

201442028A

厚生労働科学研究委託事業  
難治性疾患等克服研究事業  
(難治性疾患等実用化研究事業 (難治性疾患実用化研究事業))

**細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群  
の病態解明と治療法開発の研究  
(H26-委託(難)-一般-028)**

平成26年度 委託業務成果報告書  
業務主任者 青木洋子

平成27年(2015)3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託事業（難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業）））による委託業務として、国立大学法人東北大学が実施した平成26年度「細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究」の成果を取りまとめたものです。

# 目次

---

## I. 委託業務成果報告(総括)

細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究 青木 洋子 .....	1
--	---

## II. 委託業務成果報告(業務項目)

### 1. 医療機関への診断支援と遺伝子解析(青木・松原・緒方・黒澤・岡本・水野・大橋・川目・新堀)

1-1 ヌーナン症候群関連疾患の診断基準の作成と新規原因遺伝子 松原 洋一 .....	7
1-2 診断・治療指針の作成と成長ホルモンについての実態調査 緒方 勤 .....	11
1-3 ヌーナン症候群類縁疾患を含む遺伝性循環器疾患パネル解析 黒澤 健司 .....	17
1-4 ヌーナン症候群における中枢神経系奇形の研究 岡本 伸彦 .....	21
1-5 Noonan症候群の乳幼児期の排便に関する研究 水野 誠司 .....	25
1-6 先天性異常症候群の集団外来を通じた患者家族支援について 大橋 博文 .....	29
1-7 Cardio-facio-cutaneous症候群の臨床症状の多様性 川目 裕 .....	33
<b>2. 新規遺伝子の同定と変異蛋白・細胞の機能解析(青木・新堀)</b>	
2-1 次世代シーケンサーを用いたRAS/MAPK症候群の遺伝子解析 新堀 哲也 .....	37

---

<b>3. モデル生物の作製・解析による病態解析と薬剤スクリーニング(青木、呉、新堀、梅澤)</b>	
3-1 シグナル伝達異常症の遺伝子解析とモデルマウスにおける治療法開発	
青木 洋子 .....	41
3-2 BRAF V600E 変異の体細胞モザイクにより発症した Schimmelpenning症候群の遺伝子解析ならびに合併した 先天性悪性神経膠腫に対する vemurafenid による分子標的療法の研究	
呉 繁夫 .....	47
3-3 細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究	
梅澤 明弘 .....	49
<b>4. 医療機関・患者への情報提供とプロジェクト推進班会議の開催(青木、松原)</b>	
青木 洋子 .....	51
<b>III. 学会など発表実績</b> .....	55
<b>IV. 研究成果の刊行物・別刷</b> .....	65

## I. 委託業務成果報告（総括）

## 細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と 治療法開発の研究

研究代表者 青木洋子 東北大学大学院医学系研究科 准教授

### 研究要旨

RAS/MAPK 症候群は、細胞内シグナル伝達異常が原因となる先天奇形症候群である。特異的顔貌・先天性心疾患・低身長・精神遅滞などを示す常染色体優性遺伝性疾患であり、ヌーナン症候群・Costello（コステロ）症候群、cardio-facio-cutaneous (CFC)症候群などが含まれる。本研究の目的は、RAS/MAPK 症候群を含むシグナル伝達異常症について、①遺伝子診断体制を確立し、新規原因遺伝子同定を行うこと、②患者の遺伝子変異—表現型相関を解析し、成人期の生活や自然歴の調査を行う、③モデルマウス作製と病態の解明を行いその治療法を開発すること、④患者家族への情報提供を行うことを目的とする。今年度までに約 800 例のシグナル伝達病の遺伝子解析を全国に提供し、本年度は mosaic RASopathies を含む 2 つの疾患で 3 つの新規原因遺伝子を同定した。また BRAF 遺伝子変異を持つ CFC 症候群の疾患モデルマウスを作製し、その病態を改善する薬剤を 3 種類同定し論文として報告した。また本研究班の前身班において暫定的な診断基準や診療指針を作成してきたヌーナン症候群、Costello 症候群、CFC 症候群が今年度小児慢性特定疾病と指定難病に指定された。

### 研究分担者

松原洋一（国立成育医療研究センター研究所）  
緒方 勤（浜松医科大学）  
黒澤 健司（神奈川県立こども医療センター）  
岡本 伸彦（大阪府立母子保健総合医療センター）  
水野 誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院）  
大橋 博文（埼玉県立小児医療センター）  
川目 裕（東北大学・東北メディカルメガバンク機構）  
呉 繁夫（東北大学大学院医学系研究科）  
梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所）  
新堀 哲也（東北大学大学院医学系研究科）

### 研究協力者

横谷 進（国立成育医療研究センター病院）  
深見真紀（国立成育医療研究センター研究所）  
井上晋一（東北大学大学院医学系研究科）  
井泉瑠美子（東北大学大学院医学系研究科）  
守谷充司（東北大学大学院医学系研究科）  
矢尾板全子（東北大学大学院医学系研究科）

大場大樹（東北大学大学院医学系研究科）

西山亜由美（東北大学遺伝病学分野）

富田幸子（東京女子医科大学総合研究所心血管発生分化制御研究部門/循環器小児科）

中嶋八隅（聖隷浜松病院）

### A. 研究目的

RAS/MAPK 症候群は RAS/MAPK シグナル伝達経路の分子異常を伴う先天奇形症候群の総称で、ヌーナン症候群・Costello 症候群、cardio-facio-cutaneous 症候群が含まれる。これらの患者は、低身長・心疾患・精神遅滞・特異的顔貌などの症状をもつが互いに類似しているために分子診断が役立つ。これまでに 700 例以上の RAS/MAPK 症候群に遺伝子診断を提供してきたがその 40%はいまだに原因が不明である。本研究の目的はシグナル伝達異常症の新規原因遺伝子同定と遺伝子診断を行うとともに、疾患モデルマウスを作製し、その病態を明らかにすることである。またその表現型を改善するような治療法の開

発を目指してゆく。

## B. 研究方法

1) RAS/MAPK 症候群の臨床・分子診断の提供  
医療機関からの診断支援の要望がある症例について、臨床症状および患者写真（主治医が両親からの許諾を得られた場合に限る）の提供を受け、分担研究者の協力を得て臨床診断を行った。その結果に基づいて、適切と考えられる遺伝子解析の候補遺伝子を選択した。遺伝子解析が必要と考えられる検体について、類縁疾患を含めた既知の病因遺伝子 (PTPN11, RAF-1, SOS1, SHOC2, KRAS, HRAS, BRAF, MEK1, MEK2) の遺伝子解析を行った。

今年度は新たに次世代シーケンサーを用いた遺伝子診断パネルを作製した。具体的には Haloplex を用いて、RAS/MAPK 症候群とその類縁疾患の原因遺伝子 24 遺伝子を網羅的に検索できるようなシステムを確立した。

### 2) 新規遺伝子の同定と変異蛋白・細胞の機能解析

上記遺伝子診断で遺伝子変異陰性の症例、非典型的な疾患、あるいは RAS/MAPK 症候群のようなシグナル伝達異常症が疑われる疾患についてはエクソーム解析を行い、新規原因遺伝子検索を行った。

