

モワット・ウィルソン症候群 年齢別 診療の手引き (4-18歳)

年齢	評価	必要により連携	注記
4歳 ↓ 6歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：発達検査・知能検査・歩容の評価 <input type="checkbox"/> 視覚／視力検査・屈折異常 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴覚検査 <input type="checkbox"/> 栄養：摂食 <input type="checkbox"/> 神経：脳波、てんかん <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価 <input type="checkbox"/> 腎泌尿器：エコー、検尿／水腎症、腎奇形、膀胱尿管逆流	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科（歯科衛生、矯正歯科） <input type="checkbox"/> 療育（理学運動療法、作業療法） <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 就学相談	
7歳 ↓ 9歳	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：発達検査・知能検査・歩容の評価 <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価 <input type="checkbox"/> 栄養：摂食 <input type="checkbox"/> 神経：脳波、てんかん <input type="checkbox"/> 歯：咬合、歯列不正	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 歯科（歯科衛生、矯正歯科） <input type="checkbox"/> 療育（理学運動療法、作業療法） <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携	
10歳 ↓ 12歳	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：発達検査・歩容、ADLの評価 <input type="checkbox"/> 視覚／視力検査 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴覚検査 <input type="checkbox"/> 栄養：摂食 <input type="checkbox"/> 検尿 <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携	
中学生	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価 <input type="checkbox"/> 外性器 <input type="checkbox"/> 性成熟：二次性徴の評価 <input type="checkbox"/> 検尿	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携	
高校生	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価 <input type="checkbox"/> 検尿	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携 <input type="checkbox"/> 成人福祉制度の案内	
成人	<input type="checkbox"/> 身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 視覚／視力検査（数年毎） <input type="checkbox"/> 聴覚／聴覚検査（数年毎） <input type="checkbox"/> 骨格／側弯、関節の評価 <input type="checkbox"/> 皮膚／皮膚のケア <input type="checkbox"/> 検尿	<input type="checkbox"/> 整形外科 <input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科（歯科衛生） <input type="checkbox"/> 社会参加支援 <input type="checkbox"/> 成人医療機関との連携	

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
研究分担報告書

コッフィン・ローリー症候群の臨床的検討と診療指針作成

分担研究者：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

研究要旨

コッフィン・ローリー症候群（Coffin-Lowry syndrome：以下 CLS）は 1966 年 Coffin らが記載した X 連鎖性遺伝性疾患である。CLS では知的障害、特徴的顔貌、低身長、骨格異常を認める。責任遺伝子は *RSK2 (RPS6KA3)* 遺伝子であり、様々な変異の報告がある。女性保因者は無症状から、知的障害例もある。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で成長発達の評価や遺伝学的検査を実施した、CLS 症候群の臨床的検討および文献的考察を通じて、健康管理のためのガイドラインを作成した。

研究協力者

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科
松田圭子、山本悠斗、吉井啓示、三島祐子

A. 研究目的

コッフィン・ローリー症候群（COFFIN-LOWRY SYNDROME OMIM#303600：以下 CLS）は 1966 年 Coffin らが記載した知的障害を呈する X 連鎖性遺伝性疾患である。CLS では特徴的顔貌、低身長、関節過進展、先細りの指、X 線上の末節骨の鍵穴様変形など骨格の異常がある。先天性心疾患の合併例もある。年長になってから、進行性の後側彎がみられることがある。女性保因者は無症状から、男性症例と同様の知的障害例もある。Xp22 に座位する *RSK2 (RPS6KA3)* 遺伝子が現在までに知られている唯一の責任遺伝子である。出生 4 万人に 1 人程度の罹患率とされるが、国内では明確な罹患率の情報はない。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で成長発達の評価や遺伝学的検査を実施した、CLS の臨床的検討および文献的考察を通じて、CLS の健康管理のためのガイドラインを作成することが本研究の目的である。

B. 研究対象と方法

検討対象は、遺伝診療科で成長発達の評価や遺伝学的検査を実施した、CLS 症候群である。臨床的検討および文献的考察を通じて、ガイドラインを作成した。*RSK2 (RPS6KA3)* 遺伝子のコーディング領域を PCR で増幅し、PCR 産物を回収してサンガー法による直接シーケンスをおこなった。解析にあたっては倫理面に配慮し、保護者の代諾により書面で同意を得た。

C. 研究結果

【症例 1】 9 歳男児

39 週、正出生体重で仮死など周産期異常なし。妊娠分娩異常なし。両親は非血縁者。生後 2 ヶ月時、診断目的で受診した。大泉門開大、眼間開離、眼裂斜下、厚い口唇、特徴的顔貌を認めた。頭部 MRI 脳室拡大・硬膜下髄液貯留、手指レントゲンで鍵穴状変形を認めた。頸椎の狭窄を認めるが、進行はない。左難聴 60-70db、現在 9 歳で、身長 118cm(-2.6SD)、体重 20kg(-1.7SD)と体格は小であった。糖衣は正常範囲であった。4 歳で歩行開始する。有意語なし。小学校で特別支援教育を受けている。脱力発作は認めないが、特定の音が苦手であった。*RSK2* 遺伝子解析を行ったが、全エクソンに有意な変異はなかった。臨床的には典型例であり、CLS と診断した。

【症例 2】 成人男性

38 週、子宮内発育遅延。骨盤位のため帝王切開で出生。生後 9 ヶ月で筋低緊張、大泉門開大、身長・体重増加不良、高口蓋、発達の遅れなどの診断目的で初診。座位、1 歳 6 ヶ月、つかまり立ち、1 歳 6 ヶ月と運動波立は遅延し、2 歳で歩行開始となった。知的障害のため、特別支援教育を受けた。20 歳で、身長 154cm、体重 39kg と体格小である。側彎が進行し、整形外科で手術を受けた。母親に軽度知的障害を認めた。遺伝子解析で c.2186G>A, p.Arg729Gln 変異を同定した。

【症例3】成人男性

39週、正出生体重3000g、兄・弟は異常なし。座位16ヶ月、独歩1歳9ヶ月。8歳で授業についていけないために受診。多動傾向を認めた。右視力弱視。現在、14歳で身長159cm(-1.1SD)、体重36kg(-2.0SD)。軽度側彎あり。中度知的障害。遺伝子解析で症例2と同じc.2186G>A、p.Arg729Gln変異を同定した。

【症例4】8歳男児

40週3030gで出生。生後哺乳不良であった。筋緊張低下、心雑音を聴取し、近医で精査となった。生後8ヶ月で頸定不完全、身長体重増加不良であった。

6歳で初回けいれん、EEG異常なし。2回脳波検査をして異常なかったため不投薬で経過観察中。しかし痙攣する前から、覚醒時に「声をあげて手足を動かす」ことがあり最近頻度が増えているとの事で、精査予定。重度精神運動発達遅滞で、特別支援学校小学部在籍中である。

身体所見：8歳時、身長110cm、体重19kgと体格小。鳩胸変形が進行している。弟と一緒にいると多動が目立つ。簡単な指示には従える。

一般血液検査所見には異常なし。

頭部CT(6歳) 特に所見なし

心臓：軽度僧帽弁閉鎖不全あり。

遺伝子解析の結果、RSK2遺伝子のスプライスサイトの変異を同定した。

IVS17+1 G>T

【症例5】5歳男児 症例4の弟

在胎38週 出生体重2900g、身長50cm、頭囲32.5cmで周産期に特記事項なし。

乳児期より筋緊張低下、哺乳不良、運動発達遅滞を認めた。2歳で上肢間代性けいれんを初発したが、脳波・頭部MRIともに異常なし。

5歳時 身長98cm(-3SD)、体重16kg(-1SD)と体格小であった。

重度精神運動発達遅滞で、発語は単語を少し理解する程度であった。軽度僧帽弁閉鎖不全あり。

【症例6】8歳男児

出生時体重2670g(-1.2SD)、身長50cm(+0.12SD)、頭囲34cm(+0.37SD)で周産期に特記事項なし。

てんかん：1歳7カ月に発症、その後発作はなし 聴覚障害あり、

顔貌：太い突出する口唇、大きな開いた口、眼間開離、上向き鼻孔、乳歯早期脱落、など特異顔貌あり。四肢：先細りの太い指

内臓：僧帽弁閉鎖不全症

発達：重度知的障害であった。

7歳2か月時 体重15kg(-2.4SD)、身長106cm(-2.4SD)、頭囲51.4cm(-1SD~-2SD)と体格小であった。

頭部MRI：脳梁菲薄化、中脳・橋の容量低下、小脳虫部>半球の容量低下、側脳室、第3、4脳室の拡大

RSK2エクソン20にナンセンス変異を同定した。機能は喪失し、病的意義は高いと判断した。

【症例7】8歳男児

41週2800gで出生。生後、両側高度難聴判明。頸定1歳と発達は遅れ、歩行獲得は3歳であった。熱性痙攣を反復した。7歳時より、てんかんを発症した。強直発作が主であった。これと別に脱力発作がみられた。

