

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究開発事業）
総括研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

研究代表者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科教授

次世代シーケンサー（NGS）による高出力解析研究により、遺伝子異常の多面性が認識され、疾患群をより正確に診断する（診断率を向上させる）ためには、より多くの責任/関連遺伝子・候補遺伝子を解析することが不可欠である。この解決策に大容量型 NGS を用いた全エクソーム解析が選択肢となるが、やや高コスト（1 サンプル当たり 2014 年度で 13 万円）である。我々は、数十個の遺伝子を集約する新技術と卓上型 NGS を組み合わせ、効率的かつ安価（1 サンプル当たり 3 万 5 千円）に遺伝子異常を同定する技術（統合的遺伝子解析システム）を確立、さらに点変異のみならずコピー数異常の検出も可能とした。平成 25 年度は、この一定の遺伝子に限定した遺伝子パネル統合解析システムと全エクソーム解析との変異検出率やコストを検討し、遺伝子パネルの変異検出率が、パネル/全エクソームコスト比を上回らない限り遺伝子パネル解析を優先するメリットがないことが判明した。よって平成 26 年度は、全エクソーム解析を基本プラットフォームとして研究を進めた。特に全エクソーム解析データを用いた Nord プログラムによる遺伝子選択的 CNV 解析と XHMM プログラムにおける全ゲノム俯瞰的解析について検討した。

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

加藤光広・山形大学医学部小児科学講座・講師

小坂仁・自治医科大学小児科学講座・教授

橋本亮太・大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学研究科附属子どもこのころの分子統御機構研究センター/大阪大学大学院医学系研究科・情報統合医学講座精神医学教室・准教授

A．研究目的

本申請研究は、申請者が研究代表を務めた「超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究（H22-神経・筋-一般-012）」の成果を受けた発展研究である。H22-24年度

研究費では、高密度マイクロアレーを用いた疾患ゲノム解析を基軸に、West症候群（Am J Hum Genet, 2010）、Kabuki症候群（Nat Genet, 2010）、Microphthalmia with limb anomaly (MLA)症候群（Am J Hum Genet, 2011）、Coffin-Siris症候群（Nat Genet, 2012）、大田原症候群（Ann Neurol, 2012）（Epilepsia, 2012）等で責任遺伝子を同定した。このうち3疾患の遺伝子異常が染色体微細構造異常に絡んでおり、染色体構造異常解析の有用性は明白であった。これらの研究過程で、年齢依存性てんかんの一群の解析は格段に進歩した。最重症系である大田原症候群では、我々が明らかにした責任遺伝子ARX・STXBP1・KCNQ2・CASKと新たにSCN2A（Neurology, 2013）・GNAO1（Am J Hum Genet, 2013）・SLC35A2（Hum

Mut, 2013) を加えておよそ57%で遺伝子異常が明らかになった。また次世代シーケンサー (NGS) による高出力解析研究により、遺伝子異常の多面性 (pleiotropy) が認識され始め、疾患群をより正確に診断する (診断率を向上させる) ためには、より多くの責任/関連遺伝子・候補遺伝子を解析する必要がある。この解決策に大容量型NGSを用いた全exome解析が選択肢となるが、やや高コスト (1サンプル当たり2014年度で13万円) である。我々は、数十個の遺伝子を集約する新技術と卓上型NGSを組み合わせ、効率的かつ安価 (1サンプル当たり3万5千円) に遺伝子異常を同定する技術 (統合的遺伝子解析システム) を確立し、さらに点変異のみならずコピー数異常の検出も可能とした。平成25年度は、この一定の遺伝子に限定した遺伝子パネル統合解析システムと全エクソーム解析との変異検出率やコストを検討し、遺伝子パネルの変異検出率が、パネル/全エクソームコスト比を上回らない限り遺伝子パネル解析を優先するメリットがないことが明らかとなった。よって平成26年度は、全エクソーム解析を基本プラットフォームとして研究を進めた。SNVとCNVを統合的に解析するシステムを確立し、効率的にヒト発達障害の遺伝子異常・分子病理を明らかにし、有効な診断システムの確立を目指すことを目的とする。

