

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

7. 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
8. 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

国際学会

1. **EUROPEAN Human Genetics CONFERENCE 2014, Milan, Italy, May 31- June 3, 2014.**

P14.76-M: Detection of rare variations in a targeted genomic region in a population by NGS analysis using pooled DNAs. **Authors:** T. Kaname, M. Higa, A. Ganaha, K. Teruya, K. Sato, T. Hirano, K. Naritomi

2. **Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism 2014.9.2-5 (Innsbruck).**

P223: Watanabe Y, Ozono S, Sugie H, Fukuda T, Yano S, Matsuishi T. Phosphoglycerate kinase-1 (PGK-1) deficiency presenting as neonatal onset hemolytic anemia, rhabdomyolysis, and mild developmental delay.

3. **The 64th Annual Symposium of the American Society of Human Genetics 2014.10.18-22 (San Diego).**

2258M: Watanabe Y, Ozono S, Sugie H, Fukuda T, Yano S, Matsuishi T. Phosphoglycerate kinase-1(PGK-1) deficiency presenting as neonatal onset hemolytic anemia, rhabdomyolysis, and mild developmental delay.

国内学会等

招待講演

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ク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 吉浦孝一郎.

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 吉浦孝一郎.

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 吉浦孝一郎.

第 23 回日本組織適合性学会大会@長崎大学良順会館, 平成 26 年 9 月 14 日 (日), 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 吉浦孝一郎.

生命医薬情報学連合大会, 2014 年 10 月 4 日, 仙台市仙台国際センター. 公開セッション第一部・個人ゲノム解析技術の現在と未来/解析結果. 三嶋博之.

北海道大学大学院歯学研究科歯学研究セミナー, 2014 年 8 月 13 日, 札幌市北海道大学. 次世代シーケンサーで挑む口唇口蓋裂と乳歯歯胚異常の遺伝学. 三嶋博之.

第 57 回日本甲状腺学会学術集会 大

阪 2014 年 11 月 荻朋男「ゲノム不安定性疾患群の新規責任遺伝子の同定と分子機能解析」

学会発表

第 69 回佐賀小児科地方会 2014. 4. 5. 佐賀.

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. 前田寿幸.

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. 大塚泰史.

第 10 回広島大学-長崎大学連携研究事業カンファレンス -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

新規小頭症/放射線感受性症責任遺伝子の同定と機能解析. 中沢由華, 荻朋男

第 117 回日本小児科学会学術集会 2014 年 4 月 11 日 (金) ~ 13 日 (日), 名古屋国際会議場, 名古屋.

1-0-44: 次世代シーケンサにより母親の低頻度体細胞モザイクを確認した点状軟骨異形成症の一例. 要 匡, 黒澤健司, 比嘉真紀, 成富研二

3P-395: 原因不明の脂肪肝、低血糖、ケトーシス、高乳酸血症、高脂血症を呈する乳児例. 渡邊 順子、関 祥孝、柳 忠宏、水落 建樹、竹内 孝仁、岩本 二郎、猪口 隆洋、矢野 正二、鹿毛 政義、松石 豊次郎.

3P-284: 横紋筋融解症・溶血性貧血を認めた Phosphoglycerate kinase 欠損症の一例. 大園 秀一 (久留米大学 小児科学), 渡邊 順子, 西村 美穂, 中川 慎一郎, 上

田 耕一郎, 稲田 浩子, 福田 冬季子, 杉江 秀夫, 松石 豊次郎.

第 37 回日本小児遺伝学会 2014. 4. 10 (名古屋市).

IV-16: 中島信一, 渡辺順子, 岡田純一郎, 永田絵子, 加藤芙弥子, 山口理恵, 小野裕之, 深見真紀, 中西俊樹, 緒方勤. X-Y 転座を伴う SRY(+) 45,X male の分子遺伝学的解析.

VIII-36: 芳野裕子、海野光昭、西村美穂、中川慎一郎、大園秀一、上田耕一郎、原田なをみ、渡邊順子、松石豊次郎. 進行性の貧血を合併した 5 番染色体長腕中間部欠失症例.

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).

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. 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.

Ash11 methylates Lys36 of histone H3 independently of transcriptional elongation to counteract Polycomb silencing. 西岡憲一、Hitomi Miyazaki, Ken Higashimoto, Yukari Yada, Takaho A. Endo, Jafar Sharif, Manabu Nakayama, Hidenobu Soejima, Haruhiko Koseki, Susumu Hirose.

Beckwith-Wiedemann 症候群と肝芽腫における multiple methylation defect の解析. 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.

第 56 回日本小児神経学会 2014. 5. 29-31 (浜松市).

P-063: GLUT1 欠損症と考えられてい

たがエクソーム解析により乳児悪性
焦点移動性部分発作と診断された一
例. A case of malignant migrating partial
seizures in infancy following GLUT1
deficiency syndrome. 緒方怜奈、松岡
幹、原口康平、チョン・ピンフィー、
吉良龍太郎、渡邊順子、才津浩智.

第 38 回日本遺伝カウンセリング学会
2014. 6. 20-23 (川崎市).

P-10: フィンランド型先天性ネフロー
ゼ症候群の出生前診. Prenatal
diagnosis of Finnish type congenital
nephrotic syndrome. 元島成信、原田
なをみ、田中征治、芳野 信、齋藤
伸道、田中悦子、此元隆雄、中西浩
一、松石豊次郎、渡邊順子.

第 20 回日本家族性腫瘍学会学術集会
2014 年 6 月. 福島

教育講演 荻朋男 「DNA 修復機構の異
常により発症する先天性疾患とゲノム
不安定性/発がん」

日本精神神経学会総会 2014年6月26
~28日 (金) パシフィコ横浜.

1000344: 幻覚・妄想を呈した正常圧水
頭症の家族例の遺伝学的考察. 森本芳
郎, 小野慎治, 黒滝直弘, 吉浦孝一
郎, 小澤寛樹

第 41 回日本マススクリーニング学会
2014. 8. 22-23 (広島市).

