎と類似した嚢胞状変化を呈するが、組織学的にはトロホブラストの異常増殖を認めない胎盤形態異常である。高齢妊娠や生殖補助医療技術との関連が指摘されてきたが、PMDの約20%に

Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) を合併することからゲノム・インプリンティングとの関連が指摘されている。頻度は分娩例の 0.02% とまれな病態とされてきたが、2007 年以降、国内外での報告が急増しており、臨床診断基準の必要性が高まっている。PMD は超音波断層法にて嚢胞状変化を呈するため、部分胞状奇胎や胎児共存奇胎との鑑別を要し、誤診されると無用の人工流産を招く。また、高率に早産、胎児発育不全 (FGR)、胎児死亡 (IUFD) を合併するハイリスク妊娠であり、現時点で IUFD を予知する方法はない。そのため、鑑別ならびに適切な臨床的ケアのための臨床診断基準が必要かつ重要であるが、未だ確立されていない。本研究では、病理組織学的に診断された症例を収集し、レトロスペクティブに臨床情報を解析することで、臨床診断基準の確立、病態の解明を行うことを目的とした。また、これらの検体を用いて原因遺伝子の同定、遺伝子診断の基盤開発を行い、最終的には臨床的ケア・治療法の開発を目指す。本研究により、人工流産の回避と胎児発育のリスクを考慮した周産期管理が可能になり、PMD 合併妊娠の無病出生率を向上させることが期待できる。このことは、少子高齢化社会において重要な意義を持つと考えられる。また、日本胎盤学会および日本産科婦人科学会の支援を受けて絨毛性疾患取り扱い規約に掲載されることを目指す。

## B. 研究方法

### 1. 症例の集積

熊本大学医学部附属病院総合周産期母子医療センターあるいは協力医療機関で出産した症例で、巨大胎盤を呈した症例、あるいは児が Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) を疑われた症例について患者の同意を得たうえで胎盤を提供していただき、肉眼的観察ならびに臨床病理学的検討を行って PMD 症例を抽出した。また論文発表あるいは各種関連学会で報告された PMD あるいは BWS 症例について情報提供

ならびに組織標本の提供を依頼した。

### 2. 臨床情報解析

PMD 症例の妊娠経過、胎児発育経過、および新生児経過等を経時的に解析し、PMD の臨床的特徴を検討した。

### 3. 病理学的解析

既報の候補因子である母性発現インプリント遺伝子 *p57<sup>KIP2</sup> (KIP2)* について免疫組織化学染色を行うとともに、個々の胎盤における PMD 病変の組織学的分布を精査した。

### 4. エピゲノム解析

凍結 PMD 検体 5 例と妊娠週数を可能な限りあわせた正常胎盤 7 例より DNA を抽出し、HumanMethylation450 BeadChip (Illumina 社) を用いて、全ゲノムの DNA メチル化解析 (ゲノム中の 47 万カ所の CpG のメチル化を解析) を行った。

### 5. 全ゲノム多型解析

全染色体に分布する 4 塩基反復配列マーカー (Short tandem repeat: STR) あるいは Genome-Wide Human SNP array 6.0 (Affymetrix 社) を用いて全ゲノムの多型解析を行った。

### 6. 遺伝子発現解析

インプリント遺伝子 *KIP2* と *PHLDA2* の遺伝子発現を定量リアルタイム RT-PCR で解析した。遺伝子発現量は *GAPDH* を内部コントロールとして補正した。

### 7. エクソーム解析

「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業」の一般研究班長崎大学吉浦教授との共同研究で、凍結組織 5 例についてエクソーム解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、佐賀大学医学部倫理委員会、佐賀大学医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会、熊本大学大学院生命科学研究部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を受けて実施した。

## C. 研究結果

### 1. 症例の集積と臨床情報解析

合計症例数は41例となり、本邦における過去最大規模のPMDの症例集積となった。

平均年齢は $30.6 \pm 4.7$ 歳、中央値は31.0歳であった。不妊治療を受けた症例は4例で、2例がタイミング法、ほか2例が人工授精周期の妊娠であり、体外受精・胚移植に代表される生殖補助医療を受けた症例はなかった。

2例が妊娠14週と16週で人工流産を選択されていた。妊娠を継続した39例はすべて単胎妊娠で33例が女児であった。76.9%(30/39)が早産となり、30.8%(12/39)がFGR、15.4%(6/39)がIUFDに至った。IUFDは、妊娠20週に生じた1例を除けば妊娠31週から36週に生じていた。IUFDに至った6例中2例は軽度のFGRを伴っており、すべてBWSを合併しない症例であった。生児を得た33例のうち78.8%(26/33)が低出生体重児で、うち14例が出生体重1500g未満の極低出生体重児で、すべてBWSを合併しない症例であった。新生児の9例はBWSであった。また3例に貧血、3例に新生児DIC、2例に胎児水腫あるいは全身浮腫、4例に低血糖が認められた。

