

「次世代シーケンサーを用いた遺伝性ミオパチーの原因解明」

研究代表者 西野 一三

(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第一部 部長

研究要旨

次世代型シーケンサーを用い、ヒトゲノム全エクソンまたはターゲット遺伝子全エクソンのシーケンス情報を網羅的に取得し、候補遺伝子を抽出する系を構築した。国立精神・神経医療研究センター骨格筋レポジットリー登録検体のうち診断未確定の遺伝性筋疾患例を対象として全エクソーム解析を行った。これまでに288エクソームの解析を終了した。Tubular aggregateミオパチー、 α -ジストログリカノパチー、呼吸障害を伴うミオパチーに特に注目して解析を進め、原因遺伝子変異同定に至った。また、共同研究によりネマリンミオパチー新規疾患関連遺伝子としてKLHL40, KLHL41を見いだした。主に先天性ミオパチー原因遺伝子39遺伝子を対象として、MiSeqを用いたターゲットリシーケンシングによる網羅的既知遺伝子スクリーニングを行った。変異未確定の先天性ミオパチー計120例では、約半数で変異を同定できた。臨床応用には、診断効率を上げるべく、ほぼ全ての既知遺伝子をカバーするスクリーニングシステムの立ち上げが必要と考えられた。ミトコンドリア病に関しては、7368箇所の領域を解析するシステムを構築した。一例で新たな原因遺伝子を同定し、現在検証実験を行っている。候補遺伝子変異が得られても、その病原性を証明するためには、疾患特異的に実証実験を行う必要がある。今回、HAP1細胞にCRISPR/Cas9システムを用いてISPD、FKTN、FKRP、GMPPB遺伝子KO細胞を作製することに成功し、病原性をスクリーニングに活用できることを示した。今後迅速な変異病原性証明に役立つと期待される。

研究分担者

野口 悟 ・(独)国立精神・神経医療研究
センター 神経研究所
疾病研究第一部 室長

林 由起子 ・(独)国立精神・神経医療研究
センター 神経研究所
疾病研究第一部 室長
(H25.7.31まで)
東京医科大学 主任教授
(H25.8.1より現在まで)

後藤 雄一・(独)国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部 部長

小牧 宏文・(独)国立精神・神経医療研究センター 病院小児神経科 医長

研究協力者

遠藤ゆかり・(独)国立精神・神経医療研究センター トランスレーショナルメディカルセンター

清水 玲子・(独)国立精神・神経医療研究センター トランスレーショナルメディカルセンター

竹内 芙美・(独)国立精神・神経医療研究センター トランスレーショナルメディカルセンター

高山 和子・(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所

西村 洋昭・(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所

ドンミンルイ・(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所

舟山 亮 ・東北大学大学院医学系研究科附属創生応用医学研究センター 助教

辻 省次 ・東京大学 教授

松本 直通・横浜市立大学 教授

竹下 絵里・(独)国立精神・神経医療研究センター 病院

佐藤有希子・(独)国立精神・神経医療研究センター 病院

石山 昭彦 ・(独)国立精神・神経医療研究センター 病院

A. 研究目的

原因不明の遺伝性ミオパチー例に対して、次世代シーケンサーを用いたエクソームのリシーケンス解析を行って原因遺伝子を同定し、分子病態を明らかにする。

B. 研究方法

(1) 全エクソーム解析

国立精神・神経医療研究センター (NCNP)骨格筋レポジトリー登録検体のうち診断未確定の遺伝性筋疾患例を対象としてゲノムDNAを抽出し、これまでに288エクソームを解析した。本年度は、中でも、Tubular aggregateミオパチー、-ジストログリカノパチー、呼吸筋障害を伴うミオパチーに着目して解析を進めた。抽出したゲノムDNAは200bpsの長さで断片化後アダプター分子を接合し、エクソンの部分配列DNAをプローブとし、ヒト全エクソームを濃縮した。得られたDNA ライブラリーを用いて、ゲノム情報を収集した。得られたゲノム情報を構築したパイプラインを用いて解析した。ヒト染色体DNAの参照配列は、hg19を用いた。BWAを用いてマッピングを行い、Samtoolsを用いて一塩基変異多型(SNPs)を抽出し、さらに、得られたSNPs情報を、dbSNPや1000Genome等の公共データベースを用いて比較した。未報告の新規のSNPsのみを抽出するパイプラインを構築した。

