

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）

**診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と
病因・病態の解明に関する研究**

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 黒澤 健司

平成 26 年（2014）年 3 月

目次

・ 総括研究報告

診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と病因・病態の解明に関する研究	1
黒澤健司	

・ 分担研究報告

診断未定多発奇形・発達遅滞の診断解析のアルゴリズムの確立	14
黒澤健司	

正常日本人における染色体欠失・重複のとりまとめ	19
小崎健次郎	

診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と病因・病態の解明に関する研究	22
小崎里華	

多発奇形・発達遅滞症候群の診断と患児家族支援に関する研究	25
大橋博文	

Pitt-Hopkins 症候群およびその類縁疾患に関する研究	29
岡本伸彦	

重度精神遅滞と小脳低形成、肝線維腫の同胞例の臨床像に関する研究	33
水野誠司	

診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者の病因解明	37
山本俊至	

・ 研究成果の刊行に関する一覧表	41
------------------	----

・ 研究成果に関する刊行物・別刷	48
------------------	----

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
総括研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と病因病態の解明に関する研究

研究代表者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構 神奈川県立こども医療センター 遺伝科部長

研究要旨

診断未定多発奇形・発達遅滞（MCA/MR（multiple congenital anomalies/mental retardation）、あるいは、MCA/DD・ID（developmental delay・intellectual disability））の診断法の確立と原因を解明し、病態を把握し、発生頻度の推定を行うことを目的として研究を進めた。マイクロアレイ染色体検査を実際に診断として用いた場合の陽性検出率も、施設やプラットフォームが異なるにもかかわらず、海外報告とほぼ一致（10 - 15%）したことは、臨床検査としての普遍性を証明した。その臨床検査としての導入の際に考慮すべき事項をまとめた。マイクロアレイ染色体検査により検出された疾患特異的 CNV が、従来原因不明とされてきたメンデル遺伝形質の原因解明の手掛かりとなることが明らかになった。診断のみならず病因解明でもマイクロアレイ染色体検査は極めて有用であることが判明した。データの集約により日本人の CNV 多型データベースの構築が可能であることが確認された。マイクロアレイ染色体検査は我が国においても早急に臨床検査として導入すべき遺伝学的検査であると考えられた。原因が依然として明らかとなっていない約 9 割におよぶ症例集団への対応、生体試料を用いた分子レベルでの病態解明、次世代シーケンスの導入などが今後の課題となる。

研究組織

研究分担者

小崎健次郎（慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授）
小崎里華（国立成育医療研究センター遺伝診療科 医長）
大橋博文（埼玉県立小児医療センター遺伝科 科長）
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）
水野誠司（愛知県心身障害者コロニー中央病院臨床 第1部長）
山本俊至（東京女子医科大学統合医科学研究所 准教授）

研究協力者

黒田友紀子（神奈川県立こども医療センター遺伝科 医師）
成戸卓也（同 研究員）
井田一美（同 研究員）
大橋育子（同 医師）
榎本啓典（JAとりで総合医療センター小児科 医師）
富永牧子（昭和大学横浜市北部病院小児科 医師）
清水健司（埼玉県立小児医療センター遺伝科 医長）

A. 研究目的

生産児の2 - 3%は、先天性の奇形を有している。死産児ではさらに頻度は上がり、15 - 20%で先天性の奇形が認められる。多くは原因不明に分類される。特に原因が不明で診断がつかない多発奇形・発達遅滞症例は、MCA/MR (multiple congenital anomalies/mental retardation)、あるいは、MCA/DD・ID (developmental delay・intellectual disability) と記述され、一つの疾患群としてまとめられる。しかし、診断がつかないこの一群は、診断名がないために疾病統計に表れることがなく、具体的な発生頻度の評価や病態把握もなされない。なおかつ多くの合併症を有し、また発達遅滞に対しては養育・教育環境の整備が必要であり、患者および患者家族の負担は病名のある希少難病の場合と差はない。本研究

は、この診断未定多発奇形・発達遅滞 (MCA/DD・ID) の診断法の確立と原因を解明し、病態を把握し、発生頻度の推定を行うことを目的としている。2年目には、確立された診断アルゴリズムの有用性を検証し、具体的な診断指針と医療管理指針をまとめた。

B. 研究方法

MCA/DD・ID 症例に対するマイクロアレイ染色体検査導入のアルゴリズムの確立 a) 神奈川県立こども医療センター（黒澤分担研究者）

遺伝外来初診症例を対象とし、2011年4月から2013年2月までの1年11カ月間に提出されたMCA/DD・ID症例557例に対してマイクロアレイ染色体検査をおこなった。変異検出率や診断の状況、その後の

医療管理状況をまとめた。臨床診断および評価は、MCA/DD・IDの診断医療管理に経験が豊富な小児科専門医・臨床遺伝専門医によった。評価は臨床診断の他に、診断に基づく種々の遺伝学的検査(染色体標準G分染法、遺伝子シーケンス解析、サブテロメア FISH スクリーニング、High resolution melting 解析スクリーニングなど)を組み合わせて診断解析を進めた。診断確定に至らない症例については、次世代シーケンス解析を考慮した(症例選択による)。

b) 埼玉県立小児医療センター

埼玉県立小児医療センターでは遺伝検査室を設置して当センターに受診する患者の遺伝学的診断を一元的に行っている。平成23年度の遺伝学的検査の実態の実態を検討した。マイクロアレイ染色体検査は76例を対象とした。

c) 愛知県心身障害者コロニー中央病院

汎用データベースソフトにて先天異常症候群診断用の施設内データベースを作成。2010年～2012年12月の間に受診歴のある患児から、先天多発奇形/精神遅滞(MCA/MR)症例を抽出し、42例の同意を得られた症例に対してマイクロアレイ染色体検査を行った。平成25年度には引き続き解析症例を31例追加し検討を加えた。

d) 国立成育医療研究センター(小崎里華分担研究者)

診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞児が集積された診療症例を対象に、アレイCGH,MLPA法などの新規診断技術を用いて、確定診断のために遺伝学的解析を行った。解析法は、昨年同様である。分子遺伝学的に診断が確定された症例については、国内外のデータベースの検索を通じて近縁症例を収集し、臨床症状と遺伝学的異

常の関係について検討した。

診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する研究(大橋研究分担者)

埼玉県という比較的人口の多い県(人口約700万人;年間出生数約6万人)の第三次小児医療施設である埼玉県立小児医療センターで開催された診断後の患児家族支援としての先天異常症候群の集団外来をまとめた。埼玉県立小児医療センターでは、同じ疾患をもつ患児・家族と一緒に集まって、情報の提供と共有、そして患者家族間の交流を通じた心理支援(ピアカウンセリング)を目指した“先天異常症候群集団外来”に取り組んでいる。この集団外来が患者・家族の支援にどのように貢献しているかについて、本年度の集団外来参加家族へアンケート調査を行った。アンケートの内容は、今の気持ちとして、外来に参加してよかったか?、目的を果たすことができたか?、役に立つ情報が得られたか?、次回の集団外来に参加したいか?という観点から、とてもそう思う、そう思う、どちらでもない、そう思わない、全くそう思わない、の5段階の中から選択し、さらに具体的な気持ちを自由に記載してもらう。また、現在子育てに困っていること、または工夫していることなどについても記載してもらうこととした。

マイクロアレイ染色体における日本人正常集団のコピー数バリエーション(Copy Number Variant, CNV)データベースの基盤整備(小崎健次部分担研究者)

コピー数バリエーション(Copy Number Variant, CNV)はレファレンス配列に対して重複や欠失が少なくとも1 kb以上ある

DNA 断片のことである (ACMG, Hutton, 2011)。CNV の解釈には含まれている遺伝子や不均衡のサイズを考慮する必要がある。加えて、両親に存在するか、あるいは新生突然変異であるか、臨床的に意義があると知られている領域と完全にもしくは部分的にオーバーラップしているかどうか、健常コントロールのデータベースで報告されているかどうかを評価する。諸外国においては、病的意義のない CNV を集積したデータベース (例: DCIPHER) が作成されている。一方で、CNV には民族間で差があるとも考えられているため、日本人特有の CNV もあると考えられる。未診断の多発奇形症候群の診断のために行われた患者の検査の健常な両親の CNV データを集積し、病的意義のない CNV 領域を特定した。

対象は、MCA/MR によりアレイ CGH 法を実施された患児の両親とした。専用ソフトウェアを作成し、症例ごとに粗データファイル (エクセル形式) から個人情報を削除し、CNV 領域の情報のみを取り出し、bed ファイルとしてアSEMBルし、出力させた。出力されたファイルからは、個人別の CNV 情報を再現することは不能であるようにプログラミングを行った。bed ファイルは染色体番号、欠失もしくは重複の開始位置・終了位置、トラック名、DNA strand の向き、重複もしくは欠失の記載からなる。インターバルが 50 kb 未満のものを破棄した。CNV 領域の bed ファイルをヒト参照配列 (hg19) に統一した後、データベース UCSC genome browser 上で可視化した。

マイクロアレイ染色体検査で検出したゲノム再構成を手掛かりとした病態の解明 (岡本分担研究者・山本分担研究者)

小児科領域では多発奇形・発達遅滞は、多く存在する。G 分染法では 3 % の症例で異常が同定される。マイクロアレイ染色体検査では 20 % 程度で異常が同定される。さらには近年では次世代シーケンサーによる解析で責任遺伝子同定に至る例も増加した。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科受診中の多発奇形・発達遅滞症例で、マイクロアレイ染色体検査により、新規に診断が判明する症例は年々増加している。さらには次世代シーケンサーを用いた解析で原因が判明する症例も増加した。

MCA/DD・ID を対象とした診療データベースの構築とマイクロアレイ染色体検査 (水野研究分担者)

汎用データベースソフトにて先天異常症候群診断用の施設内データベースを作成。2010 年～2012 年 12 月の間に受診歴のある患児から、本データベースを用いて特定の検索語句を用いて先天多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) 症例を抽出する。いずれも染色体 G バンド分染法で異常が検出されていない症例を抽出対象とした。

C. 研究結果

MCA/DD・ID 症例に対するマイクロアレイ染色体検査導入のアルゴリズムの確立

a) 神奈川県立こども医療センター (黒澤)

MCA/DD・ID 557 例に対して診断目的にマイクロアレイ染色体検査を行い、14% に臨床的意義ある CNV を検出した。これらの経験から、解析を進める上でのポイント、結果を患者家族に説明する場合の注意事項をまとめ、検査前後の説明や臨床的意義不明の CNV の取り扱いについてまとめた。

b) 埼玉県立小児医療センター

マイクロアレイ解析は 76 例に行い異常率は 11%であった。

c) 愛知県心身障害者コロニー中央病院

平成25年度には、診断未定多発奇形症例の集積を行い対象患者約50名中既知の症候群に該当しない患児31名に対してマイクロアレイ解析を実施した。結果31名中5名に従来の染色体G分染法で診断し得ない微細欠失/重複症候群を診断した。さらに陽性検出例16p13.11重複では、臨床像と遺伝カウンセリングについて検討した。重複は、16p12.3p13.11の2.6Mbで、過去の報告例で16q13.11領域の微細重複は先天性心疾患や多指などの多発奇形や軽度精神遅滞を呈することがある一方、表現形の特徴を伴わない例もある。多発奇形を伴う染色体構造異常症例の遺伝カウンセリングにおいて、微細欠失症例においては通常de novoである確率が極めて高いが、微細重複症例については親や同胞が同一のコピー数異常を有する場合がある。遺伝カウンセリングにおいてはその情報提供が必要である。今後の症例の集積によりさらなる表現形スペクトラムの解析が望まれる。

d) 国立成育医療研究センター

2013年度(2012年4月-2013年12月)にアレイCGH解析を行った症例は35例、そのうち31例解析終了し、陽性2症例であった。8q24.3欠失(1.8Mb)、15q11.2欠失(4.9Mb)であり、1症例は既知症候群であった。病的意義不明のCNVも認め、両親解析も含め検討を行った。