胎盤重量は分娩週数に関わらず正常胎盤重量と比較して大きい傾向にあったが、平均+1.5SDを超えない症例も散見された。相対的な胎盤重量(胎盤/胎児重量比)が大きいことは、分娩週数、出生時体重、BWSの合併とは独立した重要な特徴であった。

## 2. 病理学的解析

PMDの胎盤絨毛では、11p15.5にマップされ母性アレル発現するインプリンティング遺伝子の一つで、サイクリン依存性キナーゼ(CDK)インヒビターをコードする*KIP2*遺伝子の発現が絨毛内間質や血管を構築する細胞において消失することが報告されている。我々が集積したPMD症例においても、細胞性栄養膜細胞に*KIP2*の発現が認められるのに対して、絨毛内間質や血管を構築する細胞における*KIP2*の発現が消失していた。

準備的な検討により、同一胎盤におけるPMDの病変は肉眼的にも組織学的にも均一ではな

く、また*KIP2*の発現消失も同一胎盤内で正常発現と混在することが示唆されていた。このため提供された組織標本を2名の病理専門医により病理組織学的に再評価し、PMDの診断を確定し得た16例についてPMD病変の分布を検討した。13例は、複数の箇所から採取された検体全てについてヘマトキシリン-エオシン染色(HE)標本にてPMDと診断し得る領域が認められるとともに、正常胎盤の構築が様々な割合で混在していた。残る3例においてはPMDの所見が全く認められず、正常胎盤と評価される標本があった。

HE標本にて正常胎盤の構築を示す領域では、*KIP2*の発現も正常であり、*KIP2*発現の異常を認めた例はなかった。いっぽうHE標本にてPMDの構築を示す領域では、*KIP2*が正常発現を示す部位と、PMD型の発現を示す部位が混在していた。病変の重症度と臨床像には関連がみられた。

## 3. エピゲノム解析

当初、凍結組織4例と正常胎盤3例をコントロールとしてHumanMethylation450BeadChipを用いて全ゲノムのDNAメチル化解析を行い候補遺伝子を見出したが、一部で再現性が得られなかった。PMD検体と正常検体の妊娠週数の違いによるメチル化の差異が一因であることが判明したため、凍結PMD検体5例と妊娠週数を可能な限りあわせた正常胎盤7例よりDNAを抽出し、再度HumanMethylation450BeadChipで解析した。得られたメチル化データに基づいたクラスター解析結果を図1に示す。

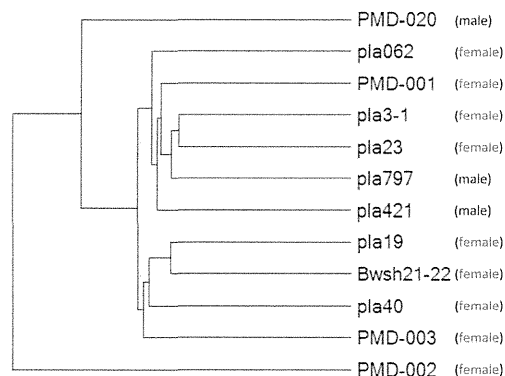


図1 DNAメチル化に基づいたクラスター解析凍結PMD検体5例と正常胎盤7例よりDNAを抽出し、HumanMethylation450 BeadChipを用いて行ったDNAメチル化データに基づくクラスター解析を示す。PMDと正常胎盤が入り交じっている。Pla: 正常胎盤、Bwsh21-22: BWS合併PMD

クラスター解析では、図のようにPMDと正常胎盤が入り交じっており、PMD特異的なクラスター形成は認められない。このことは、PMD特異的なメチル化異常の存在の可能性が低いことを示す。しかし、HumanMethylation450 BeadChipは男女間でデータが異なるプローブが存在することが報告されている(Chen YA, et al., Epigenetics, 8(2):203-209, 2013)。このため、男女別に以下の条件で解析した。まず、女兒PMD群と女兒正常群を比較し、PMD群でメチル化が20%以上変化しているCpGサイトを選別した。男児群についても同様にCpGサイトを選別し、女兒群で選択したCpGサイトと共通するCpGサイトを抽出した。次に、抽出したCpGサイトのうち、複数のCpGサイトが連続して異常値を示し、かつその部位がプロモーター近傍であるような遺伝子を絞り込んだ。この結果、PMDで高メチル化を示す遺伝子2個と低メチル化を示す遺伝子を5個同定した。

#### 4. 全ゲノムSNP解析・遺伝子発現解析

BWSの遺伝子座である11p15領域のSTR解析では、22例中20例(91%)に父性片親性ダイソミー(patUPD)のモザイクを認めた。このうち、17例がisodisomyで3例がheterodisomyであった。また、20例のうち6例についてSNP array 6.0で解析したところ、全例全染色体patUPDモザイク、つまりandrogenetic/biparentalモザイクであった。モザイク率は、10%程度~60%程度であった。一方、22例中2例(9%)はpatUPDを認めず、このうち1例ではインプリント遺伝子の発現を制御する*KvDMR1*領域の異常低メチル化を