B. 研究方法

I. 症例集積

小児神経臨床研究ネットワーク等を通じて全国の小児神経科医から年齢依存性てんか

んとその類縁疾患を、臨床遺伝ネットワーク等を通じて集積した知的障害関連疾患を集積する。

II. 統合的遺伝子解析システム開発

平成 25 年度に遺伝子を限定して統合的に解析する統合的遺伝子解析システムそのものに全エクソーム解析を上回るメリットが少ないことが明らかとなった。よって平成 26 年度は、本システムで CNV 解析に有効であった Nord プログラムを全エクソーム解析で可能かどうかの検討に変更することにした。

III. インフォーマティクス解析

NGS 解析で既に全エクソン解析において研究室内で確立した解析フローを統合遺伝子解析システムにも応用する。NGS データは、研究室独自のインフォーマティクスフローにより効率的な点変異の検出が可能で、かつ CNV に関しては Alex NORD プログラムと全ゲノムを俯瞰する XHMM 解析法の確立を目指す。

IV. バックアップシステム

従来型の超細密マイクロアレーと全エクソーム解析・全ゲノム解析による網羅的なゲノム解析手法を遺伝子統合解析システムでの陰性例に適宜用いて新規遺伝子異常とコピー数異常を同定する。

V. 効果的遺伝子診断システムの確立

本研究の知見に基づく迅速、効果的かつ安価な疾患遺伝子診断システムを考案する。本研究は、所属施設 IRB の承認を受け適切な倫理的配慮と手続きを得て行われた。

C . 研究結果

I . 症例集積

小児神経臨床研究ネットワーク（蔵王セミナー等で交流）等を通じて全国の小児神経科医から年齢依存性てんかんとその類縁疾患を含めた計 1040 例の世界的にも突出した症例が集積した。さらに臨床遺伝ネットワーク等により遺伝医学専門医や小児神経科医の協力のもと知的障害関連疾患を呈する症例が 2170 例集積した。今後も種々のチャンネルを通して継続的にこれらの疾患群の集積に努める。

II. 統合的遺伝子解析システム開発

平成 25 年度研究で遺伝子パネル/全エクソーム解析の価格比（3.5 万円/11 万円(2013 年時) = 31.8%）を超える変異検出率をパネルで超えない限り、全エクソーム解析を第一選択とする方が安価で迅速であるとの結論に至った。よって明らかに検出率が 32% を大きく超えることが期待できる疾患はパネルを作成するがそれ以外は全エクソーム解析を選択することとし、平成 26 年度は主として全エクソーム解析をメインプラットフォームとしてシステム構築を進めた。

III. インフォーマティクス解析

NGS 解析で既に全エクソン解析において研究室内で確立した解析フローを統合遺伝子解析システムにも応用する。Miseq データは、Novoalign/Picard/GATK/Annova を組み合わせた研究室独自の Ecome により効率的な解析が可能である。さらに遺伝子パネルを用いた NGS データから特に欠失を

効率的に検出する Alex NORD プログラムで非常に小さな（100 bp 程度）欠失検出が可能であったため、平成 26 年度は全エクソーム解析データを用いて Nord プログラムが正確に CNV 検出可能化の検討を加えた。遺伝子パネル解析は解析する遺伝子数が限定的であるため比較的深いシーケンスリードを得ることが可能である（通常数百リード）。一方全エクソーム解析では、通常百リード程度の解析にとどまるため、遺伝子パネルに比して浅いシーケンスリード数の全エクソームデータでも正確に CNV 検出が可能かどうかを検討し、遺伝子パネルと同様な検出感度を有することが判明した。全エクソーム解析データを用いてXHMM法でCNV解析もマイクロアレーで検出される 200 kb サイズを超える CNV の 90% 以上が検出可能であることを確認している。さらにマイクロアレーで検出できない 10 Kb 以下の CNV 検出が XHMM では検出され、一定の正確性を有することから特に重要な遺伝子を巻き込む小さな CNV は注意して解析をすることで病的な以上を検出できる可能性が示された。