(2) 網羅的既知遺伝子スクリーニング

先天性ミオパチーの遺伝子診断は臨床病理学的類縁疾患が多い、巨大遺伝子が多いなどの理由により困難を伴う場合が多い。そこで遺伝子診断を効率的に進めるべく既知遺伝子を網羅的にスクリーニングすることを目的に、パーソナル型次世代シーケンサーMiSeqを用いて、先天性ミオパチー関連 39 遺伝子を対象としてターゲットリシーケンシングを行った。これまでに行った計 120 例の変異未確定の先天性ミオパチーについての解析について、診断効率を検討した。

(3) 遺伝性ミオパチー患者臨床情報の集積

遺伝性ミオパチーの病因は多因性であり、かつ未だ病因が不明な例も多く存在する。また遺伝性ミオパチーでこれまでに同定されている原因遺伝子の多くが、Nebulin や RYR1 などの巨大遺伝子

であり、例え原因遺伝子が判明している疾患であっても従来のサンガー法では遺伝子診断を行うことは困難である。そこで遺伝性ミオパチーの原因解明の基礎となる臨床データの集積を行った。

(4) 遺伝子変異病原性の実証実験

候補遺伝子変異の病原性を証明するためには、疾患特異的に実証実験を行う必要がある。本研究では、エキソスキップによる遺伝子ノックダウン法を用いた劣性遺伝性筋疾患のモデルマウス的高速作成の試みと得られたマウスの表現型の解析を行った。

(5) ミトコンドリアミオパチーの原因解明

約 800 のミトコンドリア関連タンパクをコードする遺伝子配列を調べるために、7368 箇所の領域をキャプチャーする Haloplex®を用いた解析システムを構築した。生化学検査において複数の呼吸鎖酵素活性低下及びミトコンドリア DNA 由来タンパクの翻訳活性の低下している 2 検体を選定した。患者 1 は 1 ヶ月の男児で Leigh 症候群を呈し、患者 2 は 16 歳の男性で高乳酸血症を呈している。いずれの患者の両親も血族婚ではなかった。

(倫理面への配慮)

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守して研究を遂行する。国立精神・神経医療研究センターの筋レポジトリ検体は、検体採取時に、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認を得た書式を用いて、各種診断への同意とともに、神経・筋疾患の病態解明と治療法開発研究に対する検体利用に対してインフォームドコンセントを得ている。この同意を得た検体は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会で承認を得た研究に対してのみ使用される。研究を行う際には、全ての検体は匿名化されて、各種試料は検体番号で管理される。結果の発表に際しても個人情報は一切提示されない。

すべての動物実験は、(独)国立精神・神経医療研究センター神経研究所動物実験に関する倫理指針に従い、同研究所小型実験動物倫理問題検討委員会にて審査・承認を得ている。

また、IBISSを用いた画像集積に関しても国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

(1) 全エクソーム解析

これまでに 288 エクソームを解析した。本年度特に注目した Tutubular aggregate ミオパチー、 α -ジストログリカノパチー、呼吸筋障害を伴うミオパチーについては、以下のような結果を得た。

a) Tutubular aggregate ミオパチー
GFPT1 遺伝子変異を昨年度までに見いだしたサウジアラビア人 1 家系に加えて、新たに日本人患者 1 名に見いだした。これに加えて、3 家系に ORA11 遺伝子変異を、1 家系に STIM1 遺伝子変異を見出した。

b) α -ジストログリカノパチー
11 例で biallelic な変異を同定した。8 例の日本人患者のうち、GTDC2 変異は 3 例に、ISPD 変異は 2 例に、DAG1、FKRP、GMPPB 変異はそれぞれ 1 例に見いだされた。

c) 呼吸筋障害を伴うミオパチー
一例で MEGF10 遺伝子に null 変異を認めた。同例は、呼吸筋障害が早期に出現し、嚥下障害も伴っていることから、本邦で初めての Early-onset myopathy with areflexia, respiratory distress and dysphagia (EMARDD) の例であることが明らかとなった。

d) ネマリンミオパチー
共同研究により新規疾患関連遺伝子として KLHL40, KLHL41 を見いだした。邦では、共通変異を有する KLHL40 変異例が多く認められ、全例が超重症乳児型であった。