認めた。さらに、*KvDMR1*によって制御されるインプリント遺伝子である*KIP2*と*PHLDA2*の遺伝子発現を定量リアルタイムRT-PCRで解析したところ、遺伝子発現量が低下していた(図2)。

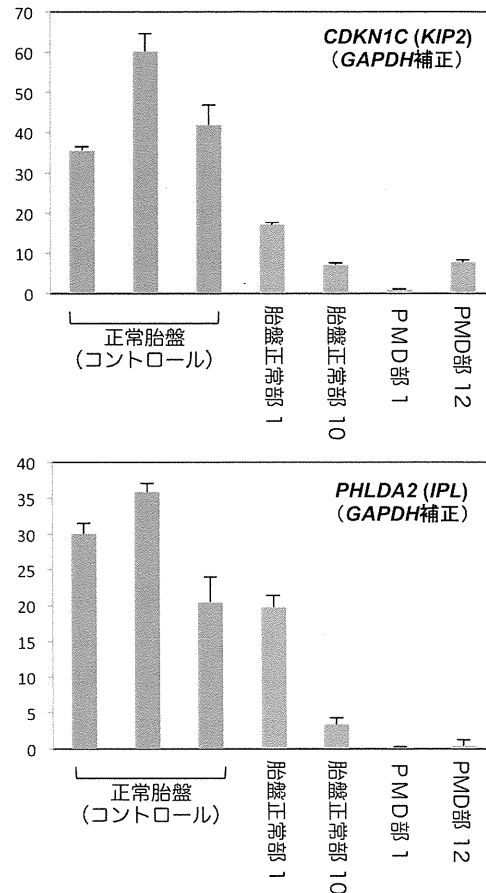


図2 インプリント遺伝子発現解析

patUPDを認めず*KvDMR1*の異常低メチル化を示したPMD胎盤での*KIP2*と*PHLDA2*の遺伝子発現を定量リアルタイムRT-PCRで解析した。遺伝子発現量は内部コントロール*GAPDH*で補正した。正常コントロールに比べ肉眼的正常胎盤部でも肉眼的PMD部でも、両遺伝子ともに発現量の低下を認めた。

#### 5. エクソーム解析

シーケンズデータは取得でき、いくつかの候補遺伝子を見いだすことができた。今後、サンガー法にて各症例での候補遺伝子の配列の確認を行う予定である。

#### D. 考察

生殖補助医療によって出生した児ではインプリンティング異常症の危険が高まることが報告されており、その理由として培養操作が胚 DNA の異常なメチル化を惹起する可能性が示唆されている。PMD もまたその発症機序にインプリンティング異常が関与していることが示唆されているが、今回検討した国内症例では、PMD の発症と高齢妊娠、あるいは生殖補助医療との関連は見いだせなかった。

これまでに集積した症例のうち、胞状奇胎との鑑別困難を理由として流産を選択された症例は 1 例のみであったが、今回の調査はパブリケーションベースの調査であるため、胞状奇胎として流産を選択され、報告されることのなかった症例も少なくないと推定される。今後も PMD という疾患概念の啓発に務める必要があると考えられた。

今回の我々の研究により、本邦においても PMD は女兒に好発し、早産、FGR や IUID の危険が高いことが確認された。さらに FGR、BWS を合併していないことは IUID の予知因子である可能性が示された。

先行研究 (Pham et al. Am J Clin Pathol. 2006, 126:67-78) と比較すると、IUID 率は先行研究の 35.6% に比して 15.4% と低く、妊娠 22 週から 31 週までの IUID は回避されていた。さらに平成 25 年度の 10 症例に限れば IUID は妊娠 20 週の 1 例のみで 10.0% とさらに低い結果であり、22 週以降に IUID に至った症例はなかった。本邦においては PMD 症例のほとんどは FGR のため高リスク妊娠として高次産科医療機関において管理が行われていると推定される。IUID の予知因子についての詳細な検討は今後の課題であるが、本邦の周産期医療体制は、PMD の管理にも有効であることが示唆された。妊娠 33 週以降の IUID を回避することは今後の課題である。

胎盤における PMD の病変は肉眼的にも組織学的にも均質ではなく、病変の肉眼的、組織

学的重症度と臨床像は相関していると推定された。絨毛内間質や血管を構築する細胞における KIP2 の発現消失は、PMD 診断の十分条件ではあるが必要条件ではないことが示唆された。

以上のことから、現状においては、PMD を正しく診断するためには HE 標本による診断基準の確立が喫緊の課題であり、標本を採取する部位、検体数についても何らかの基準を設ける必要があると考えられた。さらに将来においては KIP2 以外のマーカーを確立する必要があると考えられた。