臨床現場への研究成果の活用として、確定診断された児・家族に対し合併症の予測、予後など今後の医療管理の方向性を示すことが可能となった。また、次子再発率の予測など、遺伝カウンセリング上、家族に

は有意義な情報提供をすることができた。本研究で整備された基盤を用いることにより、診断不明例に対する段階的な診断アプローチを実施可能となった。今後は、アレイCGH陰性例については、次世代シーケンサーによる解析を検討したい。

診断未定多発奇形・発達遅滞の発生頻度・診断ならびに患児家族支援に関する研究(大橋研究分担者)

2013年度は、4月から12月まで、月2回を基本に、計15回開催した。参加家族数は4~27家族(平均12家族)、他県からの参加も平均3家族であった。すべての外来を合計すると、参加家族数は延べ181家族、参加人数は407名となった。本年度新たな集団外来の試みとして、個別の疾患の枠を超えた疾患横断的な集団外来を開催した。

1)ピット・ホプキンス症候群とモワット・ウィルソン症候群の合同集団外来。互いに稀少疾患であり、それぞれ3家族と2家族をフォロー中であった。2疾患ともに重度の発達遅滞などの共通する症状をもつ。共通点と差異とを意識しつつ、疾患の自然歴と健康管理の情報提供と家族間の交流を行ったが、アンケート結果では大変有意義との回答を得た。2)就学をテーマとして疾患横断的な集団外来。疾患の種類を問わず、共通して多くの患児・家族が遭遇する課題がある。その代表の1つが就学問題である。本年、この就学をテーマとして疾患横断的な集団外来を開催した。具体的には、個別の集団外来を開催している23疾患(発達遅滞を伴う)の患児の中で、2015年度就学予定(5才児)と2016年就学予定(4才児)のもの62名を選び、外来の案内を行った。その結果16人(総人数31人)が参加した。臨床心理士が講義を担当した。疾患は異な

っても、共通した心配点をもつことは稀ではない。症状が類似する疾患同士、あるいは共通したテーマを設定しての集団外来は、きわめて稀少な疾患の集団外来開催の実現、また効率のよい情報提供と家族間での意見交換に役立つ一つの方法と考えられた。

マイクロアレイ染色体における日本人正常集団のコピー数バリエーション (Copy Number Variant, CNV) データベースの基盤整備 (小崎健次郎分担研究者)

こども医療センター症例の CNV データから CNV データベース構築の可能性を検討し、UCSC Genome Browser 上での可視化を確認した。複数施設の複数検体からなるデータベース確立の可能性を確認した。

マイクロアレイ染色体検査で検出したゲノム再構成を手掛かりとした病態の解明 (岡本分担研究者・山本分担研究者)

Rett 症候群は MECP2 遺伝変異による X 連鎖優性遺伝性疾患である。Rett 症候群同様の知的障害、常同運動を認め、MECP2 に異常がない「Rett 症候群類縁疾患」が多数存在する。Pitt-Hopkins 症候群は Rett 症候群との鑑別が重要である。重度精神運動発達遅滞、特徴的顔貌、無呼吸を伴う間欠的過呼吸、小頭症、近視・斜視・乱視などの眼科異常、てんかん、協調運動障害、手の常同運動などを主要症状とする。TCF4 が責任遺伝子である。現在、国内症例 12 例で変異を同定した。変異のない例について次世代シーケンサを用いて、さらに検討中である。GPI アンカー欠損症が、診断未定の神経疾患症例中に存在することが判明しつつある。150 種以上の蛋白質が GPI アンカーを介して細胞表面に発現する。GPI アンカー生合成とその後の修飾には

25 以上の遺伝子が係わっているが、遺伝子変異があると多くの GPI アンカー型蛋白質が細胞表面に発現できず、多彩な症状が出現する。症状としては高アルカリフォスファターゼ血症、精神運動発達遅滞、てんかん発作などが見られる。分担研究者の施設で 10 症例異常の GPI アンカー欠損症を診断することができた。

東京女子医科大学統合医科学研究所では、新規 193 検体を解析し、ほぼ 15% 程度で病的な変化を同定できた。診断率は他施設とほぼ同等であり、マイクロアレイ染色体検査を行うための対象の選定に問題がないことを示している。得られた所見の中には、これまでに知られていない微細染色体異常を示すものが複数例あり、これらについては現在論文作成中である。

D. 考察

マイクロアレイ染色体検査を実際に診断として用いた場合の検出率は、神奈川こども医療センター (14%)、埼玉県立小児医療センター (11%)、愛知県心身障害者コロニー (9.5%)、国立成育医療研究センター (16.2%) と従来報告されている検出率 10 - 15% とほぼ一致した値であることを確認できた。施設やプラットフォームが異なりながらも、海外報告および国内施設での実施結果がほぼ一致していることは、臨床検査としての普遍性を証明した。我が国ではまだ保険収載となっていないマイクロアレイ染色体検査の臨床検査としての早期の導入の根拠となる。また、その解析プロセスのアルゴリズム、臨床検査報告の在り方などを提示することができた。病態の把握では、実施施設から報告された各症例はゲノムベースで疾患の成り立ちが検討可能となっている。つまり、診断のみ

ならず病態の把握の点でもマイクロアレイ染色体検査は極めて有用であることが判明した。メンデル遺伝形質の病因解明としても有用であることが分かった。

今後の課題としては、さらに原因が依然として明らかとなっていない約 9 割におよぶ症例集団への対応、生体試料を用いた分子レベルでの病態把握、などが大きな課題となる。こうした 8 - 9 割の残された症例に対する更なる解析として次世代シーケンサーの位置づけを明らかにすることができた。今後の MCA/DD・ID 解析の極めて有用な手段と新しい解析法を提示したことになる。

マイクロアレイ染色体検査は既に海外では、通常の診療に組み込まれつつある。我が国においては、なおも普及していない。普及のためのデータの蓄積は今後の課題である。また、パネル解析から臨床エクソーム解析への拡大も海外では、議論が始まりつつあり、我が国でも早急に、こうした遺伝的異質性の高い多発奇形・発達遅滞集団に対して適応を広げるべきであると思われる。

E . 結論

診断や原因が明らかにされていない、しかも遺伝的異質性が極めて高く、その医療負担が決して少なくない診断未定の多発奇形・発達遅滞の臨床検査としてマイクロアレイ染色体検査は早期に導入すべきである。また、次世代シーケンス技術との組み合わせが今後期待される。

F . 健康危険情報

なし

G . 研究発表

1 . 論文発表

【黒澤健司】

Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K. Pure duplication of 19p13.3. *Am J Med Genet A.* 2013 Sep;161(9):2300-4

Yasuda S, Imoto K, Uchida K, Machida D, Yanagi H, Sugiura T, Kurosawa K, Masuda M. Successful Endovascular Treatment of a Ruptured Superior Mesenteric Artery in a Patient with Ehlers–Danlos Syndrome. *Ann Vasc Surg.* 2013;27(7):975.e1-5.

Nagase H, Ishikawa H, Kurosawa K, Furuya N, Itani Y, Yamanaka M. Familial severe congenital diaphragmatic hernia: left herniation in one sibling and bilateral herniation in another. *Congenit Anom (Kyoto).* 2013;53(1):54-7.

【小崎里華】

Sasaki A, Sumie M, Wada 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.* 2013 Nov 20. doi: 10.1002/ajmg.a.36185. [Epub ahead of print]

Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. *Am J Med Genet A.* 2013 Dec;161(12):3057-62.

Takenouchi T, Saito H, Oishi N, Fukushima

H, Kosaki R, Torii C, Takahashi T, Kenjiro K. Daytime somnolence in an adult with Smith-Magenis syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 Jul;161A(7):1803-5.

【大橋博文】

Ochiai D, Ohashi H, Hisazumi-Watanabe H, Sato Y, Yakubo K, Fukuiya T. Simpson-Golabi-Behmel syndrome diagnosed by postmortem magnetic resonance imaging, restricted autopsy, and molecular genetics: a case report. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013 [Epub ahead of print]

Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013 161:2234-43.

Takahashi M, Ohashi H. Craniofacial and dental malformations in Costello syndrome: A detailed evaluation using multi-detector row computed tomography. *Congenit Anom*. 201 53:67-72

【岡本伸彦】

Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T. 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of

Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A*. 2013;161:1465-9.

Okamoto N, Fujii T, Tanaka J, Saito K, Matsui T, Harada N. A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2. *Am J Med Genet A*. 2013 Nov 20. doi: 10.1002/ajmg.a.36217. [Epub ahead of print]

Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics*. 2013 Nov 20. [Epub ahead of print]

Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet*. 2013 Jul 1. doi: 10.1111/cge.12225. [Epub ahead of print]

Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients. *Am J Med Genet A*. 2013;161A:1779-85.

Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb

- (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A*. 2013;161:2078-83.
- Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T. MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev*. 2013;35:411-9.
- Iida A, Okamoto N, Miyake N, Nishimura G, Minami S, Sugimoto T, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Shiina M, Ogata K, Watanabe S, Ohashi H, Matsumoto N, Ikegawa S. Exome sequencing identifies a novel INPPL1 mutation in opsismodysplasia.. *J Hum Genet*. 2013;58:391-4.
- Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. *Hum Mutat*. 2013;34:108-10
- Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N. A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis. *Am J Med Genet A*. 2013;161:2291-3.
- Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, Iai M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Hayasaka K, Sugahara K, Yuasa I, Wada Y, Matsumoto N, Saitsu H. De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Hum Mutat*. 2013 ;34:1708-14.
- Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder. *PLoS One*. 2013 Sep 16;8(9):e74167.
- Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, Matsumoto N, Miyake N. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet*. 2013 Oct 3. doi: 10.1038/jhg.2013.104. [Epub ahead of print]
- Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N. Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case. *Brain Dev*. 2013;35:586-9.
- 【水野誠司】**
- Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M. Developmental changes in mental rotation ability and visual perspective-taking in children and adults with Williams syndrome. *Front Hum Neurosci*. 2013 Dec 11;7:856
- Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J Med Genet A*. 2013 Dec 5. [Epub ahead of print]

- Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y, Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitoh S, Sugiura-Ogasawara M. Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Nov;39(11):1545-7
- Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, Horikawa R, Miyoshi Y, Muroya K, Kondoh T, Numakura C, Sato S, Nakabayashi K, Tayama C, Hata K, Sano S, Matsubara K, Kagami M, Yamazawa K, Ogata T. Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome. *PLoS One.* 2013;8(3):e60105.
- 【山本俊至】**
- Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
- Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev* 35: 411-419, 2013.
- Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T: PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev (Early On-line View).*
- Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T: Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet (in press)*
- Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Okamoto N: Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4. *Am J Med Genet (in press)*
- Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T: A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene* 531:467-71, 2013.
- Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T: Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* (in press)
- Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement. *Am J Med Genet* 161A: 3049-56, 2013.
- Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1465-9, 2013.
- Yamamoto T, Shimada S, Shimojima K: Fiber-FISH analyses as a diagnostic application for orientation of the microduplications. *World J Med Genet* 3; 5-8, 2013.
- Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T,