音や摂食刺激で転倒するというエピソード(SIDEs)が頻回にみられるようになった。そのため歩行が困難になり、車いすを使用するようになった。

顔貌や身体所見はCLSの特徴があり、身長は-2SDと低身長であった。

遺伝子解析の結果、エクソン16に4塩基欠失を認め、フレームシフトによる早期停止コドンを認めた。

【臨床診断】

CLSの男性患者での診断は発達遅滞、特異顔貌、手指所見、XP所見によって疑いをもつ。7例とも特徴的身体所見を認めた。1例においては有意な遺伝子変異を同定できなかったが、臨床診断を行った。

女性保因者は無症状の場合から男性患者と同様の知的障害を伴う例まであり、症状に差が見られる。SIDEsの場合、ナンセンス変異が多いとされるが、本研究でもそれを支持する結果であった。

CLSの臨床所見まとめ

① 精神神経系：男性では中等度から重度の知的障害を伴う。

CLSの患児は概ね、明るい性格の例が多いが、自傷行為や問題行動を起こす例もある。神経学的所見としては、筋力低下、腱反射亢進、減弱、睡眠時無呼吸、進行性の下肢麻痺による歩行障害が認められる。進行性の麻痺は靭帯の石灰化や脊柱管の先天的な狭窄が原因とされる。びっくりしやす、刺激で転倒するというエピソード(SIDEs)が幼児期から10代の患者の20%に見られる。これは不意の触覚、音刺激、興奮刺激により惹起されるが、意識消失は伴わない。脳波異常は認めず、てんかんではないとされている。ナンセンス変異の例が多い。

てんかんは5%で合併する。

脳室、クモ膜下腔の拡大。薄い脳梁体部。前頭葉にMRIの低吸収域、小脳虫部の低形成、脳室の大きさの左右差などが報告されている。

② 顔貌：目立つ前額、長い睫毛、眼間開離、眼裂斜下、小顎、濃い眉、短く幅広の鼻、前向きの鼻の穴、大きな口、厚く外反した下唇、耳は大きく見えるが大きさは正常範囲内である。CLSでは加齢とともに特徴が明瞭になるとされる。新生児期の診断は困難と思われる。

③ 四肢：太く、分厚く、短いずんぐりした柔らかい手、先細りの指（もみじ様の手）、X線上の末節骨のドラムスティック様（鍵穴）所見、小さい爪、小指球を横切る皺、前腕の皮下脂肪による皺、靭帯の緩み（関節過進展）、扁平足などを認める。

④ 筋骨格：鳩胸または胸郭の陥凹、胸腰椎の進行性の側彎、後彎などを認める。

⑤ レントゲン所見

分厚い頭蓋骨、脊椎、上椎骨辺縁欠損、側彎、後彎、幅の狭い恥骨、末節骨の鍵穴様所見などがある。

⑥ 心血管：男性の10%、女性の5%に心臓・血管系の異常を認める。僧帽弁、三尖弁、大動脈弁の異常、心筋疾患、原因不明の心不全、大動脈、肺動脈の拡張などがある。

⑦ 筋骨格：年長児では、胸腰椎の進行性の側彎、後彎が出現する例がある。側彎、後彎が重度になると、呼吸の障害をおこす可能性もある。

⑧ 成長：出生時の体格は正常範囲内ですが、生後の成長障害が見られる。骨年齢は遅延する。男性と重度の女性の身長は標準の3%タイル以下となる。

⑨ 歯の低形成、逆咬合、隙間のあいた歯並び、大きい切歯などがみられる。

⑩ 難聴を来すことは少ないが、疑えば聴力検査が必要である。

⑪ 眼科：視力障害は多くないが、白内障、網膜色素変性症、乳頭萎縮、眼瞼炎に注意する。

⑫ その他：肛門脱、膀胱脱、小腸憩室、膝窩神経節、幽門狭窄、片腎、肛門の位置異常、顔面の色素沈着、気管拡大、腫瘍合併の報告もある。

【治療】

乳児期より筋緊張低下、運動発達遅滞がみられ、理学療法を実施する。全般的な精神運動発達遅滞は必発であり、継続的な療育訓練を受ける必要がある。就学にあたっては特別支援教育について検討を行う。

体重増加不良、低身長も多くの例でみられる。一般的には成長ホルモン分泌に異常はみられないが、分泌不全があれば補充療法が必要である。栄養摂取障害、成長障害については経管栄養、栄養剤など一般的対症療法を行う。

SIDEsが起きる場合には、抗てんかん薬などで治療する。SIDEsが頻繁に起こるため、転倒予防から車椅子が必要になる例もあり、事故予防が重要である。てんかんに対しては一般的な抗てんかん薬で治療を行う。自傷他傷の症状には抗精神薬が有効である。

後側彎の治療は、標準的な整形外科治療を行う。進行性であるので定期的な評価が必要である。脊柱管狭窄症状についても注意が必要である。

CLSでは先天性心疾患の合併例がある。心臓の超音波検査は、心疾患の発見に必要である。心疾患があれば、亜急性細菌性心内膜炎を起こす可能性があり、齲歯予防の指導を行う。

視野、聴力、歯科の問題があれば、それぞれの診療科で治療を行う。

D. 結論

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科で診療を行った、CLSの具体的な事例を検討した。6例中5例において変異を同定した。ガイドラインの有用性、妥当性について今後時間をかけて検討を行う方針である。

CLS 症例を紹介いただいた先生方に深謝します。

参考文献

Alasdair GW Hunter
Coffin-Lowry syndrome
Management of genetic syndromes 3rd
2009

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okamoto N, Ikeda T, Hasegawa T, Yamamoto Y, Kawato K, Komoto T, Imoto I., Early manifestations of BPAN in a pediatric patient, *Am J Med Genet A*, 164A, 3095-3099, 2014
- 2) Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Yanagihara K, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y, Kosaki K., KIF1A mutation in a patient with progressive neurodegeneration., *J Hum Genet*, 59, 639-641, 2014
- 3) Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Shimizu A, Torii C, Kanemura Y, Kosaki K., Targeted next-generation sequencing in the diagnosis of neurodevelopmental disorders, *Clin Genet*, Epub ahead of print
- 4) Ohtsuka Y, Higashimoto K, Sasaki K, Jozaki K, Yoshinaga H, Okamoto N, Takama Y, Kubota A, Nakayama M, Yatsuki H, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Yoshiura KI, Soejima H., Autosomal recessive cystinuria caused by genome-wide paternal uniparental isodisomy in a patient with Beckwith-Wiedemann syndrome, *Clin Genet*, Epub ahead of print
- 5) Shimada S, Shimojima K, Okamoto N, Sangu N, Hirasawa K, Matsuo M, Ikeuchi M, Shimakawa S, Shimizu K, Mizuno S, Kubota M, Adachi M, Saito Y, Tomiwa K, Haginoya K, Numabe H, Kako Y, Hayashi A,

