

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）  
遺伝学的検査の実施拠点の在り方に関する研究  
分担研究報告書

全エクソーム解析により解決できた原因不明の周産期異常家系

分田研究者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝学・  
教授

原因不明の3回の胎児異常と4回の稽留流産を経験した1家系の原因解明にむけて母・健常児・異常胎児の3例のDNAを用いて全エクソーム解析を行い、IFT122 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を同定した。1例の稽留流産絨毛からDNAを採取し、同変異の有無を確認したところ同じく複合ヘテロ接合性変異を同定した。以上から本家系で認められた頻回の周産期異常の原因がIFT122の変異によると考えられた。

## 1. 研究目的

原因不明の周産期異常が繰り返す家系に、産科医が遭遇することは稀ではない。本研究は、3回の胎児異常（胎児水腫で13週で中期中絶1例、13週で子宮内胎児死亡1例、骨系統疾患で21週で中期中絶）、及び6-8週で4回繰り返した稽留流産を経験した一家系の原因を全エクソーム解析で明らかにすることを目的とした。

## 2. 研究方法

### 1. 検体収集

母、健常児、中絶胎児のそれぞれより血液を採取ゲノムDNAを抽出した。

### 2. 次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析

それぞれから3µgのゲノムDNAを用いてSureselect V4でエクソン領域を抽出後、HiSeq 2000を用いてペアエンドシーケンスを行い、Novoalign>GATK>Annovarによる変異候補絞り込みを行った。同胞発症が多発していることを考慮し常染色体劣性遺伝形式を特に重視してvariant探索を行った。

### 3. 稽留流産物の検討

変異を発見した場合、稽留流産絨毛（パラフィン固定）からもDNAを抽出して変異の有無を確認する。

## 3. 研究結果

3例の全エクソーム解析から1125バリエーションを抽出、症例のみに認められる劣性変異に着目すると、IFT122の複合ヘテロ接合性変異

c.622delG(p.Glu208Serfs\*51)/

c.1636G>A(Gly546Arg)を認めた。

c.622delG(p.Glu208Serfs\*51)は母親由来であった。

c.1636G>A(Gly546Arg)は未解析の父由来と考えられた。

4回目の稽留流産絨毛からDNAを抽出後

PCR-cloningシーケンスを行い同2個の変異が認められることを確認した。

## 4. 考察

IFT122はSensenbrenner症候群の責任遺伝子で骨系統疾患を呈していた中絶胎児の表現型と矛盾なかった。よって妊娠中期に胎児死亡や胎児異常で中絶した胎児の遺伝的原因はIFT122の複合ヘテロ接合性変異が原因であると判断した。4回の稽留流産のうち少なくとも1回の流産物に同複合ヘテロ接合性変異を認めたため、同変異が稽留流産の原因である可能性がある。

## 5. 結論

原因不明の多発する周産期異常家系の原因解明に全エクソーム解析が有用であった。

## 6. 研究発表

### 1. 論文発表

Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saitu H, Miyake N, Saito S, and Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed causative biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. Clin Genet (in press)

### 2. 学会発表等

平成 24 年度東京医科歯科大学大学院特別講義・松本直通「神経発達異常のエクソーム解析」平成 25 年 1 月 15 日・東京医科歯科大学・東京

市民・研究者シンポジウム 第 3 回「難病研究と創薬」松本直通「希少疾患ゲノム研究の現状と将来」平成 25 年 1 月 27 日千里ライフサイエンスセンター・豊中

NSFC-JST Workshop on Genomics for Clinical Studies. Naomichi Matsumoto, “Mendelian Exome”, Le Meridien She Shan Shanghai, Shenshan, Shanghai, China, Feb 4, 2013

大分大学医学系研究科・特別講義・松本直通「ヒト遺伝性疾患の最前線」平成 25 年 2 月 18 日・大分大学医学部・大分

福島県立医大・平成 24 年度次世代医学セミナー・シンポジウム「ダイナミックなゲノム-遺伝子解析の最前線-」松本直通・招聘講演「ヒト疾患エクソーム」平成 25 年 2 月 28 日福島県立医大・福島