IV. バックアップシステム

従来型の超細密マイクロアレーも CNV 異常の検出から責任遺伝子の特定する手法として依然重要で統合遺伝子解析システムと並行して適宜行っている。

V. 効果的遺伝子診断システムの確立

平成 25・26 年度研究の知見に基づいて効果的かつ安価な疾患遺伝子診断システムの検討を続けている。遺伝子パネルでの遺伝子変異同定率が遺伝子パネル/全エク

ソーム解析のコスト比を超え無い限りパネルを利用するメリットがないことが明らかになり全エクソーム解析の解析レベルを向上させるかを主軸に研究を進めている。全エクソーム解析で難治性てんかんに関しての新しい遺伝子として平成 25 年は *SCN2A* (Neurology, 2013), *GNAO1* (Am J Hum Genet, 2013), *SLC35A2* (Hum Mut, 2013),平成 26 年は *PIGA* (Neurology 2014, 雑誌の表紙を飾る)等の単離にも成功し遺伝子変異同定率の向上に寄与している。

D . 考察

遺伝子パネルと全エクソーム解析のパフォーマンスとコストの検討及び上記 2 手法のデータを利用した CNV 解析システムをセットアップし、マイクロアレーデータとの比較を行った。遺伝子パネルはコストメリットは明らかだが、検出率が低い場合全エクソーム解析に移行せざる負えないことも多く、コスト・スピードの観点で全エクソーム解析を第一選択とするメリットも明らかになった(平成 25 年度)。全エクソームシークエンスデータを用いた CNV 解析では、Nord プログラムも遺伝子パネル解析と同等の検出感度で CNV を検出し、XHMM ではマイクロアレーで明らかとなった 200 kb サイズ以上の CNV の 90%以上が感度よく検出可能であり、マイクロアレーの検出限界である 10 Kb 以下の欠失等が検出される可能性があること等などが判明し、その特徴を生かしたデータ利用が重要である。

E . 結論

H26 年度は、全エクソーム解析データでも Alex Nord プログラムは問題なく稼働し、XHMM では 200 kb 以上の CNV のおよそ 90%は検出可能であった。全エクソーム解析を用いて大田原症候群の新規遺伝子として *SCN2A*(Neurology, 2013)・*GNAO1*(Am J Hum Genet, 2013)・*SLC35A2* (Hum Mut, 2013)に加えて *PIGA*(Neurology, 2014)、雑誌の表紙を飾る)を公表した。また幼少期には発達障害、青年期に急速に神経変性が進行して寝たきりになる SENDA の責任遺伝子 *WDR45*(Nat Genet, 2013)や Coffin-Siris 症候群の新たな遺伝子 *SOX11* を見いだした(Nat Commun, 2014)。以上の統合的な遺伝子解析システム構築と本システムを利用した発達障害の責任遺伝子の解析が計画通り順調に進んでいる。

F . 健康危険情報

本研究遂行上、健康危機に関わる問題は生じていない。

G . 研究発表

1 . 論文発表

Miyatake S, *Matsumoto N (*: correspondence). Clinical exome sequencing in neurology practice. Nat Rev Neurol 10(12):676-678, 2014.

Tsurusaki Y, Ohashi H, Phadke S, Koshimizu E, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K-i, Kodera H, Miyatake S, Nakashima N, Saitsu H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, and *Matsumoto N. De novo *SOX11* mutations cause Coffin-Siris syndrome. Nat Commun 5:4011.

Miyatake S, Osaka H, Shiina M, Sasaki M, Takahashi J, Haginoya K, Wada T, Morimoto M, Ando N, Ikuta Y, Nakashima N, Tsurusaki Y, Miyake N, Ogata K, *Matsumoto N, *Saitsu H (*: co-correspondence). Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies, Neurology 82(24):2230-2237, 2014.

*Kato M#, *Saitsu H#, *Murakami Y (*: co-first authors, #: co-correspondence), Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R,

- Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N. *PIGA* mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology* 82(18):1587-1596, 2014.
- *Nakamura K, Kato M, Tohyama J, Shiohama T, Hayasaka K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Matsumoto N, Saitsu H. *AKT3* and *PIK3R2* mutations in two patients with megalencephaly-related syndromes. *Clin Genet* 85(4): 396-398, 2014
- *Miyake N, Kosho T, Matsumoto N. Ehlers–Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. J. Halper (ed.), *Progress in heritable soft connective tissue diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology* 802. Pp145-159, 2014 Springer Netherland, Houten, Netherland
- Ichinose Y, Miwa M, Onohara A, Obi K, Shindo K, Saitsu H, Matsumoto N, *Takiyama Y. Characteristic MRI findings in beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN). *Neurol Clin Pract* 4(2):175-177, 2014
- Fukai R, Hiraki Y, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, *Matsumoto N, *Miyake N (*: co-corresponding). A de novo 1.4-Mb deletion at 21q22.11 in a boy with developmental delay. *Am J Med Genet Part A* 164(4):1021-1028, 2014.
- Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, *Matsumoto N, *Miyake N (*: co-correspondence). A Novel *WTX* Mutation in a Female Patient who has Osteopathia Striata with Cranial Sclerosis and Hepatoblastoma. *Am J Med Genet Part A* 164A(4):998-1002, 2014.
- Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Kawato K, Suzuki Y, Ikeda T, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, *Matsumoto N, *Saitsu H (*: co-correspondence). *PIGN* mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenet* 59(5):292-295, 2014.
- Leventer RJ, Jansen FE, Mandelstam SA, Ho A, Mohamed I, Sarnat HB, Kato M, Fukasawa T, Saitsu H, Matsumoto N, Itoh M, Kalnins RM, Chow CW, Harvey AS, Jackson GD, Crino PB, Berkovic SF, Scheffer IE. Is Focal Cortical Dysplasia sporadic? Family evidence for genetic susceptibility. *Epilepsia*; 55(3):e22-26, 2014.
- Ohba C, MD, Kato M, Takahashi S, Lerman-Sagie T, Lev D, Terashima H, Kubota M, Kawawaki H, Matsufuji M, Kojima Y, Tateno A, Goldberg-Stern H, Straussberg R, MD, Marom D, Leshinsky-Silver E, Nakashima M, Nishiyama K, Tsurusaki T, Miyake N, Tanaka F, *Matsumoto N, *Saitsu H (*: co-correspondence). Early onset epileptic encephalopathy caused by de novo *SCN8A* mutations. *Epilepsia* ;55(7):994-1000, 2014.
- Imagawa E, Kayserili H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Nishimura G, Ikegawa S, *Matsumoto N*, *Miyake N (*: co-correspondence). Severe manifestations of Hand-Foot-Genital syndrome associated with a novel *HOXA13* mutation. *Am J Med Genet Part A* 164A(9):2398-2402, 2014.
- #Ohba C, #Nabatame S, (# denotes equal contribution) Iijima Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Ozono K, Saitsu H*, Matsumoto N* (*: co-corresponding). De novo *WDR45* mutation in a patient showing clinically Rett syndrome with childhood iron deposition in brain. *J Hum Genet* 59(5):292-295, 2014.
- #Miyatake S, #Koshimizu E (# denotes equal contribution), Hayashi YK, Miya K, Shiina M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ogata K, Nishino I, *Matsumoto N. Deep sequencing detects very low-grade somatic mosaicism in the unaffected mother of siblings with nemaline myopathy. *Neuromuscul Disord* 24(7):642-647, 2014.
- Nakashima M, Kashii H, Murakami Y, Kato M, Tsurusaki Y, Miyake N, Kubota M, Kinoshita T, Saitsu H, Matsumoto N*. Novel compound heterozygous *PIGT* mutations caused multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome 3. *Neurogenet* 15(3):193-200, 2014
- Ozawa T, *Koide R, Nakata Y, Saitsu H, Matsumoto N, Takahashi K, Nakano I, Orimo S. A novel *WDR45* mutation in a patient with static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA). *Am J Med Genet Part A* 164(9):2388-2390, 2014.
- *Matsumoto N. A message from the new Editor-in-Chief. *J Hum Genet*. 2014 59(1):1.
- Yasuda Y, *Hashimoto R (* denotes a corresponding author), Fukai R, Okamoto N, Hiraki Y, Yamamori H, Fujimoto M, Ohi K, Taniike M, Mohri I, Nakashima M, Tsurusaki T, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N, Takeda M. The *NPH1* duplication in autism spectrum disorder with normal intellectual ability: a case series. *Ann Gen Psychiatry*. 13:22, 2014.
- *Miyake N (*: corresponding author), Tsurusaki Y, Matsumoto N. Numerous BAF complex genes are mutated in Coffin-Siris syndrome. *Am J Med Genet Part C* 166(3):257-261, 2014.
- *Nakashima M (*: corresponding author), Takano K, Osaka H, Aida N, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Causative novel *PNKP* mutations and concomitant *PCDH15* mutations in a patient with microcephaly with early-onset seizures and developmental delay syndrome and hearing loss. *J Hum Genet* 59(8):471-474, 2014.
- Ben-Omran T, Lakhani S, Almureikhi M, Ali R, Takahashi A, Miyake N, Matsumoto N, Ikegawa S, Superti-Furga A, *Unger S. Cono-spondylar dysplasia: Clinical, radiographic, and molecular findings of a previously unreported disorder. *Am J Med Genet Part A* 164(9):2147-2152, 2014.
- *Yoshida K (*: correspondence), Miyatake S, Kinoshita T, Doi H, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. ‘Cortical cerebellar atrophy’ dwindles away in the era of next-generation sequencing (correspondence). *J Hum Genet* 59(10):589-590, 2014.
- Katagiri S, Akahori M, Sergeev Y, Yoshitake K, Ikeo K, Furuno M, Hayashi T, Kondo M, Ueno S, Tsunoda K, Shinoda K, Kuniyoshi K, Tsurusaki Y, Matsumoto N, Tsuneoka H, Iwata T. Whole exome analysis identifies frequent *CNGA1* mutations in Japanese population with autosomal recessive