- Sakamoto H, Hiraki Y, Minami K, Takemoto K, Watanabe K, Miura K, Chiyonobu T, Kumada T, Imai K, Maegaki Y, Nagata S, Kosaki K, Izumi T, Nagai T, Yamamoto T., Microarray analysis of 50 patients reveals the critical chromosomal regions responsible for 1p36 deletion syndrome-related complications, *Brain Dev*, Epub ahead of print
- 6) Kosho T, Okamoto N; Coffin-Siris Syndrome International Collaborators., Genotype-phenotype correlation of Coffin-Siris syndrome caused by mutations in SMARCB1, SMARCA4, SMARCE1, and ARID1A, *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 166C, 262-275, 2014
- 7) Yasuda Y, Hashimoto R, Fukai R, Okamoto N, Hiraki Y, Yamamori H, Fujimoto M, Ohi K, Taniike M, Mohri I, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Matsumoto N, Miyake N, Takeda M., Duplication of the NPHP1 gene in patients with autism spectrum disorder and normal intellectual ability: a case series., *Ann Gen Psychiatry*, 2014
- 8) Maeda T, Higashimoto K, Jozaki K, Yatsuki H, Nakabayashi K, Makita Y, Tonoki H, Okamoto N, Takada F, Ohashi H, Migita M, Kosaki R, Matsubara K, Ogata T, Matsuo M, Hamasaki Y, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Hata K, Soejima H., Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations, *Genet Med*, Epub ahead of print, 2014
- 9) 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 A*. 164A, 634-638, 2014
- 10) Yamada Y, Nomura N, Yamada K, Matsuo M, Suzuki Y, Sameshima K, Kimura R, Yamamoto Y, Fukushi D, Fukuhara Y, Ishihara N, Nishi E, Imataka G, Suzumura H, Hamano SI, Shimizu K, Iwakoshi M, Ohama K, Ohta A, Wakamoto H, Kajita M, Miura K, Yokochi K, Kosaki K, Kuroda T, Kosaki R, Hiraki Y, Saito K, Mizuno S, Kurosawa K, Okamoto N, Wakamatsu N., The spectrum of ZEB2 mutations causing the Mowat-Wilson syndrome in Japanese populations, *Am J Med Genet A*, 164A, 1899-1908, 2014
- 11) Nakajima J, Okamoto N, Tohyama J, Kato M, Arai H, Funahashi O, Tsurusaki Y, Nakashima M, Kawashima H, Saitu H, Matsumoto N, Miyake N., De novo EEF1A2 mutations in patients with characteristic facial features, intellectual disability, autistic behaviors and epilepsy., *Clin Genet*, Epub ahead of print, 2014
- 12) Hiraki Y, Miyatake S, Hayashidani M, Nishimura Y, Matsuura H, Kamada M, Kawagoe T, Yunoki K, Okamoto N, Yofune H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Murakami A, Miyake N, Nishimura G, Matsumoto N., Aortic aneurysm and craniosynostosis in a family with Cantu syndrome, *Am J Med Genet A*, 164A, 231-236, 2014
- 13) Shoji Y, Ida S, Etani Y, Yamada H, Kayatani F, Suzuki Y, Kosaki K, Okamoto N., Endocrinological Characteristics of 25 Japanese Patients with CHARGE Syndrome, *Clin Pediatr Endocrinol*, 23, 45-51, 2014
- 14) 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*, 164A, 213-219, 2014
- 15) Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Tsutomu OI, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y., Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome., *Am J Med Genet A*, 164A, 597-609, 2014
- 16) Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitu H., PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy, *Neurogenetics*, 15, 85-92, 2014
- 17) 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, Saitu H, Miyake N, Matsumoto N., Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder, *Clin Genet*, 85, 548-554, 2014
- 18) Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K, Kodera H,

Miyatake S, Nakashima M, Saitsu H,
Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, Matsumoto
N., De novo SOX11 mutations cause
Coffin-Siris syndrome., Nat Commun., Jun
2;5:4011. doi: 10.1038/ncomms5011.

F. 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

コフィンローリー症候群 年齢別 診療の手引き (0-3歳)

年齢	評価	必要により連携	注記
新生児期	<input type="checkbox"/> 新生児期の本症候群の診断は困難であるが、「何となく気になる新生児」としてフォローになる可能性がある。 <input type="checkbox"/> 母親が保因者の場合、軽度知的障害のために、理解力の乏しさ、育児の困難性を指摘される可能性がある。 <input type="checkbox"/> 心雑音などあれば、先天性心疾患の精査を行う。	<input type="checkbox"/> 家族支援（ソーシャルワーカー等の紹介、保健師訪問）	
3か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 体重増加不良に注意 <input type="checkbox"/> 発達：運動発達遅滞 <input type="checkbox"/> 視覚 <input type="checkbox"/> 聴覚／聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 心雑音などあれば、先天性心疾患の精査を行う。 <input type="checkbox"/> 家庭での育児の状況	<input type="checkbox"/> 摂食・栄養指導 <input type="checkbox"/> 家族支援（保健師訪問）	
6か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 発育の遅れ <input type="checkbox"/> 発達：運動発達、神経学的評価 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 眼底検査など <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 心雑音などあれば、先天性心疾患の精査を行う。 <input type="checkbox"/> 発達遅滞の精査などで、診断に至る可能性がある	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 理学療法 <input type="checkbox"/> 家族支援	
12か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 発育の遅れ <input type="checkbox"/> 発達：運動発達、神経学的評価 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 心雑音などあれば、先天性心疾患の精査を行う。 <input type="checkbox"/> 歯科：歯牙萌出遅延 <input type="checkbox"/> 発達遅滞の精査などで、診断に至る可能性がある <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 理学療法 <input type="checkbox"/> 家族支援	
18か月	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 低身長 <input type="checkbox"/> 発達：療育 神経学的評価 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 歯科：歯牙萌出遅延など歯科異常 <input type="checkbox"/> 発達遅滞の精査などで、診断に至る可能性がある <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 理学療法 <input type="checkbox"/> 家族支援	
2歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 低身長、小頭症 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 発達心理検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 歯科：歯牙萌出遅延など歯科異常 <input type="checkbox"/> 発達遅滞の精査などで、診断に至る可能性がある 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する例がある <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 理学療法 <input type="checkbox"/> 家族支援	
3歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 発達心理検査、行動異常評価 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食／嚥下機能 <input type="checkbox"/> 歯科：歯列不正など歯科異常 <input type="checkbox"/> 発達遅滞の精査などで、診断に至る可能性がある <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する例がある (Stimulus induced drop attacks : SIDA s) <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 理学療法、作業療法、言語訓練 <input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 専門的な療育機関への通園を考慮 <input type="checkbox"/> 家族支援	

コフィンローリー症候群 年齢別 診療の手引き (4-18歳)

年齢	評価	必要により連携	注記
4歳 ↓ 6歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 発達心理検査、行動異常評価 <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する (SIDAs) てんかん合併例ある <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食/嚥下機能 <input type="checkbox"/> 側彎・後彎・扁平足 <input type="checkbox"/> 鳩胸、漏斗胸	<input type="checkbox"/> 眼科 <input type="checkbox"/> 耳鼻咽喉科 <input type="checkbox"/> 歯科 (歯科衛生、矯正歯科) <input type="checkbox"/> 側彎あれば整形外科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 療育機関、就学支援	
7歳 ↓ 9歳	<input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 (運動機能退行に注意) 行動異常評価 <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する (SIDAs) てんかん合併例ある <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 側彎・後彎・扁平足 <input type="checkbox"/> 鳩胸、漏斗胸	<input type="checkbox"/> 言語聴覚士 <input type="checkbox"/> 歯科 (歯科衛生、矯正歯科) <input type="checkbox"/> 側彎あれば整形外科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携 (特別支援教育)	
10歳 ↓ 12歳	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 (運動機能退行に注意) 行動異常評価 <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する (SIDAs) <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：肥満に注意 <input type="checkbox"/> 側彎・後彎	<input type="checkbox"/> 言語聴覚士 <input type="checkbox"/> 歯科 (歯科衛生、矯正歯科) <input type="checkbox"/> 側彎あれば整形外科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 中学校進路相談	
中学生	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 (運動機能退行に注意) 行動異常評価 <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する (SIDAs) <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：肥満に注意 <input type="checkbox"/> 側彎・後彎	<input type="checkbox"/> 歯科 <input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携 <input type="checkbox"/> 進路相談	
高校生	<input type="checkbox"/> 学校での状況 <input type="checkbox"/> 成長：身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 発達：神経学的評価 (運動機能退行に注意) 行動異常評価 <input type="checkbox"/> 急な音や接触刺激で脱力発作を呈する (SIDAs) <input type="checkbox"/> 頭部 MRI や脳波検査 <input type="checkbox"/> 視覚：斜視 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴力検査 <input type="checkbox"/> 栄養：哺乳・摂食/嚥下機能 <input type="checkbox"/> 側彎・後彎	<input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 学校との連携 <input type="checkbox"/> 職業訓練等 <input type="checkbox"/> 精神科紹介	
成人	<input type="checkbox"/> 身長・体重・頭囲 <input type="checkbox"/> 内科診察 必要に応じて血液検査実施 <input type="checkbox"/> 視覚：視力検査 <input type="checkbox"/> 聴覚：聴覚検査 <input type="checkbox"/> 就労 <input type="checkbox"/> 居住環境	<input type="checkbox"/> 家族支援 <input type="checkbox"/> 社会参加支援 <input type="checkbox"/> 精神科紹介 <input type="checkbox"/> 成人医療機関との連携	