(2) 網羅的既知遺伝子スクリーニング

39 遺伝子について全エクソンのター

ゲットリシーケンシングを行い、網羅的既知原因遺伝子変異スクリーニングを行った。120例の変異未確定の先天性ミオパチー例の約半数で変異を同定した。

(3) 遺伝性ミオパチー患者臨床情報の集積

先天的な筋力低下、筋緊張低下を示すミオパチー群では、全56例(MRI 45例、CT 48例)の骨格筋画像登録を行った。セントラルコア病、中心核ミオパチー等の、原因遺伝子が単一あるいは比較的少数である疾患群では、遺伝子変異の種類と筋選択性としての表現型の相関が明瞭で、画像上の症例間の相違も少なかった。そのような症例群のなかでRYR1変異を有するセントラルコア病は、大腿直筋が腫大する所見を全例に認めており、進行例や年長例でもその所見を保っている等、経時的な変化の有無についても検討することが可能であった。

(4) 遺伝子変異病原性の実証実験

HAP1細胞にCRISPR/Cas9システムを用いてISPD、FKTN、FKRP、GMPPB遺伝子KO細胞を作製することに成功し、病原性をスクリーニングに活用できることを示した。IIH6抗体スクリーニングにより、40-60個程度の染色陰性クローンが得られた。DAG1-KO細胞へのp.V74I変異及びp.D111N変異DAG1 cDNAの導入により、IIH6抗体陰性であった。野生型cDNAではIIH6抗体陽性となった。各々の変異DAG1 cDNA導入細胞で、 α -ジストログリカンのコアタンパク質の発現は確認された。これらの変異により α -ジストログリカンは糖鎖不全をおこすことが予測された。さらに、GTDC2-KO細胞へのp.M165T変異及びp.P253L変異GTDC2 cDNAの導入についても、野生型cDNAで見られるようなIIH6抗体での染色性は回復しなかった。以上の結果から、これらの変異はGTDC2の機能不全を引き起こすことが予測された。

(5) ミトコンドリアミオパチーの原因解明

7368の全ターゲット領域で見いだされた変異をマッピング後、SNPデータベース等で絞り込み、更に常染色体劣性遺伝形式を想定して、候補遺伝子変異を絞り込んだ。患者1で見いだされた遺伝子Aの変異は複合ヘテロ接合型であった。さらに、患者由来細胞に正常な配列をもつ発現ベクターを導入して、活性低下が回復することを確認した。患者2で見いだされた遺伝子Bが病因かどうかの確定作業は現在も継続中である。

D. 考察

次世代シーケンサーは平成23年度末に納入され、本格稼働ができる体制が整った。

次世代シーケンサーのSNVデータを解析すべく、BWAやSamtoolsを組み合わせたパイプラインを構築し、これまでに288例のエクソームを終えた。今年度は、特に、Tubular aggregate ミオパチー、 α -ジストログリカノパチー、呼吸筋障害を伴うミオパチーに注目して解析を進め、原因遺伝子変異を同定した。特にORA1遺伝子は新たな原因遺伝子同定である。その他、STIM1、GTDC2、ISPD、DAG1、GMPPB、MEG10は全てアジア域で初めての患者同定であり、次世代解析の有用性が示された。また、共同研究により新たなネマリンミオパチー原因遺伝子を同定することができた。

依然として、全エクソーム解析を行っても原因変異の絞り込みに成功していない例も多いが、昨年度までと比較して変異動定例が増加した。これは、日本人多型のデータベースが公開されたことと、松本直通教授(横浜市立大学・研究協力者)の協力が得られ、インハウス多型データによる候補変異の絞り込みを行えたことが大きいと考えられる。このことは、本邦における多型データベースの構築の重要性を明瞭に示している。