遺伝子変異が同定された患者の主治医に結果を報告する際には、遺伝子変異陽性の場合にはその臨床症状シートに記載して返送してもらった。また臨床症状の評価が必要な場合には分担研究者の黒澤、岡本、水野、大橋、川目が臨床症状の評価を行い、次の遺伝子解析の計画を立てた。

遺伝子変異を同定した遺伝子では、機能解析のために遺伝子変異を導入したプラスミドベクターを作成し、培養細胞にてその機能の評価を行った。

### 3) モデルマウスにおける、発病メカニズムの解明と治療法の開発・検討

RAS/MAPK 症候群の遺伝子変異を導入した疾患モデルマウスを作成する。今年度は CFC 症候群患者で最も高頻度に認められる Braf 遺伝子変異 Q241R（ヒトでは Q257R に相当する）を有するノックインマウス

を作製し、CFC 症候群の病態メカニズムの解析そしてその治療法の探索を行った。

## 4) 医療機関・患者への情報提供

今年度は患者・家族・医療関係者を対象としたノーナン症候群シンポジウムを行った。

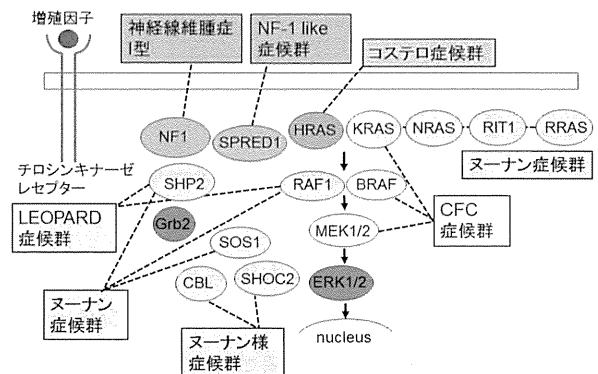
（倫理面への配慮）

本研究は3省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行い、東北大学医学部のヒトゲノム委員会および倫理委員会に研究計画書を提出し、承認を得た。分担研究者も所属する施設での承認を得て研究を施行した。動物実験については、遺伝子組み換え実験指針と動物実験指針に則り、東北大学の承認を得て施行した。

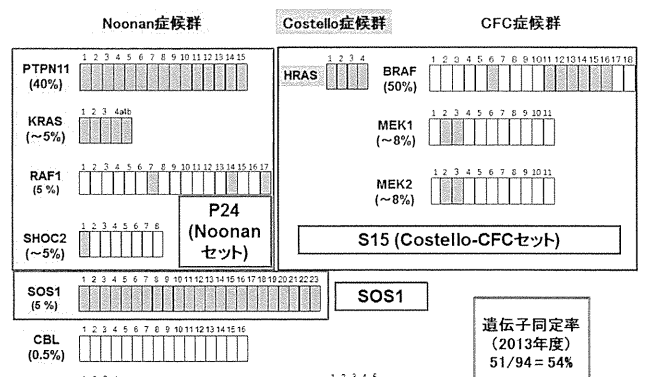
## C. 研究結果

### 1) RAS/MAPK 症候群（図1）の臨床・分子診断の提供

（図1） RAS/MAPK症候群 or RASopathies



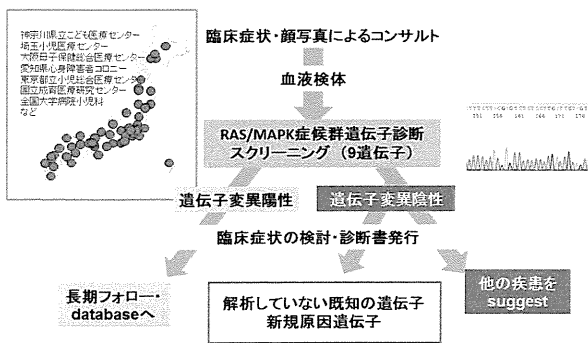
（図2） Sanger法によるスクリーニング



平成25年度には全国から診断以来のあった94例に対してサンガー法でのスクリーニングを行ったところ、遺伝子陽性例は51例(54%)であった(図

2)。これに頻度の高い RIT1 遺伝子の解析を加えると約 60%に遺伝子変異を同定可能と考えられる。これまでに全体で約 800 例の解析を行った(図 3)。

(図 3) RAS/MAPK症候群の診断体制



松原らは本研究班の前身の研究班にてコステロ症候群・CFC 症候群の暫定的な診断基準を作成してきたが、今年両疾患もヌーナン症候群と共に、小児慢性特定疾病・指定難病に指定された。

緒方らは、小児慢性特定疾病において、内分泌疾患群に含まれるヌーナン症候群の「概要」「診断の手引き」「医療意見書」を作成した。これは我が国における

ヌーナン症候群の診断・治療に大きく貢献するものである。またヌーナン症候群の自然歴の把握や成長ホルモン効果の判定に用いるために「ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の作成」を行っている。

黒澤らはヌーナン症候群類縁疾患をも含めた先天性循環器疾患をターゲットとしたパネル解析を用いて、実際の Noonan 症候群症例 1 例を含む合計 9 例で解析を行い、Noonan 症候群症例では、PTPN11 c.1528C>G (p.Q510E) を検出した。

岡本らは、Noonan 症候群の中樞神経奇形合併例について検討を行い、ヌーナン症候群では中樞神経系の先天異常の合併はまれであるが、脳梁欠損や水頭症の合併例を経験した。ヌーナン症候群では精神運動発達遅滞や発達障害などの臨床症状だけでなく、画像的にも明確な異常所見を認める例が存在することを明らかにした。

水野らは Noonan 症候群の乳幼児期の排便に関する予備調査を行った。その結果、Noonan 症候群の特徴として、「便秘が無い」ことが示唆され、本所見は他の先天異常症候群と鑑別診断に資する情

報であると考えられた。

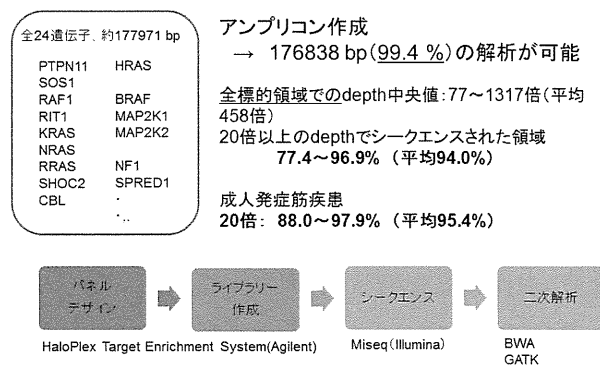
大橋らは、コステロ症候群を含む種々の先天異常症候群の疾患集団外来の開催を通し患者家族支援を行った。2014 年 5 月～2015 年 1 月までの間に、計 16 回、参加家族数は 3～24 家族であった。また本研究班で開催した第 2 回ヌーナン症候群シンポジウムにて、生活上の留意点についての情報提供も行った。