※どの年齢においても診療の際に遺伝に関する両親からの相談を受け、必要に応じて遺伝カウンセリングを行う。

※母親が保因者の場合、軽度の知的障害を持つ場合があり、家族支援体制が重要である。

本手引きは、疾患における全ての合併症を網羅しているわけではないため、必要に応じて他の評価や検査を加える。一方で、各年齢において、チェックリストの全ての合併症が出現するものではない。各年齢において、必ずしも全ての検査を実施する必要はなく、主治医の判断において診療を進めることが推奨される。

*小児遺伝学会 <http://plaza.umin.ac.jp/p/genet/>

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

PCS（MVA）症候群の発症機序に関する研究

研究分担者 松浦伸也
広島大学 原爆放射線医科学研究所 教授

研究要旨

染色体脆弱症候群の代表的疾患の一つである PCS（MVA）症候群の患者細胞を用いて、本疾患の繊毛形成不全の発症機構を明らかにした。本研究により、細胞増殖に共役した一次繊毛退縮制御機構が明らかとなった。

A. 研究目的

本研究は、PCS（MVA）症候群の標準的診断法の確立と合併症の予見、早期治療による医療の質の向上を目的としている。また、疾患発症のメカニズムの解明により、将来的な治療法の開発を目指している。平成26年度は、PCS（MVA）症候群の発症機序を細胞生物学的手法により検討した。

B. 研究方法

PCS（MVA）症候群の患者細胞を用いて、一次繊毛形成不全の病態解明を試みた。

（倫理面への配慮）

本研究では、頻度が稀な疾患の患者細胞を使用するため、個人情報保護を必要とする。研究代表者は「広島大学ヒトゲノム研究倫理審査委員会」に申請して既に承認を得ている（課題名：先天異常症候群の病因遺伝子と病態に関する研究、承認番号：第ヒ-94号）。家族のインフォームドコンセントを得て、患者細胞を樹立した。

C. 研究結果

PCS（MVA）症候群は、海外の25例と国内の15例が知られている。患児は出生前から発育遅滞を示し、重度の小頭症を呈する。小脳虫部の低形成を伴う Dandy-Walker 奇形を示し、生後数ヶ月から難治性けいれんを発症する。両眼の白内障・小眼球症・口蓋裂・男児の外生殖器異常・肥満をときに認める。ウィルムス腫瘍または横紋筋肉腫を発症する。原因タンパク質は、紡錘体形成チェックポイントの主要因子である BUBR1 であるが、私たちは BUBR1 が一次繊

毛の形成にも必須であることを報告した

(Miyamoto et al. *Hum Mol Genet* 2011)。一次繊毛は、多くの動物細胞の G0 期において細胞表面に発達する微小管性の毛様構造であり、細胞増殖因子などの細胞外情報を受容するセンサーとして機能する。一次繊毛に関連する遺伝子が先天的に欠損すると、中枢神経の発生形態異常や多発性腎嚢胞などを特徴とする一連の繊毛病が発症する。本研究により、PCS（MVA）症候群で見られる Dandy-Walker 奇形や腎嚢胞・肥満が、繊毛病の症状であることが明らかとなった。しかし、本疾患の繊毛形成不全の発症機構は明らかにされていない。

平成26年度の研究で、微小管脱重合活性をもつ分裂期キネシン分子 KIF2A が PCS 症候群患者細胞で恒常的に活性化しており、本疾患の繊毛形成不全の原因の一つであることを見出した。正常細胞における KIF2A の生理機能を解析する目的で、人工ヌクレアーゼ TALEN を用いた遺伝子ターゲティングによって、KIF2A 欠損 hTERT-RPE1 細胞株を樹立した。一次繊毛の起点となる中心体は分裂期で紡錘体形成を担うため、増殖期細胞は一次繊毛を退縮して有糸分裂に備える必要がある。KIF2A 欠損細胞では細胞増殖シグナルに依存した一次繊毛退縮が抑制された。また、G0 期の KIF2A は APC/C によるユビキチン化を介して分解されることで一次繊毛形成を保證することが明らかになった。一方、増殖期の KIF2A は母中心小体の sub-distal appendage で分裂期キナーゼ PLK1 によってリン酸化され、その微小管脱重合活性が亢進することで一次繊毛退縮を誘導することを示した。これらの結果から、細胞周期に応じた KIF2A 活性の調節が細胞増殖に共役した一次繊毛退縮に

必須であり、KIF2A 制御の破綻が PCS 症候群における繊毛病発症の病理機構であることが示唆された。

D. 考察

本研究により、PCS (MVA) 症候群の多彩な病態の発症機序の 1 つが明らかとなった。今後は、本疾患の治療の可能性について研究を進めていきたい。

E. 結論

PCS (MVA) 症候群の繊毛病発症機構を解明して *Cell Reports* 誌に報告した。本研究により、細胞増殖に共役した一次繊毛退縮制御機構が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Miyamoto T, Hosoba K, Ochiai H, Royba E, Izumi H, Sakuma T, Yamamoto T, Matsuura S. The microtubule depolymerizing activity of a mitotic kinesin protein KIF2A drives primary cilia disassembly coupled with cell proliferation. *Cell Reports* (2015) 10, 664-673.

2) Porazinski S, et al. YAP is essential for tissue tension to ensure vertebrate 3D body shape. *Nature* (2015) in press

3) 宮本達雄、松浦伸也. PCS (MVA) 症候群. *別冊日本臨床* 新領域別症候群シリーズ (2014) 29, 411-414.

4) 松浦伸也. Nijmegen (ナイミーヘン) 染色体不安定症候群. *別冊日本臨床* 新領域別症候群シリーズ (2014) 29, 617-620.

5) 宮本達雄、松浦伸也. DNA 修復障害概論. *別冊日本臨床* 新領域別症候群シリーズ (2014) 28, 642-645.

6) 落合 博、松浦伸也. 新規一塩基置換導入法による高発癌性遺伝病の原因変異の同定. *医学のあゆみ* (2015) 252, 153-158.

2. 学会発表

1) 宮本達雄 他 放射線感受性 SNP の定量的評価系構築のためのヒト培養細胞における一塩基編集法の開発 第 55 回原子爆弾後障害研究会 (長崎) 2014 年 6 月

2) 宮本達雄 他 ヒト分裂期チェックポイント欠損症における PLK1-KIF2A 経路の亢進による繊毛病発症機構 第 57 回日本放射線影響学会 (鹿児島) 2014 年 10 月

3) 柳原啓見 他 紫外線損傷応答における放射線修復因子 NBS1 の機能とマウスモデルの作製 第 57 回日本放射線影響学会 (鹿児島) 2014 年 10 月

4) 角田治美 他 横紋筋肉腫治療終了後、長期寛解を維持している染色分体早期解離 (PCS) 症候群の姉弟例 第 56 回日本小児血液・がん学会 (岡山) 2014 年 11 月

5) 松浦伸也 他 次世代シーケンサーとゲノム編集法を用いた非コード領域の原因変異の解析 第 59 回日本人類遺伝学会 (東京) 2014 年 11 月

6) 宮本達雄 他 ヒト紡錘体チェックポイント欠損症における細胞増殖に共役した一次繊毛退縮制御の破綻による繊毛病発症機構 第 37 回日本分子生物学会年会 (横浜) 2014 年 11 月

7) Royba E, et al. Individual difference of radiosensitivity evaluated by semi-automatic cytokinesis-block micronucleus assay. The 4th International symposium of Phoenix Leader Education Program for Renaissance from Radiation Disaster (広島) 2015 年 2 月

8) Akutsu SN, et al. Chromosomal analysis in myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia cell lines through the cytokinesis block micronucleus assay (CBMA) and cytogenetic study. The 4th International symposium of Phoenix Leader Education Program for Renaissance from Radiation Disaster (広島) 2015 年 2 月

9) Yanagihara H, et al. NBS1 initiates UV damage tolerance. The 30th RBC-NIRS International symposium (京都) 2015 年 2 月

10) Miyamoto T, et al. Constitutive activation of cell proliferation coupled-ciliary disassembly in a spindle assembly checkpoint-deficiency syndrome. The 5th International symposium of RIRBM, Hiroshima University (広島) 2015 年 3 月

11) Royba E, et al. Individual difference of radiosensitivity evaluated by semi-automatic cytokinesis-block micronucleus assay. The 5th International symposium of RIRBM, Hiroshima University (広島) 2015年3月