- Yamamoto T: Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* 35: 274-279, 2013.
- Shichiji M, Ito Y, Shimojima K, Nakamu H, Oguni H, Osawa M, Yamamoto T: A cryptic microdeletion including MBD5 occurring within the breakpoint of a reciprocal translocation between chromosomes 2 and 5 in a patient with developmental delay and obesity. *Am J Med Genet A* 161A: 850-855, 2013.
- Kobayashi S, Inui T, Wakusawa K, Tanaka S, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Yamamoto T, Haginoya K: A case of atypical benign partial epilepsy with action myoclonus. *Seizure* 22: 242-245, 2013.
- Yamamoto T, Matsuo M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Aso S, Saito K: De novo triplication of 11q12.3 in a patient with developmental delay and distinctive facial features. *Mol Cytogenet* 6: 15, 2013.
- Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Niijima S, Urao M, Yamamoto T: Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 155-159, 2013.
- Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, Takahashi Y, Inoue Y, Imai K, Yamamoto T: Interstitial duplication of 2q32.1-q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet A* 161A: 1078-1084, 2013.
- Sangu N, Shimosato T, Inoda H, Shimada S, Shimojima K, Ando T, Yamamoto T: A novel nucleotide mutation leading to a recurrent amino acid alteration in SH3BP2 in a patient with cherubism. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 166-169, 2013.
- Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T: Whole-exome sequence for a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology* 33: 553-560, 2013.
- Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 101 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A* 161A: 1465-1469, 2013.
- Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A* 161A: 2078-2083, 2013.
- Shimojima K, Tanaka R, Shimada S, Sangu N, Nakayama J, Iwasaki N, Yamamoto T: A novel homozygous mutation of GJC2 derived from maternal uniparental disomy in a female patient with Pelizaeus–Merzbacher-like disease. *J*

- Neurol Sci 330: 123-126, 2013.
- Uike K, Matsushita Y, Sakai Y, Togao O, Nagao M, Ishizaki Y, Nagata H, Yamamura K, Torisu H, Hara T. Systemic vascular phenotypes of Loeys-Dietz syndrome in a child carrying a de novo R381P mutation in TGFBR2: a case report. BMC Research Notes 6; 456, 2013.
- Torisu H, Watanabe K, Shimojima K, Sugawara K, Sanefuji M, Ishizaki Y, Sakai Y, Yamashita H, Yamamoto T, Hara T. Girl with a PRRT2 mutation and infantile focal epilepsy with bilateral spikes. Brain Dev (in press).
- Abe Y, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Yamamoto T, Kunishima S, Haginoya K: Bilateral periventricular nodular heterotopia with megalencephaly: a case report. J Child Neurol (in press).
- Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T: Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination. Brain Dev (in press)
- Irahara K, Saito Y, Sugai K, Nakagawa E, Saito T, Komaki H, Nakata Y, Sato N, Baba K, Yamamoto T, Chan W, Andrews C, Engle EC, Sasaki M: Pontine malformation, undecussated pyramidal tracts and regional polymicrogyria: a new syndrome. Pediatr Neurol (in press)
- microdeletion at 19p13.2 including NFIX gene. European Human Genetic Conference 2013 2013.6.8-11. Paris, France.
- Kuroda K, Ohashi I, Ida K, Naruto N, Kurosawa K. Deletion of UBE3A gene in brothers with Angelman syndrome close to breakpoint of inversion at 15q11.2 and 15q26.1. European Human Genetic Conference 2013 2013.6.8-11. Paris, France.
- Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of mandibulofacial dysostosis. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Yoshihara N, Kurosawa K, Ohashi I, Kuroda Y, Osaka H, Yamashita S, Iai M, Takano K, Okuda M, Takagi M, Anzai R, Wada T. A 3.1 Mb deletion at 2q22.1-q22.3 including NXP2 gene in a boy with intellectual disability. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Naruto T, Kuroda Y, Ohashi I, Kurosawa K. Clinical application for gene disorders in children using bench top sequencer. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Nishi Y, Tominaga M, Ueda H, Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. 6q24.3-q25.1 deletion syndrome. 63rd American Society of Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston
- Ohashi I, Kuroda Y, Masuno M, Kuroki Y, Kurosawa K. Estimation of live birth

2. 学会発表

【黒澤健司】

Ohashi I, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Kurosawa K. A case report of 0.12Mb

prevalence of Down syndrome in Japan.
63rd American Society of Human
Genetics, 2013.10.22-26. Boston

【小崎里華】

Kosaki R, Takenouchi T, Hida M, Sakamoto
Y, Torii C, Takahashi T, Kosaki K Sever
congenital lypodystrophy and a progeroid
appearance: Mutation in the penultimate
exon of FBN1 causing a recognizable
phenotype. European Society of Human
Genetics, 2013 6.9

【岡本伸彦】

Okamoto N , Yamamoto Y, Kawato K. A
clinical and molecular study of
Pitt-Hopkins syndrome in Japan.
European Human Genetic Conference
2013 2013.6.8-11. Paris, France.

Okamoto N, Miya F, Tsunoda T, Kato M,
Saitoh S, Yamasaki M, Kanemura Y,
Kosaki K Application of targeted
next-generation sequencing in the
diagnosis of pediatric neurological
disorders. 63rd American Society of
Human Genetics, 2013.10.22-26. Boston

【水野誠司】

Mizuno S, Muramatsu Y, Miyake N,
Matsumoto N. Distal interphalangeal
joint contracture and absence of flexion
crease in paediatric patients with Kabuki
syndrome with MLL2 mutation. The
European Human Genetics Conference
Paris, June 8 , 2013

Muramatsu Y, Kakizawa H, Shimizu K,
Ohashi H, Hayashi S, Inazawa J, Mizuno
S. Atypical interstitial deletion of
7q11.23 containing whole ELN and
partial LIMK1: Phenotype comparison
with typical Williams syndrome. The
European Human Genetics Conference
Paris, June 8 , 2013

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

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の診断解析のアルゴリズムの確立

研究代表者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター 遺伝科部長

研究要旨

マイクロアレイ染色体検査は、発達遅滞あるいは多発奇形症例の第1段階の臨床診断検査に位置づけられるが、日本ではまだ保険収載とならず、臨床検査として定着はしていない。マイクロアレイ染色体検査は疾患特異的ゲノムコピー数多型（Copy number variant:CNV）を解析症例の10 - 15%に検出できる極めて有用な遺伝学的検査である。しかし、遺伝学的検査である以上、その実践には慎重さが求められる。適応疾患、適応外疾患、検出できる内容とできない内容、検査の基本原則とそれに基づく検出の限界など、十分理解しておくべきことは多い。さらに、報告書の解釈と伝え方、検査前後の遺伝カウンセリングの在り方、予想外の結果の可能性を認識しておくことも重要である。報告書をそのまま患者家族に伝えるべきではないことは、染色体検査と同じである。マイクロアレイ染色体検査は、担当医、解析担当者（検査室・検査センター）、臨床遺伝専門医、認定遺伝カウンセラーなど多くの専門職種が関わる遺伝医療のシステムとして導入されるべきである。

研究協力者

黒田友紀子（神奈川県立こども医療センター 遺伝科 医師）
成戸卓也（同 研究員）
井田一美（同 研究員）
大橋育子（同 医師）
榎本啓典（JA とりで総合医療センター小児科 医師）
富永牧子（昭和大学横浜市北部病院小児科 医師）

A. 研究目的

マイクロアレイ染色体検査は、発達遅滞あるいは多発奇形症例の第1段階として

の臨床診断検査に位置づけられることは、既に多くの論文で言われていることである。しかし、我が国ではまだ保険収載とならず、臨床検査として定着していないのが実情である。日本では、身体所見や種々の臨床検査で原因がはっきりしない発達遅滞や多発奇形の原因検索としては、依然として染色体検査が第1選択になるが、実際に染色体検査で異常が検出され、診断に至るのは3 - 5%に過ぎない。それ以外は、症状から特定の疾患を想定し、丁寧に鑑別してゆくほかないわけで、全ゲノムを対象として疾患特異的ゲノムコピー数（Copy number variant:CNV）を10 - 15%に検出で

きるマイクロアレイ染色体検査が重視されるのは、当然かもしれない。しかし、遺伝学的検査である以上、その実践には慎重さが求められる。この点でも海外ではいち早く実践に関するガイドラインが提唱された。今回、マイクロアレイ染色体検査を臨床導入する際に必須となる遺伝カウンセリングの内容や、解析アルゴリズム、結果解釈の問題を、自験例を中心に検討した。

B. 研究方法

マイクロアレイ染色体検査の適応は、ACMGのガイドライン(Manning et al., 2010)を基本とし、主にMCA/DD・IDを対象(臨床症状の組み合わせから特定既知症候群が想定できず、標準染色体G分染で異常を認めない)とした。2011年4月から2013年2月までに提出された864例のうち、上記適応を満たした院内症例557例であった。マイクロアレイ染色体検査で得られたゲノムコピー数変異(CNV: Copy number variant)は、「臨床的意義不明」「臨床的意義なし」「臨床的意義あり」と、担当小児科医にわかりやすくするために3つに分類し報告した。解析は、マイクロアレイ解析システム(Agilent Technologies)を用いてデータ解析はGenomic Workbench(同)によった。データ解析設定としてderivative log ratio spread > 0.20を基本とした。臨床的意義あるCNVが検出された場合には、FISHあるいは定量PCR法による罹患者および両親解析による診断の確定を基本とした。これらの経験に基づき、我が国でのマイクロアレイ染色体検査の運用について検討を加えた。

(倫理面への配慮)解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、本人あるいは代諾者(主に親)の文書による同意を得て行

った。

C・D. 研究結果と考察

MCA/ID・DDの診断確定を主訴に来院の親になぜマイクロアレイ染色体検査が必要なのかをきちんと説明する必要がある。そのためには、こうした多発奇形・発達遅滞の診断のアルゴリズムを担当医が理解し、親に説明する必要がある。マイクロアレイ染色体検査はその診断アプローチのなかに位置づけられる遺伝学的検査の一つである。

一般集団における中等度以上の発達遅滞・精神遅滞、あるいは多発奇形、多発奇形・発達遅滞は、1 - 3%におよぶ。マイクロアレイ染色体検査の適応は、原因不明の多発奇形・発達遅滞、自閉症スペクトラムなどである。また、既知染色体異常症や遺伝性疾患で、臨床症状と診断に矛盾が生じる場合も適応となる。具体的には、性染色体異常症の中には、目立った外表奇形に乏しく、また、発達遅滞も目立たない場合も少なくない。にもかかわらず、染色体検査結果で説明できない症状が目立つ場合には、マイクロアレイ染色体検査の適応となる。

一方で、適応外疾患も十分心得ておく必要がある。臨床的に診断可能なダウン症候群や18トリソミーなどの異数性染色体異常症や、Williams症候群、22q11.2欠失症候群などの既知の微細欠失症候群が適応外とみなされる。理由は、疾患の病因が極めて均一であり、検査(G分染、あるいはFISH)のコストを理由とする。また、マイクロアレイ染色体検査で検出できない異常も適応外となる。均衡型相互転座や、逆位などの均衡型構造異常は検出できない。つまり、児で転座由来が疑われる臨床

的意義ある CNV が検出されたときに、保因者診断としての両親のマイクロアレイ染色体検査は適応とならない。また、XYY などの性染色体数的異常症もコントロールの適切な設定をしないと見落とされる。アレイのカバーする領域にもよるが、微細なマーカー染色体も検出できないことがある。また、低頻度モザイク（例：Pallister-Killian 症候群、9トリソミーモザイク）も検出が難しい。また、倍数性異常も見落とされることがある。

しかし、全ての均衡型相互転座が適応外ということではない。一般に均衡型相互転座で症状が出現するのは数%程度と言われるが、症状を伴う均衡型相互転座の場合では切断点が本当に均衡型かをマイクロアレイ染色体検査で検討する必要がある。症状の有無にかかわらず、均衡型転座の切断点は微細な欠失・重複が約 20%で認められる。自験例として、親が症状のない均衡型相互転座の保因者で、同じ均衡型相互転座をもつ児に発達遅滞と外表奇形を認めた家系があった。マイクロアレイ染色体検査の結果、転座染色体とは全く異なった番号の染色体に症状の原因となっていた構造異常が検出された。臨床症状と得られた染色体検査結果との整合性を検討し、マイクロアレイ染色体検査の適応を正しく判断する臨床能力は必要である。

正常多型としての CNV なのか、臨床的意義ある CNV なのか、各種のデータベースを参照しても判断できないことは少なくない。また、公開された海外のデータベースをそのまま日本人にあてはめて考えていいのか、議論はまだ一定しない。CNV 領域について両親解析は不可欠となる。しかし、両親いずれかに検出されたからといって、それが病因でないとは言い切れない。