O-27: 当施設で診断した軽症型プロピ
オン酸血症 7 症例の検討. 田代 恭子、
石井 宏美、木下 幸恵、鈴谷 由吏、柳
内 千尋、井上 かおり、稲場 美佐、青
木 久美子、但馬 剛、依藤 亨、重松 陽
介、猪口 隆洋、松石 豊次郎、渡邊 順
子.

第48回小児内分泌学会学術集会 9月
25~27日, 浜松.

C0-29 中枢神経奇形を合併した複合型下
垂体機能低下症の 2 例: trio exome 解
析による新規原因遺伝子同定の試み.
渡辺聡, 伊達木澄人, 近河日智, 中富
明子, 木下英一, 吉浦孝一郎, 深見真

紀, 緒方勤, 森内浩幸.

第 21 回 遺伝性疾患に関する出生前
診断研究会 2014. 9. 13 (宮崎市).

1: 原田なをみ、田中征治、芳野 信、齋
藤伸道、田中悦子、此元隆雄、中西
浩一、松石豊次郎、渡邊順子. マイ
クロアレイ解析が有用であった 15 番
染色体 q26 端部欠失の 1 例.

第 56 回日本先天代謝異常学会
2014. 11. 13-15 (仙台市).

P-13: 石毛美夏、小川えりか、碓井ひ
ろみ、米沢龍太、小平隆太郎、渡邊
順子、瀧上達夫、高橋昌里. 治療中
に急性硬膜下出血をきたしたグルタ
ル酸血症 I 型の 1 例.

P-20: 鈴谷由吏、田代 恭子、稲場 美
佐、青木 久美子、但馬 剛、依藤 亨、
重松 陽介、猪口 隆洋、松石 豊次郎、
渡邊 順子. 当施設で診断した軽症型
プロピオン酸血症 7 症例の検討.

P-36: 中島 葉子、Judith Meijer、
Doreen Dobritzsch、渡邊順子、久原
とみ子、三瀨 浩、李 知子、衛藤
薫、伊藤哲哉、Andre Van Kuilenburg.
β ウレイドプロピオナーゼ欠損症の
臨床的・生化学的・分子生物学的検
討と p.R326Q 変異頻度.

3R Symposium Program (DNA 修復、
組換え、修復) に関する国際会議. 御
殿場 2014 年 11 月 17~22 日.

Tomoo Ogi 「Molecular cloning and
characterisation of new human DNA
repair genes」

Chaowan Guo, Yuka Nakazawa, Shimada
Mayuko, Lisa Woodbine, Nan Jia,
Kiyonobu Karata, Hitomi Miyazaki, Alan
Lehmann, Penny A Jeggo & Tomoo Ogi.
「Molecular characterization and
functional analysis of XRCC4, a novel
pathological gene for radiation sensitivity
and developmental abnormalities」

Yuka Nakazawa, Kazuya Kashiya,
Daniela T. Pilz, Chaowan Guo, Mayuko

- Shimada, Kensaku Sasaki, Heather Fawcett, Jonathan F. Wing, Susan O. Lewin, Lucinda Carr, Tao-Sheng Li, Koh-ichiro Yoshiura, Atsushi Utani, Akiyoshi Hirano, Danielle Greenblatt, Tiziana Nardo, Miria Stefanini, David McGibbon, Robert Sarkany, Hiva Fassihi, Norisato Mitsutake, Alan R. Lehmann & Tomoo Ogi. 「ERCC1/XPF deficiency causes three NER- deficient disorders: a patient with various symptoms of xeroderma pigmentosum, Cockayne syndrome, and Fanconi anemia」
- 第59回日本人類遺伝学会 2014年11月19日(水)～22日(土), 場所: タワーホール船堀(東京都江戸川区), 東京
- 1BO-1: 家族性肺がんにおける新規責任遺伝子の同定. Novel causative gene of familial non-small cell lung cancer. 朝重耕一, 渡辺聡, 三嶋博之, 木下晃, 松本桂太郎, 及川将弘, 宮崎拓郎, 土谷智史, 山崎直哉, 福島喜代康, 永安武, 吉浦孝一郎
- 1O1-3: 多発性歯牙腫合併症例を含む SATB2 遺伝子変異症候群の新規変異の同定. Identification of Novel Mutations in Patients with SATB2 Gene Mutation Syndrome without Multiple Odontom. 三嶋博之, 菊入 崇, 三古谷 忠, 木下晃, 吉浦孝一郎
- 1O12-2: Ohdo 症候群オリジナル症例は KAT6B, MED12 以外の遺伝子が原因である. 要 匡, 柳久美子, 澤田浩武, 比嘉真紀, 園田徹, 成富研二
- 1O14-2: ddPCR を用い他 McCune-Albright 症候群の GNAS モザイク変異検出の試み. GNAS mosaic mutation detection of the McCune-Albright syndrome with ddPCR. 渡辺 聡, 伊達木 澄人, 中富明子, 木下晃, 朝重耕一, 木下英一, 三嶋博之, 森内浩幸, 吉浦孝一郎
- 2O3-2: Panic 障害多発家系例に対する Exome 解析. The molecular analysis of familial Panic disorder. 森本芳郎, 小野慎治, 森 貴俊, 黒滝直弘, 吉浦孝一郎, 小澤寛樹
- 3O4-1: 母体血漿中への妊娠関連胎盤特異的 microRNA の流入量および分娩後の消失速度と陣痛との関連について. Effect of labor on plasma concentrations and postpartum clearance of pregnancy-associated, plasma-specific microRNA. 森崎慎太郎, 三浦清徳, 東島 愛, 阿部修平, 三浦生子, 長谷川ゆり, 吉田 敦, 金内優典, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 2O10-1: 次世代シーケンサを活用した HIV ゲノム薬剤耐性関連遺伝子マイナーアレルの検出. 島袋末美, 渡嘉敷良乃, 宮城郁乃, 石原美紀, 名護珠美, 建山正男, 比嘉真紀, 仲宗根勇, 要 匡
- 3O4-2: 母体血と比較して胎児血で高発現する microRNA の同定. Identification of highly expressed microRNAs in fetal blood cells compared maternal blood cells. 東島 愛, 三浦清徳, 三嶋博之, 木下晃, 塚本大空, 阿部修平, 長谷川ゆり, 吉田 敦, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 3O4-3: 母体血漿中 miR-517a および miR518b は前置胎盤に対する帝王切開時の出血量に関連する. miR-517a and miR518b in maternal plasma as a predictive marker for the hemorrhage volume in placenta previa at delivery. 長谷川ゆり, 三浦清徳, 東島 愛, 阿部修平, 三浦生子, 吉田 敦, 金内優典, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 3O4-4: 母体血漿中 cell-free microRNA 流入量と母体の body mass index および新生児出生体重との関連. Circulating levels of maternal plasma cf-miR-21 are associated with maternal body mass index and neonatal birth weight. 瀧 直樹, 三浦清徳, 東島 愛, 長谷川ゆり, 阿部