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

過成長を主徴とする奇形症候群に関する研究

研究分担者 副島英伸
佐賀大学医学部分子生命科学講座 教授

研究要旨

過成長を主徴とする奇形症候群として Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) と Sotos 症候群 (SS) の遺伝子解析 (ゲノム解析およびエピゲノム解析) を行った。BWS には複数の発症原因があるが、発症原因別に腫瘍発生頻度が異なるため、遺伝子解析で発症原因を同定することが重要である。特に、11番染色体の父性片親性ダイソミー (paternal uniparental disomy: patUPD) と診断された症例は、腫瘍発生率が極めて高い全ゲノム patUPD の有無について精査すべきである。一方、2012 年より有償解析としたが、2013-2014 年の解析症例数については有償化の影響はほぼなくなっており、今後も解析を続け臨床現場にフィードバックしていきたい。既知の異常のない BWS に関しては、エクソーム解析により他疾患の原因遺伝子変異が同定された。遺伝専門医が関わった正確な臨床診断が必要と思われる。また、multilocus methylation defects (MMDs) 症例の存在と MMDs による遺伝子発現異常を明らかにし、メチル化異常の発生時期について知見を得た。SS では、BWS との臨床的オーバーラップの原因となりうるインプリント DMR のメチル化異常を同定した。

A. 研究目的

本研究では、過成長を主徴とする奇形症候群として Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) と Sotos 症候群 (SS) を対象とし、患者検体を用いた遺伝子解析 (ゲノム解析およびエピゲノム解析) を行い、ゲノム・エピゲノム異常と病態の関連性について解明する。さらに、これらの結果を通して、エビデンスに基づいた診療指針の確立・普及および遺伝子変異データの蓄積に貢献する。

BWS は、過成長、巨舌、臍ヘルニアを三主徴とする過成長症候群の一つで、11p15.5 のインプリント異常により発症するインプリンティング疾患である。BWS の主要な発症原因は、*KvDMR1* 低メチル化 (loss of methylation: LOM)、*H19DMR* 高メチル化 (gain of methylation: GOM)、11 番染色体の父性片親性ダイソミー (paternal uniparental disomy: patUPD)、*CDKN1C* の機能喪失変異、11p15 の染色体構造異常 (重複、転座、逆位等) が知られている。BWS は Wilms 腫瘍や肝芽腫をはじめとする胎児性腫瘍が発生しやすいことが知られているが、腫瘍の発生頻度は上述の発症原因のタイプ毎に異なる。具体的には、*H19DMR*-GOM と patUPD の腫瘍発生頻度は 25% 以上、*KvDMR1*-LOM と *CDKN1C* 変異は 5% 程度と大きな違いがある。胎児性腫瘍のリス

クを判定し、腫瘍の早期発見を診療に反映させるためには、個々の症例の遺伝子解析を行い発症原因のタイプを確定することが重要である。当研究室では、BWS 症例の遺伝子解析を行っているが、2011 年までは研究費を用いて無償で行ってきた。しかし、研究費での遺伝子解析が困難になってきたことから 2012 年より有償化した。一方、BWS には既知の異常を認めない症例が約 2 割存在することも知られているが、その原因は長らく未解明のままであった。そこで、次世代シーケンサーを用いたゲノム解析による新規原因遺伝子の同定を試みる。また、*KvDMR1*-LOM 症例で、疾患座位である 11p15.5 以外のインプリント DMR (differentially methylated region) のメチル化異常を示すこと (multilocus methylation defects: MMDs) が報告されているが (Court F, et al., Hum Mut, 2013; Tee L, et al., Clin Epigenet, 2013)、本邦症例における MMDs の頻度やその原因については不明である。そこで、これまでに集積した BWS 症例の包括的インプリント DMR のメチル化を解析する。

SS は、過成長、骨年齢促進、特異顔貌、精神遅滞を特徴とすることから、症状の一部が BWS とオーバーラップする。ヒストン H3 リジン 36 のモノ・ジメチル化 ($H3K36me1 \cdot H3K36me2$) 酵素をコードしている *NSD1* のハプロ不全が原

因である。SS 患者のリンパ芽球では、H3K36me2 が減少し、2 次的に H3K36me3 も減少している (Berdasco M, et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 2009)。一方、DNA メチル化酵素 DNMT3A は、PWWP ドメインにより H3K36me3 を認識し (Dhayalan A, et al., J Biol Chem, 2010)、ゲノムの DNA メチル化レベルの制御に関与する可能性が示唆されている。つまり、SS における H3K36me3 の減少は、DNMT3A のリクルートに影響を与え、ゲノム DNA メチル化レベルを低下させ、その結果、標的遺伝子の発現に影響を及ぼし症状が出現すると考えられる。DNMT3A は、インプリント DMR のメチル化確立に重要であることから、少数の SS 症例で DMR のメチル化異常が指摘されていたが (Baujat G, et al., Am J Hum Genet, 2004)、その解析は不十分であった。そこで、患者末梢血 DNA を用いて包括的なインプリント DMR のメチル化解析を行い、BWS と SS で共通するインプリント異常の同定を試みる。

B. 研究方法

1. Beckwith-Wiedemann 症候群 (BWS) の解析

1) BWS 症例における既知異常同定のための遺伝子解析

Weksberg ら (Eur J Hum Genet, 2010)、DeBaunet ら (J Pediatr, 1998)、Elliot ら (Clin Genet, 1994) が提唱する診断基準のうちいずれかに合致する BWS 症例の末梢血由来ゲノム DNA を用いた。KvDMR1-LOM と H19DMR-GOM については、メチル化感受性サブプロットあるいは bisulfite-pyrosequencing 法を用いた。patUPD については、11p15 の Short tandem repeat (STR) マーカー (*D11S1997*, *HUMTH01*, *D11S1984*) を PCR で増幅したのち、Applied Biosystems 3130 genetic analyzer で電気泳動し、GeneMapper software で各アレル由来 PCR 産物のピーク高を計測してモザイク率を算出した。*CDKN1C* 変異については、全コーディングエクソンをサンガー法にて解析した。

2) 既知の異常を認めない症例の次世代シーケンサーを用いたゲノム解析

上述の既知の遺伝子異常を認めない BWS 患者 38 例を whole exome sequencing 解析した。ゲノム DNA を用いて、SureSelect Human All Exon Kit v5 (Agilent 社) でコーディングエクソンをキャプチャーし、HiSeq2000 (Illumina 社) でシーケンシングを行った。

3) multilocus methylation defects (MMDs) の解析

11p15 のメチル化異常を認める BWS 患者 54 例 (KvDMR1-LOM 44 例、H19DMR-GOM 10 例) について、MALDI-TOF MS (MassARRAY) で 29 カ所のインプリント DMR のメチル化をスクリーニングした後、メチル化異常を示した DMR について bisulfite-pyrosequencing を用いて確認した。コントロールとして、年齢が一致する正常小児 24 例の末梢血 DNA を用いた。メチル化異常は、解析対象の全 CpG 部位の 6 割以上がコントロールと比べて 15%以上の差を示した場合とした。メチル化異常を認めた DMR については、RT-PCR による遺伝子発現解析、サンガー法によるシーケンシング解析を行った。

2. Sotos 症候群 (SS) の解析

1) エピゲノム異常の解析

SS 患者 31 例 (NSD1 点変異 20 例、NSD1 欠失 11 例) の末梢血ゲノム DNA を用いて、BWS 症例における MMDs 解析と同様に MassARRAY と bisulfite-pyrosequencing で解析した。

(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の承認を受けて実施した。人権擁護上の配慮、不利益・危険性の排除などの詳細な説明を行い、書面により同意を得たうえで検体収集を行った。

C. 研究結果

1. BWS の解析

1) BWS 症例における既知異常同定のための遺伝子解析

Weksberg ら (Eur J Hum Genet, 2010)、DeBaunet ら (J Pediatr, 1998)、Elliot ら (Clin Genet, 1994) のいずれかの診断基準に合致する BWS 症例は計 182 例であった (2015 年 1 月 19 日現在)。遺伝子解析の結果を表 1 に示す。

表 1 発症原因別頻度 (n = 182)

発症原因	症例数	頻度
KvDMR1-LOM	58	32%
H19DMR-GOM	13	7%
patUPD	40	22%
CDKN1C 変異	13	7%
Trisomy 11	8	4%
既知の異常なし	50	27%