一方、遺伝子解析からは、全ゲノム SNP 解析を行った症例の 91% に 11p15 領域の patUPD のモザイクを認め、SNP アレイで解析できた 6 例全例が androgenetic/biparental モザイクであった。このことから、PMD の大半の症例は androgenetic/biparental モザイクであることが示唆される。従って、臨床的に PMD を疑う場合は、絨毛生検を行い SNP アレイで解析することで診断できる可能性がある。

androgenetic/biparental モザイクにおける androgenetic 細胞では、すべてのインプリント遺伝子が父型になっているため、ゲノム・インプリンティングの異常が関与している可能性がある。1 例のみではあるが、正常 biparental 細胞で構成されている PMD 検体で *KvDMR1* 領域の異常低メチル化とそれに伴うインプリント遺伝子 *KIP2* と *PHLDA2* の発現量低下を認めた。この結果は、*KIP2* の免疫染色の結果とも比較的合致していることから、11p15 のゲノム・インプリンティング異常が PMD 発症に関与している可能性を示す。しかしながら、本研究の免疫染色では、*KIP2* の発現消失は、PMD 診断の十分条件ではあるが必要条件ではないことも示唆されており、androgenetic/biparental モザイクが多数を占めることから、他のインプリント遺伝子の関与の可能性も考えられる。従って、ゲノム中のインプリント DMR のメチル化を網羅的に解析する必要があると思われる。我々は、



MALDI-TOF-MS および pyrosequence を用いたインプリント DMR の網羅的メチル化解析法を確立しているため、この方法を応用して解析を進めていきたい。

また、HumanMethylation450 BeadChip によるエピゲノム解析に基づくクラスター解析からは PMD 特異的なメチル化異常の存在の可能性が低いことが示唆された。しかしながら、男女別に解析し直したところ、PMD で高メチル化を示す遺伝子 2 個と低メチル化を示す遺伝子を 5 個同定した。胎盤におけるメチル化は、妊娠週数による違い、個体差による違い、同一胎盤内での部位による違いが存在することから、今後これらの遺伝子については詳細かつ慎重に解析していく必要がある。

エクソーム解析では、いくつかの候補遺伝子を見いだすことができたので、今後サンガー法にて各症例での候補遺伝子の配列の確認を行う必要がある。

#### E. 結論

PMD は新しい疾患概念で、頻度が極めて低いことから、病態の認知度が低かった。しかし、2007 年以降、論文数・症例報告数が急増していることから、国内外での認知が進んでいることがうかがえる。PMD の適切な周産期管理方針の確立は今後の課題だが、本邦の高次産科医療機関において高リスク妊娠に対して行われている周産期医療体制は、PMD の管理にも有効であると推定される。妊娠 33 週以降の胎児死亡を回避すること、新生児合併症を予測することが今後の課題である。胎盤における PMD の病変は肉眼的にも組織学的にも均質ではなく、統一された評価方法の確立が必要である。一方、PMD 症例に関する遺伝学的特徴および候補遺伝子を見出すことができた。今後、更なる症例を集積し、臨床情報解析および遺伝子解析を進めることで遺伝子診断も含めた診断基準確立や診療ガイドラインを策定することが肝要と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Court F, Tayama C, Romanelli V, Martin-Trujillo A, Iglesias-Platas I, Okamura K, Sugahara N, Simón C, Moore H, Harness JV, Keirstead H, Sanchez-Mut JV, Kaneki E, Lapunzina P, Soejima H, Wake N, Esteller M, Ogata T, Hata K, Nakabayashi K, Monk D. Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent establishment of imprinting. *Genome Res.* 24(4):554-69, 2014
- 2) Ohnishi K, Semi K, Yamamoto T, Shimizu M, Tanaka A, Mitsunaga K, Okita K, Osafune K, Arioka Y, Maeda T, Soejima H, Moriwaki H, Yamanaka S, Woltjen K, Yamada Y. Premature termination of reprogramming *in vivo* leads to cancer development through altered epigenetic regulation. *Cell*, 156(4), 663–677, 2014
- 3) Higashimoto K, Jozaki K, Kosho T, Matsubara K, Fuke T, Yamada D, Yatsuki H, Maeda T, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Koseki H, Ogata T, Soejima H. A novel de novo point mutation of the OCT-binding site in the *IGF2/H19*-imprinting control region in a Beckwith-Wiedemann syndrome patient. *Clin Genet*, published online: 4 December 2013
- 4) Rumbajan JM, Maeda T, Souzaki R, Mitsui K, Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Nishioka K, Harada R, Aoki S, Kohashi K, Oda Y, Hata K, Saji T, Taguchi T, Tajiri T, Soejima H, Joh K. Comprehensive analyses of imprinted differentially methylated regions reveal