川目らは RAS/MAPK 症候群の臨床における診断、健康管理点を明らかにするために、遺伝学的検査にて診断された Cardio-facio-cutaneous 症候群の 2 例の臨床症状を検討した。

新堀らは、Haloplex を用いた網羅的遺伝子解析ではこれまでに遺伝子変異が同定された陽性コントロール 18 例と Sanger 法でのスクリーニング陰性例 96 例の解析を行い現在解析中である(図 4)。

(図 4)

RAS/MAPK症候群関連遺伝子のスクリーニング



## 2) 新規遺伝子の同定と変異蛋白・細胞の機能解析

2013 年に Noonan 症候群において新規原因遺伝子 RIT1 を同定し報告したが、今年度は国際共同研究にて RRAS 変異を同定し報告した。RRAS 変異は頻度は低いものの、ヌーナン症候群 1 名、AML, JMML を合併したヌーナン症候群 1 名と JMML の 2 名に同定された。RRAS 以外の新規原因遺伝子についてはも解析が継続中である。

Mosaic RASopathies の一疾患である Shimmelpenning 症候群の新規原因遺伝子を  $n$  定した。Shimmelpenning 症候群は脂腺母斑、眼球異常、神経系異常、骨格異常を呈する症候群で、2013 年にその原因が HRAS, KRAS の postzygotic



mosaicism であることが報告されていた。本研究班では、黒澤らと呉らがいずれも研究代表者と連携して Shimmelpenning 症候群のそれぞれ新規原因遺伝子 NRAS と BRAF 遺伝子変異を同定した。BRAF 遺伝子変異 V600E は melanoma などに同定されており、その分子標的薬である vemurafenib の効果が確認され、日本において melanoma に対しての承認が下りたところである。呉らは生下時より、anaplastic astrocytoma を合併した Shimmelpenning 症候群患者に対して vemurafenib を投与したところ、脳腫瘍が縮小し水頭症も軽減し、現在は投与を継続しながら経過を見ているところである。

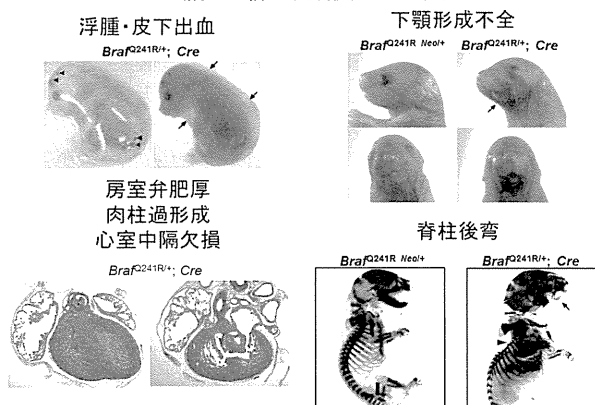
2013 年度に同定された RIT1 遺伝子変異は初めて報告した 2013 年以降にも同定され、現在詳細な臨床症状の取得と機能解析を行っている。

### 3) モデルマウスにおける、発病メカニズムの解明と治療法の開発・検討

BRAF Q241R 変異を導入したノックインマウスは胎生/新生児に致死となることが明らかになった。胎児の肉眼所見では浮腫・皮下出血、下顎形成不全等があり、臓器障害として肝壊死を観察した。CFC 症候群では肺動脈弁狭窄、心房中隔欠損症、心室中隔欠損症などの先天性心疾患が認められるが、ノックインマウスでは肺動脈弁肥厚などのすべての弁肥厚、肉柱の異常増殖、心内膜床異常、心外膜異常、心室中隔欠損症および緻密化障害が認められた(図 5)。

本マウスの表現型を改善するような薬剤を 3 種同定した。特に PD0325901 と GSK-J4 を併用投与し

(図 5) BRAF Q241Rノックインマウスは胎生・新生児期致死である



た時には、肺動脈弁および三尖弁肥厚にも改善が認められた(表 1)。梅澤らは、新規治療法に関する

薬事的な取り組みのうち、治験薬概要書内の背景情報  
報の整理に注力した。すでに研究代  
(表 1)

MEK阻害剤、ヒストン脱メチル化酵素阻害剤投与による BraFQ241R/+; Creマウスの胎生・新生児期致死の軽減

Compound	Dose (mg/kg body weight)	Genotype (3 weeks)				n
		BraF <sup>+/+</sup>	BraF <sup>+/+</sup> ; Cre	BraF <sup>Q241R/+</sup>	BraF <sup>Q241R/+</sup> ; Cre	
DMSO (vehicle)	-	14	8	8	0	30
PD0325901	0.5	7	14	7	2	30
	1.0	11	13	6	7	37
MEK162	5.0	5	15	6	3	29
MAZ51	5.0	10	7	11	0	28
Sorafenib	5.0	12	15	8	0	35
Lovastatin	5.0	8	19	17	0	44
Everolimus	0.1	6	6	9	0	21
NCDM-32b	5.0	10	10	14	1	35
GSK-J4	5.0	8	18	14	1	41
PD0325901+GSK-J4	0.5+5.0	8	13	5	5	31
PD0325901+NCDM-32b	0.5+5.0	13	12	3	10	36

PD0325901: MEK阻害剤, MEK162: MEK阻害剤, MAZ51: VEGFR3阻害剤, Sorafenib: BRAF, VEGFR, PDGFR阻害剤, Lovastatin: HMG-CoA還元酵素, フェルナール軽糖酵素阻害剤, Everolimus: mTOR阻害剤, NCDM-32b: H3K9脱メチル化酵素阻害剤, GSK-J4: HD2724阻メチル化酵素阻害剤

表者らが収集している疾患に対する様々な情報を基盤とし、薬事審査に向けたプロセスに関する助言を行った。

現在 BRAF 変異マウスを ICR に backcross したところ表現型が軽くなり、約半数が成獣まで生存することが明らかになり、そのマウスの表現型を解析している。

### 4) 医療機関・患者への情報提供

患者家族・医療関係者への情報提供を行うために、平成 26 年 12 月 21 日に東京国際フォーラムにて第 2 回ヌーナン症候群シンポジウムを行った。全国から患者・家族と医療関係者計 74 名の参加があり、質疑応答では活発な議論があった(図 6)。

### D. 考察

RAS/MAPK 症候群を中心としたシグナル伝達経路は、古典的な RAS/MAPK シグナル伝達経路のみならず、それより拡大したシグナル伝達経路にも原因遺伝子が同定されるようになってきた。本研究班においても古典的な RAS/MAPK 症候群のみならず、類縁の先天異常症についての解析を行っていく必要があると考える。また germline の変異のみならず、somatic mosaicism が原因である疾患もふえているので、somatic mosaicism の同定を主眼においた解析法の検討が必要と思われた。

当研究班の前身の研究班においてヌーナン症候群、costello 症候群、CFC 症候群の診断基準を考案してきたが、今年、これら 3 疾患が小児慢性特定

疾患と指定難病に指定された。指定にいたる診断基準や疫学調査は前班での研究成果が参考にされている。今後これらの疾患の認知度が高まるにつれて遺伝子診断の需要が増えることが予想されるため、より精度が高く迅速な遺伝子診断体制の構築が望まれる。