2011 年までに遺伝子解析を無償で行った症例数は計 126 例 (19.6 例/年) であり、有償化した 2012 年以降 3 年間の解析数は 56 例 (18.6 例/年) であった。有償化以降の年別の解析数は、2012 年 16 例、2013 年 19 例、2014 年 21 例と漸増していた。2013 年～2014 年の年あたりの解析数は、無償解析とほぼ同じ数に達していた。また、patUPD 症例における UPD の範囲を決定するため、SNP アレイおよび全染色体にマップされる STR マーカーで解析したところ、全ゲノム patUPD モザイク (androgenetic/biparental mosaicism) を 6 例 (15%) 見いだした。

2) 既知の異常を認めない症例の次世代シーケンサーを用いたゲノム解析

既知の遺伝子異常を認めない BWS 患者 38 例中 8 例に遺伝子変異が見つかった。内訳は BWS 原因遺伝子 *CDKN1C* 変異が 1 例、Sotos 症候群原因遺伝子 *NSD1* 変異が 2 例、Simpson-Golabi-Behmel 症候群原因遺伝子 *GPC3* 変異が 5 例であった。*CDKN1C* 変異は、サンガー法で見逃していた症例をエクソーム解析で同定したものである。Sotos 症候群と Simpson-Golabi-Behmel 症候群の原因遺伝子変異が見いだされた。これらの疾患は BWS の鑑別診断であり、症状が BWS とオーバーラップしている。類似する他疾患が、臨床的に BWS と診断されていたためと考えられる。新規原因遺伝子は今のところ同定されていない。

3) multilocus methylation defects (MMDs) の解析

KvDMR1-LOM 44 例中 15 例 (34%)、H19DMR-GOM 10 例中 3 例 (30%) に MMDs を認めた。メチル化異常を示したすべての DMR について、両アレルがそろっているか否かを STR マーカーにより解析し、メチル化異常が染色体異常に起因するものではないことを確認した。これら DMR のメチル化異常が、DMR 自身の塩基配列の変化に起因している可能性があるため、メチル化異常を示したすべての DMR の塩基配列をサンガー法で解析したが、明らかな変異は認めなかった。一方、KvDMR1-LOM 症例では、母性アレルがメチル化されている DMR (matDMR) がメチル化異常の標的となっていた。*ZDBF2*、*FAM50B*、*GNAS1A* の遺伝子発現はそれぞれの DMR のメチル化異常に伴い片アレル発現から両アレル発現に変化しており、DMR のメチル化異常が実際に遺伝子発現パターンに影響していることが明らかとなった。

2. SS の解析

1) エピゲノム異常の解析

MassARRAY と pyrosequencing で 33 カ所のインプリント DMR のメチル化を解析した。SS 患者 31 例中 26 例 (84%) で少なくとも一カ所以上の DMR で異常低メチル化を認めた。また、10 例以上で異常低メチル化を示す DMR が 3 カ所同定できた。これらの DMR のメチル化異常は、BWS との臨床的オーバーラップの原因である可能性がある。

D. 考察

1. BWS の解析

解析症例数は、有償化した最初の年は減少したが、2 年目以降は漸増しており有償化の影響は見られない。一方、BWS の発症原因別頻度はこれまで報告したものと大きな差はなかった。腫瘍発生頻度が高い H19DMR-GOM と patUPD が合わせて約 30% を占めた。また、patUPD 症例 40 例の中には全ゲノム patUPD モザイクが 6 例 (15%) 含まれていた。全ゲノム patUPD モザイクはこれまでに全世界で 15 例が報告されているが、14 例に何らかの腫瘍が発生していることから、腫瘍発生に関しては 11 番染色体に限局した patUPD とは区別すべき疾患である。patUPD と診断された症例は、全染色体についても UPD の有無を解析すべきである。

既知の異常を認めない症例のエクソーム解析では、BWS の鑑別診断である Sotos 症候群と Simpson-Golabi-Behmel 症候群の原因遺伝子変異が見いだされた。遺伝子解析を行う際には

遺伝専門医等が関わって正確な臨床診断が必要であることを示している。

配偶子形成過程でメチル化が確立したインプリント DMR は受精後の発生初期におけるダイナミックなメチル化の変化に抵抗性を示すが、一部の BWS では受精直後の着床前に *KvDMR1* の脱メチル化が生じると考えられている。MMDs を示す *KvDMR1*-LOM 症例では、この *KvDMR1* の脱メチル化がおこる際に他の mat DMR でも脱メチル化が起こりやすいと考えられた。メチル化異常を示した DMR の塩基配列に異常がなかったことから、少なくとも DMR 自身の変異が MMDs の原因ではないことが示された。また、少なくとも 15% 程度のメチル化異常が生じるとインプリント遺伝子は片アレル発現から両アレル発現に変化することが示唆された。

2. SS の解析

インプリント DMR のメチル化解析により、84% の症例の DMR で低メチル化を認め、特に 3 カ所の DMR が高頻度に低メチル化を示した。これらの DMR の低メチル化は、我々の仮説の通りに、NSD1 のハプロ不全により DNMT3A によるメチル化が不完全であったためと推測され、BWS との臨床的オーバーラップの原因である可能性がある。

E. 結論

過成長を主徴とする奇形症候群として、BW と SS の遺伝子解析を行った。遺伝子解析で発症原因を同定することは腫瘍発生リスクを知るためにきわめて重要である。特に patUPD と診断された症例は全ゲノム patUPD の有無を解析すべきである。一方、解析症例数に有償化の影響はほぼなくなっており、今後も解析を続け臨床現場にフィードバックしていきたい。既知の異常のない BWS 症例中に他疾患の原因遺伝子変異を見いだした。遺伝専門医等が関わった正確な臨床診断の必要を示している。また、MMDs 症例の存在と MMDs による遺伝子発現異常を明らかにした。SS では、BWS との臨床的オーバーラップの原因となりうる DMR のメチル化異常を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

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

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

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*, 86(6):539-544, 2014

Maeda T, Higashimoto K, Jozaki K, Yatsuki H, Nakabayashi K, Makita Y, Tonoki H, Okamoto N, Takada F, Ohashi H, Migita M, Kosaki R, Matsubara K, Ogata T, Matsuo M, Hamasaki Y, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Hata K, Soejima H. Comprehensive and quantitative multilocus methylation analysis reveals the susceptibility of specific imprinted differentially methylated regions (DMRs) to aberrant methylation in Beckwith-Wiedemann syndrome with epimutations. *Genet Med*, 16(12):903-912, 2014

Takama Y, Kubota A, Nakayama M, Higashimoto K, Jozaki K, Soejima H. Fibroadenoma in Beckwith-Wiedemann syndrome with paternal uniparental disomy of chromosome 11p15.5. *Pediatr Int*, 56(6):931-934, 2014

Ohtsuka Y, Higashimoto K, Sasaki K, Jozaki K, Yoshinaga H, Okamoto N, Takama Y, Kubota A, Nakayama M, Yatsuki H, Nishioka K, Joh K, Mukai T, Yoshiura KI, Soejima H. Autosomal recessive cystinuria caused by genome-wide paternal uniparental isodisomy in a patient with Beckwith-Wiedemann syndrome. *Clin Genet*, Published online: 8 November 2014

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

副島英伸. インプリンティング疾患のエピジェネティクス. 監修: 畑田出穂・久保田健夫、エピジェネティクスの産業応用、シーエムシー出版、東京、2014、266-279

東元健、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群、別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群 (第2版) IV-その他の神経疾患を含めて、日本臨牀社、大阪、2014、498-501

前田寿幸、副島英伸. Silver-Russell 症候群別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候群 (第2版) IV-その他の神経疾患を含めて、日本臨牀社、大阪、2014、685-688

2. 学会発表

前田寿幸. 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 69 回佐賀小児科地方会 2014.4.5. 佐賀

大塚泰史. Beckwith-Wiedemann 症候群における片親性父性ダイソミーの遺伝学多様性と臨床症状との関連. 第 69 回佐賀小児科地方会 2014.4.5. 佐賀

中林一彦、Court Franck、田山千春、Romanelli Valeria、副島英伸、和氣徳夫、Esteller Manel、緒方勤、秦健一郎、Monk David. Genome-wide parent-of-origin DNA methylation analysis reveals the intricacies of the human imprintome and suggests a germline methylation independent control of imprinting in the placenta. 第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会 2014.5.25-27. 東京大学 (抄録集 p46, ポスターP-7)

西岡憲一、Hitomi Miyazaki, Ken Higashimoto, Yukari Yada, Takaho A. Endo, Jafar Sharif,