先天性ミオパチーを中心とする既知遺伝子のハイスループット変異スクリーニングに着いては、約半数例で何らかの変異が同

定された。ただし、劣性遺伝が想定されるにも関わらず、ヘテロ接合型変異が一つしか見出されない例などもあり、診断が確定できたと考えられるのは、全体の約1/3であった。筋疾患遺伝子は大きなものが多く、デスクトップ型のシーケンサーを用いたターゲットリシーケンシング法では、全既知遺伝子を1回でカバーすることは困難である。今後診断スクリーニングへと臨床応用を目指すに当たっては、疾患群ごとの既知遺伝子変異スクリーニングシステムを構築し、それで変異が見いだされない場合には全エクソーム解析を行うような2段階のシステム構築が望ましいと考えられた。

次世代シーケンサーを用いた遺伝性ミオパチーの原因解明に関する臨床情報の集積については、次世代シーケンサー解析に併せて対象症例の臨床情報ならびに画像情報を順調に集積しつつある。特にセントラルコア病、中心核ミオパチー等の先天性ミオパチーにおいては、遺伝子型と画像上の変化に相関が認められ、今後の診断の有用性が示された。

遺伝子変異病原性の実証実験では、HAP1細胞での α -dystroglycan の糖鎖合成を指標として、調べたい変異遺伝子のノックアウト株に、同定した変異をもつ遺伝子を導入し、相補性試験を行った。この方法では、相補出来れば変異ではなく、相補出来なければ機能不全変異と考えられる。すべての原因遺伝子のノックアウト株を持てば、すべて同じ系で評価出来るはずである。また、HAP1細胞は半数体であり、現在のゲノムエディティングの方法によりノックアウト株が容易く取得出来る。この方法が広く整備されれば、非常に容易く、短期間に、

α -dystroglycanopathy の変異評価ができ有用であると考えられる。

ミトコンドリアミオパチーの原因解明については、Haloplex®を用いて7368箇所の領域をキャプチャーするシステムを構築し、生化学的に呼吸鎖酵素複合体機能低下症と診断されている例2症例に対して解析を試みたが、それぞれに病因の可能性の高い遺伝子変異がどうていされたことから、シ

ステムが有効に機能している可能性があると考えられた。ただし、病因確定のためには機能解析が必要であり、現在、表現系回復実験を行っている。

E. 結論

次世代シーケンサーを用いた遺伝性筋疾患の全エクソーム解析パイプラインの構築が完了し、これまでに288エクソームの解析を終えた。今回新たに、Tubular aggregate ミオパチー、 α -ジストログリカンパチー、呼吸筋障害を伴うミオパチーに注目して解析を進め、原因遺伝子変異を同定した。また、共同研究により新たなネマリンミオパチー原因遺伝子を同定することができた。このことは全エクソーム解析が臨床的遺伝子診断に有用であることを示している。日本人多型データベースが多少なりとも整備されてきたこともあり、以前と比較して原因変異同定に至る確率が高くなかったが、依然として原因解明に至らない例も多い。今後もデータベースの充実や技術的問題の克服により更に診断精度が上がっていくものと予想される。一方、ターゲットリシーケンシングによる既知遺伝子に対する網羅的既知遺伝子スクリーニング法は、確実に一部の患者で変異を同定できることが示されたが、やはり変異が同定できない例も多い。これは、そもそも選択的に遺伝子を解析していることが一つの原因と考えられ、完全な臨床応用には、より広範に既知遺伝子をカバーすることに加えて、一次スクリーニングで変異が同定できなかった場合には、全エクソーム解析を2次的に行う2段階のシステムが望ましいと考えられた。HAP1細胞は遺伝子変異病原性の確認に有用であることが示された。ミトコンドリア病の核遺伝子についても、探索的に施行した解析において、有力候補となる劣性変異が2例において見出された。今後は変異原性に関する更なる検討が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 著書、総説

須藤 章, 他. *ACTA1* 遺伝子変異を有する重症乳児型ネマリンミオパチーの兄弟例. 脳と発達. 45(6): 452-456, 2013

林由起子: 筋ジストロフィー. 検査と技術. 41(6): 448-453, Jun, 2013

林由起子: Emery Dreifuss 型筋ジストロフィー. 筋疾患診療ハンドブック. (監修: 内野 誠, 編集: 青木正志), 中外医学社, 東京, pp160-164, Jun, 2013