浸透率を考慮に入れる必要があるからである。さらに、特定の CNV においては、もうひとつ別の CNV の組み合わせが、症状の多様性をもたらしている可能性が示唆されており、遺伝カウンセリングにおいては慎重な対応が求められる。アレイの解析解像度(プラットフォーム)にもよるが、普通は複数の CNV が検出される。解析解像度が高くなればなるほど検出される CNV は膨大な数になる。得られた CNV をそのまま患者家族に伝えても、到底理解は得られない。報告書では、得られた CNV を分類して記載するべきであるし、患者家族に伝える担当医も得られた CNV の意義を理解しておく必要がある。一般的な考え方としては、「明らかに無視できる CNV (Segmental duplication など)」「良性、あるいは臨床的意義がないと考えられる CNV 」、「臨床的意義不明の CNV 」、「臨床的意義が疑われるが、確定的ではない CNV 」、「病原性、あるいは臨床的意義ある CNV 」、といった 5 段階程度に分類されるかもしれない。報告書を作成する解析施設(検査センター)ごとに定義が異なるので、把握しておく必要がある。

しかし、それでもなお、正常多型としての CNV なのか、臨床的意義ある CNV なのか、各種のデータベースを参照しても判断できないことは少なくない。判断の一つとして CNV の大きさがあり、臨床的意義の有無とはある程度の相関がある。大きさが 400kb 以上では有意に疾患特異的となることが多い。さらにまた、公開された海外のデータベースがそのまま日本人にあてはめて考えていいのか、議論はまだ一定しない。

マイクロアレイ染色体が臨床応用され始めた早い時期から、同じ領域が欠失ある

いは重複するにもかかわらず、症例ごとに臨床症状が大きく異なることが知られてきた。しかも、それが親子、同胞など、家系内でも症状が異なることが報告された。その理由は、現在でも完全に明らかにされたわけではない。CNV によっては親で同様に検出される可能性が高いものと、ほとんど de novo(転座を除く)とに分かれる。しかも、時に親由来の臨床的意義ある CNV の他に臨床的意義あるかあるいは臨床的意義が不明な CNV が加わって(あるいは、臨床的意義がはっきりしない CNV を表現型正常な両親から 1 つずつ受け継いで、2 つになって)発症する例が少なくないことが次第に明らかとなっている。再発リスクの評価も含め、慎重な解釈と遺伝カウンセリングが必要な例である。

マイクロアレイ染色体検査は、先天異常に対する医療の一つとして用いるべきであるので、目的(なぜ、必要か)、予想される結果、検査の限界(わかることとわからないこと、検出率、検出精度など)、遺伝学的情報を共有する血縁者の健康や生殖に関わる問題も明らかにされることがあること、などを丁寧に説明する必要がある。検査を受けるか否かについては、次回外来に意思確認を延期して考える時間を与えてもいいかもしれない。また、検査を希望しない意向も尊重されるべきである。結果開示についても臨床遺伝専門医による遺伝カウンセリングが得られる体制で行われるべきである。親の微細転座に由来する不均衡型転座である際には、保因者診断は慎重に進める。均衡型相互転座保因者であるので、通常親はマイクロアレイ染色体検査ではなく、当該領域のプローブを用いた FISH 検査が適応となる。説明においてもマイクロアレイ染色体検査の原理の

理解が不可欠である。遺伝子の説明に終始せず、児の今後の健康管理に有用な情報を中心に説明を行うことになる。

E. 結論

標準 G 分染 (GTG) でもマイクロアレイ染色体検査でも、結果の解釈が重要で、特に正常変異に注意する必要は上述の通りである。また、得られた結果が本当に臨床診断と整合性が保たれているかをもう一度検討する必要がある。報告書をそのまま患者・当事者あるいはその血縁者(親)に伝えるべきではないことは、通常の染色体検査結果と同じである。マイクロアレイ染色体検査で正常 CNV でない微細な変異が検出された場合の臨床診断との整合性を検討することは難しいが、不可欠な作業である。解析担当者と密に連絡を取り合うことも必要である。遺伝カウンセリングでは、当然ながら認定遺伝カウンセラーが同席するのが望ましい。こうしてみると、マイクロアレイ染色体検査は、しっかりと整備された遺伝医療のシステムの中で運用されるべきであることが分かる。専門家の意見を取り入れながら、慎重に検査を進めて行くことが重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K. Pure duplication of 19p13.3. Am J Med Genet A. 2013 Sep;161(9):2300-4
Yasuda S, Imoto K, Uchida K, Machida D,

Yanagi H, Sugiura T, Kurosawa K, Masuda M. Successful Endovascular Treatment of a Ruptured Superior Mesenteric Artery in a Patient with Ehlers–Danlos Syndrome. *Ann Vasc Surg.* 2013;27(7):975.e1-5.

Nagase H, Ishikawa H, Kurosawa K, Furuya N, Itani Y, Yamanaka M. Familial severe congenital diaphragmatic hernia: left herniation in one sibling and bilateral herniation in another. *Congenit Anom (Kyoto).* 2013;53(1):54-7.

2. 学会発表

Ohashi I, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Kurosawa K. A case report of 0.12Mb microdeletion at 19p13.2 including NFIX gene. *European Human Genetic Conference 2013* 2013.6.8-11. Paris, France.

Kuroda K, Ohashi I, Ida K, Naruto N, Kurosawa K. Deletion of UBE3A gene in brothers with Angelman syndrome close to breakpoint of inversion at 15q11.2 and 15q26.1. *European Human Genetic Conference 2013* 2013.6.8-11. Paris, France.

Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Targeted next-generation sequencing for the molecular genetic diagnostics of mandibulofacial dysostosis. *63rd American Society of Human Genetics,*

2013.10.22-26. Boston

Yoshihara N, Kurosawa K, Ohashi I, Kuroda Y, Osaka H, Yamashita S, Iai M, Takano K, Okuda M, Takagi M, Anzai R, Wada T. A 3.1 Mb deletion at 2q22.1-q22.3 including NXP2 gene in a boy with intellectual disability. *63rd American Society of Human Genetics,* 2013.10.22-26. Boston

Naruto T, Kuroda Y, Ohashi I, Kurosawa K. Clinical application for gene disorders in children using bench top sequencer. *63rd American Society of Human Genetics,* 2013.10.22-26. Boston

Nishi Y, Tominaga M, Ueda H, Kuroda Y, Ohashi I, Saito T, Nagai J, Kurosawa K. 6q24.3-q25.1 deletion syndrome. *63rd American Society of Human Genetics,* 2013.10.22-26. Boston

Ohashi I, Kuroda Y, Masuno M, Kuroki Y, Kurosawa K. Estimation of live birth prevalence of Down syndrome in Japan. *63rd American Society of Human Genetics,* 2013.10.22-26. Boston

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

正常日本人における染色体欠失・重複のとりまとめ
研究分担者 小崎 健次郎
慶應義塾大学医学部臨床遺伝学センター 教授

研究要旨

ヒトゲノム中には、欠失・重複（chromosomal deletion / duplication）が存在する。欠失・重複には、健康に影響を与えるものもあるが、無害なものもある（CNV: copy number variation）。特定の患者で欠失・重複が同定されたとき、健康に影響を与えるあるいは疾患を惹起するかどうかを判定は容易ではない。発達遅滞を伴う診断不明の多発奇形症候群に対してマイクロアレイ染色体検査を実施された患児の両親についてCNVの情報を施設で機械的に個人情報完全に削除した上、20人分のデータを単一データファイルとした。単一ファイルとなることで、個人のゲノム情報を復元することは不可能とした。データをBEDファイルフォーマットにより表記した。国際標準のゲノム情報の可視化ソフトであるUCSCゲノムブラウザーで、ローカルファイルとして取り込み、他のゲノム情報と併置して、表示させ数十箇所の頻度の高いCNVを検出することができた。得られたCNVデータファイルはゲノムブラウザー上にアップロード可能であるばかりでなく、かつ、多種の解析用ソフトウェアに取り込み、参照データとして使用することが可能である。汎用性の点でも有用性の高い基礎データである。今後はさらに正常人のデータを蓄積し、比較的頻度の低いCNVについても情報を収集することが求められる。

A．研究目的

ヒトゲノム中には、欠失・重複（chromosomal deletion / duplication）が存在する。欠失・重複には、健康に影響を与えるものもあるが、無害なものもある（CNV: copy number variation）。

特定の患者で欠失・重複が同定されたとき、健康に影響を与えるあるいは疾患を惹起するかどうかを判定は容易ではない。

欠失・重複の大きさや、当該する欠失・重複を両親のどちらかが有するか、あるいはデータベース等に収載されているかは判断の際に参考になる。無害な欠失・重複にかかわる参照データベースが極めて有用である。諸外国においては、病的意義のないCNVを集積したデータベース（例：DCIPHER）が作成されている。一方で、CNVには民族間で差があるとも考えられており、日本人特有のCNVもあると考えられる。したがって、本研究では、健康な両親から得られた日本人のCNVデータを蓄積し、臨床的意義を判断する際の材料とすることを目的とする。

B．研究方法

対象は、発達遅滞を伴う診断不明の多発奇形症候群に対してマイクロアレイ

染色体検査を実施された患児の両親とした。マイクロアレイ染色体検査は、神奈川県立こども医療センターの倫理委員会の承認を受けて、インフォームド・コンセントをえた後、研究を実施した。解析プラットフォーム（例：アジレント・アフィメトリクス）は各施設で異なっており、それぞれに対応した解析ソフトウェアで解析することを前提とした。解析ソフトウェアからアレイデータのエクセルファイルを出力し、BEDファイルを作成した（表1）。BEDファイルは染色体番号、欠失もしくは重複の開始位置・終了位置、トラック名、DNA strandの向き、重複もしくは欠失の記載からなる。欠失・重複とも範囲が50 kbから5 Mbのものを集積した。また、男女にかかわらずY染色体の値も削除した。CNV領域のBEDファイルをヒト参照配列（hg19）に統一した後、データベース UCSC genome browser 上に表示した（図1）。

これらの20人分のデータは単一データファイルとした。当該ファイルから個人のゲノム情報を取り出すことは全く不可能である。上記の処理作業は専用ソフトウェアを用いて完遂した。

このようにして得られた完全に連結不能匿名化されたデータファイルを一

本のファイルとした。このファイルは、国際標準のゲノム情報の可視化ソフトである UCSC ゲノムブラウザーで、ローカルファイルとして取り込み、他のゲノム情報と併置して、表示させた。

C . 研究結果

健常人20名から複数検体で共通して重複もしくは欠失している部位が数十か所確認された。これらの欠失・重複範囲をBEDファイル形式で保存した。BEDファイルは、ゲノムの領域を示す国際標準フォーマットのテキストファイルであり、染色体番号、始点・終点を示す(表1)。いわゆるゲノムコーディネートをhg19形式に統一した。UCSC ゲノムブラウザー上で確認したところ、ゲノム中で複数カ所の箇所の頻度の高いCNVを検出することができた(図1)。

D . 考察

日本人において病的意義を欠くCNVの網羅的な情報とみなしうる情報を抽出した。海外では同様のデータベースが公表されているが、わが国には該当するデータは乏しく、今後のマイクロアレイ染色体検査の普及や検査態勢の整備のために不可欠な基礎データとなると期待される。得られたCNVデータファイルはゲノムブラウザー上にアップロード可能であるばかりではなく、かつ、多種の解析用ソフトウェアに取り込み、参照データとして使用することが可能である。汎用性の点でも有用性の高い基礎データである。今後はさらに正常人のデータを蓄積し、比較的頻度の低いCNVについても情報を収集することが求められる。