Manabu Nakayama, Hidenobu Soejima, Haruhiko Koseki, Susumu Hirose. Ash11 methylates Lys36 of histone H3 independently of transcriptional elongation to counteract Polycomb silencing. 第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会 2014.5.25-27. 東京大学 (抄録集 p55, ポスターP-26)

前田寿幸、Rumbajan Janette Mareska、東元健、中林一彦、八木ひとみ、秦健一郎、城圭一郎、副島英伸. Beckwith-Wiedemann 症候群と肝芽腫における multiple methylation defect の解析. 第 8 回日本エピジェネティクス研究会年会 2014.5.25-27. 東京大学 (抄録集 p83, ポスターP-81)

副島英伸、Rumbajan Janette Mareska、畑田出穂、中林一彦、秦健一郎、青木茂久、関博之、竹田省、城圭一郎. Small for gestational age (SGA) 胎盤のゲノムワイド DNA メチル化解析. 日本人類遺伝学会第 59 回大会 2014.11.19-22. 東京 (2P-016 プログラム・抄録集 p343)

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）
分担研究報告書

歌舞伎症候群の遺伝子およびゲノム診断の有効性の検討

研究分担者 吉浦孝一郎
長崎大学・原爆後障害医療研究所・人類遺伝学・教授

研究要旨

研究目的は、歌舞伎症候群原因遺伝子として KMT2D 遺伝子と KDM6A 遺伝子の 2 個が同定されている。これらの遺伝子の変異解析では、変異が認められない症例が約 20%で存在しているが exome 解析でも新規原因遺伝子は見つけれない。同遺伝子のイントロン、プロモーターも含めた網羅的な変異解析と構造異常探索を行った。

A. 研究目的

KMT2D 遺伝子と KDM6A 遺伝子のイントロン、プロモーターも含めた網羅的な変異解析を目的とした。

歌舞伎症候群（KS）の原因遺伝子として、KMT2D 遺伝子と KDM6A 遺伝子の 2 個が知られている。しかし、これら遺伝子に変異が見られない症例が約 20%に認められ、現在までの所 exome による原因遺伝子探索でも新規原因遺伝子は見つかっていない。本年度は、KMT2D 遺伝子について、イントロンおよびプロモーターを含めたコード領域の塩基配列決定、欠失/重複解析、構造異常検出の塩基配列に基づく原因究明を行った。KDM6A 遺伝子については、エクソンの塩基配列決定、欠失/重複解析を行った。

キャピラリーシーケンサーによるスクリーニングによって、エクソン内変異は過去に一度スクリーニングされている。しかし、人的エラーによる見落としの可能性は否定できず、PCR 直接キャピラリーシーケンス法では、欠失/重複解析は同定できない。また、転座、逆位などの構造異常は見逃されている可能性が高い。

今回のスクリーニングは、塩基配列変異によって説明出来る歌舞伎症候群（KS）の割合をほぼ確定できると考えられる。

B. 研究方法

1) ゲノム変異解析

KMT2D 遺伝子はエクソン 54 個から構成され、イントロンと UTR を含めて約 36 kilo-base pair (kb) にわたり、12q13.12 上に存在している。KMT2D 遺伝子のイントロン、

プロモーターも含めて網羅的な変異解析と構造異常探索を行った。

KDM6A 遺伝子は、エクソン 29 個から構成され、イントロンと UTR を含めて約 240 kb にわたり、Xq11.3 上に存在している。KDM6A 遺伝子はゲノム構造が大きいためにイントロン、プロモーターは塩基配列決定対象には含めず、コーディングエクソンのみの網羅的な変異解析と欠失/重複検出を行った。

塩基配列決定対象領域ゲノム DNA の濃縮は、Roche 社の SeqCap EZ Choice Library にて行った。本法は、DNA bait とよばれる biotin-label した 55-105bp の合成 DNA オリゴヌクレオチドと患者 DNA から調製したライブラリーを hybridization 法によって雑種形成させ、biotin-avidin 反応によって bait DNA を回収して、目的領域を選択的に濃縮する。ゲノム DNA は、KAPA

High-Throughput Library Preparation Kit にて、両側にアダプターを ligation して次世代シーケンサー解析用 DNA ライブラリーを作成した (Illumina 社用 HiSeq2500 解析用)。濃縮された患者 DNA 断片を鋳型として ~10 サイクルほど PCR を行い、十分量の目的領域の患者濃縮 DNA を入手し、次世代シーケンサー (Illumina HiSeq2500) で塩基配列を決定した。本実験では hybridization 法による濃縮が患者の目的部位 DNA 量依存的に起こること、PCR のサイクルが少ないこと、target 領域を KMT2D 遺伝子のゲノム領域全体 (イントロンや遺伝子前後の発現調節領域も含めた) としたことによって、KMT2D 遺伝子のゲノム領域の欠失、重複、逆位など

の単純な PCR-ダイレクトシーケンス法では検出不可能な構造異常も含めて全ての変異が検出できると期待される。KDM6A 遺伝子は, target をエクソンに限ったため塩基変異とエキソンの欠失, 重複のみの検出が可能であり, 逆位・点在などのイントロンがからむ構造異常は検出できない。

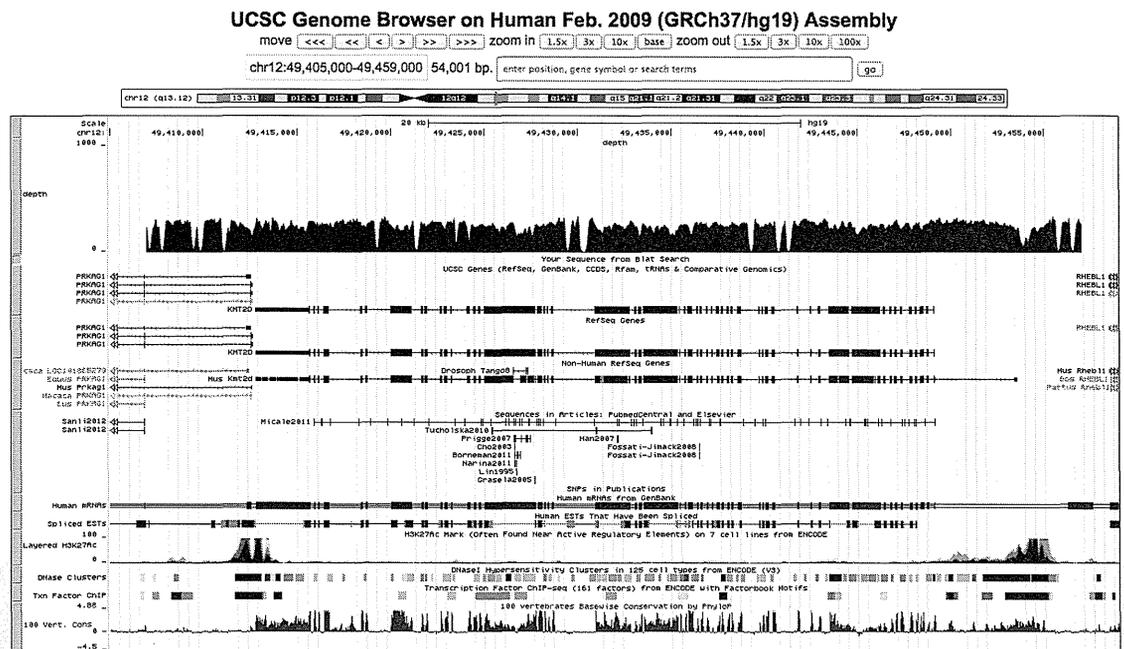
2) 解析対象試料

KS 患者でこれまでのキャピラリー塩基配列決定法にと exome 解析ほうにて原因遺伝子不明例 16 例を解析対象とした。

2) 変異データ情報処理

塩基変異検出は, Novoalign ソフトを使用し, 塩基配列情報を参照配列に対して整列させた後に, GATK にて配列調製を行い, 変異コールを行った。変異は ANNOVAR にて, 注釈付けをおこなった。

欠失/重複検出には, cn.MOPS と呼ばれるソフトウェアを用い, 構造異常検出には Novoalign を使用せずに BWA (Burrows-Wheeler Alignment Tool) にて整列後 Meerkat を用いた。