- retinitis pigmentosa. *Plos One* 9(9):e108721, 2014.
- Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Saito S, *Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed causative biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. *Clin Genet* (in press)
- Nakamura K, Osaka H, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, *Matsumoto N, *Saitsu H (*: co-correspondence). *PIGO* mutations in epileptic encephalopathy with mild elevation of alkaline phosphatase levels. *Epilepsia* (in press).
- *Nakayama T, Saitsu H, Endo W, Kikuchi A, Uematsu M, Haginoya K, Hino-Fukuyo N, Kobayashi T, Iwasaki M, Tominaga T, Kure S, Matsumoto N. *RBPJ* is disrupted in a case of proximal 4p deletion syndrome with epilepsy. *Brain Dev* (in press).
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, 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* (in press).
- *Okamoto N, Yamagata T, Yada Y, Ichihashi K, Matsumoto N, Momoi MY, Mizuguchi T. Williams-Beuren syndrome with brain malformation and hypertrophic cardiomyopathy. *Brain Dev* (in press)
- Hara M, Ohba C, Yamashita Y, Saitsu H, Matsumoto N, *Matsuishi T. *De novo SHANK3* mutation causes a female patient with Rett syndrome like phenotype. *Am J Med Genet Part A* (in press).
- Ohashi T, Akasaka N, Kobayashi Y, Magara S, Kawashima H, Matsumoto N, Saitsu H, *Tohyama J. Infantile epileptic encephalopathy with a hyperkinetic movement disorder and hand stereotypies arising from a novel SCN1A mutation. *Epileptic Disord* (in press)
- Kodera H, Ando N, Yuasa I, Wada Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitoh S, *Matsumoto N, *Saitsu H (*:co-corresponding). Compound heterozygous mutations in *COG2* encoding a subunit of the conserved oligomeric Golgi complex cause congenital disorder of glycosylation. *Clin Genet* (in press)
- Nakajima J, Okamoto N, Tohyama J, Kato M, Arai H, Funahashi O, Tsurusaki Y, Nakashima M, Kawashima H, Saitsu H, Matsumoto N[#], Miyake N[#] (#: co-corresponding). *De novo EEFlA2* mutations in patients with characteristic facial features, intellectual disability and, autistic behaviors and epilepsy. *Clin Genet* (in press)
- Endo Y, *Noguchi S, Hara Y, Hayashi YK, Motomura K, Murakami N, Tanaka S, Yamashita S, Kizu R, Bamba M, Goto Y, Matsumoto N, Nonaka I, Nishino I. Dominant mutations in *ORAI1* cause tubular-aggregate- myopathy with hypocalcemia by constitutive activation of store-operated Ca²⁺ channel. *Hum Mol Genet* (in press).
- Okubo M[#], Fujita A[#] (# denotes equal contribution), Saito Y, Komaki H, Ishiyama A, Kojima E, Koichihara R, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Yamazaki H, Kusaka K, Tanaka H, Matsumoto N, Sasaki M. A family of distal arthrogryposis type 5 due to a novel *PIEZO2* mutation. *Am J Med Genet Part A* (in press)
- Suzuki T, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Takeda S, *Matsumoto N. Precise detection of chromosomal translocation or inversion breakpoints by whole genome sequencing. *J Hum Genet* (in press).
- Doi H, Ushiyama M, Baba T, Tani K, Shiina M, Ogata K, Miyatake S, Fukuda-Yuzawa Y, Tsuji S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ikeda S, Tanaka F, Matsumoto N, *Yoshida K. Late-onset spastic ataxia phenotype in a patient with a homozygous *DDHD2* mutation. *Sci Rep* (in press)
- *Miyatake S, *Koshimizu E, (*: corresponding author), Tada H, Satoshi Moriya S, Takanashi J, Hirano Y, Hayashi M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Matsumoto N, Saitsu H. Atypical giant axonal neuropathy arising from a homozygous mutation by uniparental isodisomy. *Clin Genet* (in press)
- *Saitsu H, Yamashita S, Tanaka Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, *Matsumoto N. Compound heterozygous *BRAT1* mutations cause familial Ohtahara syndrome with hypertonia and microcephaly. *J Hum Genet* (in press)
- Zerem A, Lev D, Blumkin L, Goldberg-Stern H, Michaeli-Yossef Y, Halevy A, Kivity S, Nakamura K, Matsumoto N, Leshinsky-Silver E, Saitsu H, *Lerman-Sagie T. Paternal germline mosaicism of a *SCN2A* mutation results in Ohtahara syndrome in half siblings. *Eur J Paediatr Neurol* (in press)
- *Wada T, Takano K, Tsurusaki Y, Miyake N, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese familial case of myoclonus–dystonia syndrome with a splicing mutation in the *SGCE* gene. *Pediatr Int* (in press)
- Kubota K, Saito Y, Ohba C, Saitsu H, Fukuyama T, Ishiyama A, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Matsumoto N. Brain magnetic resonance imaging findings and auditory brainstem response in a child with spastic paraplegia 2 due to a *PLP1* splice site mutation. *Brain Dev* (in press)
- *Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Goto Y, Nishino I, Ohtake A, King M-C, *Matsumoto N (*: co-correspondence). A girl with West syndrome and autistic features harboring a *de novo TBL1XR1* mutation. *J Hum Genet* (in press)
- Cho SY, Asharani PV, Kim OH, Iida A, Miyake N, Matsumoto N, Nishimura G, Ki CS, Hong G, Kim SJ, Sohn YB, Park SW, Lee J, Kwun Y, Carney TJ, Huh R, Ikegawa S[#], Jin DK[#]. (*: co-correspondence) (# denotes equal contribution). Identification and in vivo functional characterization of novel compound heterozygous *BMP1* variants in osteogenesis imperfecta. *Hum Mut* (in press)
- Shimajima K, Okumura A, Ikeno M, Nishimura A, Saito A, Saitsu H, Matsumoto N, *Yamamoto T. A *de novo TUBB4A* mutation in a patient with hypomyelination mimicking Pelizaeus-Merzbacher disease. *Brain Dev* (in press)
- Nakashima M, Miyajima M, Sugano H, Iimura Y, Kato M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Arai H, *Matsumoto N. The somatic *GNAQ* mutation c.548G>A (p.R183Q) is consistently found in