E . 結論

日本人について病的意義の低いと思われるCNVの情報を集積した。今後のマイクロアレイ染色体検査の普及に際して、不可欠なりソースとなると考えられた。今後はさらに正常人のデータについて学会等が中心となり集積し、比較的頻度の低いCNVについても情報を収集することが求められる。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takenouchi T, Enomoto K, Nishida T, Torii C, Okazaki T, Takahashi T,

Kosaki K.12q14 microdeletion syndrome and short stature with or without relative macrocephaly. Am J Med Genet A. 2012;158(10):2542-2544

- 2) Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshihashi H, Takahashi T, Awazu M, Kosaki K. Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting. Am J Med Genet A. 2012;158(10):2537-2541.
- 3) Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, Kosaki K. Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome. Am J Med Genet A. 2012;158(10):2621-2623.
- 4) Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, Kosaki K. Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis. Eur J Med Genet. 2013 ;56(1):50-53.
- 5) Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. Am J Med Genet A. 2014 Feb;164(2):456-60

2 . 学会発表
なし

G . 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）

分担研究報告書

診断未定多発奇形・発達遅滞の実態把握と病因・病態の解明に関する研究

研究分担者 小崎 里華

国立成育医療研究センター 遺伝診療科 医長

研究要旨

診断が困難である多発奇形・発達遅滞の症例を対象に、新規診断技術マイクロアレイCGHを用いて有用性を明らかにし、診断のアルゴリズムを確立した。また、診断確定された症例においては、臨床症状と遺伝学的異常の関係について検討し、医療実態の把握・自然歴の把握を行った。今後、個別の症例特性の解析および医療実態の把握と自然歴解析をめざす。

A．研究目的

診断が困難である多発奇形・発達遅滞の症例を対象に、新規診断技術マイクロアレイCGHを用いて有用性を明らかにし、診断のアルゴリズムを確立することを目的とする。また、その結果を用いて、医療実態の把握・自然歴の把握臨床現場での患者への還元をめぐる。

B．研究方法

診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞児が集積された診療症例を対象に、アレイCGH,MLPA法などの新規診断技術を用いて、確定診断のために遺伝学的解析を行った。解析法は、昨年同様である。

解析に用いたアレイはAgilent社 human genome 180Kをプラットフォームとし、UCSC hg18(NCBI Build 36.1 March 2006)、解析はAgilent Genomic Workbenchで行った。Cut off 基準やCNVの判定においては、ACMGガイドライン(Genet Me13;680-685,2011)等を参照し、国際基準に沿って解析を行い、検査の質の保証につとめた。

分子遺伝学的に診断が確定された症例については、国内外のデータベースの検索を通じて近縁症例を収集し、臨床症状と遺伝学的異常の関係につ

いて検討した。

検査実施において、分担研究者の所属施設の倫理委員会にて承認されている。

C．研究結果

本年度(2013年4月-2014年3月)、アレイCGH解析を行った症例は38例、そのうち35例解析終了し、陽性2症例であった。8q24.3欠失(1.8Mb)、15q11.2欠失(4.9Mb)であり、1症例は既知症候群であった。病的意義不明のCNVも認め、両親解析も含め検討を行った。

D．考察

臨床現場への研究成果の活用として、確定診断された児・家族に対し合併症の予測、予後など今後の医療管理の方向性を示すことが可能となった。また、次子再発率の予測など、遺伝カウンセリング上、家族には有意義な情報提供をすることができた。

本研究で整備された基盤を用いることにより、診断不明例に対する段階的な診断アプローチを実施可能となった。

診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞の原因は遺伝的異質性が極めて高い。原因究明には、探索的解析が望ましく、本研究班2年間での実

績において、アレイ CGH は、極めて有用であることが実証された。

当施設 2年間の解析では、陽性率 9.5%であり、他の分担施設の陽性率 10-15%と同じ結果が得られたと考えられる。海外からの報告でも、同様の報告であり、本検査の有用性を国内でも実証できたことは、本研究班の成果である。

現在、新規遺伝学的解析技術として次世代シーケンサーの解析が実施されているが、アレイ CGH によって検出されている欠失・重複の検出には不十分である。今後は、次世代シーケンサーも解析アルゴリズムの改良によって、欠失・重複も検出可能となることが予測される。

今後、診断未確定の多発奇形・精神運動発達遅滞にはアレイ CGH とともに、次世代シーケンサー等の技術を組み合わせて解析をすることが期待される。

E . 結論

多発奇形・発達遅滞の診断技術の一つとしてマイクロアレイ CGH を用いて、診断を確定し、臨床的有用性を明らかにした。今後、新規遺伝子探索、医療実態の把握へ向けての研究基盤整備を行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K. Somatic CTNNA1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation. Am J Med Genet A. (Epub ahead of print) Jan.2014

Takenouchi T, Hayashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K. 1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay. Am J Med Genet A. 164(2):456-60.

Feb.,2014

Takenouchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K. Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation. Am J Med Genet A. 164(2):392-6. Feb.2014

Sasaki A, Sumie M, Wada S, Kosaki R, Kuroswa 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):264-6. Jan.2014

Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M. Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis. Am J Hum Genet. 7;93(5):945-56 Nov.2013

Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K. Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype. Am J Med Genet A. 161(12):3057-62. Dec.2013

Takenouchi T, Saito H, Oishi N, Fukushima

H, Kosaki R, Torii C, Takahashi T, Kosaki K.
Daytime somnolence in an adult with
Smith-Magenis syndrome. *Am J Med Genet*
A.161A(7):1803-5. Jul.2013

小崎里華 : 先天異常の分類 小児科
臨床 6 6 巻増刊号 2013

2. 学会発表

Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami
M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K.
Somatic *CTNNB1* mutation in
hepatoblastoma from a patient with
Simpson-Golabi-Behmel syndrome and
germline *GPC3* mutation. *American Society*
of Human Genetics, 2013

Kosaki R, Takenouchi T, Hida M, Sakamoto
Y, Torii C, Takahashi T, Kosaki K.
Sever congenital lipodystrophy and a
progeroid appearance: Mutation in the
penultimate exon of *FBNI* causing a
recognizable phenotype.
European Society of Human Genetics, 2013
6.9

佐々木 愛子 藤田 秀樹 和田 誠司
小崎 里華 堀川 玲子 左合 治彦:
高齢妊娠を契機に羊水検査を行い X/XY
混合性性腺異形成と診断された 3 例の臨
床経過 第 58 回 日本人類遺伝学会
2013.11.22

藤田 秀樹 小崎 里華: FGFR2 変異を確
認した Beare-Stevenson 症候群の一例 第
58 回 日本人類遺伝学会 2013.11.22

藤田秀樹 小崎里華: 20q 端部欠失を認め
た VATER 連合に類似す多発奇形症例第 53
回 日本先天異常学会 2013.7.22

竹澤祐介 余谷暢之 石黒精 紙谷万里
子 益田博司 師田信人 小崎里華 宮
寄治 西村玄 阪井裕一: 当センターで経
験した点状軟骨異形成症の環軸亜脱臼に
関する臨床的経過の検討 第 116 回 日
本小児学会学術集会 2013.4.20

藤田 秀樹 小崎里華 : 染色体 G 分染法
で 48,XYYY と 49,XYYYY のモザイクを
認めた一例 第 36 回 日本小児遺伝学
会学術集会 2013.4.17.

多発奇形・発達遅滞症候群の診断と患児家族支援に関する研究

分担研究者 大橋 博文

埼玉県立小児医療センター遺伝科

研究要旨

本年度は、1) マイクロアレイベースの多発奇形・発達遅滞をもつ先天異常症候群の精密診断と病態解明の一つとして、Wolf-Hirschhorn 症候群 (WHS ; 4p モノソミー症候群) の遺伝子型-表現型相関の検討、2) 診断後に必要となる患児家族支援のあり方の一つとして、先天異常症候群の集団外来という診療形態を通じた患者家族への情報の還元と心理支援の実践、の2つを推進した。1) については、国内8施設合計22例のWHS確定例を対象に、全例オリゴアレイCGH法を用いた欠失領域の精密診断を行った結果を、臨床所見と比較検討した。その結果、欠失サイズの大きさと臨床症状の重症度との間におおまかな相関があること、また痙攣については、従来いわれていた LETM1 遺伝子領域の欠失のみが痙攣の責任領域とはいえず、LEMT1 遺伝子より遠位 (4p 端部から 0.76~1.3 Mb) 領域を新たな痙攣発症の責任領域と考えられ、欠失がこれらの領域にまたがる場合に重症となる可能性が示唆された。その領域に存在する CTBP1 や CPLX1 は痙攣発症関連の候補遺伝子の可能性がある。2) としては、本年度は計15回の集団外来を開催した。参加家族数は4~27家族 (平均12家族)、他県からの参加も平均3家族であった。すべての外来を合計すると、参加家族数は延べ181家族、参加人数は407名となった。本年度新たな集団外来の試みとして、個別の疾患の枠を超えた疾患横断的な集団外来を開催した。ひとつはピット・ホプキンス症候群とモワット・ウィルソン症候群の合同集団外来であり、それぞれ3家族と2家族が参加した。両疾患の共通点と差異とを意識しつつ、疾患の自然歴と健康管理の情報提供と家族間の交流を行った。もう一つは、就学をテーマとした疾患横断的集団外来である。具体的には、個別の集団外来を開催している23疾患 (発達遅滞を伴う) の患児の中で、2015年度就学予定 (5才児) と2016年就学予定 (4才児) のもの62名を選び、外来の案内を行った。その結果16家族 (総人数31人) が参加した。

研究協力者

清水 健司 (埼玉県立小児医療センター遺伝科)

A. 研究目的

1) マイクロアレイ解析に基づいた Wolf-Hirschhorn 症候群の遺伝型-表現型検討

Wolf-Hirschhorn 症候群 (WHS ; 4p モノソ

ミー症候群) は4番染色体短腕端部領域の欠失を原因とする隣接遺伝子症候群で、出生頻度は2~5万人に1人である。近年臨床症状と欠失領域との対応関係の研究によって WHS の身体特徴を含めた主症状の責任領域として WHSCR2、さらに本症でほぼ全例に合併する痙攣の責任遺伝子として LETM1 遺伝子がそれぞれ想定されている。しかし、欠失範囲のサイズと位置と、

臨床的重症度との詳細は不明な点がまだ多く、特に本邦症例での全国的な症例検討はない。現在、有効なゲノム不均衡解析として確立されてきたマイクロアレイを用いた解析結果に基づいて、本邦症例の遺伝型・表現型関連を検討する。

2) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援

多発奇形・発達遅滞例の確定診断が得られたあと、疾患特異的自然歴情報に基づいた健康管理を行うことが第一に重要であるが、さらに患児・家族支援として情報の提供・共有とピアカウンセリングとしての心理的支援が望まれる。その一方法として、昨年に引き続いて疾患集団外来の開催を進める。

B. 研究方法

1) マイクロアレイ解析に基づいた Wolf-Hirschorn 症候群の遺伝型-表現型検討

染色体分析あるいは FISH 法によって 4p 欠失が証明された国内 8 施設合計 22 例の WHS 診断確定例を対象に、全例オリゴアレイ CGH 法を用いた欠失領域の精密診断を行った結果を、臨床所見と比較検討した。

2) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援

比較的頻度が高く受診患者数が多い疾患をはじめ、共有すべき重要な情報や新たな知見がある場合、臨床研究の推進との関連がある場合、新たに診断を受けた患児や集団外来開催の家族からの希望が多い場合などを勘案して疾患を選定して開催した。