C. 結果

1) ゲノム変異データ取得

Illumina HiSeq2500 の Rapid Mode の 1 回のランで他の研究の試料と共にゲノム情報を取得した。

図に示すように、最も上段に示されたで黒く塗られているところが、Depth 情報である。KMT2D 遺伝子領域について、depth > 300 の比較的均一な情報を得ることが出来ていた。塩基配列決定が出来ていない部位は、リピート構造であり原塩基配列決定が不可能な部位であるから、本実験システムが十分に機能していることを示している。

KDM6A 遺伝子のエクソン部も、全てカバーされ depth > 300 の十分な塩基配列情報が得られていた (data not shown)。

これまでのキャピラリーシーケンス結果陰性、exome 解析結果陰性の歌舞伎症候群試料 16 例では、欠失/重複のコピー数変化は検出されていない。BWA-Meerkat による構造異常検出は、いろいろな条件変更を試みながら、情報処理中であるが、初期設定条件では構造異常は検出されない。

D. 考察

これまでの解析で変異が見つからなかった KS 患者 16 名の KMT2D, KDM6A を再度構造異常も含めて検索したが変異はみつけれなかった。現在のところ、歌舞伎症候群 (KS) は遺伝子診断が可能な群が 80%で、20%は遺伝子診断不可能である。KS は先天奇形症候群の中でも比較的均一な患者集団と考えられているがそれでも 20%は、説明は遺伝子変異からは説明出来ない。残る可能性は、KDM6A 遺伝子内のイントロン内を含んだ逆位、KMT2D/KDM6A 遺伝子の体細胞突然変異 (血球内に変異なし)、メチル化異常による KMT2D/KDM6A 遺伝子の発現異常、塩基配列解析を行っていない部位の変異のいずれかであろう。学究的には興味を持たれる所であるが、診療としては、これ以上の遺伝子学的な追求は不要であろう。症状からの臨床診断が優先されるのであって、きっちりとした臨床クライテリアがあって、臨床診断可能な症候群に対しては、遺伝子診断は、あくまでも補助的な役割である。

E. 結論

これまでの解析で変異が見つからなかった KS 患者 16 名の KMT2D, KDM6A を再度構造異常も含めて検索したが変異はみつけれなかった。現在のところ、歌舞伎症候群は遺伝子診断が可能な群が 80%で、20%は遺伝子診断不可能である。

F. 研究発表

1) 論文発表

1. Kaname T, Ki CS, Niikawa N, Baillie GS, Day JP, Yamamura KI, Ohta T, Nishimura G, Mastuura N, Kim OH, Sohn YB, Kim HW, Cho SY, Ko AR, Lee JY, Kim HW, Ryu SH, Rhee H, Yang KS, Joo K, Lee J, Kim CH, Cho KH, Kim D, Yanagi K, Naritomi K, Yoshiura KI, Kondoh T, Nii E, Tonoki H, Houslay MD, Jin DK.

Heterozygous mutations in cyclic AMP phosphodiesterase-4D (PDE4D) and protein kinase A (PKA) provide new insights into the molecular pathology of acrodysostosis. *Cell Signal*. 2014 Nov; 26(11): 2446-2459. doi: 10.1016/j.cellsig.2014.07.025.

2. Nagata E, Kano H, Kato F, Yamaguchi R, Nakashima S, Takayama S, Kosaki R, Tonoki H, Mizuno S, Watanabe S, Yoshiura KI, Kosho T, Hasegawa T, Kimizuka M, Suzuki A, Shimizu K, Ohashi H, Haga N, Numabe H, Horii E, Nagai T, Yoshihashi H, Nishimura G, Toda T, Takada S, Yokoyama S, Asahara H, Sano S, Fukami M, Ikegawa S, Ogata T. Japanese founder duplications/triplications involving BHLHA9 are associated with split-hand/foot malformation with or without long bone deficiency and Gollop-Wolfgang complex. *Orphanet J Rare Dis*. 2014 Oct 21; 9(1):125.

3. Miura K, Morisaki S, Abe S, Higashijima A, Hasegawa Y, Miura S, Tateishi S, Mishima H, Yoshiura K, Masuzaki H. Circulating levels of maternal plasma cell-free pregnancy-associated placenta-specific microRNAs are associated with placental weight. *Placenta*. 2014 Oct; 35(10):848-851. doi: 10.1016/j.placenta.2014.06.002.

4. Miura K, Hasegawa Y, Abe S, Higashijima A, Miura S, Mishima H, Kinoshita A, Kaneuchi M, Yoshiura K,

- Masuzaki H. Clinical applications of analysis of plasma circulating complete hydatidiform mole pregnancy-associated miRNAs in gestational trophoblastic neoplasia: A preliminary investigation. *Placenta*. 2014 Sep; 35(9):787-789. doi: 10.1016/j.placenta.2014.06.004.
5. Miura K, Mishima H, Kinoshita A, Hayashida C, Abe S, Tokunaga K, Masuzaki H, Yoshiura KI. Genome-wide association study of HPV-associated cervical cancer in Japanese women. *J Med Virol*. 2014 Jul;86(7):1153-1158. doi: 10.1002/jmv.23943.
6. Matsumoto H, Tsuchiya T, Yoshiura K, Hayashi T, Hidaka S, Nanashima A, Nagayasu T. ABCC11/MRP8 Expression in the Gastrointestinal Tract and a Novel Role for Pepsinogen Secretion. *Acta Histochem Cytochem*. 2014 Jun 28; 47(3):85-94. doi: 10.1267/ahc.13040.
7. Tsurusaki Y, Koshimizu E, Ohashi H, Phadke S, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K, Kodera H, Miyatake S, Nakashima M, Saitsu H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, Matsumoto N. De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Commun*. 2014 Jun 2;5:4011. doi: 10.1038/ncomms5011.
8. Miura K, Higashijima A, Miura S, Mishima H, Yamasaki K, Abe S, Hasegawa Y, Kaneuchi M, Yoshida A, Kinoshita A, Yoshiura K, Masuzaki H. Predominantly placenta-expressed mRNAs in maternal plasma as predictive markers for twin-twin transfusion syndrome. *Prenat Diagn*. 2014 Apr; 34(4):345-349. doi: 10.1002/pd.4307.
9. Abe S, Miura K, Kinoshita A, Mishima H, Miura S, Yamasaki K, Hasegawa Y, Higashijima A, Jo O, Yoshida A, Kaneuchi M, Yoshiura K, Masuzaki H. Single human papillomavirus 16 or 52 infection and later cytological findings in Japanese women with NILM or ASC-US. *J Hum Genet*. 2014 May; 59(5):251-255. doi: 10.1038/jhg.2014.9.
10. Amani D, Khalilnezhad A, Ghaderi A, Niikawa N, Yoshiura KI. Transforming growth factor beta1 (TGFβ1) polymorphisms and breast cancer risk. *Tumour Biol*. 2014 May; 35(5):4757-4764.
11. Tsukamoto O, Miura K, Mishima H, Abe S, Kaneuchi M, Higashijima A, Miura S, Kinoshita A, Yoshiura K, Masuzaki H. Identification of endometrioid endometrial carcinoma-associated microRNA in tissue and plasma. *Gynecol. Oncol*. 2014 Mar; 132(2): 715-721.
- 2) 学会発表
国際学会
なし
- 国内学会等
招待講演
平成 25 年度長崎県医師会母体保護法指定医師研修会 平成 26 年 3 月 2 日 (日), 長崎県医師会館. 産婦人科における臨床遺伝学-ゲノム医療の展開- 総論.
第 18 回小児血液セミナー 平成 26 年 4 月 5 日 (土), ANA クラウンプラザホテル福岡.
「小児血液・主要研究における全エキソーム解析の可能性」次世代シーケンサーを用いた疾患解析法~総論
第 57 回日本形成外科学会総会・学術集会 平成 26 年 4 月 9 日 (水) ~11 日 (金), 長崎ブリックホール. 特別企画「予防的乳房切除の今後」 特別企画 1-1 遺伝子診断が医療にもたらすもの
平成 26 年度長崎県高等学校理科教育研究会 第 55 回定期大会総会, 2014 年 5 月 23 日 (金) 長崎県佐世保北高校. 医学系研究のための高等学校理科から医学部学生教育について
第 23 回日本組織適合性学会大会@長崎大学 良順会館 ランチョンセミナー 次世代シーケンサーで何が出来るのか 平成 26 年 9 月 14 日 (日)
- 第 10 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- 2014 年 5 月 31 日 (土), 場所: 長崎大学良順会館専斎ホール, 長崎. digital PCR を利用した rare variant/mutation 検出法の検討. 渡辺聡, 朝重耕一, 吉浦孝一郎, 三嶋博之, 木下晃