#### E. 結論

RAS/MAPK 症候群を中心としたシグナル伝達症について新規原因遺伝子を同定し、全国の医療機関に遺伝子診断を提供した。RAS/MAPK 症候群モデルマウスの作製を行い、症状を改善する薬剤の同定に成功した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

(各分担研究報告書を参照のこと)

##### 2. 学会発表

(各分担研究報告書を参照のこと)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

CFC 症候群モデルマウスの作製とその治療法の確立 特願 2014-063166

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

(図6) ヌーナン症候群シンポジウムの開催

## 第2回 ヌーナン症候群 シンポジウムのご案内

このたび、厚生労働省科学研究委託費(難治性疾患克服研究事業)「細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究」研究班では、ヌーナン症候群の患者さまとご家族、医療関係者、研究者を交えたシンポジウムを開催することになりました。

今回のシンポジウムでは、ヌーナン症候群についての最新の情報をご提供するとともに、患者さまやご家族が疑問や不安に思っておられることについて、共に考えていきたいと思っております。ぜひ奮ってご参加くださるようご案内いたします。

**日時** 平成26年12月21日(日) 15:00~17:00

**会場** 東京国際フォーラム ガラス棟 G409会議室  
(東京都千代田区丸の内3-5-1)裏面地図参照

**参加費** 無料(定員80名)

**申込方法** 裏面にある参加申込書にご記入の上、郵送、FAX  
またはモバイルサイトよりお申込みください。  
締切は11月25日(火)です。

**プログラム** (予定)

1) ヌーナン症候群と類縁疾患	青木洋子(東北大学)
2) ヌーナン症候群の症状と生活	大橋博文(埼玉県立小児医療センター)
3) ヌーナン症候群と遺伝子	緒方 勤(浜松医科大学)
4) ヌーナン症候群と成長	横谷 進(国立成育医療研究センター病院)
5) ヌーナン症候群の研究最前線	新堀哲也(東北大学)
6) 質疑・懇談	

**主催**  
厚生労働科学研究委託費(難治性疾患等実用化研究事業)  
「細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究」  
研究代表者 青木洋子(東北大学)  
研究分担者 梅澤明弘(国立成育医療研究センター研究所)、大橋博文(埼玉県立小児医療センター)、  
岡本伸彦(大阪府立母子保健総合医療センター)、緒方勤(浜松医科大学)、  
川目裕(東北大学)、呉繁夫(東北大学)、黒澤健司(神奈川県立こども医療センター)、  
新堀哲也(東北大学)、松原洋一(国立成育医療研究センター研究所)、  
水野誠司(愛知県心身障害者コロニー中央病院) 五十音順

**共催**  
成育医療研究開発費  
「成育希少疾患の症例登録と遺伝学的診断に関する研究」  
研究代表者 深見真紀(国立成育医療センター研究所)  
研究分担者 青木洋子(東北大学)



## Ⅱ. 委託業務成果報告

## ヌーナン症候群関連疾患の診断基準の作成と新規原因遺伝子

研究分担者 松原洋一

国立成育医療研究センター・研究所長

### 研究要旨

ヌーナン症候群では、これまでに約70%の症例で病因遺伝子が明らかにされているが、残る症例における病因遺伝子は不明である。本研究班の前身である厚生労働省難治性疾患克服研究事業の研究班にて暫定的な診断基準を作成してきたが、今年ヌーナン症候群類縁疾患3疾患が小児慢性特定疾病、指定難病として認定された。診断基準に遺伝子診断の内容も含まれており、今後のこれらの疾患の遺伝子診断体制の整備が重要と考えられる。また最近、新たなヌーナン症候群の病因遺伝子として RASA2, A2ML1, RRAS が報告され、いずれも機能実験などによる確認が行われた。今後、遺伝子診断におけるリストに追加すると共に、臨床病型との相関や悪性腫瘍発生の可能性について検討していくことが重要と考えられる。

特段の配慮は必要ないと考えられる。  
た。

### 研究協力者

青木洋子（東北大学遺伝病学分野）

新堀哲也（東北大学遺伝病学分野）

井上晋一（東北大学遺伝病学分野）

### C. 研究結果

1) 本研究班の前身である厚生労働省難治性疾患克服研究事業にて暫定的な診断基準を作成してきたが、今年ヌーナン症候群類縁疾患3疾患が小児慢性特定疾病、指定難病として認定された。診断基準に遺伝子診断の結果も含まれており、今後の遺伝子診断体制の整備が重要である。

2) RASA2遺伝子の変異によるヌーナン症候群

ハーバード大学のChenらは、既知の病因遺伝子に変異を認めない27名のヌーナン症候群患者に対して、次世代シーケンスを用いた遺伝子解析をおこなった（Proc Natl Acad Sci USA, 111(31):11473-8, 2014）。その結果、すでに報告されているRIT1あるいはMAP2K1遺伝子に変異を持つ患者に加えて、これまでに報告されていないRAS p21

### A. 研究目的

ヌーナン症候群では、これまでに約70%の症例で病因遺伝子が明らかにされている。残る症例については毎年続々と新しい病因遺伝子が報告されている。それらの情報を遅滞なく収集し、ヌーナン症候群の診断基準及び診療指針に取り入れていくことが重要と考えられる。

### B. 研究方法

文献検索を中心とする情報収集を行った。

(倫理面への配慮)

本分担研究ではヒトの検体や個人情報を扱わないため、倫理委員会での審査などの

protein activator 2 (RASA2) 遺伝子に変異を持つ3人の患者を同定した。同定された変異はRAS/ERK経路を活性化させることが確認され、病因遺伝子と考えられた。変異のうち2つは機能喪失型変異、1つは dominant-negative効果を持つ変異であった。

RASA2の生理的機能については不明な点が多いが、これまでに子宮がん、大腸がん、子宮内膜がんなどで54種類のミスセンスまたはナンセンス変異が報告されている。このことから、RASA2はがん抑制遺伝子である可能性が示唆される。今後、RASA2遺伝子変異を持つヌーナン症候群患者において、悪性腫瘍の発生を注意深くモニターする必要があると考えられる。この他にもSPRY1、MAP3K8遺伝子変異が同定されているがヌーナン症候群との関連は不明である。

また、RIT1およびRASA2遺伝子のいずれにも変異を有する症例があり、いずれの変異もヌーナン症候群の臨床病型に寄与していると考えられた。またRIT1およびTGFB2遺伝子のいずれにも変異を有する症例が同定され、後者の変異によるマルファン症候群としての臨床病型が示唆されている。

さらに、Fraser症候群の原因であるFRAS1遺伝子に変異を持つ患者や、von Willebrand病の原因となるVWF遺伝子に変異を持つ患者が同定されており、臨床診断の訂正がなされたと報告された。