C. 研究結果

1) マイクロアレイ解析に基づいた

Wolf-Hirschorn 症候群の遺伝型-表現型検討

a. 対象患者と解析結果

男 4 例、女 18 例、年齢は 7 ヶ月～18 才(中央値は 5 才 6 ヶ月)だった。欠失サイズは 2.06 Mb～29.42 Mb(中央値 8.77 Mb)だった。欠失サイズによって、6 Mb 以下を“小欠失”、6～15 Mb を“中欠失”、15 Mb 以上を“大欠失”と分けたところ、小欠失は 6 例、中欠失は 11 例、大欠失は 5 例であった。単純欠失が 17 例、他領域重複合併が 4 例、複雑モザイクが 2 例だった。

b. 欠失サイズによる合併症頻度について

小欠失では、先天性心疾患が 67%、骨格異常が 33%、腎奇形、眼奇形や口唇口蓋裂はなく、身体合併症は少なかった。中欠失では心疾患 91%、腎奇形 26%、眼奇形 18%、口唇口蓋裂 45%、骨格異常 36%と増加し、大欠失では、心疾患 100%、腎奇形 80%、眼奇形 60%、口唇口蓋裂 40%、骨格異常 60%とさらに高率であった。

c. 痙攣の合併について

痙攣は 22 例中 21 例に認められた。痙攣初発年齢は 1 ヶ月～30 ヶ月(中央値 9 ヶ月)で、痙攣重積は 70%が経験していた。難治性痙攣が 6 例、経過による改善・消失が 14 例にみられた。治療薬剤はバルプロ酸が 11 例と最も多かった。また、臭化カリウム(カルシウム)を投与されていた 4 例では、全例痙攣が改善していた。

本研究での症例と文献上の症例における痙攣の有無と 4 番染色体の欠失範囲の対応関係の調査からは、必ずしも LETM1 遺伝子領域の欠失と痙攣が一致せず、LEMT1 遺伝子より遠位(4p 端部から 0.76～1.3 Mb)領域が新たな痙攣発症の責任領域である可能性が示唆された。その領域に含まれる痙攣発症関連の候補遺伝子としては、CTBP1 や CPLX1 が想定された。

2) 臨床現場への研究成果の活用としての先天異常症候群集団外来による患児・家族支援

平成25年度に開催した集団外来を表1に示す。4月から12月まで、月2回を基本に、計15回開催した。参加家族数は4～27家族(平均12家族)、他県からの参加も平均3家族であった。すべての外来を合計すると、参加家族数は延べ181家族、参加人数は407名となった。

本年度新たな集団外来の試みとして、個別の疾患の枠を超えた疾患横断的な集団外来を開催した。1)ピット・ホプキンス症候群とモワット・ウィルソン症候群の合同集団外来。互いに稀少疾患であり、それぞれ3家族と2家族をフォロー中であった。2疾患ともに重度の発達遅滞などの共通する症状をもつ。共通点と差異とを意識しつつ、疾患の自然歴と健康管理の情報提供と家族間の交流を行ったが、アンケート結果では大変有意義との回答を得た。2)就学をテーマとした疾患横断的な集団外来。疾患の種類を問わず、共通して多くの患児・家族が遭遇する課題がある。その代表の1つが就学問題である。本年、この就学をテーマとして疾患横断的な集団外来を開催した。具体的には、個別の集団外来を開催している23疾患(発達遅滞を伴う)の患児の中で、2015年度就学予定(5才児)と2016年就学予定(4才児)のもの62名を選び、外来の案内を行った。その結果16人(総人数31人)が参加した。

D. 考察

WHSにおける全国8施設からの22例についてのマイクロアレイ解析による欠失範囲と臨床症との関連について検討した結果、特に痙攣の責任領域については、従来考えられていたLETM1領域単独での欠失はなく、CTBP1あるいはCPLX1領域までを含んだ欠失の場合に、特にリスク高い

可能性が示唆され、注意深いフォローアップが必要と考えられる。そういった症例には痙攣発症の早期から臭化物投与開始の検討が適当と考えられる。

各種先天異常症候群の集団外来については、あらたな試みとして、疾患横断的な集団外来にも取り組んだ。疾患は異なっても、共通した心配点をもつことは稀ではない。症状が類似する疾患同士、あるいは共通したテーマを設定しての集団外来は、きわめて稀少な疾患の集団外来開催の実現、また効率のよい情報提供と家族間での意見交換に役立つ一つの方法と考えられた。

E. 結論

本年度は、1)マイクロアレイ解析に基づいたWHSの遺伝型-表現型検討、ならびに2)患児・家族支援としての集団外来について、新たな疾患横断的な集団外来の試みも含めて、本年度も推進した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 論文発表

1. Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. Am J Med Genet A. 2013 161:2234-43.

2. Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. Am J Hum Genet. 2013 93:173-80
3. Takahashi M, Ohashi H. Craniofacial and dental malformations in Costello syndrome: A detailed evaluation using multi-detector row computed tomography. Congenit Anom. 2013 53:67-72
4. Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S,

Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. Am J Med Genet A. 2013 161:1221-37

2 . 学会発表
なし

H . 知的財産権の出願・登録状況

なし。

1 . 特許取得

なし。

2 . 実用新案登録

なし。

3 . その他

特になし。

表1. 2013年度開催 先天異常症候群集団外来開催状況

日付	疾患名	テーマ	家族数	参加人数	他県よりの家族数	他県よりの総人数
2013/4/30	18q-リング18症候群	疾患の自然歴と健康管理	6	11	1	2
2013/5/14	チャージ症候群	疾患の自然歴と健康管理	8	16	1	3
2013/6/4	5p-症候群	疾患の自然歴と健康管理	11	32	3	9
2013/6/11	コフィン・シリス症候群	疾患の自然歴と健康管理	6	14	2	5
2013/8/6	瞼裂狭小症候群	疾患の自然歴と健康管理	4	12	0	0
2013/7/2	ヤコブセン症候群	疾患の自然歴と健康管理	5	12	1	2
2013/8/27	ソス症候群	疾患の自然歴と健康管理	17	52	2	7
2013/9/3	22q11欠失症候群	疾患の自然歴と健康管理	17	35	2	6
2013/9/10	ルビンシュタイン・タイビ症候群	疾患の自然歴と健康管理	6	13	0	0
2013/10/8	ピット・ホプキンス症候群 モワット・ウィルソン症候群	疾患の自然歴と健康管理	5	13	2	5
2013/10/29	ヌーナン症候群	疾患の自然歴と健康管理	19	38	3	7
2013/11/5	疾患横断的研修会	就学について	16	31	5	11
2013/11/12	カブキ症候群	先輩のお母さんの話	17	32	11	22
2013/12/3	ウィリアムズ症候群	作業療法的発達特性	27	60	10	23
2013/12/17	ブラダー・ウィリー症候群	カレーバイキング	17	36	4	13

2013年開催回数 15回

2013年合計	181	407	47	115
2013年平均	12	27	3	8

分担研究報告書

Pitt-Hopkins 症候群およびその類縁疾患に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

Pitt-Hopkins症候群は重度精神運動発達遅滞、狭い側頭部・落ちくぼんだ眼・肉付きのよい頬部・太い鼻梁・M字型の上口唇と厚い下口唇を伴う大きな口・よく発達した下顎など特徴的顔貌、無呼吸を伴う間欠的過呼吸、出生後の小頭症、近視・斜視・乱視などの眼科異常、便秘、てんかん、協調運動障害、手の常同運動などを主要症状とする先天異常症候群である。MRIでは脳梁低形成や脳室拡大を認める。2007年に責任遺伝子が18番染色体に座位するtranscription factor 4 (TCF4) のハプロ不全が原因であることが判明した。その後、症候群としての認識が深まり、症例報告が増えている。大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科において、12例（1～16歳）のPitt-Hopkins症候群で遺伝子解析に関与した。これらの症例を臨床的に検討し、国内例の特徴を調べた。PTHSの認識が高まり、今後の研究が発展することが期待される。

共同研究者

川戸和美、山本悠斗、松田圭子、三島祐子
（大阪府立母子保健総合医療センター
遺伝診療科）

A．研究目的

Pitt-Hopkins症候群は重度精神運動発達遅滞、狭い側頭部・落ちくぼんだ眼・肉付きのよい頬部・太い鼻梁・M字型の上口唇と厚い下口唇を伴う大きな口・よく発達した下顎など特徴的顔貌、無呼吸を伴う間欠的過呼吸、出生後の小頭症、近視・斜視・乱視などの眼科異常、便秘、てんかん、協調運動障害、手の常同運動などを主要症状とする先天異常症候群である。MRIでは脳梁低形成や脳室拡大

を認める。18q21.1に座位するTCF4遺伝子が責任遺伝子である。

2007年に責任遺伝子が18番染色体に座位するtranscription factor 4 (TCF4) のハプロ不全が原因であることが判明した。その後、症候群としての認識が深まり、症例報告が増えている。

全例が優性遺伝で新生突然変異による発症である。男女ともに罹患する。ただし、PTHSは遺伝的異質性が存在する。一部に劣性遺伝のものがあり、責任遺伝子はcontactin associated protein like 2 (CNTNAP2) (7q35-36) neurexin 1 alpha (NRXN1) gene on the short arm of chromosome 2 (2p16.3)である。

B．研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター

遺伝診療科で当科症例で12例(1~16歳)のPitt-Hopkins症候群で遺伝子解析を行った。全コーディングエクソンをPCRで増幅し、産物を直接シーケンスした。(倫理面への配慮)マイクロアレイ染色体検査および遺伝子解析にあたり、保護者の代諾により書面で同意を得た。実施前後に認定遺伝カウンセラーによるカウンセリングを実施した。

C . 研究結果

12症例(1~16歳)のPitt-Hopkins症候群で遺伝子変異が同定できた。これらの症例について臨床遺伝学的に検討を行った。

変異については12例中11例が欠失、ナンセンス変異、フレームシフト変異、スプライス異常であり、遺伝子の機能が明らかに損なわれるものであった。1例はミスセンス変異であったが、これも病原性の高いと判断された。エクソン16からエクソン18にかけての領域で変異が集積する傾向があった。

多くの例は出生時の身体計測値は標準的であったが、身長は-2~3SD程度で小柄であった。出生時の頭囲も標準的であったが、小頭の傾向であった。TCF4を含む微細欠失例では頭囲は-2.5SDであった。しかし、頭囲が正常の例も存在した。全例、特徴的顔貌を認め、診断の契機となった。5例は未歩行で有意語獲得例はなかった。

国外の報告ではPitt-Hopkins症候群の診断で呼吸異常が重視されている。12

例中1例で呼吸異常を認めたのみであった。脳波異常を認めても発作はなく、てんかん治療中の例はなかった。手をたたく、机をたたく、手をなめる、口を触る、歯ぎしりなどの常動行動が見られた。手もみ動作からRett症候群と似た症状を認めた例がある。運動失調症もみられる。よく笑う傾向があり、Angelman症候群を疑われた例もあった。Rett症候群やAngelman症候群の検査を行った例があったが異常なかった。

Pitt-Hopkins症候群では、Walénの診断基準(表1)とMarangiらの診断基準(表2)とが存在する。表の左端に示した症状や所見によって、点数が決められ、総合点数でPitt-Hopkins症候群の疑い程度を決めるものである。詳細は参考文献に記載されている。Walénらの基準では15点以上がPitt-Hopkins症候群の遺伝子解析の対象とされるが、12例中10例が15点以上であった。他の2例も14点であった。Marangiの診断基準では、10点がカットオフとされるが、12例全例が11点以上であった。この二つの診断基準はPitt-Hopkins症候群の国内例でも診断の参考になると考えられた。両方の診断基準には取り入られていない所見であるが、指趾末節の腹側部の胎児性膨らみ(fetal pads)がPitt-Hopkins症候群でよくみられるという報告がある。今回の研究でも多くの症例で認められた。

臨床的にPitt-Hopkins症候群を強く疑ったが、TCF4遺伝子変異のない症例も数例存在した。マイクロアレイ染色体検

査では欠失はなく、染色体レベルの異常は否定された。両親と合わせてトリオで次世代シーケンサーによる解析を行い、一部の症例で病的な変異を同定しつつある。

D . 考察

Pitt-Hopkins症候群はAngelman症候群、Rett症候群、Mowat-Wilson症候群の鑑別として重要である。Dysmorphology的に診断を疑うことができる。欧米の症例で強調されている呼吸異常やてんかんは必ずしも多くなかった。呼吸異常に注目してしまうと診断を看過する可能性がでてくる。Marangiの診断基準とWalenらの診断基準を用いて客観的に診断することは有用と考えられた。日本でのPTHSの報告はまだ少なく、未診断例が多数存在すると思われる。遺伝子全体の欠失例があり、確定診断のためにはTCF4遺伝子解析とマイクロアレイ解析を併せて実施する必要がある。

両方の診断基準には取り入られていない所見であるが、指趾末節の腹側部の胎児性膨らみ (fetal pads) がPitt-Hopkins症候群でよくみられるという報告がある。今回の研究でも多くの症例で認められた。診断基準に取り入れてもよいと考えられた。ただし、このfetal padsは、歌舞伎症候群で多くみられる有名な所見であり、Pitt-Hopkins症候群に特有のものではないことに注意すべきである。

臨床的にPitt-Hopkins症候群に合致してもTCF4遺伝子に変異を認めない例も存在する。これは遺伝的異質性もあるが、全く別個の疾患の可能性がある。次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子解析が有用と考えられる。

現在、数家系で解析をすすめており、一部では有意な変異が確認できつつある。正確な診断により、発症機序の確認、病態の把握、さらには治療方法の開発にむけた研究が可能になると考えられる。

参考文献

Marangi G, Ricciardi S, Orteschi D, et al. The Pitt-Hopkins syndrome: report of 16 new patients and clinical diagnostic criteria. Am J Med Genet A. 2011;155A:1536-45.