- epigenetic and genetic characteristics in hepatoblastoma. *BMC Cancer*, 13:608, 2013
- 5) Miyazaki H, Higashimoto K, Yada Y, A. Endo T, Sharif J, Komori T, Matsuda M, Koseki Y, Nakayama M, Soejima H, Handa H, Koseki H, Hirose S, Nishioka K. Ash11 methylates Lys36 of histone H3 independently of transcriptional elongation to counteract Polycomb silencing. *PLoS Genet*, 9(11):e1003897, 2013
  - 6) Soejima H, Higashimoto K. Epigenetic and genetic alterations of the imprinting disorder Beckwith–Wiedemann syndrome and related disorders. *J Hum Genet*, 58(7): 402-409, 2013
  - 7) 大場隆、片渕秀隆、副島英伸. 間葉性異形成胎盤 Placental mesenchymal dysplasia (PMD)の診断と原因遺伝子. *病理と臨床* 32(5):535-540, 2014
  - 8) 東元健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann症候群と小児腫瘍. *遺伝子医学MOOK25 エピジェネティクスと病気 第2章エピジェネティクスと病気 4. 不妊・先天異常* 監修: 佐々木裕之、編集: 中尾光善、中島欽一、メディカルドゥ、大阪、pp195-201, 2013
  - 9) 前田寿幸、東元健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群と Silver-Russell 症候群. *小児科臨床* 66(増刊号):1308-1314, 2013
  - 10) Misago N, Joh K, Soejima H, Narisawa Y. Multiple mucocutaneous (palisaded encapsulated) neuromas may be a distinct entity. *JAMA Dermatol*, 149(4):498-500, 2013
  - 11) 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*, 21(11):1316-1319, 2013
  - 12) Yatsuki H, Higashimoto K, Jozaki K, Koide K, Okada J, Watanabe Y, Okamoto N, Tsuno Y, Yoshida Y, Ueda K, Shimizu K, Ohashi H, Mukai T, Soejima H. Novel Mutations of *CDKN1C* in Japanese Patients with Beckwith-Wiedemann Syndrome. *Genes & Genomics*, 35(2):141-147, 2013
  - 13) Adachi H, Takahashi I, Higashimoto K, Tsuchida S, Noguchi A, Tamura H, Arai H, Ito T, Masue M, Nishibori H, Takahashi T, Soejima H. Congenital hyperinsulinism in an infant with paternal uniparental disomy on chromosome 11p15: Few clinical features suggestive of Beckwith-Wiedemann syndrome. *Endocr J*. 60(4):403-408, 2013
  - 14) 副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群, Sotos 症候群. *周産期医学* 43(3):377-382, 2013
  - 15) Hiura H, Okae H, Miyauchi N, Sato F, Sato A, Van De Pette M, John RM, Kagami M, Nakai K, Soejima H, Ogata T, Arima T. Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies. *Hum Reprod*, 27(8):2541-2548, 2012
  - 16) Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Yoshinaga H, Jozaki K, Okada J, Watanabe Y, Aoki A, Shiozaki