### 3) A2ML1遺伝子の変異によるヌーナン症候群

オランダ、ナイメーヘンのラドバウド大学のVisserらは、ヌーナン症候群患者とその両親の全エクソーム解析解析で、A2ML1遺伝子の新生突然変異を同定した (Eur J Hum Genet. 23(3):317-24, 2015)。155名のヌーナン症候群患者を検索したところ、さらに2名にA2ML1遺伝子の変異が認められた。同定された遺伝子変異をゼブラフィッシュ

に導入したところ、心奇形などの発生異常が観察されたことからヌーナン症候群の病因であると考えられた。

### 4) RRAS遺伝子の変異によるヌーナン症候群

イタリア、ローマの国立衛生研究所のFlexらは、候補遺伝子解析によって2名のヌーナン症候群患者に2つのRRAS遺伝子変異 (生殖細胞系列の変異) を同定した (Hum Mol Genet. 23(16): 4315-4327, 2014)。同定された遺伝子変異をC. elegansで発現させたところ、RAS伝達系の亢進と表現型の異常が認められた。

また、しばしばヌーナン症候群に合併することがある若年性骨髄単球性白血病 (juvenile myelomonocytic leukaemia, JMML) 110症例を検索したところ、そのうち2例にRRAS変異の体細胞変異が同定された。

### 5) RIT1遺伝子の変異によるヌーナン症候群

2013年に私たちの研究グループがヌーナン症候群の新規病因遺伝子としてRIT1を報告した (180人中17人) (Aoki Y, Am J Hum Genet. 93(1):173-80, 2013) が、その後、海外の研究室からもそれを確認する論文が発表されている。上記のChenらの報告の他にも、ポーランドのGosらは106人の患者中4人に、ブラジルのBertolaらは、70人中6人にRIT1遺伝子変異を同定した (Gos M, Am J Med Genet A. 164A(9):2310-6, 2014 ; Bertola DR, Am J Med Genet A. 164A(11):2952-7, 2014)。

## D. 考察

ヌーナン症候群の病因遺伝子として、RASA2, A2ML1, RRASがあらたに報告された。いずれも機能実験などによる確認が行われている。これまで、PTPN11, SOS1, RAF1, KRAS, RIT1, MAP2K1, BRAF, NRAS遺伝子がヌーナン症候群の病因として知られている

ほか、ヌーナン症候群様臨床病型をしめすものとして、SHOC2, CBL遺伝子変異が同定されており、その分子遺伝学的基盤はさらに広がりを見せている。今後も新たな病因遺伝子が発見されてくるものと思われる。

これまでに発見されたヌーナン症候群病因遺伝子はすべて細胞内に存在する分子であったが、新たに発見されたA2ML1遺伝子から産生されるsecreted protease inhibitor  $\alpha$ -2-macroglobulin (A2M)-like-1は細胞外に存在している。本症候群の病因病態のスペクトラムを拡大する重要な知見と考えられる。

ヌーナン症候群の病因遺伝子は、種々の悪性腫瘍で認められる体細胞変異を起こす遺伝子とのオーバーラップが指摘されている。新たに発見されたRRAS遺伝子についてもJMMLにおける体細胞変異が同定された。RIT1遺伝子についても、最近、Cancer Genome Atlas Research Networkが肺腺癌の13%に観察されると報告している(Nature 511(7511):543-50, 2014)。今後、ヌーナン症候群患者のフォローを行う上で、留意すべき知見と考えられる。

## E. 結論

ヌーナン症候群の病因遺伝子として、RASA2, A2ML1, RRASがあらたに報告された。今後、遺伝子診断におけるリストに追加すると共に、臨床病型との相関や悪性腫瘍発生の可能性について検討していくことが重要と考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Ogata T, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K,

Nakashima S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y. TBX1 mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One*. 9(3):e91598, 2014.

2) Dragneva S, Szyszka-Niagolov M, Ivanova A, Mateva L, Izumi R, Aoki Y, Matsubara Y. Seven Novel Mutations in Bulgarian Patients with Acute Hepatic Porphyrias (AHP). *JIMD Rep*. 16:57-64, 2014.

3) Inoue SI, Moriya M, Watanabe Y, Miyagawa-Tomita S, Niihori T, Oba D, Ono M, Kure S, Ogura T, Matsubara Y, Aoki Y. New BRAF knockin mice provide a pathogenetic mechanism of developmental defects and a therapeutic approach in cardio-facio-cutaneous syndrome. *Hum Mol Genet*. 23(24):6553-66, 2014.

3) Izumi R, Niihori T, Suzuki N, Sasahara Y, Rikiishi T, Nishiyama A, Nishiyama S, Endo K, Kato M, Warita H, Konno H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y, Aoki M. GNE myopathy associated with congenital thrombocytopenia: A report of two siblings. *Neuromuscul Disord*. 24(12):1068-72, 2014

4) Nakano E, Masamune A, Niihori T, Kume K, Hamada S, Aoki Y, Matsubara Y, Shimosegawa T. Targeted Next-Generation Sequencing Effectively Analyzed the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene in Pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2014 Dec 10. [Epub ahead of print]

5) Nishi E, Mizuno S, Nanjo Y, Niihori T, Fukushima Y, Matsubara Y, Aoki Y, Kosho T. A novel heterozygous MAP2K1 mutation in a patient with Noonan syndrome with multiple lentiginos. *Am J Med Genet A*. 2014 Nov 25.

doi: 10.1002/ajmg.a.36842. [Epub ahead of print]

6) Kon M, Suzuki E, Dung VC, Hasegawa Y, Mitsui T, Muroya K, Ueoka K, Igarashi N, Nagasaki K, Oto Y, Hamajima T, Yoshino K, Igarashi M, Kato-Fukui Y, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Moriya K, Ogata T, Nonomura K, Fukami M. Molecular basis of non-syndromic hypospadias: systematic mutation screening and genome-wide copy-number analysis of 62 patients. *Hum Reprod.* 2015 Jan 20. pii: deu364. [Epub ahead of print]

7) Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kannno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K,

Kinoshita K, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in *PIGL* in a patient with hyperphosphatasia mental retardation syndrome. *Am J Med Genet A* (in press)

## 2. 学会発表

なし

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし



## 細胞内シグナル伝達異常による先天奇形症候群の病態解明と治療法開発の研究 診断・治療指針の作成と成長ホルモンについての実態調査

研究分担者 緒方勤  
浜松医科大学 小児科 教授

### 研究要旨

RAS/MAPK 症候群とは、RAS/MAPK シグナル伝達の機能亢進により発症する疾患群の総称であり、ヌーナン症候群およびその類縁疾患を含む。本研究班の目的は、この RAS/MAPK 症候群の病態解明と治療法開発であり、研究分担者は、その中で、主にヌーナン症候群を対象として「診断・治療指針の作成と成長ホルモン効果」に関する検討を担当する。