- Sturge-Weber syndrome. *J Hum Genet* (in press)
- Inui T, Kobayashi T, Kobayashi S, Sato R, Endo W, Kikuchi A, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Kato M, Saitu H, Matsumoto N, Kure S, Haginoya K. Efficacy of long term weekly ACTH therapy for intractable epilepsy. *Brain Dev* (in press)
- Uchino S, Saitu H, Kumada S, Nakata Y, Matsumoto N. Stereotypic hand movements in β -propeller protein-associated neurodegeneration: first video report. *Mov Disord* (in press)
- *Takahashi S, Yamamoto S, Okayama A, Araki A, Saitu H, Matsumoto N, Azuma H. Electroclinical features of epileptic encephalopathy caused by SCN8A mutation. *Pediatr Int* (in press).
- Yoshimura-Furuhata M, Nishimura-Tadaki A, Amano Y, Ehara T, Hamasaki Y, Muramatsu M, Shishido S, Aikawa A, Hamada R, Ishikura K, Hataya H, Hidaka Y, Noda S, Koike K, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Awadu M, Miyake N, Kosho T*. Renal complications in 6p duplication syndrome: microarray-based investigation of the candidate gene(s) for the development of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) and focal segmental glomerular sclerosis (FSGS). *Am J Med Genet Part A* (in press)
- Kodera H, Osaka H, Iai M, Aida N, Yamashita A, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitu H*, Matsumoto N* (*: co-corresponding). Mutations in the glutaminyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. *J Hum Genet* (in press)
- *Takano K, Tsuyusaki Y, Sato M, Takagi M, Anzai R, Okuda M, Iai M, Yamashita S, Okabe T, Aida N, Tsurusaki Y, Saitu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese girl with a severe form of vanishing white matter disease resembling Cree leukoencephalopathy. *Brain Dev* (in press).
- 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 Part A* 164(1):231-236, 2014.
- *Takanashi JI, Osaka H, Saitu H, Sasaki M, Mori H, Shibayama H, Tanaka M, Nomura Y, Terao Y, Inoue K, Matsumoto N, Barkovich JA. Different patterns of cerebellar abnormality and hypomyelination between POLR3A and POLR3B mutations. *Brain Dev* 36(3):259-263, 2014.
- Nakamura K, Jinnou H, Yokochi K, Okanishi T, Enoki H, Ohki S, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake M, Matsumoto N, Saitu H*. A de novo *CASK* mutation in pontocerebellar hypoplasia type 3 with early myoclonic epilepsy and tetralogy of Fallot. *Brain Dev* 36(3): 272-273, 2014.
- Kutuk MS, Balta B, Kodera H, *Matsumoto N, *Saitu H, Doganay S, Canpolat M, Dolanbay M, Unal E, Dundar M. Is there relation between COL4A1/A2 mutations and antenatally detected fetal intraventricular hemorrhage? *Childs Nerv Syst* 30(3):419-424, 2014.
- Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Hideo Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Ogata K, *Matsumoto N, *Miyake N. A hemizygous *GYG2* mutation causes Leigh syndrome. *Hum Genet* 133 (2):225-234, 2014