- 修平, 三浦生子, 村上優子, 三嶋博之, 木下 晃, 金内優典, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 3O4-5: 双胎間輸血症候群発症予測における母胎血漿中胎盤特異的 cell-free mRNA の有用性に関する検討. Predominantly placenta-expressed mRNAs in maternal plasma as predictive markers for twin-twin transfusion syndrome. 村上優子, 三浦清徳, 東島 愛, 長谷川ゆり, 阿部修平, 三浦生子, 三嶋博之, 木下 晃, 金内優典, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 3O11-4: NILM/ASC-US 例における HPV-16 単独感染群と HPV-52 単独感染群の細胞診所見の変化. Single human papillomavirus 16 or 52 infection and later cytological findings in Japanese women with NILM or ASC-US. 阿部修平, 三浦清徳, 三浦生子, 山崎健太郎, 長谷川ゆり, 東島 愛, 吉田 敦, 金内優典, 吉浦孝一郎, 増崎英明
- 1P029: CHD7 遺伝子の新規変異を認めた CHARGE 症候群の一例. 我那覇 章, 要 匡
- 1P040: Identification of terminal deletion of Chr.15q by SNP microarray in a patient with a normal karyotype in amniocytes. 原田なをみ, 田中征治, 芳野 信, 齋藤伸道, 田中悦子, 此元隆雄, 中西浩一, 松石豊次郎, 渡邊順子. マイクロアレイ解析が有用であった 15 番染色体 q26 端部欠失の 1 例.
- 2P016: Small for gestational age (SGA) 胎盤のゲノムワイド DNA メチル化解析. 副島英伸, Rumbajan Janette Mareska, 畑田出穂, 中林一彦, 泰健一郎, 青木茂久, 関博之, 竹田省, 城圭一郎.
- 生命医薬情報学連合大会, 2014 年 10 月 2-4 日, 仙台市仙台国際センター. 【国内ポスター】
Hiroyuki Mishima, Koh-ichiro Yoshiura : Handmaid Building of a High-Performance Computing Cluster and a Storage System for Bioinformatics.
- 第 87 回日本生化学会大会 シンポジウム 2014 年 10 月. 京都
荻朋男, 中沢 由華, 勝木 陽子, Alagoz Meryem, Kakaroukas Andreas, 眞貝 洋一, Jeggo Penny 「ヒストン H3K9 メチル化酵素類の DNA 二重鎖切断修復反応への関与」
- 日本放射線影響学会第 57 回大会 ワークショップ 2014 年 10 月. 鹿児島
荻朋男 「転写共役ヌクレオチド除去修復の開始反応の分子機構」
- 第 67 回日本薬理学会 西南部会 2014 年 11 月 23 日 (日), 産業医科大学ラマツイーニホール, 北九州
- A1-2: 一酸化窒素合成酵素系の遺伝子欠損はマウス中大脳動脈閉塞後梗サイズを著明に縮小させる. 筒井正人, 久保田陽秋, 野口克彦, 松崎俊博, 坂梨まゆ子, 喜名美香, 内田太郎, 仲宗根淳子, 要 匡, 須加原一博, 垣花学
- 第 37 回日本分子生物学会年会 2014 年 11 月 25 日 (火) ~ 27 日 (木), パシフィコ横浜, 横浜
- 2P-0869: Tadashi Kaname, Chang-Seok Ki, Norio Niikawa, George S. Baillie, Jonathan P. Day, Gen Nishimura, Nobuo Mastuura, Kumiko Yanagi, Kenji Naritomi, Miles D. Houslay, Sung Yoon Cho, Dong-Kyu Jin. Molecular pathology of acrodysostosis without hormone resistance caused by heterozygous mutations in cAMP phosphodiesterase-4D.
- 2W15-4: 丹伊田 浩行, 松沼 亮一, 荻朋男, 森脇 真一, 北川 雅敏. DDB2-dependent HBO1 recruitment is essential for repair of UV-induced cyclobutane pyrimidine dimmer.
- 3W14-5: 中沢由華, 郭朝万, 嶋田 繭子, 宮崎 仁美, 唐田 清伸, 荻朋男. 「放射

線感受性および各種発達異常を示す遺伝性疾患の新規責任遺伝子の同定と分子機能解析」

1P-0169: 安田 武嗣, 香川 亘, 齋藤 健吾, 荻 朋男, 花岡 文雄, 菅澤 薫, 胡桃坂 仁志, 田嶋 克史. ヒト RAD52 タンパク質のアセチル化制御

1P-0181: 唐田 清伸, 郭 朝万, 荻 朋男. 「転写と共役したヌクレオチド除去修復の in vitro 反応系の構築」

1P-0182: 郭 朝万, 中沢 由華, 嶋田 繭子, 賈 楠, 唐田 清伸, 宮崎 仁美, 荻 朋男. 「Molecular and functional study on the initiation of transcription coupled nucleotide excision repair」

2P-0182: 香川 亘, 五月女 美香, 齋藤 健吾, 安田 武嗣, 荻 朋男, 胡桃坂 仁志. ヒト RAD52 タンパク質における二つの DNA 結合部位の役割。

1P-0872: 宮崎仁美, 荻 朋男. 「コケイン症候群様の臨床症状を示す遺伝性疾患の責任遺伝子探索」

1P-0873: 嶋田繭子, 荻 朋男. 「エキソーム解析を用いた DNA 修復機構欠損性疾患の新規責任遺伝子の探索」

第 482 回日本小児科学会福岡地方会 2014. 12. 13 (久留米市).