本年度の成果には以下のものが含まれる。(1) 診断・治療指針の作成: 研究分担者は、小児慢性特定疾病において、内分泌疾患群に含まれるヌーナン症候群の「概要」「診断の手引き」「医療意見書」を作成した。これは、わが国におけるヌーナン症候群の診断・治療の向上に大きく貢献するものであり、今後、重症度分類の作成を行う予定である。(2) 成長ホルモン効果の検討: これを検討するために、小児内分泌・小児遺伝・小児循環器のメンバーと共同で、「ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の作成」に取り組み、基本的成長データを取得した。これは、ヌーナン症候群の自然歴の把握や成長ホルモン効果の判定に、間違いなく有用である。

### 研究協力者

横谷進（国立成育医療センター）  
磯島豪一（東京大学小児科）

学において「ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線作成に関する多施設共同研究」が承認されている（浜松医科大学第 24-70 号）

### A. 研究目的

RAS/MAPK 症候群とは、RAS/MAPK シグナル伝達の機能亢進により発症する疾患群の総称であり、ヌーナン症候群およびその類縁疾患を含む。本研究班の目的は、この RAS/MAPK 症候群の病態解明と治療法開発であり、研究分担者は、その中で、主にヌーナン症候群を対象として「診断支援、診断・治療指針の作成、成長ホルモン効果」に関する検討を担当する。

ヌーナン症候群は、1000-2500 名に 1 人の頻度で発症する先天疾患であり、成長障害、思春期遅発、心奇形、特徴的外表奇形（眼間乖離、翼状頸、外反肘など）を中核症状とする。また、知能低下、難聴、出血性素因、男児外性器形成障害もしくは認められ、胎児水腫や白血病（特に juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）、固形腫瘍もときに出現する。

本年度は、「診断支援、診断・治療指針の作成、成長ホルモン効果」に関する検討を行った。

### B. 研究方法

診断・治療指針の作成: ヌーナン症候群の文献解析から臨床診断クライテリアの設定を行った。

成長ホルモン効果の検討: 小児内分泌・小児遺伝・小児循環器のメンバーとの多施設共同研究により、「ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の作成」に取り組んだ。

#### （倫理面への配慮）

患者の成長データは、書面によるインフォームド・コンセントを取得後に収集している。なお、浜松医科大

### C. 研究結果

1) 診断・治療指針の作成: 小児慢性特定疾病において、内分泌疾患群に含まれるヌーナン症候群の「概要」「診断の手引き」「医療意見書」を作成した。その内容は以下の通りである。

#### 概念・定義

ヌーナン症候群は、低身長、思春期遅発、心奇形、特徴的外表奇形（眼間乖離、翼状頸、外反肘など）により特徴づけられる先天奇形症候群である。知能低下、難聴、出血性素因、男児外性器形成障害もしくは認められ、胎児水腫や白血病（特に juvenile myelomonocytic leukemia, JMML）、さらには固形腫瘍もときに出現する。

疫学: 発症頻度は出生1000-2500名に1人とされ、多くは孤発例であるが、常染色体優性遺伝形式の家系例も報告されている。家系例では罹患女性を介して伝達されることが多く、これは、罹患男性の妊孕性が停留精巣や外陰部低形成により低下するためと推測される。病因: RAS/MAPKシグナル伝達経路の賦活化に起因する疾患であり、PTPN11をはじめとして、このシグナル伝達経路を構成する多数の分子の構造遺伝子に機能亢進変異が同定されている。現在9個の責任遺伝子が知られているが、これらの遺伝子変異は患者の約60%で認められているに過ぎない。

臨床診断: Ineke van der Burgtらが提唱したクライテリアが広く使用されている（表）。このクライテリアは、本邦の小児内分泌・小児遺伝を主とするメンバーで検討され、本邦においても使用しうることが確認されている。ここで、2つのことを強調したい。第1

厚生労働科学研究委託業務（難治性疾患等克服研究事業  
（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業））研究分担報告書

は、中核的所見が典型的・示唆的顔貌という曖昧で主観的なものとどまっていることである。したがって、臨床診断は、眼間乖離を伴う疾患特徴的徴候（これをゲスタルトと呼ぶ）を呈する患者では容易であるが、これらの所見が曖昧な患者では困難である。事実、NSという疾患名は、低身長を伴う奇形症候群患者にしばしば広く使用されている。第2は、これらの臨床像（特に診断上最も参考となる眼間乖離を伴う特徴的顔貌）が、年齢とともに変化し、乳幼児期に明瞭に現れ、年齢と共に曖昧となってくることである。したがって、臨床診断は、年長児ではしばしば困難である。なお、表1の所見の他に、思春期遅発、翼状頸、外反肘、難聴、出血性素因などがしばしば認められること、胎児水腫や白血病（特にjuvenile myelomonocytic leukemia, JMML）、固形腫瘍がときに出現することも知られている。なお、この中で、血性素因、JMML、固形腫瘍はPTPN11変異患者に多く認められる。また、ヌーナン症候群のJMMLは類白血病反応であり、乳児期一過性で自然寛解することが多いことを付記する。

表. NS\*の診断基準

症状	A=主症状	B=副次的症状
顔貌	典型的な顔貌	示唆的な顔貌
心臓	肺動脈狭窄および／または典型的な心電図所見	その他の異常
身長	3パーセントイル未満	10パーセントイル未満
胸郭	鳩胸／漏斗胸	広い胸郭
家族歴	第1度近親者に確実なNSあり	第1度近親者にNSの可能性
その他	次の全てを満たす（男性）：精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常	精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常のうち1つ

\* 確実なNS：1Aと、2A～6Aのうち1項目、または2B～6Bのうち2項目；1Bと、2A～6Aのうち2項目または2B～6Bのうち3項目。 遺伝子診断：上記のRAS/MAPKシグナル伝達経路に存在する遺伝子の変異解析を行う。しかし、上記のように約40%の患者では変異が同定されていないことから、遺伝子解析で変異があればヌーナン症候群と確定できるが、変異が同定されないときにヌーナン症候群が否定される訳ではない。

症状：特徴的顔貌は、ヌーナン症候群の診断基準であり、全例に認められる。身長は、出生時および小児期共に、変異陽性群と陰性群で同等で、平均値は-2 SDをやや下回る程度である。さらに、小児期身長とtarget heightの間に相関は見られず、これは、Noonan症候群の成長障害の程度が変異により異なることを示唆する。心疾患は変異陽性群と陰性群で異なり、肺動脈狭窄と心房中隔欠損が変異陽性群に有意に多く、心筋症が変異陰性群に特徴的である。その他の症状は概ね変異陽性群と陰性群で同等であったが、出血傾向やJMMLなどの血液疾患は変異陽性群に特徴的である。出血傾向は、変異陰性患者でも稀に報告されているが、JMMLは変異陽性患者にのみ認められている。

また、各遺伝子変異に特徴的な臨床像も、いくつか見出されている。PTPN11変異では、低身長や肺動脈弁狭窄・心房中隔欠損が高頻度で、肥大型心筋症は低頻度であり、SOS1変異では、低身長や認知遅滞が低頻度で、RAF1変異では、極めて高頻度に心筋症が発症する。治療：心疾患などは基本的に対症療法が行われる。なお、低身長に対し、成長ホルモン投与が試みられている。その最終身長増加効果は、男児が9.5～13 cm、女児が9.0～9.8 cmされている。しかし、現在成長ホルモン療法は、ヌーナン症候群の診断だけでは認められていない。