2. 学会発表

- 第 37 回日本小児遺伝学会学術集会・シンポジウム・松本直通「次世代シーケンサー解析のポテンシャルと小児医療」平成 26 年 4 月 10 日名古屋市立大学桜山キャンパス・名古屋
- The 9th Cherry Blossom Symposium. Symposium 4 “Clinical testing and automation utilizing new technology” Naomichi Matsumoto “Next generation sequencing dissecting human genetic diseases” Yokohama Red Brick Warehouse No. 1, April 19, 2014
- 第 382 回医学研究の基礎を語り合う集い・松本直通「遺伝性疾患におけるエクソーム解析の有用性」平成 26 年 4 月 21 日東京慈恵医科大学
- 九州大学産婦人科セミナー・松本直通「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノム時代を迎えて」平成 26 年 5 月 21 日第二博多偕成ビルアイクレオ
- 信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所設立記念講演会・記念講演会・松本直通「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノムシーケンス時代を迎えて」平成 26 年 5 月 25 日・信州大学医学部・松本
- 第 55 回日本神経病理学会総会学術集会・松本直通（シンポジスト）「WDR45 mutations cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood」@シンポジウム 1 (English)「Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA)：急速に広がる疾患概念」平成 26 年 6 月 7 日学術総合センター
- 藤田保健衛生大学遺伝子網羅的解析センター開所記念セミナー・特別講演「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノム時代を迎えて」平成 26 年 6 月 21 日@藤田保健衛生大学・豊橋

第 110 回日本精神神経学会学術総会・松本直通 (シンポジスト)「発達障害のゲノム解析」シンポジウム 50「精神疾患における分子と臨床の架け橋～病因と治療」2014 年 6 月 27 日パシフィコ横浜、横浜

がん研臨床試験・研究センター 第 12 回臨床研究セミナー松本直通「遺伝性疾患のゲノム解析 ---1000 ドルゲノム時代を迎えて---」2014 年 7 月 3 日がん研究会・東京

横浜市立大学先端医科学研究センター市民講座・松本直通「難病を解き明かすヒト全遺伝子・全ゲノム解析」2014 年 8 月 7 日ウィリング横浜・横浜
文部科学省イノベーションシステム整備事業先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の形成」第 5 回公開シンポジウム・松本直通「ヒト発生・発達異常の分子探索と診断法の開発」2014 年 8 月 19 日・県民共済みなとみらいホール・横浜