後藤雄一. ミトコンドリア病, 「遺伝医学やさしい系統講義 18 講」, メディカル・サイエンス・インターナショナル, 東京, pp.95-111, 2013

後藤雄一. ミトコンドリア病, 「内科学, 第 10 版」, 朝倉書店, 東京, pp.2339-2342, 2013

2) 原著論文

Kajino S, Ishihara K, Goto K, Ishigaki K, Noguchi S, Nonaka I, Osawa M, Nishino I, Hayashi YK: Congenital fiber type disproportion myopathy caused by LMNA mutations. J Neurol Sci. [Epub 2014 Mar] ahead of print

Cho A, Hayashi YK, Monma K, Oya Y, Noguchi S, Nonaka I, Nishino I: Mutation profile of the *GNE* gene in Japanese patients with distal myopathy with rimmed vacuoles (GNE myopathy). J Neurol Neurosurg Psychiatry. [Epub 2013 Sep] ahead of print

Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, Todd EJ, Swanson LC, Shiina M, Ogata K, Hsu C, Clarke NF, Darras BT, Farrar MA, Hashem A, Manton ND, Muntoni F, North KN, Sandaradura SA, Nishino I, Hayashi YK,

Sewry CA, Thompson EM, Yau KS, Brownstein CA, Yu TW, Allcock RJ, Davis MR, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Alkuraya FS, Laing NG, Beggs AH: Identification of KLHL41 Mutations Implicates BTB-Kelch-Mediated Ubiquitination as an Alternate Pathway to Myofibrillar Disruption in Nemaline Myopathy. Am J Hum Genet. 93(6): 1108-1117, Dec, 2013

Yonekawa T, Komaki H, Okada M, Hayashi YK, Nonaka I, Sugai K, Sasaki M, Nishino I: Rapidly progressive scoliosis and respiratory deterioration in Ullrich congenital muscular dystrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 84(9): 982-988, Sep, 2013

Liang WC, Hayashi YK, Ogawa M, Wang CH, Huang WT, Nishino I, JongYJ: Limb-girdle muscular dystrophy type 2I is not rare in Taiwan. Neuromuscul Disord. 23(8): 675-681, Aug, 2013

Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, Miyake N, Tsurusaki Y, Doi H, Saito H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadorai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, Matsumoto N, Laing NG: Mutations in KLHL40 Are a Frequent Cause of Severe Autosomal-Recessive Nemaline Myopathy. Am J Hum. 93(1): 6-18, Jul, 2013

Murakami N, Hayashi YK, Oto Y, Shiraishi M, Itabashi H, Kudo K, Nishino I, Nonaka I, Nagai T: Congenital generalized lipodystrophy type 4 with muscular dystrophy: Clinical and pathological manifestations in early childhood. *Neuromuscul Disord*. 23(5): 441-444, May, 2013

Ishiyama A, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Itagaki Y, Matsuzaki K, Nakura M, Nishino I, Goto Y, Sasaki M. Unusual exocrine complication of pancreatitis in mitochondrial disease. *Brain Dev* 35:654-659, 2013 August

Goto M, Komaki H, Saito T, Saito Y, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Nishino I, Goto Y. MELAS phenotype associated with m.3302A>G mutation in mitochondrial tRNA-Leu(UUR) gene. *Brain Dev* 36: 180-182, 2014 Feb

Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Nishino I, Kawai M, Kimura E, Takeda S. Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients. *J Neurol*. In press.

Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M. Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of muscular dystrophy (Remudy). *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:60

Nakata T, Ito M, Azuma Y, Otsuka K, Noguchi Y, Komaki H, Okumura A, Shiraishi K, Masuda A, Natsume J, Kojima S, Ohno K. Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. *Hum Mutat*. 2013;

34:997-1004.