- A, Saito S, Koide K, Mukai T, Hata K, Soejima H. Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Am J Med Genet Part A*, 158A:1670–1675, 2012
- 17) Yamaguchi M, Tashiro H, Motohara K, Ohba T, Katabuchi H. Primary strumal carcinoid tumor of the ovary: A pregnant patient exhibiting severe constipation and CEA elevation. *Gynecol Oncol*, 4:9–12, 2013
- 18) Yamaguchi M, Ohba T, Tashiro H, Yamada G, Katabuchi H. Human chorionic gonadotropin induces human macrophages to form intracytoplasmic vacuoles mimicking Hofbauer cells in human chorionic villi. *Cells Tissues Organs* 2013, 97:127-135
- 19) 大場 隆、坂口 勲、片渕秀隆. 「プロメテウス 婦人科がん最新医療」絨毛性疾患 3.絨毛性疾患の診断 (2)画像診断、産婦人科の実際、62(12):2027-2031, 2013
- 20) 大場 隆、三好潤也、片渕秀隆. 胎状奇胎の画像診断 日本臨牀. 2012, 70:704-706
2. 学会発表  
招待講演
- 1) 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
- 2) 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
- 3) 副島英伸. ゲノムインプリンティングとヒト疾患—ベックウィズ・ビーデマン症候群と間葉性異形成胎盤の解析を中心に. 第8回遺伝医学セミナー 2012.7.10. 西別府病院
- 4) 副島英伸. ゲノム・エピゲノム解析による間葉性異形成胎盤の原因遺伝子探索の現状. 熊本大学医学部産婦人科セミナー 2012.6.6. 熊本大学医学部一般発表
- 1) 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)
- 2) 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)
- 3) 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)
- 4) 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)
- 5) 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)
- 6) 佐々木かりん、右田王介、中林一彦、東元健、前田寿幸、橋本和法、松井英雄、副島英伸、高田史男、秦健一郎。胎児発育異常症例の網羅的ゲノム・エピゲノム解析。日本人類遺伝学会第 58 回大会 203.11.20-23. 仙台 (O111 プログラム・抄録集 p147)
- 7) 中山真悠子、岡陽一郎、近藤剛、村守克己、岩田はるか、城賀本敏宏、石田也寸志、東元健、副島英伸。経過観察中に Wilms 腫瘍を発症した父性ダイソミー型 Beckwith-Wiedemann 症候群の 1 例。第 88 回日本小児外科学会愛媛地方会 2013.11.17.
- 8) 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 2013.11.1-4. 筑波 (Y-1 抄録集 p43)
- 9) 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 2013.11.1-4. 筑波 (A-28 抄録集 p57)
- 10) 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)
- 11) 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、相馬賞受賞)
- 12) 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)
- 13) 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)
- 14) 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)
- 15) 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。H19DMR 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)
- 16) 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)
- 17) 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
- 18) 田山千春、アレックス マーティン、岡村浩司、緒方勤、副島英伸、デビッドモンク、秦健一郎、中林一彦. 全ゲノム片親性ダイソミー症例の DNA メチル化解析によるヒトインプリントーム解明. 第 35 回日本分子生物学会年会 2012.12.11-14. 福岡 (1W11-7プログラム p63; 1P-0118 プログラム p195)
- 19) 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 H19-DMR の変異解析. 第 35 回日本分子生物学会年会 2012.12.11-14. 福岡 (2P-0148 プログラム p300)
- 20) Janette M. Rumbajan, Toshiyuki Maeda, Tatsuro Tajiri, Ken Higashimoto, Ryota Souzaki, Tomoaki Taguchi, Hidenobu Soejima, Keiichiro Joh. Genome-wide Screening of Aberrant Methylations of Imprinted DMRs in Hepatoblastomas. 第 35 回日本分子生物学会年会 2012.12.11-14. 福岡 (2P-0454 プログラム p342)
- 21) Maeda T, Jozaki K, Yatsuki H, Higashimoto K, Soejima H. Genome-wide quantitative DNA methylation analysis of imprinted DMRs in patients with Beckwith-Wiedemann Syndrome by MALDI-TOF MS technology. The American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting (poster 3432T). 2012. 11. 6-10. San Francisco, California, USA
- 22) Nakabayashi K, Trujillo AM, Tayama C, Kagami M, Soejima H, Ogata T, Monk D, Hata K. DNA methylation analysis of reciprocal genome-wide UPDs to define imprinted differentially methylated regions in the human genome. The American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting (poster 3499T). 2012. 11. 6-10. San Francisco, California, USA
- 23) Ohtsuka Y, Jozaki K, Maeda T, Yatsuki H, Higashimoto K, Soejima H. The relationship between paternal uniparental disomy and clinical features in patients with Beckwith-Wiedemann syndrome. The American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting (poster 3519T). 2012. 11. 6-10. San Francisco, California, USA
- 24) 副島英伸、Janette Rumbajan、前田寿幸、東元 健、宗崎良太、田口智章、田尻達郎. 肝芽腫におけるインプリント DMR メチル化異常のゲノムワイド検索. 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012.10.24-27. 東京 (O-50 プログラム・抄録集 p139)
- 25) 中林一彦、田山千春、Trujillo Alex Martin、岡村浩司、緒方勤、副島英伸、Monk David、秦健一郎. 全ゲノム片親性ダイソミー症例の 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 57 回大会 2012.10.24-27.

- 東京 (O-52 プログラム・抄録集 p139)
- 26) 大塚泰史、城崎幸介、前田寿幸、八木ひとみ、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群における片親性父性ダイソミーの多様性と臨床症状との関連. 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012.10.24-27. 東京 (O-53 プログラム・抄録集 p140)
- 27) 前田寿幸、城崎幸介、八木ひとみ、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群エピ変異症例におけるインプリント DMR の網羅的メチル化解析. 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012.10.24-27. 東京 (O-54 プログラム・抄録集 p140)
- 28) 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 にメチル化異常を認めたインプリント疾患における H19-DMR の変異解析. 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012.10.24-27. 東京 (O-55 プログラム・抄録集 p154)
- 29) 東元 健、前田寿幸、八木ひとみ、岡田純一郎、佐々木健、吉浦孝一郎、渡邊順子、副島英伸. Perlman 症候群における DIS3L2 のエクソン 9 の欠失は LINE-1 間の非相同組換えによって生じる. 日本人類遺伝学会第 57 回大会 2012.10.24-27. 東京 (O-110 プログラム・抄録集 p140)
- 30) 高松裕一郎、前田寿幸、松尾宗明、東元健、河島雅到、松島俊夫、副島英伸. パイロシーケンス法を用いたもやもや病感受性遺伝子 RNF213 の c.14576G>A 多型解析. 日本脳神経外科学会第 71 回学術総会 2012.10.17-19. 大阪 (ポスター3P-08-P107-04)
- 31) 副島英伸、東元 健、田尻達郎. 肝芽腫におけるメチル化インプリント DMR のゲノムワイド検索. 第 71 回日本癌学会学術総会 2012.9.19-21. 札幌市 (Proceedings, p256, English oral session, E-2058)
- 32) 大町和美、三島祐子、松田圭子、副島英伸、岡本伸彦. Beckwith-Wiedemann 症候群の遺伝カウンセリング. 第 36 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 21012. 6. 8-10. 信州大学医学部
- 33) 外木秀文、奥原宏治、飯塚進、高橋伸浩、徳富智明、服部司、太田亨、副島英伸. Silver-Russell 症候群の遺伝学的異常の検討. 第 35 回小児遺伝学会学術集会 2012.4.19. 久留米市 (プログラム・抄録集 p28)
- 34) Janette M. Rumbajan、前田寿幸、田尻達郎、東元 健、宗崎良太、田口智章、副島英伸、城 圭一郎. 肝芽腫におけるインプリント DMR 異常メチル化のゲノムワイド検索. 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会 2012.5.14-15. 東京 (抄録集 p78, ポスターPA-44)
- 35) 田山千春、Alejandro Martin Trujillo、緒方勤、副島英伸、David Monk、秦健一郎、中林一彦. 全ゲノム片親性ダイソミー症例の DNA メチル化解析によるヒトインプリント遺伝子座位の網羅的解析. 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会 2012.5.14-15. 東京 (抄録集 p84, ポスターPA-56)
- 36) 前田寿幸、城崎幸介、八木ひとみ、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群エピ変異症例のゲノム網羅的 DNA メチル化解析. 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会 2012.5.14-15. 東京 (抄録集 p85, ポスターPA-58)
- 37) 大塚泰史、前田寿幸、城崎幸介、八木ひとみ、東元 健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群における片親性父性ダイソミーの多様性と臨床症状との関連. 第 6 回日本エピジェネティクス研究会年会 2012.5.14-15. 東京 (抄録集 p128, ポスターPA-64)

- 38) 青木早織、本原剛志、佐々木瑠美、宮原 陽、田代浩徳、大場 隆、片渕秀隆. P57kip2 を用いた免疫組織化学的染色が部分胞状奇胎との鑑別に有用であった胎児共存全胞状奇胎の一例. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会 (2012.4.13-15) 神戸国際展示場、神戸市
- 39) 岡島 翠、坂口 勲、大場 隆、片渕秀隆. 本邦における間葉性異形成胎盤の臨床像. 第 64 回日本産科婦人科学会学術講演会 (2012.4.13-15) 神戸国際展示場、神戸市
- 40) 大場 隆. 胞状奇胎の画像診断. 第 13 回 KuGOG (2012.6.7) ホテル日航熊本
- 41) Ohba T, Chiga M, Okajima M, Sakaguchi I, Katabuchi H. Clinical Aspects of Placental mesenchymal dysplasia. 3rd Asian-Kumamoto Joint Symposium (2012.9.8) Asian Medical Center, Seoul, Korea
- 42) Ohba T, Miyoshi J, Fukunaga M, Katabuchi H. Clinical features of histologically confirmed early molar pregnancies. International federation of Placental Associations (IFPA) 2012. Workshop 4; Gestational Trophoblastic Disease (GTD) (2012.9.18-20) International Conference Center Hiroshima, Hiroshima, Japan
- 43) Okajima M, Sakaguchi I, Ohba T, Higashimoto K, Soejima H, Fukunaga M, Katabuchi H. Placental mesenchymal dysplasia: Clinical features, histopathological findings and diagnosis. IFPA2012. (2012.9.18-20) International Conference Center Hiroshima, Hiroshima, Japan
- 44) Ohba T, Miyoshi J, Fukunaga M, Katabuchi H. Clinical manifestations of early stage hydatidiform mole. The 3rd Biennial Meeting of Asian Society of Gynecologic Oncology / The 55th Meeting of Japan Society of Gynecologic Oncology. (2013.12.13-15) The Westin Miyako Kyoko, Japan
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許取得：なし
  2. 実用新案登録：なし
  3. その他：なし

## II. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
東元健、副島英伸	Beckwith-Wiedemann症候群と小児腫瘍	監修：佐々木裕之、編集：中尾光善、中島欽一	遺伝子医学MOOK25 エピジェネティクスと病気	メディカルドゥ	大阪	2013	195-201

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Court F, Tayama C, Romanelli V, Martin-Trujillo A, Iglesias-Platas I, Okamura K, Sugahara N, Simón C, Moore H, Harness JV, Keirstead H, Sanchez-Mut JV, Kaneki E, Lapunzina P, Soejima H, Wake N, Esteller M, Ogata T, Hata K, Nakabayashi K, Monk D.	Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent establishment of imprinting.	Genome Research	24(4)	554-69	2014
Ohnishi K, Semi K, Yamamoto T, Shimizu M, Tanaka A, Mitsumaga K, Okita K, Osafune K, Arioka Y, Maeda T, Soejima H, Moriwaki H, Yamanaka S, Woltjen K, Yamada Y.	Premature termination of reprogramming <i>in vivo</i> leads to cancer development through altered epigenetic regulation.	Cell	156(4)	663-677	2014
大場隆、片瀨秀隆、副島英伸.	間葉性異形成胎盤Placental mesenchymal dysplasia (PMD)の診断と原因遺伝子	病理と臨床	32(5)	535-540	2014
Higashimoto K, Jozaki K, Kosho T, Matsubara K, Fuke T, Yamada D, Yatsuki H, Maeda T, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Koseki H, Ogata T, Soejima H.	A novel de novo point mutation of the OCT-binding site in the <i>IGF2/H19</i> -imprinting control region in a Beckwith-Wiedemann syndrome patient.	Clin Genet			published online:4 December, 2013

Rumbajan JM, Maeda T, Souzaki R, Mitsui K, Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Nishioka K, Harada R, Aoki S, Kohashi K, Oda Y, Hata K, Saji T, Taguchi T, Tajiri T, Soejima H, Joh K.	Comprehensive analyses of imprinted differentially methylated regions reveal epigenetic and genetic characteristics in hepatoblastoma.	BMC Cancer	13	608	2013
Miyazaki H, Higashimoto K, Yada Y, A. Endo T, Sharif J, Komori T, Matsuda M, Koseki Y, Nakayama M, Soejima H, Handa H, Koseki H, Hirose S, Nishioka K.	Ash11 methylates Lys36 of histone H3 independently of transcriptional elongation to counteract Polycomb silencing.	PLoS Genet	9(11)	e1003897	2013
Soejima H, Higashimoto K.	Epigenetic and genetic alterations of the imprinting disorder Beckwith-Wiedemann syndrome and related disorders.	J Hum Genet	58(7)	402-409	2013
前田寿幸、東元健、副島英伸.	Beckwith-Wiedemann症候群とSilver-Russell症候群.	小児科臨床	66(増刊号)	1308-1314	2013
Misago N, Joh K, Soejima H, Narisawa Y.	Multiple mucocutaneous (palisaded encapsulated) neuromas may be a distinct entity.	JAMA Dermatol	149(4)	498-500	2013
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 <i>DIS3L2</i> exon 9 due to non-allelic homologous recombination between LINE-1s in a Japanese patient with Perlman syndrome.	Eur J Hum Genet	21(11)	1316-1319	2013
Yatsuki H, Higashimoto K, Jozaki K, Koide K, Okada J, Watanabe Y, Okamoto N, Tsuno Y, Yoshida Y, Ueda K, Shimizu K, Ohashi H, Mukaichi T, Soejima H.	Novel Mutations of CDKN1C in Japanese Patients with Beckwith-Wiedemann Syndrome.	Genes & Genomics	35(2)	141-147	2013

Adachi H, Takahashi I, Higashimoto K, Tsuchida S, Noguchi A, Tamura H, Arai H, Ito T, Masue M, Nishibori H, Takahashi T, Soejima H.	Congenital hyperinsulinism in an infant with paternal uniparental disomy on chromosome 11p15: Few clinical features suggestive of Beckwith-Wiedemann syndrome.	Endocr J	60(4)	403-408	2013
副島英伸	Beckwith-Wiedemann症候群, Sotos症候群	周産期医学	43(3)	377-382	2013
Hiura H, Okae H, Miyachi N, Sato F, Sato A, Van De Pette M, John RM, Kagami M, Nakai K, Soejima H, Ogata T, Ariama T.	Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies.	Hum Reprod	27(8)	2541-2548	2012
Higashimoto K, Nakabayashi K, Yatsuki H, Yoshinaga H, Jozaki K, Okada J, Watanabe Y, Aoki A, Shiozaki A, Saito S, Koide K, Mukai T, Hata K, Soejima H.	Aberrant methylation of H19-DMR acquired after implantation was dissimilar in soma versus placenta of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome.	Am J Med Genet Part A	158A	1670-1675	2012
Yamaguchi M, Ohba T, Tashiro H, Yamada G, Katabuchi H	Human chorionic gonadotropin induces human macrophages to form intracytoplasmic vacuoles mimicking Hofbauer cells in human chorionic villi.	Cells Tissues Organs	97(2)	127-135	2013
Yamaguchi M, Tashiro H, Motohara K, Ohba T, Katabuchi H.	Primary strumal carcinoid tumor of the ovary: A pregnant patient exhibiting severe constipation and CEA elevation.	Gynecol Oncol	4	9-12	2013
大場隆、坂口勲、片瀨秀隆.	「プロメテウス 婦人科がん最新医療」絨毛性疾患 3.絨毛性疾患の診断 (2)画像診断	産婦人科の実際	62(12)	2027-2031	2013
大場 隆, 三好潤也, 片瀨秀隆.	胞状奇胎の画像診断	日本臨牀	70	704-706	2012

### III. 研究成果の刊行物・別冊