予後：患者の生命予後に大きな問題はない。

医療意見書：別紙の通りである。

診断の手引き：上記のIneke van der Burgtらが提唱したクライテリアを用いる。確定診断は、PTPN11などのRAS/MAPKシグナル伝達経路のヌーナン症候群責任遺伝子群に変異が同定されることであるが、変異が同定されないときにヌーナン症候群が否定される訳ではない。留意点として、上記の診断クライテリアは主観的判断の要素が大きく、臨床遺伝専門医による診断が推奨されること、遺伝子変異の検出率は、既知の9個の遺伝子すべてを調べても約60%にとどまることが挙げられる。

## 2) 成長ホルモン効果の検討

既に多数の患者の成長データを取得し、解析した。その結果、ヌーナン症候群患者の平均身長が一般集団の-2 SDの身長をやや下回ること、心疾患の有無は身長に影響しないことなどが判明した。現在、ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の論文を作成中である。

## D. 考察

診断・治療指針の作成は、わが国におけるヌーナン症候群の診断・治療の向上に大きく貢献するものであり、今後、重症度分類の作成を行う予定である。ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の作成は、ヌーナン症候群の自然歴の把握や成長ホルモン効果の判定に、間違いなく有用である。

## E. 結論

本年度、以下の研究を行った。診断・治療指針の作成として、小児慢性特定疾病の内分泌疾患群に含まれるヌーナン症候群の「概要」「診断の手引き」「医療意見書」を作成した。これは、わが国におけるヌーナン症候群の診断・治療の向上に大きく貢献するものであり、今後、重症度分類の作成を行う予定である。また、成長ホルモン効果を検討するために、小児内分泌・小児遺伝・小児循環器のメンバーと共同で、「ヌーナン症候群の疾患特異的成長曲線の作成」に取り組み、基本的成長データを取得した。これは、ヌーナン症候群の自然歴の把握や成長ホルモン効果の判定に、間違いなく有用である。

## F. 健康危険情報

なし

厚生労働科学研究委託業務（難治性疾患等克服研究事業  
（難治性疾患等実用化研究事業（難治性疾患実用化研究事業））研究分担報告書

告示番号		内分泌疾患		平成( )年度 小児慢性特定疾病 医療意見書																														
受給者番号 ( )		新規登録 ・ 継続 ・ 転入 ( 転出地: )																																
患者	ふりがな 氏名	男・女	生年月日	平成 年 月 日 (満 歳)																														
出生都道府県 <sup>※1</sup>		出生体重	g	出生週数	在胎 週																													
現在の身長 <sup>※2</sup>	cm	現在の体重 <sup>※2</sup>	kg	母の生年月日	昭和 平成 年 月 日																													
発病	年 月 頃	初診日	年 月 日																															
大分類病名	43 内分泌疾患を伴うその他の症候群	細分類病名	94	ヌーナン (Noonan) 症候群																														
該当するものに○をつけ、必要な場合 ( ) に記載																																		
1. 臨床所見																																		
現在の 症状	身長・体重の測定日 ( 年 月 日) 現在の身長 ( ) SD 現在の体重 ( ) SD																																	
	<table border="0"> <tr> <td>① 顔貌</td> <td>典型的な顔貌<sup>※</sup></td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑦ 示唆的な顔貌</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> <tr> <td>② 心臓合併症</td> <td>肺動脈狭窄及び/又は典型的な心電図所見</td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑧ その他の異常</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> <tr> <td>③ 身長</td> <td>3パーセントタイル未満</td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑨ 10パーセントタイル未満</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> <tr> <td>④ 胸郭</td> <td>鳩胸又は漏斗胸</td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑩ 広い胸郭</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> <tr> <td>⑤ 家族歴</td> <td>第1度近親者に確実なヌーナン症候群あり</td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑪ 第1度近親者にヌーナン症候群の可能性</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> <tr> <td>⑥ その他</td> <td>次の全てを満たす男性： 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常</td> <td>( なし ・ あり )</td> <td>⑫ 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常の うち一つ</td> <td>( なし ・ あり )</td> </tr> </table> <p>※ 眼間開離、眼瞼下垂、内眼角贅皮、眼裂斜下、耳介低位、高口蓋、小顎症など</p>					① 顔貌	典型的な顔貌 <sup>※</sup>	( なし ・ あり )	⑦ 示唆的な顔貌	( なし ・ あり )	② 心臓合併症	肺動脈狭窄及び/又は典型的な心電図所見	( なし ・ あり )	⑧ その他の異常	( なし ・ あり )	③ 身長	3パーセントタイル未満	( なし ・ あり )	⑨ 10パーセントタイル未満	( なし ・ あり )	④ 胸郭	鳩胸又は漏斗胸	( なし ・ あり )	⑩ 広い胸郭	( なし ・ あり )	⑤ 家族歴	第1度近親者に確実なヌーナン症候群あり	( なし ・ あり )	⑪ 第1度近親者にヌーナン症候群の可能性	( なし ・ あり )	⑥ その他	次の全てを満たす男性： 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常	( なし ・ あり )	⑫ 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常の うち一つ
① 顔貌	典型的な顔貌 <sup>※</sup>	( なし ・ あり )	⑦ 示唆的な顔貌	( なし ・ あり )																														
② 心臓合併症	肺動脈狭窄及び/又は典型的な心電図所見	( なし ・ あり )	⑧ その他の異常	( なし ・ あり )																														
③ 身長	3パーセントタイル未満	( なし ・ あり )	⑨ 10パーセントタイル未満	( なし ・ あり )																														
④ 胸郭	鳩胸又は漏斗胸	( なし ・ あり )	⑩ 広い胸郭	( なし ・ あり )																														
⑤ 家族歴	第1度近親者に確実なヌーナン症候群あり	( なし ・ あり )	⑪ 第1度近親者にヌーナン症候群の可能性	( なし ・ あり )																														
⑥ その他	次の全てを満たす男性： 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常	( なし ・ あり )	⑫ 精神遅滞、停留精巣、リンパ管形成異常の うち一つ	( なし ・ あり )																														
2. 検査所見																																		
診断の 根拠とな った主な 検査等の 結果	継続申請の場合は現在の状況を記載																																	
	血液検査																																	
	LH ( ) μIU/mL	FSH ( ) μIU/mL																																
	テストステロン ( ) ng/dL	E <sub>2</sub> ( ) pg/mL																																
IGF1 ( ) ng/mL																																		
GH分泌刺激試験① 負荷試験名 ( ) 検査日 ( 年 月 日 )																																		
GH頂値 (補正值) ( ) ng/mL																																		
GH分泌刺激試験② 負荷試験名 ( ) 検査日 ( 年 月 日 )																																		
GH頂値 (補正值) ( ) ng/mL																																		
遺伝子診断 ( 未実施 ・ 実施 → 所見: )																																		
3. その他の所見																																		
その他の 現在の 所見など	合併症 ( なし ・ あり → 詳細: )																																	
4. 経過																																		
現在 までの 治療	薬物療法など ( なし ・ あり → 補充療法 ・ 機能抑制療法 ・ 他の薬物療法 ・ 運動制限 ・ 手術予定あり ・ 術後 )																																	
5. 今後の療法方針																																		
就学・就労	1. 就学前 2. 小中学校 ( 通常学級・通級・特別支援学級 ) 3. 特別支援学校 ( 小中学部・専攻科を含む高等部 ) 4. 高等学校 ( 専攻科を含む ) ・ 高等専門学校 ・ 専門学校/専修学校など 5. 大学 ( 短期大学を含む ) 6. 就労 ( 就学中の就労も含む ) 7. 未就学かつ未就労 8. その他 ( )																																	
現状評価	一つに○印： 治癒 ・ 寛解 ・ 改善 ・ 不変 ・ 再発 ・ 悪化 ・ 死亡 ・ 判定不能 小児慢性特定疾病 重症患者認定基準に該当： しない ・ する ・ 不明 人工呼吸器等装着者認定基準に該当： しない ・ する ・ 不明																																	
治療見込期間	入院	年 月 日 から	年 月 日まで																															
	通院	年 月 日 から	年 月 日まで	( 月 回 )																														
上記の通り診断します。																																		
平成 年 月 日			医師名																															
			科 印																															
小児慢性特定疾病指定医番号																																		

※1 出生都道府県は母子健康手帳に記載されている出生した際に出生届を提出した住民票の所在地を記入  
※2 現在の身長・現在の体重は小数点1位まで記入

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Fukami M\*, Suzuki J, Nakabayashi K, Tsunashima R, **Ogata T**, Shozu M, Noguchi S: Lack of genomic rearrangements involving the aromatase gene *CYP19A1* in breast cancer. *Breast Cancer* 21 (3): 382–385, 2014.
2. Nagasaki K\*, Asami T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Saitoh A, **Ogata T**, Fukami M: Long term follow up study for a patient with Floating-Harbor syndrome due to a hotspot *SRCAP* mutation. *Am J Med Genet A* 164 (3): 731–735, 2014.
3. Shihara D, Miyado M, Nakabayashi K, Shozu M, Nagasaki K, **Ogata T**, Fukami M\*: Aromatase excess syndrome in a family with upstream deletion of *CYP19A1*. *Clin Endocrinol* 81(2): 314–316, 2014.
4. Tsuchiya T, Shibata M, Numabe H, Jinnno T, Nakabayashi K, Nishimura G, Nagai T, **Ogata T**, Fukami M\*: Compound heterozygous deletions in pseudoautosomal region 1 in an infant with mild manifestations of Langer mesomelic dysplasia. *Am J Med Genet A* 164A (2): 505–510, 2014.
5. Yagasaki H\*, Nakane T, Saito T, Koizumi K, Kobayashi K, **Ogata T**: Disorder of sex development in an infant with molecularly confirmed 46,XY,+der(10)t(10;21)(q21.1;q21.3),-21. *Am J Med Genet A* 164 (3): 841–843, 2014.
6. Sasaki A, Sumie M, Eada S, Kosaki R, Kurosawa K, Fukami M, Sago H, **Ogata T**, Kagami M\*: Prenatal Genetic testing for a microdeletion at chromosome 14q32.2 imprinted region leading to upd(14)pat-like phenotype. *Am J Med Genet A* 164A (1): 264–266, 2014.
7. Kitsuda K\*, Yamaguchi R, Nagata E, Nakagawa Y, Ohzeki T, **Ogata T**, Ishii M, Nakanishi T: Hypertrophic cells in hypophagic intrauterine growth retarded rats without catch-up growth. *Kitasato Med J* 44 (1): 38–46, 2014.
8. Kato F, Hamajima T, Hasegawa T, Amano N, Horikawa R, Nishimura G, Nakashima S, Fuke T, Sano S, Fukami M, **Ogata T**\*: IMAGE syndrome: clinical and genetic implications based on investigations in three Japanese patients. *Clin Endocrinol* 80 (5): 706–713, 2014.
9. Court F, Tayama C, Romanelli V, Martin-Trujillo A, Iglesias-Platas I, Okamura K, Sugahara N, Simon C, Moore H, Harness J, Keirstead H, Vicente Sanchez-Mut J, 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): 554–569, 2014.
10. Amano N, Mukai T, Ito Y, Narumi S, Tanaka T, Yokoya S, **Ogata T**, Hasegawa T\*: Identification and functional characterization of two novel *NPR2* mutations in Japanese patients with short stature. *J Clin Endocrinol Metab* 99 (4): E13–18, 2014.
11. **Ogata T**\*, Niihori T, Tanaka N, Kawai M, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakashim S, Kato F, Fukami M, Aoki Y, Matsubara Y: *TBX1* mutation identified by exome sequencing in a Japanese family with 22q11.2 deletion syndrome-like craniofacial features and hypocalcemia. *PLoS One* 9 (3): e91598, 2014.
12. Yamamoto M, Iguchi G, Bando H, Fukuoka H, Suda K, Takahashi M, Nishizawa H, Matsumoto R, Tojo K, Mokubo A, **Ogata T**, Takahashi Y\*: A missense single-nucleotide polymorphism in the sialic acid acetyl esterase gene is associated with anti-PIT-1 antibody syndrome. *Endocr J* 61 (6): 641–644, 2014.
13. Suzuki J, Azuma N, Dateki S, Soneda S, Muroya K, Yamamoto Y, Saito R, Sano S, Nagai T, Wada H, Endo A, Urakami T, **Ogata T**, Fukami M\*: Mutation Spectrum and Phenotypic Variation in Nine Patients with *SOX2* abnormalities. *J Hum Genet* 59 (6): 353–356, 2014.
14. Matsubara K, Kataoka N, Ogita S, Sano S, **Ogata T**, Fukami M\*, Katsumata N: Uniparental disomy of chromosome 8 leading to homozygosity of a *CYP11B1* mutation in a patient with congenital adrenal hyperplasia: Implication for a rare etiology of an autosomal recessive disorder. *Endocr J* 61 (6): 629–633, 2014.
15. Ohishi A, Nakashima S, **Ogata T**, Iijima S: Early vitamin K deficiency bleeding in a neonate associated with maternal Crohn's disease. *J Perinatol* 34 (8): 636–639, 2014
16. Suzuki E, Yatsuga S, Igarashi M, Miyado M, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Umezawa A, Yamada G, **Ogata T**, Fukami M\*: De novo frameshift mutation in fibroblast growth factor 8 in a male patient with gonadotropin deficiency. *Horm Res Paediatr* 81 (2): 139–44, 2014
17. Kawamoto T, Nitta H, Murata K, Toda E, Tsukamoto N, Hasegawa M, Yamagata Z, Kayama F, Kishi R, Ohya Y, Saito H, Sago H, Okuyama M, **Ogata T**, Yokoya S, Koresawa Y, Shibata Y, Nakayama S, Michikawa T, Takeuchi A, Saitoh H: Rationale and study design of the Japan environment and children's