15: 八戸由佳子, 田中玄師, 田中征治, 渡邊順子, 松石豊次郎, 長井孝二郎, 坂本照夫, 岡田純一郎. 学童期の急性発作に対し血液浄化療法が有効であったメープルシロップ尿症の 1 例.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許出願

特許取得

日本国特許

発明者：荻 朋男, シリパン リムシリ
チャイクル, 中沢 由華, 山下 俊一
特許出願人：長崎大学

名称：損傷DNA修復物質のスクリーニング法

番号：特許第5549908号

登録日：平成26年5月30日

米国特許出願

発明者：荻 朋男, シリパン リムシリ
チャイクル, 中沢 由華, 山下 俊一
特許出願人：長崎大学

名称：損傷DNA修復物質のスクリーニング法

番号：12/656, 408

出願日：平成22年1月28日

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 委託業務成果報告（業務項目）

厚生労働科学研究委託費
(難治性疾患実用化研究事業 (革新的医薬品等の開発の促進研究))
委託業務成果報告書 (業務項目)

委託業務課題: エピジェネティック希少疾患の治療に向けた研究および原因未解明な希少疾患に対する解析技術展開研究

業務項目: Exome 解析, 全ゲノム解析による疾患原因変異同定

担当責任者: 吉浦孝一郎

業務分担者:

吉浦孝一郎 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・教授)
木下 晃 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・講師)
三嶋博之 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・人類遺伝学・助教)
荻 朋男 (長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・分子医学・准教授)
要 匡 (琉球大学大学院医学研究科先進ゲノム検査医学講座・准教授)

業務協力者:

松本直通 (横浜市立大学大学院医学研究科・遺伝医学・教授)
新川詔夫 (北海道医療大学・学長)
太田 亨 (北海道医療大学個体差健康科学研究所・教授)
近藤達郎 (医療型児童入所施設みさかえの園むつみの家・医師)

研究要旨

本研究分担班の研究目的は (1) 患者試料を用いて exome 解析等を実施し, 難病稀少疾患関連の研究事業で蓄積してきた原因不明疾患の原因遺伝子を同定し, 新たな病因・病態の解明を推進する (2) 原因遺伝子が明確または明確となった疾患の診断法を確立すること, である。Exome 解析を推進すると同時に, 原因が明らかとなった先端異骨症のモデルラットを使った病態解析および遺伝子機能解析を行った。

A. 研究目的

第一目的である原因未同定難治性稀少疾患の原因変異同定を, 次世代シーケンサーを用いて行った。

DNA 修復異常症, 歌舞伎症候群 (Kabuki syndrome: MLL2, KDM6A 変異陰性群), Beckwith-Wiedeman 症候群 (変異陰性群), 中條-西村 like 症候群,

家族性腎症, 家族性 (脳) 動静脈奇形, 家族性白内障, 家族性肺がん, 家族性筋線維腫症 (familial myofibromatosis), 習慣性不育症, 汎下垂体低形成, 等の data 取得を行い, 原因遺伝子同定を試みた。

原因遺伝子が明らかとなった先端異骨症のモデルラットを使った病態解析および遺伝子機能解析を行った。

B. 研究方法

1) 未説明疾患の原因遺伝子同定

基本的には, これまで収集していた稀少疾患の解析を引き続きおこなった。新規の稀少疾患収集のために長崎県内の医療型児童入所施設みさかえの園むつみの家の医師である近藤達郎医師を中心に九州 dysmorphology 研究会を立ち上げ, 稀少疾患の収集に努めた。

エクソン部 DNA の濃縮は, Agilent 社の SureSelect All exon v5 (50M) キットを使用した。取得した塩基配列データは, NovoalignMPI もしくは BWA (Burrows-Wheeler Aligner) を使用してゲノム塩基配列に整列させた。生成された VCF file を Genome Data Toolkit (GATK) を用いて, 細部を再配列, 微調整させ Base-quality score を計算させた。検出された塩基置換および Insertion/Deletion, は ANNOVAR によって注釈付けした。dbSNP (Build 135) に登録されている rs 番号は, annotation

file に含めた。バリエーションのアレル頻度を annotation file に含めて記述し, その頻度情報は, 1000Genome project に登録されているゲノム解析によって得られるアレル頻度, NHLBI exome プロジェクトに登録されている 6500 名の exome データによって得られるアレル頻度, 京都大学ゲノムセンターから公開されている日本人 1,2008 名の exome データから算出された頻度である。Annotation file には Segmental duplication 情報も記述した。以上の全ての情報をもとに疾患の候補変異の選択時には, rs 番号, アレル頻度, 個人での zygosity の状況を組み合わせて deleterious (有害) な変異を候補遺伝子, 候補変異として残す作業 (filtering step, prioritizing step) を行った。

2) 先端異骨症の原因遺伝子変異解析と分子病態解析

臨床的に先端異骨症 (疑いを含む) と診断された患児について, whole exome 解析とダイレクトシーケンス (Sanger シーケンス) 解析を行った。Whole exome 解析は, Agilent 社 SureSelect または Roche 社 SeqCap EZ による濃縮, HiSeq2500 によるペアエンド解析により行い, また, リファレンスマッピング, annotation 付けも同様に行った。

先端異骨症は, 孤発例が多いため,

それぞれ、両親および非罹患同胞についても同様に exome 解析を行い、*de novo* 変異の検出を行った。

各患児について、*de novo* 変異データを集積し、有意な変異、即ち、SNP database 未登録でエクソン上あるいはスプライス接合部位にあり、かつ、アミノ酸置換、フレームシフトまたは終止コドンによるタンパク質短縮化、あるいはスプライス異常を来すと思われる変異を抽出した。有意な変異の推定には、PolyPhen-2 や SIFT による結果も加味した。

先端異骨症の分子病態解析では、遺伝子変異をもつ患児の株化リンパ芽球様細胞を樹立し、タンパク質活性測定や cAMP 測定を行い評価した。また、変異を持つ発現ベクターを作製し、HEK293 細胞に発現させ、影響される他のタンパク質発現について検討した。加えて、抗体を用いて PDE4D ならびに PKA 複合体の一部である PRKAR1A の細胞内局在を両遺伝子が発現している骨肉腫細胞株 (SaOS2) で解析した。

3) 先端異骨症モデル動物の解析

SleepingBeauty の挿入変異により *Pde4d* 遺伝子を破壊したラット (F344 系統) を Transposagen 社 (米国) より入手し、交配によりホモ接合、ヘテロ接合での成長および骨変化を観察した。

成長に関しては、体重増加等を指標として F344 ラットと比較し行った。

骨所見に関しては、全身および前肢の X-ray により、手骨、橈骨、尺骨等の長さを測定し、比較を行った。

4) 遺伝性 DNA 修復欠損性疾患疑い症例の遺伝子解析と DNA 修復機能解析

国内外より、色素性乾皮症 (XP) 症例およびコケイン症候群 (CS) 症例を中心に、遺伝性 DNA 修復欠損性疾患疑い症例を収集する。これらについて、不定期 DNA 合成量 (UDS) 測定や、RNA 合成回復量 (RRS) 測定を実施し、NER の修復活性を評価する。さらに、レンチウイルス発現系を用いて、患者由来細胞に既知の NER 関連因子を導入した後、修復活性回復の有無を調べる事で、疾患の原因変異を持つ遺伝子の同定をおこなう。また、ゲノムシーケンシングにより責任変異を調査する。これにより、未知の疾患責任遺伝子変異が原因である症例を抽出する。選定した検体に関して、次世代ゲノム解析を実施し、新規 NER 関連遺伝子の同定を試みる。

C. 結果

1) 稀少疾患の exome 解析状況一覧

長崎で exome 解析進行中の疾患群を以下の表に記載する。

表 2 : exome 解析中の疾患群

Disease	MIM number	Symptoms	Inherit pattern	Genes	Status
Burugada 症候群	heterogenous	心臓伝導障害	AD	Known gene & New gene	論文作成中
WHIM-like 症候群	606593	Wart, Hypogammaglobulinemia, Myelokathexis	AD?	LIG4	論文投稿中
家族性筋線維腫症	228550	筋線維腫	AD	PDGFRB	論文作成中
中條-西村症候群様疾患群			AD AR?	1 de novo 変異同定	確認実験中
家族性肺がん	SFTP(-)	肺がん	AD	70 候補遺伝子	論文投稿中
Zimmerman-Laband 症候群	135500	Gingival fibriomatosis, absent nail	de novo?	2 De novo mutation	確認のため症例待ち
家族性腎症		Motor neuron deficiency	AR? AD?	LMX1B	既報あり (nail-patella 症候群と allelic)
LMC 症候群	(chandler et al., 2006)	Leukodysplasia Microcephaly Cerebral malformation	AR? De novo	1 de novo mutation	確認実験中
家族性脳動静脈奇形			AD	2 linked deleterious mutations	確認実験中
家族性白内障			AD	unidentified	原因遺伝子不明
Kabuki 症候群	KMT2D (-) KDM6A(-)	Eversion of the lower eyelids	AD	左記遺伝子以外 unidentified	原因遺伝子不明
Arrhinia	No entry	無鼻症	de novo	unidentified	原因遺伝子不明
習慣性不育症	No entry	習慣性不育	AD? AR?	unidentified	原因遺伝子不明

Beckwith-Wiedemann 症候群	130650		AD AR	unidentified	原因遺伝子 不明 (担当：副島)
---------------------------	--------	--	----------	--------------	------------------------

家族性筋線維腫症は、家系での連鎖解析とexome解析にて、platelet derived growth factor receptor beta (PDGFRB) が原因と推測された。2013年6月に American Journal of Human Genetics に PDGFRBが家族性筋線維腫症の原因であるとの報告がなされた。結果的に世界初の報告とはならなかったが、日本での家族性筋線維腫症においても PDGFRBが原因となるとの追試となった。

LMC 症候群は、論文発表では明らかな常染色体劣性遺伝として報告され、我々も日本人3例の試料収集を行った。Exome解析後の homozygous 変異、compound heterozygous 変異の重ね合わせでも共通の遺伝子は特定出来なかった。トリオで解析可能な症例が1例あり、de novo 変異探しによって2個の候補変異が見つかった。この2遺伝子に関して他の2症例のシーケンス確認を行う。

Zimmerman-Laband 症候群は、常染色体優性遺伝 (de novo 変異) 想定のもとで1例のトリオ解析を実施した。2個のde novo 変異を見出しており、今

後、長崎の症例の協力を得られるように努力する。

家族性腎症は、LMX1B (LIM homeobox transcription factor 1-beta) に変異を見出したが、これは、nail-patella 症候群の原因遺伝子として報告されていたものであった。また、これまでに腎症家系でLMX1B変異が1例報告されており、それと同一の変異であった。したがって、新規の腎症原因の発見ではないが、1例報告の補強データとしての価値はある。LMX1B 遺伝子と nail-patella 症候群/腎症との genotype-phenotyp 相関は明らかでなく、家族性腎症および散发例の腎症でのLMX1B 遺伝子の変異スクリーニングが必要と思われた。

中條-西村 (様) 症候群では、プロテアソーム構成因子に de novo 変異が認められた。中條-西村症候群は PSMB8 遺伝子変異の常染色体劣性遺伝病であったが、中條-西村 (様) 症候群でヘテロの変異が認められたことは、自己炎症疾患としてまとめられる原因不明疾患中にプロテアソーム遺伝病が混ざっている可能性が示唆される。

家族性（脳）動静脈奇形は、家系内で連鎖する候補変異が2個残った。家族性（脳）動静脈奇形は、極めて珍しく次の家系は望めない。散发例の（脳）動静脈奇形の手術試料収集をはかると共に、候補変異2個がもたらす生化学的な機能変化を実験的に明らかにして、原因変異を決定する。片方の遺伝子は、これまでの報告から極めて有力であると考えられる。血管新生、血管発生に重要な遺伝子と考えられ、遺伝病としてばかりでなく「がん」の進展等に関連した遺伝子である可能性がある。



Patient 1 における
PDE4D 遺伝子の *de novo* 変異

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
Phenotype reports	Unpublished	Ref 9	Unpublished	Ref 8	Ref 8	Unpublished	Ref 10
Gene	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>	<i>PDE4D</i>
Mutation	c.2013 T > C (p.W671)	c.2019C > A (p.W673)	c.2013 T > C (p.W671)	c.683A > C (p.R228P)	c.683A > C (p.R228P)	c.2085 T > C (p.L726I)	c.1759A > G (p.L583A)
Clinical findings							
CA (mo)	40/3.8	40/2.9	41/2.1	40/2.22	40/2.95	41/3.3	36/2.3
Sex (M/F)							
Seizure type	F 3/3 F	M 1/1 F	Male v 11 m	8/30 y	M 1/1 y	M 1/0 y, female	F 1/0 y, M 1/1 46-52
Height (cm)	144.7-151	150-158	166.6-174	166-171	150-158	137.2-163	131.46-162
IQ							
WISC-III (IQ)	54/-0.1	57/-0.7	151-18	54/3.0	42.5/-2.2	37.2/-0.6	31/6.2
IQ							
Short nose with flat nasal bridge	+	+	+	+	+	+	+
Protruding forehead	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)	(Nose vestibul)
Light brown hair	Black	Black	Black	Gray	Gray	Gray	Gray - brown
Developmental milestones	Delayed	Delayed	Delayed	Delayed	Delayed	Delayed	Delayed
Radiologic findings							
Preaxial polydactyly	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe
Metacarpal hypoplasia	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe
Brachydactyly	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe	Severe
Advanced bone age	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Laboratory findings							
Hemostatic measures	No	No	No	NA/10.2/43	64.4/8/41.2	61.2/9.3/31.4	NA/8.6/4.4
PT/INR	34/8.8/3	16/4.1					NA/8.8/5.3
25-OH-D	15.29	NA	NA	NA	NA	NA	NA
P/4/7/94	1.54/2.25	1.17/0.91	1.5/1.54	1.25/1.25	1.26/0.41	1.6/1.79	1.15/NA
hGH	0.05	NA	NA	NA	NA	NA	NA
IGF-1	21.68	22.3	112.8	NA	NA	NA	NA
IGFBP3	3.1/6.3	5.5/3.5	NA	NA	NA	NA	0.1-1.8
ACTH	5.9	NA	NA	NA	NA	NA	88.3
Transferrin	39	2.95	NA	NA	NA	0.11	NA

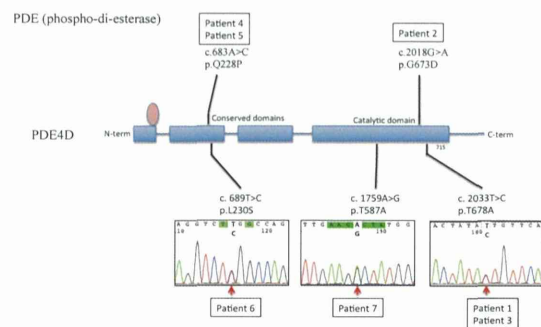
2) 先端異骨症の原因解析と分子病態解析

典型的な臨床的先端異骨症患者7人の whole exome 解析, direct sequence 解析 (Sanger 法) の結果, 5 種類の *PDE4D* 遺伝子変異を同定した。



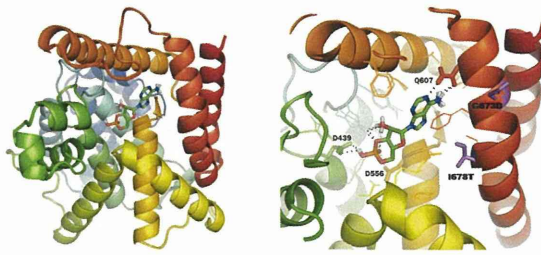
典型的先端異骨症患者における
手根骨・足根骨の X-ray (Patient 1)

先端異骨症患者の症状のまとめ



先端異骨症患者における *PDE4D* 遺伝子
変異とアミノ酸配列上の位置

遺伝子変異は, *PDE4D* タンパク質の立体構造解析において, 活性ドメイン構造に影響を与え, cAMP 結合活性を変化させると推定された。

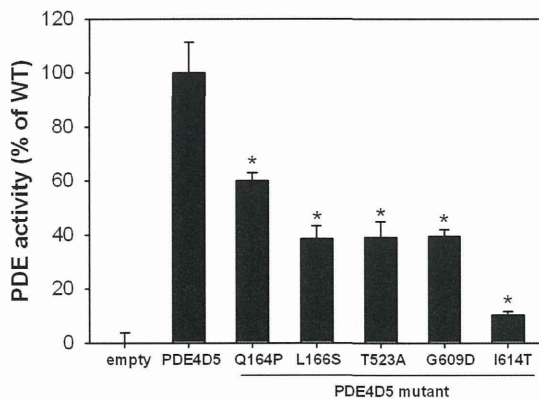


PDE4D タンパク質のドメイン領域の
立体構造モデルと cAMP 結合部位

Models	Average binding affinity (kcal/mol)	Number of successful binding of the 30 trials
WT	-8.70 (± 0.000)	30
p.Gly673Asp (Pt 2)	-8.51 (± 0.311)	4
p.Ile678Thr (Pt 1)	-8.56 (± 0.292)	9

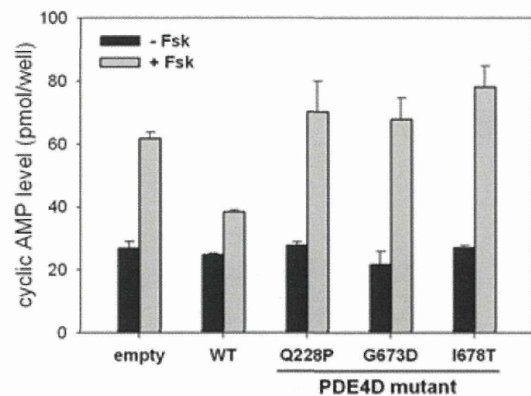
変異 PDE4D タンパク質 (p.G673R, p.I678T)
における cAMP 結合親和性

遺伝子変異を認めた患児より、株化リンパ芽球様細胞を樹立し、その酵素活性について検討したところ、患児細胞において、PDE 活性の低下が認められた。

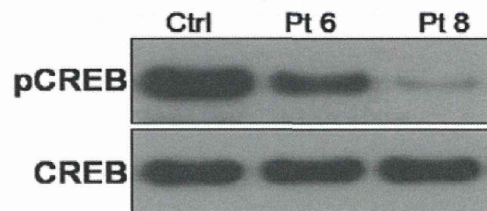


先端異骨症患児細胞における酵素活性

また、患児で認められた変異 PDE4D 遺伝子発現ベクターを HEK293 細胞へ導入し、forskolin 存在下で cAMP 量を測定したところ、変異 PDE4D 遺伝子導入細胞において、cAMP 量がコントロールと比べ減少しないことが判明した。

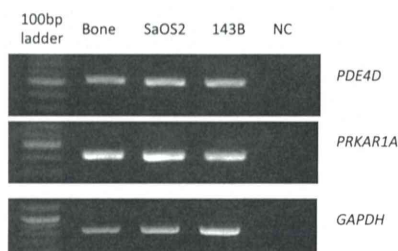


野生型/変異型 PDE4D 導入 HEK293 細胞における Forskolin 存在下での cAMP 量変化を加えて、患児株化リンパ芽球様細胞において、非刺激状態でのリン酸化 CREB (cAMP Response Element-Binding Protein) タンパク量を測定したところ、細胞内 pCREB/CREB 比率の有意な低下が認められた。

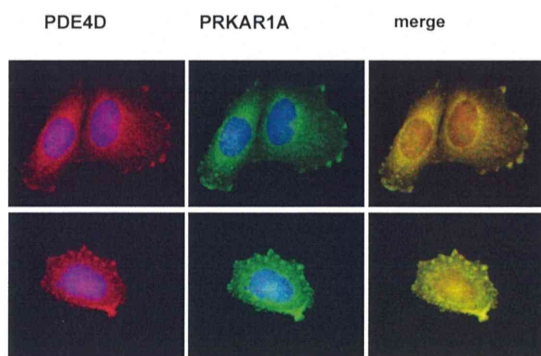


患児株化リンパ芽球様細胞における
リン酸化 CREB (pCREB) 量 (patient 6, 8)

以上より、PDE4D は $Gs\alpha$ -cAMP-PKA シグナル伝達経路に関与するタンパク質と考えられた。そこで、シグナル伝達経路上のPKA複合体の一つであるPRKAR1A (Protein Kinase, cAMP-dependent, Regulatory, type I alpha) との細胞内局在を、骨肉腫細胞株 SaOS2 を用いて検討したところ、両タンパク質が一致していることが確認された。



骨肉腫細胞株における遺伝子発現



SaOS2 骨肉腫細胞における PDE4D と PRKAR1A の局在

3) 先端異骨症モデル動物

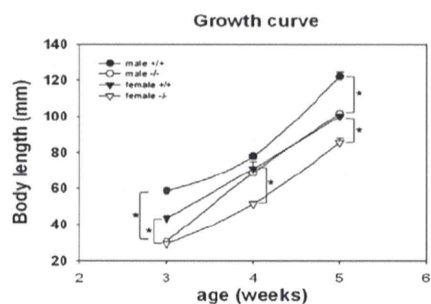
本疾患の分子病態をさらに詳細に解

析するため、モデルラットについて検討した。

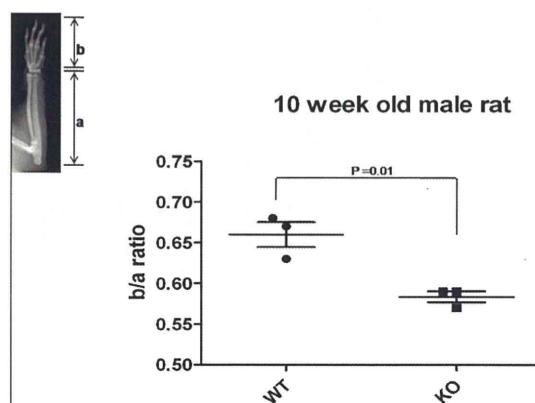
SleepingBeauty により *Pde4d* 遺伝子に挿入変異を起こしたラットを用い、その成長、および骨病変について検討した。

すると、出生後早期には、体重増加不良がみとめられた。また、前肢の手骨部分と前腕骨相当部分の長さの比を測定したところ、変異ラットでは、有意に手骨部分の短縮が確認された。

以上より、本変異ラットは、ヒト先端異骨症の症状と類似しており、詳細な分子病態を解析する上で有用なモデルと考えられた。



Pde4d 挿入変異ラットの成長曲線



Pde4d 挿入変異ラットにおける手骨の変化

4) 遺伝性 DNA 修復欠損性疾患疑い症例の遺伝子解析と DNA 修復機能解析

今年度収集した国内の XP 疑い症例のうち、UDS 低下および、RRS 低下が観察され、NER の欠損が確認された症例が 7 例あった。これらの症例は、ウイルス相補性試験により、既知の相補性群である、XPF 群(3 例)、XPA 群(1 例)、XPC 群(1 例)、XPG 群(1 例)と判明した。残り 1 例は現在解析中である。また、UDS と RRS がともに正常である 5 症例において、ゲノム解析により *XPV* 遺伝子(既知)上に病的変異を同定した。UDS/RRS 欠損の有無に関わらず、既知の遺伝子に疾患責任変異が同定されなかった症例に関しては、次世代ゲノム解析を実施し、新規疾患責任遺伝子変異同定を試みた。

D. 考察

1) 稀少疾患の exome 解析および遺伝子診断について

原因不明稀少疾患の遺伝子探索については、情報処理技術が向上してきたこともあり、*de novo* 変異探し、家系例ともに 40-50% は原因が分かるようである。しかし、稀少であるが故に確認作業自体が生物学的な *in vitro* 実験を行わなければならない、そのステッ