Yonekawa T, Komaki H, Saito Y, Takashima H, Sasaki M. Congenital hypomyelinating neuropathy attributable to a de novo p.Asp61Asn mutation of the myelin protein zero gene. *Pediatr Neurol*. 2013; 48:59-62

2 . 学会発表

1) 国際学会

Nishino I, Wehl C: Muscle biopsy. EUROPEAN NEURO MUSCULAR CENTRE (ENMC) WORKSHOP, Bussum, The Netherlands (NH Jan Tabak Hotel), 11.3, 2013 (11.1-11.3)

Nishino I: Danon disease. EUROPEAN NEURO MUSCULAR CENTRE (ENMC) WORKSHOP, Bussum, The Netherlands (NH Jan Tabak Hotel), 11.1, 2013 (11.1-11.3)

Nishino I: Dysfunction of autophagy in MDs. EUROPEAN NEURO MUSCULAR CENTRE (ENMC) WORKSHOP, Bussum, The Netherlands (NH Jan Tabak Hotel), 11.1, 2013 (11.1-11.3)

Nishino I: Natural history studies and therapy development in GNE myopathy. TREAT-NMD Alliance Meeting, Newcastle, UK (Newcastle University), 10.31, 2013 (10.30-11.1)

Nishino I: Recent advances in metabolic myopathy. The XXI World Congress of Neurology (WCN), Vienna, Austria (Reed Messe Wien GmbH Congress Center), 9.24, 2013 (9.21-9.26)

Nishino I: Basics in muscle pathology. The XXI World Congress of Neurology (WCN), Vienna, Austria (Reed Messe Wien GmbH Congress Center), 9.22, 2013 (9.21-9.26)

Endo Y, Motomura K, Hayashi YK, Noguchi

S, Nonaka I, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nishino I: Exome analysis on tubular aggregate myopathy. American Society of Human Genetics 63rd Annual Meeting, Boston, USA (Boston Convention & Exhibition Center), 10.23, 2013 (10.22-10.26)

Hayashi YK, Goto K, Noguchi S, Matsumoto N, Laing N, North K, Clark N, Nonaka I, Nishino I: Mutation screening of a large cohort of nemaline myopathy. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.2, 2013 (10.1-10.5)

Uruha A, Noguchi S, Hayashi YK, Nishino I: High prevalence of hepatitis C virus infection in a Japanese inclusion body myositis cohort. 18th International Congress of the World Muscle Society, Asilomer, USA (Asilomar Conference Grounds), 10.3, 2013 (10.1-10.5)

Hayashi YK, et al. FHL1 Myopathies in Japan. 199th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherlands (NH Naarden Hotel), 6.8, 2013

Takehita E, Mimaki M, Ishii T, Awazu M, Shinjoh M, Hasegawa T, Miki J, Hidaka Y, Motobayashi M, Kumagai E, Goto Y. Novel mitochondrial point mutation (m.9155A>G) in two patients with chronic renal failure caused by focal glomerular sclerosis. International Congress of Pediatrics 2013, the 27th Congress of the International Pediatric Association, Melbourne, Australia, 8.24-29, 2013

Ito S, Hirano Y, Nakano K, Goto Y, Ohtani Y, Shimada S, Ishigaki K, Funatsuka M, Oguni H, Osawa M, Nahgata S: The first case of infantile-onset spinocerebellar ataxia in Japan caused by novel autosomal recessive *Twinkle/C12orf2* mutations. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Matsushima Y, Hatakeyama H, Takehita E, Kitamura T, Kobayashi K, Yoshinaga H,

Goto Y: Leigh-like syndrome associated with calcification of the bilateral basal ganglia caused by mutations in mitochondrial poly(A) polymerase. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Yokota M, Hatakeyama H, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Mitochondrial dysfunction is the barrier against cellular reprogramming. but not the maintenance of pluripotency. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. *in vitro* neural modeling of various mitochondrial disorders using patient-derived iPS cells. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

Hatakeyama H, Yokota M, Okabe S, Ono Y, Goto Y. Molecular pathogenesis and iPS-cell-based disease modeling of MELAS caused by a mutation in anticodon-stem of *MTTW* gene. International Symposium on Mitochondria 2013, Tokyo, Japan, 11.6-11.7, 2013

2)国内学会

西野一三:新しい先天性筋ジストロフィー. 第54回日本神経学会学術大会,千代田区(東京国際フォーラム),5.30,2013(5.29-6.1)

Endo Y, Hayashi YK, Komaki H, Nonaka I, Nishino I: Whole Exome Sequencing Analysis on hereditary muscle disease with tubular aggregates. 第55回日本小児神経学会学術集会,大分市(大分オアシスタワーホテル),5.30,2013(5.30-6.1)