第 4 回福岡胎児医療フォーラム・松本直通(特別講演)「ゲノム解析の技術革新と医学」平成 25 年 3 月 1 日・天神ビル・福岡

第 4 回 Pediatric Blood Master Conference・松本直通(特別講演)「次世代シーケンサーを用いた遺伝性疾患解析」平成 25 年 3 月 5 日・名古屋大学医学部付属病院・名古屋

臨床研究情報センター研修会・松本直通「遺伝性難病のゲノム解析：現状と展望」平成 25 年 4 月 10 日@臨床研究情報センター・神戸

九州大学産科婦人科学講演・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 5 月 15 日@九州大学医学部臨床研究棟・福岡

The 10<sup>th</sup> International Workshop on Advanced Genomics. Naomichi Matsumoto “Mendelian Exome Analysis” @ National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013

European Conference of Human Genetic 2013. N. Matsumoto, T. Nishimura, K. Muramatsu, H. Kodera, S. Kumada, K. Sugai, E. Kasai-Yoshida, N. Sawaura, H. Nishida, A. Hoshino, F. Ryujin, S. Yoshioka, H. Arakawa, M. Kato, N. Mizushima, H. Saitu. De novo mutations in the autophagy gene encoding WDR45 (WIPI4) cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood June 9, 2013 @Palais des Congrès, Paris, France

順天堂大学医学部セミナー・松本直通「変革期を迎えた疾患ゲノム解析」平成 25 年 6 月 26 日@順天堂大学医学部・東京

第 17 回小児分子内分泌研究会特別講演・松本直通「次世代シーケンサーを用いてわかってきたこと」平成 25 年 7 月 7 日札幌北広島クラッセホテル

次世代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発表会・松本直通「遺伝性難病疾患の網羅的エクソーム解析拠点の構築」平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京

第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム  
1・松本直通「疾患ゲノム解析における次世代シー  
ケンサーの有用性」平成 25 年 7 月 19 日アクトシテ  
ィ 浜松コンgresセンター・浜松

CiRA genomics epigenomics and bioinformatics  
seminar series VIII. 松本直通「次世代シーケン  
サーを用いた疾患ゲノム解析」平成 25 年 8 月 23  
日@CiRA 京都大学

厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究  
事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平  
成 25 年度第 1 回ワークショップ 松本直通「コン  
トロールデータベースに関する話題」平成 25 年 8  
月 24 日@京都大学（芝蘭会館）

神奈川県立循環器呼吸器病センター職員研修会  
松本直通「新たな時代を迎えた遺伝性疾患解析」平  
成 25 年 8 月 19 日@神奈川県立循環器呼吸器病セン  
ター・横浜

現場の会第三回研究会基調講演・松本直通「NGS が  
もたらしたヒト疾患ゲノム解析のパラダイムシフ  
ト」平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場@神戸

第 23 回遺伝医学セミナー講義・松本直通「遺伝性  
疾患の責任遺伝子単離法」平成 25 年 9 月 7 日三井  
ガーデンホテル千葉@千葉市

第 22 回発達腎研究会・特別講演・松本直通「次世  
代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析:現状と限  
界」平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター@  
高槻市

第 18 回山形小児神経研究会・特別講演・松本直通  
「次世代シーケンス解析で分かってきたこと」平成  
25 年 9 月 27 日パレスグランデール@山形市

第 58 回日本人類遺伝学会大会・シンポジスト・松

本直通「ヒト疾患エクソーム解析の現状と課題」平  
成 25 年 11 月 23 日@江陽グランドホテル仙台  
希少疾患・難病の全エクソーム解析 -現状と課題-  
松本直通「希少疾患・難病の全エクソーム解析-現  
状と課題-」平成 25 年 12 月 3 日日経バイオテック「希  
少疾患・難病の治療薬開発におけるゲノム活用」@  
秋葉原コンベンションホール

東京大学大学院人類遺伝学特論 II・Naomichi  
Matsumoto「Rare Variants in Human Diseases」平  
成 25 年 12 月 4 日@東京大学

## 7. 知的所有権の取得状況

1. 特許の取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし