

# 表1: 慢性膵炎患者におけるCFTR遺伝子多型

エクソン	塩基置換	アミノ酸置換	慢性膵炎 (%)	Control (HGVB) (%)	P 値
2	c.91C>T	p.R31C	3/193 (1.6)	12/1102 (1.1)	0.48
2	c.92G>A	p.R31H	1/193 (0.5)	0	-
4	c.374T>C	p.I125T	3/193 (1.6)	5/1102 (0.5)	0.11
10	c.1231A>G	p.K411E	1/193 (0.5)	0	-
11	c.1408G>A	p.V470M	122/193 (63.3)	758/1199 (63.2)	>0.99
12	c.1666A>G	p.I556V	10/193 (5.2)	81/1150 (7.1)	0.70
13	c.1753G>T	p.E585X	1/193 (0.5)	0	-
17	c.2869delC	p.L957fs	1/193 (0.5)	0	-
21	c.3468G>T	p.L1156F	15/193 (7.8)	46/1136 (4.1)	0.04
25	c.4045G>A	p.G1349S	1/193 (0.5)	0	-
25	c.4056G>C	p.Q1352H	20/193 (10.4)	57/1153 (4.9)	<0.01
27	c.4357C>T	p.R1453W	10/193 (5.2)	42/1144 (3.7)	0.32

*Nakano, Masamune, et al. Dig Dis Sci, 2015 in press*

## 分担研究課題

### 次世代シーケンサーを駆使した希少遺伝性難病の原因解明

研究分担者 新堀 哲也（東北大学大学院医学系研究科 助教）

#### 研究要旨

我々は次世代シーケンサー登場以前より遺伝性難病の原因遺伝子同定と病態解明をおこなってきたが、平成23年より厚生労働省科研費を元に次世代シーケンサーを導入し、網羅的遺伝子解析体制を構築してきた。本研究では次世代シーケンサーを用いて、遺伝性難病の新規疾患原因遺伝子の同定を目指した。本年度、我々は157サンプルのエクソーム解析を行った。複数の既知遺伝子に変異が存在する例が存在し、非常にまれな遺伝性難病では、複数の遺伝子の合併の可能性も考慮しながら解析を行う必要があり、表現型評価の重要性が再認識された。

#### A. 研究目的

我々は次世代シーケンサー登場以前より遺伝性難病の原因遺伝子同定と病態解明をおこなってきたが、平成 23 年より厚生労働省科研費を元に次世代シーケンサーを導入し、網羅的遺伝子解析体制を構築してきた。本研究では次世代シーケンサーを用いて、遺伝性難病の新規疾患原因遺伝子の同定を目指した。新規原因遺伝子の発見により、難病の病態解明および治療法開発の第一歩となりうる。また、同定された病因遺伝子が既知のものであっても、新しい疾患概念の発見に結びつく場合もあり、更なる臨床情報の蓄積によって、患者の予後予測や遺伝カウンセリングに役立つ可能性がある。

#### B. 研究方法

東北大学内の他の診療科または学外の共同研究者から患者および血縁者のサンプルおよび臨床情報を収集し、エクソーム解析を本学医学系研究科中山啓子教授らと共同で行い、その結果をサンプル提供の共同研究者に返却する、という工程で行った。具体的には以下の通りである。

##### 1、DNA 抽出

インフォームドコンセントを得た患者および血縁者の末梢血から DNA を抽出した。

##### 2、エクソーム濃縮

患者 DNA を元に、Agilent 社 SureSelect Human All exon kit（Illumina 用）を用いてエクソーム濃縮とライブラリ調製を行った。

##### 3、次世代シーケンサーでの解析

Illumina 社 HiSeq2000 を用いて 101×2 塩基のペアエンド解析も行った。得られたデータは BWA、novoalign、GATK、samtools 等を用いて情報解析を行った。

##### 4、遺伝子変異絞り込み

推定される遺伝形式に合致して存在する遺伝子のバリエーションをまとめる。

また、よりターゲットを絞った（数十遺伝子レベル）の解析として、デスクトップ型次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析体制も 4 疾患（成人発症筋疾患、運動ニューロン病、RAS/MAPK 症候群、遺伝性膵炎）について構築した。工程はエクソーム解析と基本的に同様であるが、ターゲット濃縮には Haloplex キットを用いた。

#### （倫理面への配慮）

本研究における遺伝子解析研究は 3 省庁の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に沿って行った。本研究は、すでに東北大学医学部倫

理委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

本年度、我々は157サンプルのエクソーム解析を行った。大きな分類での内訳は以下の通りである。

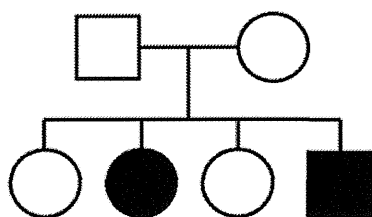
#### 東北大学でのエクソーム解析 (~2015年2月)

		今年度
健常人	188	+89
神経筋疾患	46	+12
呼吸器疾患	24	
消化器疾患	45	+30
血液疾患	20	+15
先天奇形	83	+28
先天代謝異常	16	+11
眼疾患	5	
皮膚疾患	10	
腎疾患	22	+14
計	459	+157

健常人が最も多いが、これは患者の健常な血縁者を解析しているためである。以下消化器疾患30例、先天奇形28例、血液疾患15例、腎疾患14例、神経筋疾患12例、先天代謝異常症11例の解析を行った。

解析の対象疾患は15疾患(15プロジェクト)におよび、少なくとも4疾患(初期診断は先天奇形症候群、骨系統疾患、先天代謝異常2疾患)においては1つ以上の病因遺伝子変異を同定した。また、それ以外の疾患についても病因候補変異が絞られており、追加の解析等により病因遺伝子変異同定を目指している。

4疾患のうちの1つは、精神運動発達遅滞、著しい成長障害、眼科的疾患を伴う同胞例であった。



常染色体劣性遺伝形式を想定して両親および患者同胞でエクソーム解析を行ったところ、眼科的疾患を伴うことで知られる症候群Aの原因遺伝子にホモ接合のフレームシフト変異が同定され、少

なくとも精神運動発達遅滞と眼科的疾患についてはこの変異が原因と考えられた。しかし著しい成長障害は症候群Aに特徴的とはされていなかった。一方で、別な疾患の原因遺伝子として知られる遺伝子にもコンパウンドヘテロでミスセンス変異が同定された。これらのミスセンス変異が病態にかかわっているか、今後解析を進める予定である。

また、腫瘍を合併した先天奇形症候群のエクソーム解析において、細胞周期関連分子の遺伝子変異を同定した。先天奇形症候群の原因とは考えづらかったが、腫瘍発生の背景として重要な発見と考えられた。

Haloplexを用いた疾患パネル解析の成人発症筋疾患においても、個別の変異として既報告の変異が1人の患者に複数遺伝子で同定される場合もあったが、SNPデータベースでの頻度が10%以上あるのにも関わらず病因と報告されていたものもあり、個々の変異について確認する必要があった。

### D. 考察

遺伝性難病の解析において、バリエーションのフィルタリングの戦略には①疾患の家系情報を元に行う場合、②同じ疾患の罹患者のみを集め解析を行う場合、③疾患の既知原因遺伝子および遺伝子機能から病因遺伝子を推定する場合、④これらを組み合わせて解析を行う場合、がある。①の場合の疾患の家系内においては、病因遺伝子変異は共通していると推定されるが、②の同じ疾患の罹患者のみを集め解析を行った場合、病因となる遺伝子が一つとは限らない (genetic heterogeneity)。また、③においては推定の方法によりバリエーションの絞り込み方が大きく変わってくる。これらを踏まえたうえで病因遺伝子を絞り込んでいき、変異候補が既報の遺伝子変異と同一であるか、SNPデータベースにおけるアレル頻度はどうか、変異の種類 (terminationの起こる変異か)、変異の機能予測 (種を超えて保存されている領域か、等)などを参考に病因であるか判断し、必要があれば機

能解析を行う。

通常各患者に単一遺伝子の変異が1アレル(優性またはX連鎖の場合)または両アレル(劣性の場合)に存在すると想定しているが、前述のフィルタリングを行ってもなお病因候補が1つに絞り込めない場合がある一方で、2つ以上の既知疾患遺伝子に変異を検出する場合は時に存在する。表現型を正確に評価し、既報の症候群の特徴と比較することが重要と考えられる。しかしその時点においても既知症候群の表現型情報が十分とは言えない場合が多々あり、今後も遺伝性疾患の遺伝子解析研究においては遺伝子型と表現型の関連に関する情報の集積が不可欠である。

#### E. 結論

次世代シーケンサーを用いて、遺伝性難病の新規疾患原因遺伝子の同定を目指しエクソーム解析を行った。まれな表現型では、複数の病原変異がかかわっている可能性を考慮に入れる必要がある。遺伝子解析の技術が進歩してもなお、表現型評価の重要性が再認識された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Fujiwara I, Murakami Y, Niihori T, Kanno J, Hakoda A, Sakamoto O, Okamoto N, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Kinoshita T, Kure S, Matsubara Y, Aoki Y. Mutations in PIGL in a patient with Mabry syndrome. *Am J Med Genet A*. Epub ahead of print 2015

2) 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*. Epub ahead of print 2014

3) 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 lentigines. *J Med Genet A*. 167(2):407-11, 2015

4) 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

5) Inoue S, 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

#### 2. 学会発表

1) 平成25年10月2-4日 第3回生命医薬情報学連合大会(仙台) 新堀哲也、井泉瑠美子、西山亜由美、矢尾板全子、大場大樹、守谷充司、井上晋一、舟山亮、城田松之、中山啓子、松原洋一、青木洋子 次世代シーケンサーを用いた希少遺伝性難病病因遺伝子の探索

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

分担研究課題

染色体異常の発生メカニズムに関する研究

研究分担者 倉橋浩樹（藤田保健衛生大学・総合医科学研究所  
・分子遺伝学研究部門 教授）

研究要旨

染色体異常は数的異常と構造異常に分類される。わたしたちは、染色体の数的異常と構造異常の発生メカニズムを、次世代シーケンサーによるゲノム解析の手法を用いて研究している。本年度は、妻がいとこ婚の子で、胎児の染色体数的異常による流産を繰り返している症例に関して、ホモ接合性マッピング、全エクソーム解析、減数分裂関連遺伝子の候補遺伝子解析をおこなった。現時点では、責任変異の有力な候補は見つかっていない。また、2例の染色体挿入の症例で、全ゲノムシーケンスをおこなった。その結果、2例とも単純な切断と再結合で説明できない複雑なジャンクションを有していた。今後、本研究班ではこれらの研究を継続して行い、染色体の数的異常と構造異常の発生メカニズムに関する新しい知見を得たい。

A. 研究目的

染色体異常の発生メカニズムは未解明な部分が多い。わたしたちは、女性の加齢に伴い卵子の数的異常が増加する原因が減数分裂コヒーシンの劣化に起因することを示した。しかし、加齢とは無関係に卵子の数的異常を繰り返す習慣流産のカップルも存在し、その原因は不明である。一方、構造異常に関しても、従来から2重鎖DNAの切断とその誤修復が原因とされてきたが、近年、DNA複製の障害の役割が注目され、混沌としている。本研究では、このような染色体の数的異常と構造異常の発生メカニズムを、次世代シーケンサーによるゲノム解析の手法を用いて研究する。

B. 研究方法

ゲノムDNAをコバリスで切断後、全エクソームに関しては、SureSelectでキャプチャーしたものをイルミナHiSeq1500で解析し、独自のパイプラインで選別したものに対し、VariantStudioでアノテーションを行った。全ゲノムシーケンスは、ペアエンドで得たデータをBreakDancerにて解析

した。同定した遺伝子変異やジャンクション配列はサンガー法で確認した。

（倫理面への配慮）

サンプルの提供に際しては、十分な説明を行い、文書による同意書に基づいて行った。研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守して行った。本研究は、すでに、藤田保健衛生大学・ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会の承認を得て、利益相反がないことの報告をしている。

C. 研究結果

（1）数的異常：胎児の染色体数的異常による流産を繰り返すカップルに対して、全エクソーム解析を行っている。本年度は、妻がいとこ婚の子で、胎児の染色体数的異常による流産を繰り返している症例に関して、ホモ接合性マッピング、全エクソーム解析、減数分裂関連遺伝子の候補遺伝子解析をおこなった。現時点では、責任変異の有力な候補は見つかっていない。

（2）構造異常：種々の染色体構造異常に対して、全ゲノムシーケンスで切断点や結合部位の配列を解析している。本年度は、2例の染色体挿入

の症例で、全ゲノムシーケンスをおこなった。その結果、2例とも単純な切断と再結合で説明できるものではなかった。詳細を検討中である。

#### D. 考察

数的異常に関しては、いとこ婚以外の症例に関しての全エクソーム解析を順次おこなっていき、候補責任変異を持つ共通遺伝子を同定していきたい。不妊や習慣流産においては、遺伝子変異が淘汰されやすいため、de novo 変異で発生している可能性が高い。患者が成人のためむずかしいが、唾液採取キットなどを利用して、患者の両親のサンプルを収集する工夫が必要である。複雑な構造異常に関しては、クロモスリプシスや FoSTeS などの新しいメカニズムが提唱されているが、多くはまだ現象論であり、細胞生物学的な実験を用いたメカニズムの解明が必要である。また、混沌としている用語の統一を目指したい。

#### E. 結論

今後、本研究班ではこれらの研究を、症例数を増やして継続してゆく。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Ito M, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T, Kurahashi H. Age-related decrease of meiotic cohesins in human oocytes. **PLoS One** 2014; 9(5): e96710.
- 2) Ohye T, Inagaki H, Ihira M, Higashimoto Y, Kato K, Oikawa J, Yagasaki H, Niizuma T, Takahashi Y, Kojima S, Yoshikawa T, Kurahashi H. Dual roles for the telomeric repeats in chromosomally integrated human herpesvirus-6. **Sci Rep** 2014; 4: 4559.
- 3) Mishra D, Kato T, Inagaki H, Kosho T, Wakui K, Kido Y, Sakazume S, Taniguchi-Ikeda M, Morisada N,

Iijima K, Fukushima Y, Emanuel BS, Kurahashi H. Breakpoint analysis of the recurrent constitutional t(8;22)(q24.13;q11.21) translocation. **Mol Cytogenet** 2014; 7: 55.

4) Ohye T, Inagaki H, Ozaki M, Ikeda T, Kurahashi H. Signature of backward replication slippage at the copy number variation junction. **J Hum Genet** 2014; 59(5): 247-250.

5) Kato T, Franconi CP, Sheridan MB, Hacker AM, Inagakai H, Glover TW, Arlt MF, Drabkin HA, Gemmill RM, Kurahashi H, Emanuel BS. Analysis of the t(3;8) of hereditary renal cell carcinoma: A palindrome mediated translocation. **Cancer Genet** 2014; 207(4): 133-140.

6) Nisizawa H, Kurahashi H. Recurrent Pregnancy loss. **Clinical Genomics: Practical Applications in Adult Patient Care**, Michael Murray, Mark Babyatski, and Monica Giovanni, McGraw-Hill Professional, 2014.

7) Ohye T, Inagaki H, Kato T, Tsutsumi M, Kurahashi H. Prevalence of Emanuel syndrome: theoretical frequency and surveillance result. **Pediatr Int** 2014; 56(4): 462-466.

8) Endo A, Watanabe K, Ohye T, Suzuki K, Matsubara T, Shimizu N, Kurahashi H, Yoshikawa T, Katano H, Inoue N, Imai K, Takagi M, Morio T, Mizutani S. Molecular and virological evidence of viral activation from chromosomally integrated HHV-6A in a patient with X-SCID. **Clin Infect Dis** 2014; 59(4): 545-548.

9) Fu XJ, Morisada N, Hashimoto F, Taniguchi-Ikeda M, Hashimura Y, Ohtsubo H, Ninchoji T, Kaito H, Nozu K, Takahashi E, Nakanishi K, Kurahashi H, Iijima K. A patient of Autosomal Recessive Alport syndrome due to Segmental Maternal Isodisomy. **Hum Genome Variation** 2014, 1, 14006.

10) Tsuge I, Morishita M, Kato T, Tsutsumi M, Inagaki H, Mori Y, Yamawaki K, Inuo C, Ieda K, Ohye T, Hayakawa A, Kurahashi H. Novel FATP4 mutations responsible for ichthyosis prematurity syndrome in a Japanese patient. **Hum Genome**

**Variation**, in press.

11) Tsuge I, Ito K, Ohye T, Kando N, Kondo Y, Nakajima Y, Inuo C, Kurahashi H, Urisu A. Acute eosinophilic pneumonia occurring in a dedicator of cytokinesis 8 (DOCK8) deficient patient. **Pediatric Pulmonol** 2014; 49(3): E52-55.

12) Oikawa J, Tanaka J, Yoshikawa T, Morita Y, Hishiki H, Ishiwada N, Ohye T, Kurahashi H, Kohno Y. An immunocompetent child with chromosomally integrated human herpes virus 6B accidentally identified during the care of *Mycoplasma pneumoniae* infection. **J Infect Chemother** 2014; 20(1): 65-67.

13) Kawai A, Kusaka M, Kitagawa F, Ishii J, Fukami N, Maruyama T, Sasaki H, Shiroki R, Kurahashi H, Hoshinaga K. Serum liver-type fatty acid-binding protein predicts recovery of graft function after kidney transplantation from donors after cardiac death. **Clin Transplant** 2014; 28(6): 749-754.

14) Yagasaki H, Shichino H, Shimizu N, Ohye T, Kurahashi H, Yoshikawa T, Takahashi S. Nine-year follow-up in a child with chromosomal integration of human herpesvirus 6 transmitted from an unrelated donor through the Japan Marrow Donor Program. **Transplant Infect Dis**, in press.

15) Hibi Y, Ohye T, Ogawa K, Shimizu Y, Shibata M, Kagawa C, Mizuno Y, Uchino S, Kosugi S, Kurahashi H, Iwase K. Pheochromocytoma as the first manifestation of MEN2A with RET mutation S891A: report of a case. **Surgery Today** 2014; 44(11): 2195-2200.

16) Hibi Y, Ohye T, Ogawa K, Shimizu Y, Shibata M, Kagawa C, Mizuno Y, Kurahashi H, Iwase K. A MEN2A family with two asymptomatic carriers affected by unilateral renal agenesis. **Endocr J** 2014; 61(1): 19-23.

## 2. 学会発表

1) Kurahashi H, Tsutsumi M, Fujiwara R, Nishizawa H, Kogo H, Inagaki H, Ohye T, Kato T, Fujii T. Age-related decrease of meiotic cohesins in human

oocytes. Eshre 2014. Munich, Germany, June 29- July 2, 2014.

2) Inagaki H, Ota S, Nishizawa H, Miyamura H, Nakahira K, Suzuki M, Tsutsumi M, Kato T, Nishiyama S, Udagawa Y, Yanagihara I, Kurahashi H. Obstetric complication-associated ANXA5 promoter polymorphisms affect gene expression via G-quadruplex structure *in vivo*. FASEB SRC, Dynamic DNA Structures in Biology, Itasca, Illinois, July 20 - 25, 2014.

3) Inagaki H, Ota S, Miyamura H, Tsutsumi M, Kato T, Nishizawa H, Yanagihara I, Kurahashi H. Detection of *in vivo* G-quadruplex structure of the *ANXA5* promoter that contributes to the recurrent pregnancy loss. ASHG 2014, San Diego, CA, October 18-22, 2014.

4) Ishihara N, Yokoi S, Yamamoto H, Natsume J, Tsutsumi M, Ohye T, Kato M, Saito S, Kurahashi H. Two cases of lissencephaly with marked hydrocephalus caused by TUBA1A mutation. ASHG 2014, San Diego, CA, October 18-22, 2014.

5) Kato H, Okumoto T, Yoshimura Y, Taguchi Y, Sugimoto M, Inagaki H, Kurahashi H. EFNB1 mutation found in patients with craniofrontonasal syndrome in a Japanese family. The 10<sup>th</sup> Asian Pacific Craniofacial Association Conference, Adelaide, South Australia, October 3 - 5, 2014.

6) Nishiyama S, Kato T, Kani C, Miyazaki J, Nishizawa H, Ochi M, Fujii T, Kurahashi H. Cytogenetic analysis of monopronucleated (1PN) zygotes after intracytoplasmic sperm injection and conventional in-vitro fertilization. International Society for Mild Approaches in Assisted Reproduction. Sydney, Australia, Sep 10-12. 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：該当なし
2. 実用新案登録：該当なし
3. その他：該当なし



## 分担研究課題

### 早産の予防、治療を目的とした研究 ―一次世代シーケンサーの活用―

研究分担者 齋藤 滋 （富山大学大学院医学薬学研究部産科婦人科 教授）

#### 研究要旨

早産は世界的に増加しており、我が国においても周産期死亡例の67.2%が、在胎36週未満の早産例である。そのため早産の病態を理解し、適切な予防法、治療法の確立が求められている。我々は在胎週数別の絨毛膜羊膜炎の頻度を検討したところ、在胎週数が小さいほど、子宮内感染症と相関する絨毛膜羊膜炎の頻度が高くなることを見出した。また、短期予後不良例は組織学的絨毛膜羊膜炎Ⅲに多いことが判った。そこで、羊水中の全ての病原体（細菌、ウレプラズマ、マイコプラズマ、真菌）を検出できるPCR法を確立し、切迫早産例に行なった羊水穿刺で得られた羊水中の感染の有無をPCR法で検索した。従来培養法では、14/108（13.0%）に病原微生物が検出されたが、PCR法では41/108（38.0%）に病原微生物が認められた。羊水穿刺から分娩までの日数を比較すると、培養陽性・PCR陽性群は培養陰性・PCR陰性群に比し有意に（ $p=0.0210$ ）妊娠延長日数が短かった。また培養陰性・PCR陽性群では妊娠期間が短縮する傾向があった（ $p=0.0813$ ）。病原微生物陽性例における適切な抗菌薬投与は、妊娠期間を延長させる傾向（ $p=0.0734$ ）があった。一方、病原微生物陰性例に対する抗菌薬使用は、逆に妊娠延長期間を有意に（ $p=0.0109$ ）短縮させた。切迫早産で入院し、治療が奏効し正常産となった例（治療奏効群）と早産となった例（早産例）と正常分娩となった例の腸内細菌叢と膣内細菌叢をT-RFLP法にて検討すると*Clostridium XVIII, IV, XIVal, Bacteroides*が正常分娩群>治療奏効群>早産群となっていた。*Clostridium*属は妊娠維持に必須の制御性T細胞を誘導することが知られているため、抗菌薬の使用は腸内細菌叢の乱れにつながり、早産予後を悪くしたのかもしれない。

#### A. 研究目的

現在、世界的に増加している早産を減少させるため、早産を予防、治療する方策を見出すことを臨床データを基に検討した。

#### B. 研究方法

研究方法を説明し、書面にて同意が得られた富山大学附属病院で管理した妊婦を対象とした。羊水穿刺は切迫早産で入院した妊娠 32 週未満の切迫早産例に施行した。コントロールとして用いた正常妊娠例は、予定帝王切開時に無菌的に得られた羊水を用いた。羊水より DNA を抽出し、16SrRNA の共通領域にプライマーを設定し、酵母より得ら

れた Taq Polymerase を用いて一般細菌、ウレプラズマ、マイコプラズマ DNA を増幅した。真菌検出には大腸菌由来の市販 Taq Polymerase を使用した<sup>1)</sup>。入院時もしくは外来診療時に便ならびに膣分泌物を採取し、DNA を抽出後、16SrRNA 領域を PCR で増幅し、T-RFLP (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism) 法にて検討した<sup>2)</sup>。出産後の胎盤病理学的検索を行ない、Blanc の分類で絨毛膜羊膜炎を診断した。

（倫理面への配慮）

研究は富山大学 IRB で承認を受けており、患者に研究の主旨を説明し、文書にて同意を得られた症例のみを対象とした。また連結可能匿名化し、

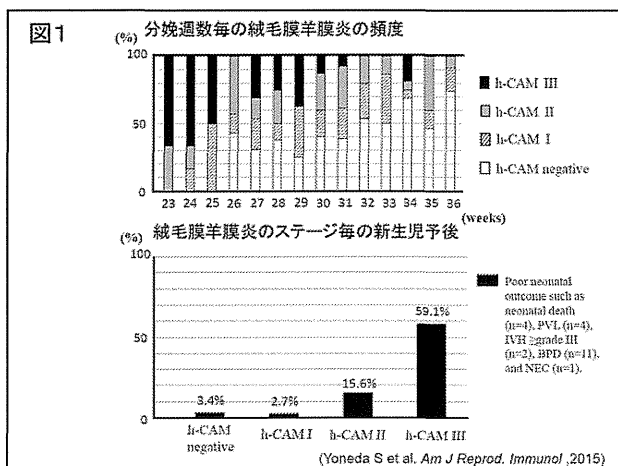


データ解析を行ない、個人が同定されない配慮を行なった。

### C. 研究結果

#### 1. 早産例における絨毛膜羊膜炎と新生児予後

215 例の早産例、213 例の正期産例の在胎週数別の絨毛膜羊膜炎のステージ別に図 1 に示す。在胎週数が 30 週未満の早産例では、絨毛膜羊膜炎 II、III の頻度が高かった<sup>3)</sup>。また新生児死亡、脳室周囲白質軟化症 (PVL)、脳室内出血 (3 度以上)、慢性肺疾患、壊死性腸炎のいずれかを発症した例を予後不良例と規定すると、絨毛膜羊膜炎 III の 59.1% が予後不良例であり、子宮内の強い炎症が新生児予後を悪化させることが判った。



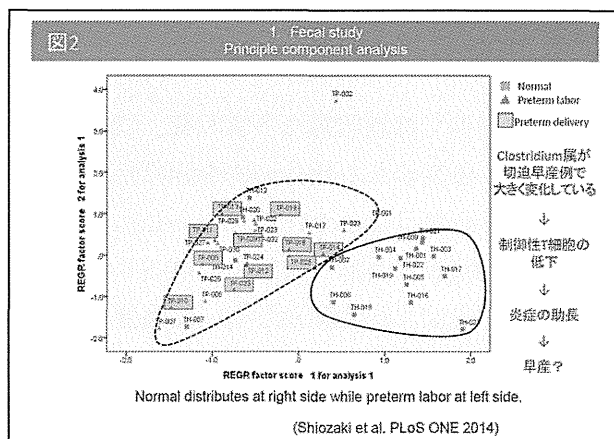
#### 2. 羊水中の病原微生物検出のための PCR 法の確立と臨床応用

富山大学附属病院検査部 仁井見 英樹 助教、北島 勲 教授との共同研究で、酵母に産生させた Taq Polymerase を用いた偽陽性のない一般細菌検出法を確立した<sup>1)</sup>。市販の Taq Polymerase は大腸菌に産生させているため、微量の細菌由来 DNA を含むため、偽陽性が生じてしまう問題点があったが、この点が解消された。そのため感度が高く、かつ偽陽性のない PCR 法が確立できた。その結果、切迫早産例では従来の培養法の検出率 (14/108:13.0%) に比し、約 3 倍高率の 38.0% (41/108) に病原微生物が検出された。羊水穿刺してから分娩までの期間を培養陰性・PCR 陰性 (陰性) 群と、培養陰性・PCR 陽性 (PCR のみ陽性) 群、培養陽性・PCR 陽性 (陽性) 群とで比較する

と、陽性群は陰性群に比し有意に ( $P=0.0210$ ) 妊娠延長期間が短縮していた。また PCR のみ陽性群では妊娠延長期間が短縮する傾向 ( $P=0.083$ ) があった。病原微生物陽性 (PCR 陽性) 群での抗菌薬投与は妊娠期間を延長する傾向 ( $P=0.0734$ ) があった。一方、病原微生物陰性例における抗菌薬投与は、妊娠期間を有意に ( $P=0.0109$ ) 短縮させた。

#### 3. 早産例における腔内細菌叢と腸内細菌叢

図 2 に示すように正常妊娠例と切迫早産例では



腸内細菌叢が全く異なっていた<sup>2)</sup>。一方、腔分泌物の細菌叢での差は認められなかった。表 1 に変化していた腸内細菌を示すが *Clostridium XVIII*、*IV*、*XIVa1*、*Bacteroides* 属が切迫早産で入院する

表 1

腸内細菌叢の変化 (有意差を認めた菌種のみ記載)

菌種	正常妊娠	切迫早産⇒正期産	切迫早産⇒早産
<i>Clostridium XVIII</i>	2.12±0.34	0.70±0.35*	0.26±0.21**
<i>Clostridium IV</i>	6.41±1.15	2.90±1.22	0.80±0.80**
<i>Bacteroides</i>	0.84±0.13	0.60±0.27	0.07±0.07**
<i>Clostridium XIVa</i>	5.37±0.64	1.72±0.80**	0.34±0.34**

(Shiozaki A et al PLoS ONE 2014)

\*:  $P<0.05$  \*\*:  $P<0.01$

Clostridium属⇒酪酸を産生⇒Foxp3遺伝子のヒストンアセチル化を亢進  
⇒制御性T細胞の分化誘導⇒炎症を制御⇒早産を予防

も正期産となった症例で減少しており、早産となった症例では極めて低下することが判った<sup>2)</sup>。*Clostridium* 属は酪酸を産生し、Foxp3 遺伝子のヒストンアセチル化を亢進させ、制御性 T 細胞の分化誘導することが知られている。制御性 T 細胞は炎症を抑制し、早産を予防していることも考え

る。早産例では *Clostridium* 属が減少しているため、制御性 T 細胞が誘導されず炎症が惹起され、早産に至ったのかもしれない。

#### D. 考察

在胎 30 週未満の早産例では重度の絨毛膜羊膜炎が存在し、かつ新生児予後も不良であった。また従来行なわれてきた培養法に PCR 法を加えることで、より正確に子宮内（羊水）感染の有無が判明した。培養法が陰性でも PCR 法が陽性であると、早産予後が悪くなる傾向があったため、難培養性の病原体も、早産予後を不良としていることが判った。

切迫早産例で抑制困難な子宮収縮、CRP や白血球の増加、悪臭のある膈分泌物を認めた際は、抗菌薬投与を行なうことがある。しかし、後方視的に適切な抗菌薬投与群（起因菌に対応した抗菌薬投与）と不適切な抗菌薬投与群（起因菌に対応しない抗菌薬投与、もしくは病原微生物陰性例に対する抗菌薬投与）に大別したところ、適切な抗菌薬投与は、有意な妊娠期間の延長を認めた。一方、病原微生物陰性例に対する抗菌薬投与は妊娠期間を短縮させ、有害であることが初めて判った。早産群では腸内細菌叢で *Clostridium* 属の減少が認められたことにより<sup>2)</sup>、腸内細菌叢を乱す抗菌薬使用は慎重であるべきである。羊水穿刺を行ない、正確に羊水中の病原微生物を検出してから、抗菌薬投与を行なうべきであろう。またヨーグルトなどの製品を多く摂取している妊婦は、乳製品をあまり摂取していない妊婦に比べて早産が 0.82 (95%CI : 0.681-0.986) に減少するとの報告もあり<sup>4)</sup>、腸内細菌叢と早産につき、今後益々詳細な検討が必要と考えられる。

#### E. 結論

早産例では絨毛膜羊膜炎や子宮内感染の有無の確認が極めて重要となる。そのため羊水中の病原体の有無を正確に PCR 法にて同定し、適切な抗菌薬投与を行なうことで妊娠期間の延長を図ることができる。また腸内細菌叢と早産の関連性が

明らかとなったため、乳酸菌製剤等の摂取が早産予防に繋がるかを今後検討する必要がある。

#### 【参考文献】

1. Niimi H, et al. A novel eukaryote-made thermostable DNA polymerase which is free from bacterial DNA contamination. *J Clin Microbiol.* 49:3316-3320, 2011.
2. Shiozaki A, et al. Intestinal microbiota is different in women with preterm birth: Results from terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *PLoS ONE.* 9:e111374, 2014.
3. Yoneda S, et al. Accurate prediction for the stage of histological chorioamnionitis before delivery by amniotic fluid IL-8 level. *Am J Reprod Immunol.* doi: 10.1111/aji.12360, 2015 (in press)
4. Myhre R, et al. Intake of probiotic food and risk of spontaneous preterm delivery. *Am J Clin Nutr* 93:151-157, 2011.

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表
  - 1) Yoneda S, Shiozaki A, Ito M, Yoneda N, Inada K, Yonezawa R, Kigawa M, Saito S. Accurate prediction for the stage of histological chorioamnionitis before delivery by amniotic fluid IL-8 level. *Am J Reprod Immunol.* doi: 10.1111/aji.12360, 2015 (in press)
  - 2) Shima T, Inada K, Nakashima A, Ushijima A, Ito M, Yoshino O, Saito S. Paternal antigen-specific proliferating regulatory T cells are increased in

uterine-draining lymph nodes just before implantation and in pregnant uterus just after implantation by seminal plasma-priming in allogeneic mouse pregnancy. *J Reprod Immunol.* (in press)

- 3) Shiozaki A, Yoneda S, Iizuka T, Kusabiraki T, Ito M, Ito M, Yoneda N, Yoshimoto H, Saito S. Prenatal diagnosis of enterolithiasis at 18 weeks: multiple foci of intraluminal calcified meconium within echogenic bowel. *J Med Ultrasonics.* 42:113-116, 2015.
- 4) Inada K, Shima T, Ito M, Ushijima A, Saito S. Helios-positive functional regulatory T cells are decreased in decidua of miscarriage cases with normal fetal chromosomal content. *J Reprod Immunol.* 107:10-19, 2015.
- 5) Shiozaki A, Yoneda S, Yoneda N, Yonezawa R, Matsubayashi T, Seo G, Saito S. Intestinal microbiota is different in women with preterm birth: Results from terminal restriction fragment length polymorphism analysis. *PLoS ONE.* 9:e111374, 2014.
- 6) Shimizu M, Kuroda M, Inoue N, Konishi M, Igarashi N, Taneichi H, Kanegane H, Ito M, Saito S, Yachie A. Extensive serum biomarker analysis in patients with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111-induced hemolytic-uremic syndrome. *Cytokine.* 66:1-6, 2014.
- 7) Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saito H, Miyake N, Saito S, Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. *Clin Genet* 85:592-594, 2014.
- 8) Shiozaki A, Yoneda S, Nakabayashi M,

Takeda Y, Takeda S, Sugimura M, Yoshida K, Tajima A, Manabe M, Akagi K, Nakagawa S, Tada K, Imafuku N, Ogawa M, Mizunoe T, Kanayama N, Itoh H, Minoura S, Ogino M, Saito S. Multiple pregnancy, short cervix, part-time worker, steroid use, low educational level, and male fetus are risk factors for preterm birth in Japan: A multicenter, prospective study. *J Obstet Gynaecol Res.* 40: 53-61, 2014.

#### 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

### III. 学会等発表実績

## 学 会 等 発 表 実 績

委託業務題目

「小児科・産科領域疾患の大規模遺伝子解析ネットワークとエピゲノム解析拠点整備」  
 機関名 独立行政法人 国立成育医療研究センター

### 1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果(発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所(学会等名)	発表した時期	国内・外の別
RAS-MAPK症候群(RASopathies)をめぐって～希少疾患研究の展望(口頭発表)	松原 洋一	第18回小児内分泌研究会特別講演	2014/7/5	国内
小児疾患の遺伝子解析～最近の進歩～(口頭発表)	松原 洋一	第15回熊本内分泌代謝フォーラム	2014/9/12	国内
小児慢性特定疾患と遺伝子診断(口頭発表)	松原 洋一	第48回日本小児内分泌学会学術集会シンポジウム	2014/9/27	国内
胎児・胎盤発生異常のジェネティクスとエピジェネティクス(口頭)	秦 健一郎	第10回北関東遺伝診療フォーラム	2014/11/27	国内
2S3 Prenatal and preimplantation genetic approaches — near future technologies and application.(口頭)	秦 健一郎	日本人類遺伝学会第59回大会 日本遺伝子診療学会第21回大会	2014/11/21	国内
胎児と胎盤発生異常のエピジェネティクス(口頭)	秦 健一郎	第37回日本母体胎児医学会学術集会/第17回胎児遺伝子診断研究会/第4回日台韓母体胎児シンポジウム	2014/11/7	国内
子宮内胎児発育不全とエピジェネティクス(口頭)	秦 健一郎	第21回遺伝性疾患に関する出生前診断研究会	2014/9/13	国内
胎盤における環境エピゲノム変化とその医療活用(口頭)	秦 健一郎	第3回日本DOHaD研究会学術集会	2014/7/26	国内
次世代シーケンサーの日常診療への応用～環境は遺伝するか？ 新型出生前診断の次は？(口頭)	秦 健一郎	第13回別府遺伝医学セミナー	2014/6/4	国内
生殖・周産期のエピジェネティクス(口頭)	秦 健一郎	第87回日本内分泌学会学術総会	2014/4/27	国内



遺伝子治療のための迅速で網羅的な染色体挿入部位同定法の開発 (ポスター発表)	岡村浩司, 河合利尚, 林恵子, 秦健一郎, 小野寺雅史, 中林一彦	第37回日本分子生物学会年会, 横浜	2014/11/25	国内
混在した網羅的一塩基多型シグナルから目的とする個体のゲノム情報を抽出して染色体構造を推定する手法の確立 (口頭発表)	佐々木かりん, 安部晃生, 橋本和法, 松井英雄, 中林一彦, 秦健一郎	日本人類遺伝学会第59回大会・日本遺伝子診療学会第21回大会, 東京	2014/11/22	国内
Small for gestational age (SGA)胎盤のゲノムワイドDNAメチル化解析 (ポスター発表)	副島 英伸, 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	日本人類遺伝学会第59回大会・日本遺伝子診療学会第21回大会, 東京	2014/11/21	国内
妊娠中の体重増加量と胎盤エピゲノム変化 (ポスター発表)	中林一彦, 河合智子, 安部晃生, 嘉村浩美, 山田崇弘, 赤石理奈, 水上尚典, 秦健一郎	日本人類遺伝学会第59回大会・日本遺伝子診療学会第21回大会, 東京	2014/11/21	国内
原因不明胎児異常例におけるエクソーム解析の可能性 (口頭発表)	谷垣伸治, 右田王介, 岡村浩司, 秦ひろか, 漆山大知, 佐々木かりん, 中林一彦, 左合治彦, 秦健一郎	日本人類遺伝学会第59回大会・日本遺伝子診療学会第21回大会, 東京	2014/11/20	国内
Copy number variants identified in Japanese women. (ポスター発表)	Migita O, Maehara K, Nakabayashi K, Okamura K, Hata K.	The 64th Annual Meeting of the American Society of Human Genetics, San Diego, U. S.	2014/10/20	国外
雄核発生奇胎のSNPアレイによる診断について (口頭発表)	碓井宏和, 瞿佳, 中林一彦, 前原佳代子, 秦健一郎, 生水真紀夫	絨毛性疾患研究会, 京都	2014/10/3	国内
先天異常例の網羅的遺伝子解析の課題—日本人正常集団の標準遺伝配列情報の必要性 (口頭発表)	谷垣伸治, 右田王介, 秦ひろか, 漆山大知, 佐々木かりん, 岩下光利, 秦健一郎	第50回日本周産期・新生児医学会学術集会, 東京	2014/7/14	国内
妊婦の妊娠期体重増加量と胎盤エピゲノム変化 (ポスター発表)	河合智子, 安部晃生, 嘉村浩美, 山田崇弘, 赤石理奈, 水上尚典, 中林一彦, 秦健一郎	第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/27	国内
インプリンティングと肥満遺伝子の関係について (ポスター発表)	森田純代, 中林一彦, 河合智子, 林恵子, 堀居拓郎, 木村美香, 荒井勇二, 亀井康富, 小川佳宏, 秦健一郎, 畑田出穂	第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/27	国内
Hi-C法による細胞種特異的なクロマチン高次構造解析 (ポスター発表)	富川順子, 前原一満, 岡村浩司, 林恵子, 阿久津英憲, 田中智, 大川恭行, 秦健一郎, 中林一彦	第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/27	国内

15番染色体インプリンティング調節領域欠失症例の網羅的メチル化解析 (ポスター発表)	松原圭子, 伊藤順庸, 中林一彦, 佐野伸一郎, 中村明枝, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀, 斎藤伸治, 鏡雅代	第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/26	国内
Beckwith-Wiedemann症候群と肝芽腫におけるmultiple methylation defectの解析 (ポスター発表)	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8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/26	国内
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. (ポスター発表)	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	第8回日本エピジェネティクス研究会年会, 東京	2014/5/26	国内
がん幹細胞形質獲得に関連するエピゲノム変化と遺伝子発現変化の統合解析 (口頭発表)	増田彩子, 加藤聖子, 稲垣徹訓, 楠木総司, 宮田知子, 竹田省, 秦健一郎	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/20	国内
SNPアレイ解析による雄核発生ヘテロ奇胎発生機序の推定 (口頭発表)	碓井宏和, 翟佳, 前原佳代子, 埜真輔, 山本憲子, 錦見恭子, 植原貴史, 楯真一, 三橋暁, 秦健一郎, 生水真紀夫	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/20	国内
網羅的一塩基多型情報を利用した原因不明流産絨毛の染色体微細構造異常解析 (ポスター発表)	秦ひろか, 右田王介, 吉岡伸人, 森崇英, 鈴木直, 田中守, 秦健一郎	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/19	国内
複数ゲノム領域にDNAメチル化異常を認める胎児発育異常症例の遺伝学的病態背景の探索 (口頭発表)	佐々木かりん, 高田史男, 右田王介, 橋本和法, 松井英雄, 秦健一郎	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/18	国内
日本人正常分娩妊婦集団の遺伝的特徴～標準データとしての有用性と注意点～ (口頭発表)	右田王介, 前原佳代子, 嶋本富博, 諸隈誠一, 福嶋恒太郎, 和氣徳夫, 宮越敬, 田中守, 齋藤滋, 左合治彦, 秦健一郎	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/18	国内
正常二倍体だが反復する胞状奇胎に観察される母由来アレルのDNAメチル化異常とNLRP7遺伝子変異 (口頭発表)	伊藤由紀, 前原佳代子, 兼城英輔, 宮田知子, 増田彩子, 右田王介, 岡本愛光, 中村仁美, 木村正, 和氣徳夫, 谷口武, 秦健一郎	日本産婦人科学会第66回学術講演会, 東京	2014/4/18	国内
Extra-adrenal expression of Cyp21a for gene therapy of CAH. (口頭)	Naiki Y, Katsumata N, Onodera M, Fukami M	Joint 16th International Congress of Endocrinology and 96th Annual Meeting of the Endocrine Society, Chicago	June 21-24, 2014	国外



Environmental factor(s) affecting the age of type 1 diabetes onset in Japanese children. (ポスター)	Ayabe T, Fukami M, Ogata T, Kawamura T, Urakami T, Kikuchi N, Amemiya S, Sugihara S	40th Annual Meeting International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes, Toronto	September 3-6, 2014	国外
Identification of a missense MAP3K1 mutation in a patient with hypospadias. (ポスター)	Igarashi M, Horikawa R, Nakabayashi K, Hata K, Ogata T, Fukami M	53th annual ESPE meeting, Dublin	September 18-20, 2014	国外
Mutation analysis of KDM3A (lysine-specific demethylase 3A) in patients with hypospadias. (ポスター)	Kon M, Igarashi M, Izumi Y, Kato-Fukui Y, Mizuno K, Hayashi Y, Kohri K, Kojima Y, Nonomura K, Ogata T, Fukami M	53th annual ESPE meeting, Dublin	September 18-20, 2014	国外
Genomic Variation in the AZF Region Associated with the Risk of Azoospermia. (ポスター)	Saito K, Yoshida A, Kobori Y, Tanaka Y, Katsumi M, Miyado M, Ogata T, Kubota T, Saito H, Fukami M, Okada H	ASRM 2014 annual meeting, Hawaii	October 18-22, 2014	国外
成長障害の遺伝子解析.(口頭)	深見真紀	Norditropin SGA 5Th anniversary lecture, 新横浜	2014/7/23	国内
低ゴナドトロピン性性腺機能低下症58例の網羅的遺伝子解析.(口頭)	泉陽子, 鈴木江莉奈, 神崎晋, 八ツ賀秀一, 金城さおり, 中林一彦, 梅澤明弘, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀, 丸山哲夫, 末岡浩, 吉村泰典	第32回日本受精着床学会, 東京	2014/7/31	国内
偶然に発見された低カルシウム血症を契機に偽性副甲状腺機能低下症(PHP)Ibと診断した一男児例.(口頭)	後藤元秀, 山本幸代, 齋藤玲子, 荒木俊介, 久保和泰, 川越倫子, 河田泰定, 楠原浩一, 中村明枝, 佐野伸一朗, 深見真紀	第14回日本内分泌学会九州地方会, 佐賀	2014/8/23	国内
BHLHA9を含む者約200kbの同一領域の日本人創始者コピー数増加は四肢形成不全発症の顕著な感受性因子である.(口頭)	永田絵子, 鹿野博亀, 加藤芙弥子, 中島信一, 山口理恵, 佐野伸一朗, 高田修治, 深見真紀, 池川志郎, 緒方勤	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/25	国内
複合型下垂体ホルモン不全症患者におけるWDR11スプライスサイト変異の同定.(口頭)	泉陽子, 西岡淳子, 八ツ賀秀一, 鈴木江莉奈, 佐野伸一朗, 中林一彦, 梅澤明弘, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/25	国内
Dual oxidase 2(DUOX2)異常症の病型の多様さと遺伝子変異.(口頭)	丸尾良浩, 長崎啓祐, 松井克之, 森麻美, 筒井英美, 柴田正美, 深見真紀, 竹内義博	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内

成長ホルモン補充開始後に低血糖発作が改善し、WDR11変異を認めたSepto Optic Dysplasiaの一例。(口頭)	島彦仁, 梅木郁美, 加賀元宗, 上村美季, 箱田明子, 菅野潤子, 泉陽子, 深見真紀, 藤原幾磨	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
先天性副腎皮質過形成における副腎皮質外への遺伝子導入による遺伝子治療の試み。(口頭)	内木康博, 堀川玲子, 勝又規行, 小野寺雅史, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
Silver-Russell症候群に対する包括的メチル化解析から明らかになったこと。(口頭)	鏡雅代, 松原圭子, 佐野伸一郎, 中村明枝, 水野誠司, 濱嶋直樹, 永井敏郎, 深見真紀, 緒方勤	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
PWS/AS責任領域の非典型的な欠失を有する症例に対する網羅的メチル解析。(口頭)	松原圭子, 伊藤順庸, 榎本啓典, 中林一彦, 佐野伸一郎, 中村明枝, 緒方勤, 深見真紀, 齋藤伸治, 鏡雅代	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
8番染色体片親性アインダイソミーにより顕在化したCYP11B1遺伝子変異による11β水酸化酵素欠損症例。(口頭)	松原圭子, 片岡直樹, 荻田聡子, 佐野伸一郎, 緒方勤, 深見真紀, 勝又規行	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
原因不明のSGA性低身長症例に対する包括的メチル化解析。(口頭)	中村明枝, 堀川玲子, 内木康博, 畑郁江, 松原圭子, 佐野伸一郎, 緒方勤, 深見真紀, 鏡雅代	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
小児慢性特定疾患治療研究事業データを用いた小児内分泌疾患の出生季節性解析。(ポスター)	綾部匡之, 深見真紀, 竹原健二, 掛江直子, 松井陽, 横谷進	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
非閉塞性無精子症・乏精子症患者におけるY染色体構造解析。(ポスター)	齊藤和毅, 勝見桃理, 宮戸真美, 田中葉子, 岡田弘, 小堀善友, 吉田淳, 石川博通, 緒方勤, 久保田俊郎, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
無精子症・乏精子症患者のゲノムコピー数変化の同定。(ポスター)	勝見桃理, 齊藤和毅, 宮戸真美, 田中葉子, 岡田弘, 小堀善友, 吉田淳, 石川博通, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/26	国内
メチル化異常に起因するヒトインプリンティング異常症においてヒドロキシメチル化の果たす役割の解明。(口頭)	山澤一樹, 鏡雅代, 松原圭子, 中村明枝, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
SRY(+)/46,XX精巢性性分化疾患4症例における性分化決定因子と転座発症機序の解析。(口頭)	中島信一, 大石彰, 高田史男, 河村秀樹, 小野裕之, 五十嵐麻希, 深見真紀, 緒方勤	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
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。(口頭)	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48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内

遺伝性女性化乳房症に対するアロマトーゼ阻害剤治療効果の検討。(ポスター)	長崎啓祐, 志原大蔵, 佐藤英利, 小川洋平, 宮戸真美, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
SOX9 frameshift mutation in a patient with acampomelic campomelic dysplasia: the second case. (ポスター)	山口理恵, 檜村哲生, 加藤芙弥子, 永田絵子, 中島信一, 馬場崇, 諸橋憲一郎, 五十嵐麻希, 深見真紀, 緒方勤	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
SKI遺伝子変異が同定されたShprinzen-Goldberg症候群の男児。(ポスター)	加藤芙弥子, 松本直通, 鶴崎美徳, 小崎里華, 中島信一, 深見真紀, 緒方勤	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
低身長を契機に発見された新規IGSF1遺伝子異常症男性の臨床像。(ポスター)	富田雄一瑠, 石黒寛之, 兵頭裕美, 入月浩美, 長崎啓祐, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
Uniparental disomy of chromosome 8 leading to homozygosity of a CYP11B1 mutation in a patient with congenital adrenal hyperplasia. (口頭)	Matsubara K, Kataoka N, Ogita S, Sano.S, Ogata T, Fukami M, Katsumata N	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
マウス分娩の開始と完了におけるMamld1機能の解明。(口頭)	宮戸真美, 齊藤和毅, 勝見桃理, 宮戸健二, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
マウスポリコム遺伝子群Cbx2/M33による成長期下肢長管骨および頭蓋骨形成制御。(ポスター)	福井由宇子, 野口-永久井祐子, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
46,XX精巣性分化疾患を伴わない母娘例におけるSOX3重複の同定。(ポスター)	五十嵐麻希, 三上仁, 勝見桃理, 泉陽子, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
分子遺伝学的診断に基づく偽性副甲状腺機能低下症の臨床的特徴。(口頭)	佐野伸一郎, 松原圭子, 中村明枝, 深見真紀, 緒方勤, 鏡雅代	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
プラダー・ウィリー症候群患者への成長ホルモン補充が身長、肥満度、糖尿病へ与える長期的効果の検討。(口頭)	綾部匡之, 永井爽, 大戸佑二, 松原圭子, 土屋貴義, 田中百合子, 深見真紀, 村上信行, 松原知代, 永井敏郎	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
非症候性尿道下裂発症における単一遺伝子変異の寄与の解明。(口頭)	今雅史, 室谷浩二, 長谷川行洋, 長崎啓祐, Dung Vu Chi, 上岡克彦, 大戸佑二, 五十嵐登, 三井貴彦, 鈴木江莉奈, 五十嵐麻希, 福井由宇子, 守屋仁彦, 野々村克也, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内

突発性思春期早発症女児におけるESR1遺伝子イントロン内欠失多型の検討。(ポスター)	鈴木江莉奈, 泉陽子, 緒方勤, 深見真紀	第48回日本小児内分泌学会学術集会, 静岡	2014/9/27	国内
副腎皮質過形成症における副腎皮質外への遺伝子導入による遺伝子治療の試み。(口頭)	内木康博, 堀川玲子, 勝又規行, 小野寺雅史, 深見真紀	第22回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 東京	2014/11/3	国内
妊娠マウスにおける黄体退縮調節因子の同定。(口頭)	宮戸真美, 齊藤和毅, 勝見桃理, 宮戸健二, 緒方勤, 深見真紀	第22回日本ステロイドホルモン学会学術集会, 東京	2014/11/3	国内
14番染色体インプリンティング異常症20例に対する網羅的なDMRメチル化状態の検討。(口頭)	鏡雅代, 松原圭子, 中林一彦, 秦健一郎, 嘉村浩美, 中村明枝, 緒方勤, 深見真紀	第59回人類遺伝学会, 東京	2014/11/20	国内
PWS/AS責任領域の非典型的な欠失を有する症例に対する網羅的メチル解析。(口頭)	松原圭子, 伊藤順庸, 中林一彦, 佐野伸一郎, 中村明枝, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀, 斎藤伸治, 鏡雅代	第59回人類遺伝学会, 東京	2014/11/20	国内
原因不明のSGA性低身長に対する包括的メチル化解析。(口頭)	中村明枝, 堀川玲子, 内木康博, 畑郁江, 曾根田瞬, 松原圭子, 佐野伸一郎, 緒方勤, 鏡雅代, 深見真紀	第59回人類遺伝学会, 東京	2014/11/20	国内
SOX10 半量不全は、Kallmann症候群と Waardenburg 症候群を招く。(口頭)	泉陽子, 武者育麻, 鈴木江莉奈, 堀川玲子, 雨宮伸, 緒方勤, 深見真紀, 大竹明	第59回人類遺伝学会, 東京	2014/11/20	国内
先天性疾患の遺伝子診断。(口頭)	深見真紀	第59回日本人類遺伝学会ランチョンセミナー, 東京	2014/11/22	国内
疾患遺伝子パネルを用いた低ゴナドトロピン性性腺機能低下症の遺伝子診断。(口頭)	鈴木江莉奈, 泉陽子, 神崎晋, 八ツ賀秀一, 金城さおり, 五十嵐麻希, 中林一彦, 梅澤明弘, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀	第59回人類遺伝学会, 東京	2014/11/22	国内
妊娠マウスの卵巣におけるMAMLD1の役割。(ポスター)	宮戸真美, 齊藤和毅, 勝見桃理, 宮戸健二, 緒方勤, 深見真紀	第37回日本分子生物学会年会, 神奈川	2014/11/27	国内
Cbx2/M33による骨髓脂肪細胞系列制御-マウス骨髓由来間葉系ストローマ細胞ST2による解析。(ポスター)	福井由宇子, 深見真紀	第37回日本分子生物学会年会, 神奈川	2014/11/27	国内
ヒト性分化異常症の網羅的遺伝子変異解析。(口頭)	五十嵐麻希, 今雅史, 泉陽子, 福井由宇子, 和田友香, 宮戸真美, 緒方勤, 深見真紀	第37回日本分子生物学会年会, 神奈川	2014/11/27	国内

無精子症・乏精子症発症に関与するゲノムコピー数変化の解明。(ポスター)	勝見桃理, 齊藤和毅, 宮戸真美, 田中葉子, 岡田弘, 小堀善友, 吉田淳, 石川博通, 緒方勤, 深見真紀	第37回日本分子生物学会年会, 神奈川	2014/11/27	国内
非閉塞性無精子症・乏精子症患者におけるMLPA法を用いたY染色体構造解析。(口頭)	齊藤和毅, 勝見桃理, 宮戸真美, 岡田弘, 小堀善友, 吉田淳, 田中葉子, 石川博通, 緒方勤, 齊藤英和, 久保田俊郎, 深見真紀	第59回日本生殖医学会, 東京	2014/12/4	国内
思春期早発症女児2例におけるNMUR2機能低下多型の同定。(口頭)	泉陽子, 鈴木江莉奈, 佐野伸一郎, 中林一彦, 梅澤明弘, 秦健一郎, 末岡浩, 田中守, 緒方勤, 深見真紀	第59回日本生殖医学会, 東京	2014/12/5	国内
<i>Maml1</i> deficient female mice exhibit delayed parturition. (口頭)	Miyado M, Miyado K, Saito K, Katsumi M, Ogata T, Fukami M	Young Scientist Meeting for Sexual Differentiation, 静岡	2014/12/9	国内
Systematic mutation analysis of patients with disorders of sex development. (口頭)	Igarashi M, Kon M, Izumi Y, Kato-Fukui Y, Suzuki E, Wada Y, Miyado M, Ogata T, Fukami M	Young Scientist Meeting for Sexual Differentiation, 静岡	2014/12/9	国内
Copy number variations associated with a risk of azoospermia and oligospermia. (ポスター)	Katsumi M, Saito K, Miyado M, Tanaka Y, Okada H, Kobori Y, Yoshida A, Ishikawa H, Ogata T, Fukami M	Young Scientist Meeting for Sexual Differentiation, 静岡	2014/12/9	国内
思春期早発症女児2例におけるNMUR2機能低下多型の同定。(口頭)	泉陽子, 鈴木江莉奈, 佐野伸一郎, 中林一彦, 梅澤明弘, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀	第19回日本生殖内分泌学会学術集会, 大阪	2015/1/10	国内
低ゴナドトロピン性性腺機能低下症58例の網羅的遺伝子解析。(口頭)	鈴木江莉奈, 泉陽子, 神崎晋, ハツ賀秀一, 金城さおり, 五十嵐麻希, 中林一彦, 梅沢明弘, 秦健一郎, 緒方勤, 深見真紀	第19回日本生殖内分泌学会学術集会, 大阪	2015/1/10	国内
Methylome analysis of the 14q32.2 imprinted region in patients with imprinting defects on human chromosome 14. (ポスター)	Kagami M, Hayano K, Hosomich K, Fukami M, Ogata T, Inoue I	International Symposium on Genome Science 2015, 東京	2015/1/20	国内
成長障害の遺伝子解析。(口頭)	深見真紀	第13回東北成長フォーラム, 宮城	2015/1/29	国内
Applications of mouse models of EBV-associated diseases for the evaluation of novel therapies (ポスター)	Imadome K, Matsuda G, Kawano F, Kodama E, Arai A, Shimizu N, Fujiwara S.	16th International Symposium on EBV and Associated Diseases	16-19 July, 2014	国外