西野一三: Tubular aggregatesを伴う遺伝型筋疾患の原因遺伝子. 第54回日本神経学会学術大会,千代田区(東京国際フォーラム),5.30,2013(5.29-6.1)

漆葉章典, 米川貴博, 鈴木理恵, 野口 悟, 林由起子, 西野一三: 封入体筋炎とC型肝炎ウイルス感染に関する多数例解析. 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5.29, 2013 (5.29-6.1)

林由起子: 骨パジェット病および前頭側頭型痴呆をともなう封入体ミオパチー (IBMPFD). 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5.31, 2013

林由起子, 他. ネマリンミオパチーの臨床遺伝学的解析. 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5.29, 2013

林由起子: Myofibrillar myopathy. 第54回日本神経学会学術大会, 千代田区 (東京国際フォーラム), 5.30, 2013

竹下絵里, 石井智弘, 粟津緑, 新庄正宜, 長谷川奉延, 三木純, 日高義彦, 本林光雄, 熊谷悦子, 後藤雄一: 巣状系球体硬化症による慢性腎不全を呈したミトコンドリアDNA9155A>G変異の2例. 第116回日本小児科学会総会, 広島, 4.20, 2013

竹下絵里, 三牧正和, 西野一三, 埜中征哉, 後藤雄一: ミトコンドリア病の遺伝子診断には、long PCR法、サザンブロット法、全周シークエンス法を用いた解析と総合的な判断が必要である. 第55回日本小児神経学会総会, 大分, 6.1, 2013

後藤雄一. 難病に対する生殖医療の近未来-アタ棚対策の方向性を求めて-. ART FORUM 2013, 大分, 8.5, 2013

根岸裕, 服部文子, 竹下絵里, 安藤直樹, 伊藤哲哉, 後藤雄一, 齋藤伸治. ミトコンドリア DNA3697G>A ホモプラスミー変異を認めた Leigh 脳症の3同胞例. 日本人類遺伝学会第58回大会, 仙台, 11.23, 2013

三宅紀子, 矢野正三, 後藤雄一, 松本直通.

UQCR2 ホモ接合性変異による新規ミトコンドリア呼吸鎖複合体 欠損症. 日本人類遺伝学会第58回大会, 仙台, 11.23, 2013

竹下絵里, 三牧正和, 吉田寿美子, 西野一三, 後藤雄一. Leigh 脳症 64 例における原因遺伝子の検討. 日本人類遺伝学会第58回大会, 仙台, 11.23, 2013

石山昭彦, 小牧宏文, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 佐々木征行: 福山型先天性筋ジストロフィーにおける骨格筋画像. 第55回日本小児神経学会総会, 大分, 5/29-6/1.2013

青木雄介, 小牧宏文, 石山昭彦, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 佐々木征行: Duchenne 型筋ジストロフィーにおける脳梗塞発症の危険因子に関する検討. 第55回日本小児神経学会総会, 大分, 5/29-6/1.2013

青木雄介, 小牧宏文, 竹下絵里, 石山昭彦, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 林由起子, 西野一三, 佐々木征行: 中枢神経病変を認めない、フクチン遺伝子変異による先天性筋ジストロフィーの一例. 第59回日本小児神経学会関東地方会, 神奈川, 9/21.2013

米川貴博, 小牧宏文, 齋藤祐子, 大矢寧, 石山昭彦, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 西野一三, 橋口昭大, 高嶋博, 佐々木征行: MPZ 遺伝子の p.Asp61Asn ヘテロ接合性変異は先天性髄鞘形成不全性ニューロパチーと Charcot-Marie-Tooth type 1 の原因となる. 第54回日本神経病理学会総会. 東京, 4/24-4/26.2013

仲村貞郎, 石山昭彦, 米川貴博, 小牧宏文, 齋藤貴志, 齋藤義朗, 中川栄二, 須貝研司, 佐々木征行: 脊髄性筋萎縮症における末梢神経伝導検査の検討. 第43回日本臨床神経生理学学会学術大会. 高知, 11/7-11/9.2013

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