KOBE 内分泌・代謝スキルアップセミナー特別講演・松本直通・「ゲノム解析と医療--1000 ドルゲノム時代を迎えて--」平成 26 年 8 月 23 日@ホテルクラウンパレス神戸

第 17 回胎児遺伝子診断研究会・セミナー 1・松本直通「次世代シーケンサーの活用法」平成 26 年 11 月 7 日@ハウステンボス・佐世保

第 56 回日本先天代謝異常学会総会・松本直通・シンポジスト・「次世代シーケンサーによる遺伝子解析」平成 26 年 11 月 14 日@江陽グランドホテル・仙台

日本人類遺伝学会第 59 回大会・松本直通・シンポジスト「次世代シーケンサーを用いた染色体・ゲノム構造異常解析」平成 26 年 11 月 21 日@タワーホール船堀・東京

日本人類遺伝学会第 59 回大会・松本直通・NPG ランチョンセミナー「人類遺伝学研究におけるデータ

ベースの重要性」平成 26 年 11 月 22 日@タワーホール船堀・東京

The 37th annual meeting of the molecular biology society of Japan. Matsumoto N (as a symposist). “Congenital intellectual disability syndromes arising from mutations of epigenetic regulators” in the symposium for epigenetic dysregulation and disease. Pacifico Yokohama, Yokohama, Nov 27, 2014.

平成 26 年度報告会・松本直通「TUBB4A 変異による先天性白質形成不全症」・精神・神経疾患研究開発費 (佐々木班)・平成 26 年 11 月 30 日・NCNP

平成 26 年度報告会・松本直通「Coffin-Siris 症候群の新規遺伝子探索」精神・神経疾患研究開発費 (後藤班)・平成 26 年 12 月 9 日・NCNP

日本遺伝子診療学会：遺伝子診断・検査技術推進フォーラム公開シンポジウム 2014「個別化医療を進めるために」ランチョンセミナー・松本直通「臨床に役立つ次世代シーケンサーの活用法」・平成 26 年 12 月 12 日・コクヨホール (品川)

H. 知的財産権の出願・登録状況

PCT/JP2014/065217 (2014 年 6 月 9 日)「重度の知的障害及び運動発達遅滞を伴う難治性てんかんの検出方法」松本直通・才津浩智

指定国移行日本のみ特願 2013-552406 (2014 年 7 月 14 日)「コフィン - シリス症候群の検出方法」松本直通・三宅紀子・鶴崎美徳

指定国移行 (JST 採択) 日本・特願 2013-542930 (移行日 2014 年 4 月 24 日)・米国・14/357,373 (2014 年 5 月 9 日)「孔脳症又は脳出血のリスクを予測する方法」松本直通・才津浩智

特許第 5608863 号「新生児期～乳児期発症の難治性てんかんの検出方法」松本直通・才津浩智 (2014 年 9 月 12 日登録・日本)

特願 2013-252720・鶴崎美徳 / 松本直通・

「Coffin-Siris 症候群の新規遺伝子診断法」・平成

25 年 12 月 6 日

PCT/JP2013/71620・松本直通 / 三宅紀子・ミトコ

ンドリア複合体 III 欠乏症患者又は保因者の検出

方法・平成 25 年 8 月 9 日・平成 26 年 2 月 7 日

特願 2013-157339 号 松本直通 / 三宅紀子・ケトン

血症を伴うリー脳症患者または保因者の検出法。

平成 25 年 7 月 31 日

特願 2013-123660 才津浩智 / 松本直通・小児期の

てんかんおよび不随意運動をきたす疾患の検出

方法・平成 25 年 6 月 12 日

PCT/JP2012/83113 松本直通 / 鶴崎美德 / 三宅紀

子・コフィン - シリス症候群の検出方法・平成

24 年 12 月 20 日

PCT/JP2012/77903 才津浩智 / 松本直通・孔脳症又

は脳出血のリスクを予測する方法・平成 24 年 10

月 29 日

特願 2012-180356・松本直通 / 三宅紀子・ミトコン

ドリア複合体 III 欠乏症の確定診断法・平成 24

年 8 月 16 日

研究全体の流れと進行状況