プが論文作成の律速段階となっている。

一方、既知の変異陽性を除外した歌舞伎症候群、Beckwith-Wiedemann 症候群の変異解析でも新規遺伝子は見つからない。特に歌舞伎症候群は、*KMT2D* のイントロンを含めた全ゲノム領域を探索したが、原因となるような変異は認められなかった。これは、歌舞伎症候群の様な比較的均一な症候群でも遺伝子変異が見つからない例が、15~20% は存在するというものであり、すなわち遺伝子だけで疾患の診断は 80~90% が限界であろう。

2) 先端異骨症の原因解析と分子病態解析

臨床的に典型的な先端異骨症患者の whole exome 解析、Sanger シーケンス解析結果より、典型的ホルモン感受性先端異骨症の多くは、*PDE4D* 遺伝子が原因と推定された。

また、分子生物学・分子遺伝学的解析により、患児由来細胞では cAMP 値や CREB タンパク質リン酸化が変動し、また遺伝子変異の導入により変化することが判明した。加えて、PKA 複合体の一部である *PRKAR1A* と *PDE4D* は細胞内局在が一致することが判明した。

よって、典型的先端異骨症は、*PDE4D* の変異により、Gs α -cAMP-PKA シグナル伝達経路の異常をきたし、発症する

と考えられた。

このことは、先端異骨症に類似する疾患（非典型例）であるホルモン抵抗性先端異骨症において、*PRKARIA*遺伝子変異を認める例があり（下表）、他の非典型的で*GNAS*遺伝子変異を認める例があることから本シグナル伝達経路が病態に強く係っていることが支持される。

3) 先端異骨症モデル動物

挿入変異による*Pde4d*遺伝子変異ラットについてホモ接合ラットにおける成長曲線、前肢のX-ray所見および骨長測定値は、生後早期の成長遅延、手骨の短縮を示した。これらは、先端異骨症の所見と一致し、病態モデルとして妥当と思われた。先端異骨症では、成長に従ってやや肥満傾向になることが知られているが、予備的結果で週齢が進むにつれて体重が増加傾向となることを確認しており、妥当性を支持する結果となっている。このラットの解析により詳細な分子病態の解明や治療へ向けた研究が可能となったと考えられた。

4) 遺伝性 DNA 修復欠損性疾患疑い症例の遺伝子解析と DNA 修復機能解析

NERの欠損が認められた、XP疑いの皮膚がん未発症例は、ウイルス相補性

試験によりXPF蛋白質の機能異常が示唆された。一方、今期同定した他のXPF群2症例は、皮膚悪性腫瘍が認められている。皮膚がん発症・未発症例それぞれの遺伝子変異に関して、分子レベルでの解析を進める事で、病態の重篤度を決定している原因の究明につながると期待される。さらに、これらの解析を発展させる事で、抗がん剤や病態緩和薬、治療薬等の開発に貢献できると考えられる。

E. 結論

遺伝子病の exome 解析は既に、臨床応用・臨床検査の段階にあり、塩基配列データ取得・解析までは買う区実に実施可能となっている。最終的に変異がその疾患の原因であるのか否かの決定が、新規疾患である場合は、難しい。ただし、既報の変異であれば、データ取得出来たところにあるならば、同定できる。遺伝性疾患は、既報の遺伝子異常とアレリックな疾患が数多く存在しており、genotype-phenotype 関連も複雑であり、既存薬の適応範囲拡大といった戦略も良く考えないと、思わぬ副反応が出る可能性が内在されている。

Whole exome 解析、Sanger シーケンス解析によって先端異骨症の原因遺伝子として*PDE4D*遺伝子変異を明らかにし、その分子病態の一部を明らかに

した。

患児由来細胞の解析、遺伝子変異導入細胞株の解析等により、先端異骨症はGs α -cMAP-PKAシグナル伝達経路の異常が関与すると考えられた。これは、臨床的に先端異骨症と関連のある疾患において、本シグナル伝達経路上の遺伝子変異が認められる例があることからこのシグナル伝達経路の異常が大きく係っていることが支持される。

NER欠損性疾患であるXPあるいはCS疑いの患者に対して、UDS/RRS解析とウイルス相補性試験を実施することで、既知の疾患責任遺伝子変異が原因であるかを特定する事が可能であった。これにより、多数の症例の中から、未知の疾患責任遺伝子変異を原因とする検体を抽出する事が可能であった。これらの検体について、今後も次世代ゲノム解析を継続する事で、新規疾患責任遺伝子変異が同定される事が期待される。

遺伝子診断、未知の疾患の原因変異探索、先端異骨症の病態解析と本年度計画した目標は達成できている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

英文

1. Jia N, Nakazawa Y, Guo C, Shimada M, Sethi M, Takahashi Y, Ueda H, Nagayama Y & Ogi T.* A rapid comprehensive assay system for DNA repair activity and cytotoxic effects of DNA damaging reagents by measuring unscheduled DNA synthesis and recovery of RNA synthesis after DNA damage. *Nature Protocols* 10(1): 12-24 (2015)
2. 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.
3. Baple E.L., Chambers H., Cross H.E., Fawcett H., Nakazawa Y., Chioza B.A., Harlalka G.V., Mansour S., Sreekantan-Nair A., Patton M.A., Muggenthaler M., Rich P., Wagner

- K., Coblentz R., Stein C.K., Last J.I., Taylor A.M., Jackson A.P., Ogi T., Lehmann A.R., Green C.M. & Crosby A.H. Hypomorphic PCNA mutation underlies a human DNA repair disorder. *Journal of Clinical Investigation* 124(7): 3137-3146 (2014)
4. 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.
 5. 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.
 6. 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.
 7. 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.
 8. 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.
 9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
- 邦文
1. 三嶋博之：UCSC ゲノムブラウザ，羊土社，2014 年，実験医学増刊・今日から使えるデータベース・ウェブツール達人になるための実践ガイド 100，実験医学 32(20)：3223-3225.
2. 三嶋博之：さまざまなヒトバリエーションデータベース，羊土社，2014 年，実験医学増刊・今日から使えるデータベース・ウェブツール達人になるための実践ガイド 100，実験医学 32(20)：3341-33433.
- 2) 学会発表
- 国際学会
International Symposium on Xeroderma Pigmentosum and Related Diseases 国際学会・招待講演 Ogi Tomoo 「Transcription, DNA damage and Repair」神戸 2014 年 3 月
- 国内学会等
招待講演