Whalen S, Héron D, Gaillon T, et al. Novel comprehensive diagnostic strategy in Pitt-Hopkins syndrome: Clinical score and further delineation of the TCF4 mutational spectrum. Hum Mutat. 2012 ;33:64-72.

謝辞

Pitt-Hopkins症候群症例をご紹介いただいた先生方に深謝いたします。

F . 研究発表

別掲

G . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

表1 Whalen のスコア(岡本 訳)

多い所見	
深い眼窩	1
顔面正中部あるいは、または顔面下部の膨らみ	1
鼻	
目立つ鼻筋	1
広く、とがった鼻先	1
広がった鼻孔	1
口	
大きな口	1
テント状の上口唇/めだつ Cupid'	1
bow	
外にめくれた下口唇	1
神経系/行動面	
3歳以降で歩行開始あるいは3歳までの顕著な運動発達遅滞	2
失調性歩行	1
有意語なし	2
頭部あるいは上肢の常同運動	2
過呼吸	1
筋緊張低下	1
微笑	1
不安/興奮	1
斜視	1
通常見られない所見	
小頭症 < - 3SD	-2
過成長	-1
内臓奇形	-1
目的をもった上肢機能の喪失	-1

表2 Marangi によるスコア(岡本 訳)

典型的顔貌	4
部分的に PTHS を示唆する	2
中度から重度の精神遅滞	2
言語表出がない	2
重度の表出障害	1
出生時の発育正常	1
生後の小頭症	1
呼吸異常	1
協調運動障害	1
斜視・近視・不同視	1
便秘	1
てんかん	1
微細脳奇形	2
合計点数	20

重度精神遅滞と小脳低形成、肝線維腫の同胞例の臨床像に関する研究

研究分担者 水野誠司

愛知県心身障害者コロニー中央病院 臨床第一部長

研究要旨

原因不明の精神遅滞、小脳低形成、特徴的顔貌を有する同胞例について、その臨床所見の検討により、Joubert 症候群類縁疾患である COACH 症候群（JS-H）と臨床診断した。本症例についてその経過と顔貌の特徴を含め検討した。MRI 脳画像と臨床所見では、典型的な Molar Tooth Sign、脈絡膜欠損、肝脾腫と血小板減少、重度精神遅滞が見られ、過去の報告例と共通の特徴的な顔貌も認められた。本症は Dysmorphological にも認識しうる疾患であると考えられた。

研究協力者

黒澤健司（神奈川県立こども医療センター
遺伝科）

A．研究目的

多発奇形と知的障害を主訴とする診療において、Dysmorphology の診断は主として外表奇形や顔貌の特徴を元に診断するのであるが、しばしば内臓の奇形や合併症がその診断に有益な情報をもたらすことがある。

今回原因不明の精神遅滞、小脳低形成、特徴的顔貌を有する同胞例について、その臨床所見の検討により COACH 症候群と臨床診断した症例についてその経過と顔貌の特徴を含め報告し、その臨床像を明らかにし、今後の多発奇形症候群の診療に資することを目的とする。

B．研究方法

対象：愛知県心身障害者コロニー中央病院小児内科を受診中の精神遅滞、小脳低形成、特徴的顔貌を有する同胞例について、診療録、患者画像、家族への聴取によりその臨床所見を記載し、遺伝学的な解析も試みた。過去の文献的検討を含めて考察した。（倫理面への配慮）
当院通院中の患者は未成年でありかつ知

的障害を有するため、研究への参加としての情報の収集に際しては代理人である両親に対して説明を行い同意を得た上で、個人情報保護の観点から患者氏名が特定されることのないように留意した。写真の使用や研究報告への臨床情報の記載については書面で同意を得た。

C．研究結果

症例は、近親婚の無い 20 代の両親から在胎 34 週 2 日帝王切開で出生。出生時の身体計測値（体重, 身長, 頭囲）は男児：2046g, 42.0cm, 31.0cm、女児：1776g, 43.5cm, 30.0cm。ともに新生児期の呼吸障害はなく、両児とも生後 1 ヶ月時に両脈絡膜欠損と診断されている。男児は生後 3 ヶ月時の脳波で Multifocal spike を認めた。

男児の精神運動発達遅滞は最重度であり、言語理解はなく、寝返りも不可（DQ=8）。女児は簡単な言語理解、ジェスチャーによる意思表示が可能であり、他者とのコミュニケーションを楽しむ。食事動作が一部可能で寝返りも可（DQ16）。現在まで痙攣の既往はない。呼吸の異常は認められない。

その後成長障害と相対的大頭が見られるようになり、7 歳時（兄妹ともに）身長

-3.5SD, 体重約 -2.3SD, 頭囲約 -1.5SD。ついで原因の特定できない肝腫大と肝機能異常、脾腫と脾機能亢進が見られるようになった。

4歳頃から二児ともにAST, ALTの上昇がありその後肝脾腫が進行、8歳現在肋骨弓下4cmの肝腫大と脾腫によると考えられる血小板減少と貧血を認める。肝生検組織像は細胞浸潤のない門脈域の線維化を示す。

2症例には、薄い眉、目立つ額、切れ長の眼瞼裂、凹んだ眼、前額毛髪線高位、相対的大頭、短い人中などの特徴がみられた。

脳のMRI画像で、小脳虫部の低形成と脳幹のMolar toothサインと言われる特徴的な形態が見られ、Joubert症候群類縁疾患であると考え、肝機能異常と肝線維症の合併からCOACH症候群と称される、Joubert syndrome and hepatic disease(JS-H)と診断した。

遺伝学的検査として、染色体Gバンド分染法は正常核型。末梢血単核球から抽出した患児のゲノムDNAを用いたエクソーム解析で、COACH症候群の5個の責任遺伝子群(TMEM67, CC2D2A, RPGRIP1L, CEP209, INPP5E)を含む、21個のJoubert syndromeの病因遺伝子を探索したが、タンパクの構造と機能に影響を与えると考えられる変異は同定されなかった

D. 考察

COACH症候群は1974年にHunterらが初めて同胞例を報告、1989年にVerloesがその臨床症状をまとめて、主要所見(Cerebellar vermis, hypo/aplasia, Oligophrenia, congenital Ataxia, Coloboma and Hepatic fibrosis)の頭文字からCOACH症候群の名称を提唱した常染色体劣性遺伝形式の疾患である。

1999年Satranらが、肝障害を伴うJoubert症候群亜型と提唱した。2007年にBrancatiらが、TMEM67をその原因遺伝子として報告、2009年にDohertyらがさらに2つの遺伝子(CC2D2A and RPGRIP1L)

をその原因遺伝子として報告した。

今回私どもは双胎同胞例を臨床診断し、遺伝子解析にて原因と推定される変異を検索したが、有意な変異を同定し得なかった。

従来細胞の「遺残物」と認識されてきた一次繊毛は、細胞の極性や分裂軸に関わるため、脳や腎臓、心臓などの初期発生に関与し、この機能の破綻は様々な先天性疾患の原因となる。これらを総称して繊毛病(Ciliopathy)と称する。

COACH症候群は、Joubert症候群, Meckel症候群とその表現形が重なり、現在は、Joubert症候群関連疾患(JSRD)の1つとして分類される。遺伝学的異質性があり、複数の原因遺伝子がある。2010年にDohertyは23家系中19家系(約80%)にTMEM67の変異を同定し、一方古典的なJoubert症候群にはTMEM67の変異1%であると報告した。

脳瘤、指趾の奇形、腎及び肝の奇形など重度の多発奇形を有するMeckel-Gruber症候群はアレリックな疾患であり、COACH症候群のほとんどが複合ヘテロ変異であるのに対し、Meckel-Gruber症候群はホモ接合例が多い。

今回の2症例には、薄い眉、目立つ額、切れ長の眼瞼裂、凹んだ眼、前額毛髪線高位、相対的大頭、短い人中などの特徴がみられ、これらは、認識しうるDistinctiveな顔貌であり過去の報告例と共通する。

Joubert Syndromeとその類縁疾患は、主としてMRI画像と合併症状で診断されるために、従来その顔貌のDysmorphologyについての検討は極めて少ない。

今後の遺伝学的診断と並行して再度Dysmorphology及び臨床像の検討の余地があると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M.

Developmental changes in mental rotation ability and visual perspective-taking in children and adults with Williams syndrome. *Front Hum Neurosci.* 2013 Dec 11;7:856

2) Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oh-Ishi T, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y. Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013 Dec 19. [Epub ahead of print]

3) Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T. Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18. *Am J Med Genet A.* 2013 Dec 5. [Epub ahead of print]

4) Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, Kato M, Sasaki G, Mabe H, Watanabe Y, Yoshino M, Matsuishi T, Takanashi J, Shotelersuk V, Tekin M, Ochi N, Kubota M, Ito N, Ihara K, Hara T, Tonoki H, Ohta T, Saito K, Matsuo M, Urano M, Enokizono T, Sato A, Tanaka H, Ogawa A, Fujita T, Hiraki Y, Kitanaka S, Matsubara Y, Makita T, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, Matsumoto N, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013 Sep;161(9):2234-43

5) Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y,

Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitoh S, Sugiura-Ogasawara M. Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome. *J Obstet Gynaecol Res.* 2013 Nov;39(11):1545-7

6) Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ogata T, Takada F, Yano M, Ando T, Hoshika T, Barnett C, Ohashi H, Kawame H, Hasegawa T, Okutani T, Nagashima T, Hasegawa S, Funayama R, Nagashima T, Nakayama K, Inoue S, Watanabe Y, Ogura T, Matsubara Y. Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome. *Am J Hum Genet.* 2013 Jul 11;93(1):173-80.

7) Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, Homma T, Tanabe S, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Ohta T, Niikawa N, Mizuno S, Kaname T, Naritomi K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Miyatake S, Mizuguchi T, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature. *Am J Med Genet A.* 2013 Jun;161A(6):1221-37.

8) Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, Horikawa R, Miyoshi Y, Muroya K, Kondoh T, Numakura C, Sato S, Nakabayashi K, Tayama C, Hata K, Sano S, Matsubara K, Kagami M, Yamazawa K, Ogata T. Molecular and clinical studies in 138 Japanese patients with Silver-Russell syndrome.

PLoS One. 2013;8(3):e60105.

9) Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N. KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome. Hum Mutat. 2013 Jan;34(1):108-10

2. 学会発表

1) 水野誠司、橋本真帆、菱川容子、木村礼子、山田憲一郎、山田裕一、若松延昭 COACH症候群(JS-H:Joubert syndrome with hepatic disease)の双生児例 第58回日本人類遺伝学会 平成25年11月23日 仙台

2) 水野誠司、村松友佳子、谷合弘子、伊藤弘紀、三宅紀子、松本直通 カブキ症候群患児にみられたDIP関節拘縮と屈曲線消失 第53回日本先天異常学会学術集会 2013年7月21日 大阪

3) 村松友佳子、岡本伸彦、鈴森伸宏、要匡、柳久美子、谷合弘子、熊谷恭子、大林伸太郎、成富研二、齋藤伸治、杉浦真弓、水野誠司 BCOR遺伝子変異を認めたLenz microphthalmia syndromeにおける表現型の検討 第53回日本先天異常学会学術集

会 2013年7月21日 大阪

4) S. Mizuno, Y. Muramatsu, N. Miyake, N. Matsumoto Distal interphalangeal joint contracture and absence of flexion crease in paediatric patients with Kabuki syndrome with MLL2 mutation The European Human Genetics Conference Paris, June 8, 2013

5) Y. Muramatsu, H. Kakizawa, K. Shimizu, H. Ohashi, S. Hayashi, J. Inazawa, S. Mizuno Atypical interstitial deletion of 7q11.23 containing whole ELN and partial LIMK1: Phenotype comparison with typical Williams syndrome The European Human Genetics Conference Paris, June 8, 2013

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

診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者の病因解明

研究分担者 山本 俊至
東京女子医科大学統合医科学研究所・准教授

研究要旨

研究目的：前年度に引き続き診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者における網羅的ゲノムコピー数解析を行った。

研究方法：多発奇形・発達遅滞を示す患者のうち、従来の G-band 法では異常が認められなかった診断未定患者を対象にあらたにマイクロアレイを用いた解析を行った。異常が認められた場合には、基本的に FISH 法で確認し、de novo の有無を調べるために両親解析を行った。なお、本研究は学内の倫理委員会の承認に基づいて行われ、対象者からは書面によるインフォームド・コンセントを取得して行った。

研究結果：1 人の女性患者において、過去に報告のない Xq22 領域の約 3-Mb の微細欠失を認めた。DECIPHER database には数名の症例が登録されており、それらの登録施設と連携して症例の症状と染色体欠失について考察した。計 4 名の情報が得られ、そのうち 2 名の欠失範囲は当施設の症例と似通っており、特徴的な顔貌と重度精神発達遅滞、自傷などの行動障害が認められた。

結論：今回、診断未定多発奇形・発達遅滞を示す女性患者 1 名において、過去に報告のない Xq22 の微細欠失を認め、多施設共同研究により新たな染色体微細欠失症候群として報告した。この領域には先天性大脳白質形成不全症の原因遺伝子である PLP1 が含まれている。PLP1 の欠失により男性では先天性大脳白質形成不全症を発症するが、PLP1 を含む数 kb 程度の欠失しか報告がない。今回見つかった Xq22 の約 3-Mb の欠失は女性だけに見つかっており、男性では致死になるものと考えられる。

研究分担者氏名・所属機関名及び所属機関
における職名
山本俊至・東京女子医科大学統合医科学研
究所・准教授

A．研究目的

診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者においては、微細な領域のゲノムコピー数異常が関わっていることが多い。これらの患者を対象にマイクロアレイを用いた解析を行うと 17%程度で何らかの変異が認められる。今年度、新たに診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者を対象とした解析を行った。

B．研究方法

(1) 実施計画と経過

多発奇形・発達遅滞を示す患者のうち、従来の G-band 法では異常が認められなかった診断未定患者を対象にマイクロアレイを用いた解析を行った。異常が認められた場合には、基本的に FISH 法で確認し、de novo の有無を調べるために両親解析を行った。なお、本研究は学内の倫理委員会の承認に基づいて行われ、対象者からは書面によるインフォームド・コンセントを取得して行った。

症例は現在 3 歳の女性。健康な姉がいる。乳児期より筋緊張低下があり、重度の精神発達遅滞を示す。また、自分で頭を叩いたり、抜毛したりするなどの自傷行為が目立つ。頭部 MRI 検査では髄鞘形成も含め、明らかな異常はない。てんかんの既往もなく、脳波異常もない

(2) 倫理面への配慮

本研究においては患者情報に基づく遺伝子解析を行うことから、個人情報に配慮する必要があるため、東京女子医科大学の倫理委員会の承認を得て、書面に基づく説明と書面によるインフォームド・コンセントを得て実施した。収集される検体には、二重連結可能匿名化番号を付与し、匿名化番号、同意書のコピー1部、および患者情報票のコピー1部について個人情報管理者が管理した。個人情報と匿名化後のIDを連結する対応表はコンピューターの外部記憶装置に保存し、鍵のかかるキャビネット内で個人情報管理者が保管した。試料等に関するデータベースをコンピューターを用いて取り扱う場合は、インターネットや他のコンピューターから切り離れた状態で取り扱った。

C . 研究結果

マイクアロアレイ染色体検査で過去に報告の無い Xq22 の約 3-Mb の微細欠失を認めた。両親には欠失はなく、de novo 変異と考えられた。

D . 考察

DECIPHER database には似通った症例は数例登録されており、各登録施設と連携して臨床症状と染色体欠失との関連について解析した。その結果、女性における PLP1 遺伝子周辺の微細欠失は、逆三角形の顔貌、重度精神発達遅滞、自傷行為などの行動異常などの共通した症状を示すことが明らかとなり、新規染色体微細欠失症候群と考えられた。欠失範囲の複数の遺伝子が脳で高発現しており、これらの遺伝子の欠失が関連していると考えられたが、男性におけるこの領域の欠失は胎生致死になると考えられ、そのことが先天性大脳白質形成不全症患者において PLP1 領域の欠失を示す例が少ない原因であると考えられた。

E . 結論

今回、診断未定多発奇形・発達遅滞を示す女性患者において Xq22 の微細欠失を認め、他の複数の症例との比較から、新規染色体微細欠失症候群であると結論付けた。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
2. Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: MECP2 duplication syndrome in both genders. *Brain Dev* 35: 411-419, 2013.
3. Okumura A, Shimojima K, Kubota T, Abe S, Yamashita S, Imai K, Okanishi T, Enoki H, Fukasawa T, Tanabe T, Dibbens LM, Shimizu T, Yamamoto T: PRRT2 mutation in Japanese children with benign infantile epilepsy. *Brain Dev* 35: 641-6, 2013.
4. Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T: Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1779-85, 2013.
5. Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T: A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy. *Gene* 531:467-71, 2013.
6. Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 3p21.31 characterized by

- developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement. *Am J Med Genet* 161A: 3049-3056, 2013.
7. Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Okamoto N: Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4. *Am J Med Genet* 164A: 634-638, 2013.
 8. Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T: Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* (in press)
 9. Numata Y, Gotoh L, Iwaki A, Kurosawa K, Takanashi J, Deguchi K, Yamamoto T, Osaka H, Inoue K: Epidemiological, clinical, and genetic landscapes of hypomyelinating leukodystrophies. *J Neurol*. [Epub ahead of print]
 10. Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Yamamoto T: Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation. *Brain Dev* 35: 274-279, 2013.
 11. Shichiji M, Ito Y, Shimojima K, Nakamu H, Oguni H, Osawa M, Yamamoto T: A cryptic microdeletion including MBD5 occurring within the breakpoint of a reciprocal translocation between chromosomes 2 and 5 in a patient with developmental delay and obesity. *Am J Med Genet A* 161A: 850-855, 2013.
 12. Kobayashi S, Inui T, Wakusawa K, Tanaka S, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Yamamoto T, Haginoya K: A case of atypical benign partial epilepsy with action myoclonus. *Seizure* 22 : 242-245, 2013.
 13. Yamamoto T, Matsuo M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Aso S, Saito K: De novo triplication of 11q12.3 in a patient with developmental delay and distinctive facial features. *Mol Cytogenet* 6: 15, 2013.
 14. Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Niijima S, Urao M, Yamamoto T: Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 155-159, 2013.
 15. Usui D, Shimada S, Shimojima K, Sugawara M, Kawasaki H, Shigematu H, Takahashi Y, Inoue Y, Imai K, Yamamoto T: Interstitial duplication of 2q32.1-q33.3 in a patient with epilepsy, developmental delay, and autistic behavior. *Am J Med Genet A* 161A: 1078-1084, 2013.
 16. Sangu N, Shimosato T, Inoda H, Shimada S, Shimojima K, Ando T, Yamamoto T: A novel nucleotide mutation leading to a recurrent amino acid alteration in SH3BP2 in a patient with cherubism. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 166-169, 2013.
 17. Abe Y, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Yamamoto T, Kunishima S, Haginoya K: Bilateral periventricular nodular heterotopia with megalencephaly: a case report. *J Child Neurol* (in press).
 18. Okumura A, Hayashi M, Shimojima K, Ikeno M, Uchida T, Takanashi J, Okamoto N, Hisata K, Shoji H, Saito A, Furukawa T, Kishida T, Shimizu T, Yamamoto T: Whole-exome sequence for a unique brain malformation with periventricular heterotopia, cingulate

- polymicrogyria, and midbrain tectal hyperplasia. *Neuropathology* 33: 553-560, 2013.
19. Shimojima K, Tanaka R, Shimada S, Sangu N, Nakayama J, Iwasaki N, Yamamoto T: A novel homozygous mutation of GJC2 derived from maternal uniparental disomy in a female patient with Pelizaeus–Merzbacher-like disease. *J Neurol Sci* 330: 123-126, 2013.
 20. Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T: 109 kb deletion of chromosome 4p16.3 limited to WHSCR2 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome. *Am J Med Genet* 161A: 1465-9, 2013.
 21. Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T: Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism. *Am J Med Genet A* 161A: 2078-2083, 2013.
 22. Yamamoto T, Shimada S, Shimojima K: Fiber-FISH analyses as a diagnostic application for orientation of the microduplications. *World J Med Genet* 3; 5-8, 2013.
 23. Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T: Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination. *Brain Dev* 36: 315-321, 2014.
 24. Yamamoto T, Wilsdon A, Joss S, Isidor B, Erlandsson A, Suri M, Sangu N, Shimada S, Shimojima K, Le Caignec C, Samuelsson L, Stefanova M. An emerging phenotype of Xq22 microdeletions in females with severe intellectual disability, hypotonia and behavioral abnormalities. *J Hum Genet* (early on-line view)
 25. Yamamoto T, Mencarelli MA, Di Marco C, Mucciolo M, Vascotto M, Balestri P, Gérard M, Mathieu-Dramard M, Andrieux J, Breuning M, Hoffer MJV, Ruivenkamp CAL, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Umezu R, Kawame H, Matsuo M, Saito K, Renieri A, Mari F: Overlapping microdeletions involving 15q22.2 narrow the critical region for intellectual disability to NARG2 and RORA. *Eur J Med Genet* (early on-line view)

G . 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
岡本伸彦	神経皮膚症候群診断マニュアル	大槻泰介他	稀少難治てんかん診療マニュアル	診断と治療社	東京	2013	117-121
岡本伸彦	遺伝性疾患の発達と予後	氏家 達夫	発達心理学事典	丸善	東京	2013	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishikawa A, Enomoto K, Tominaga M, Saito T, Nagai JI, Furuya N, Ueno K, Ueda H, Masuno M, Kurosawa K.	Pure duplication of 19p13.3.	Am J Med Genet A.	61(9)	2300-4	2013
Nagase H, Ishikawa H, Kurosawa K, Furuya N, Itani Y, Yamanaka M.	Familial severe congenital diaphragmatic hernia: left herniation in one sibling and bilateral herniation in another.	Congenit Anom (Kyoto)	53(1)	54-7	2013
Takenouchi T, Hashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u>	1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay.	Am J Med Genet A.	164(2)	456-60	2014
Takenouchi T, Nishina S, Kosaki R, Torii C, Furukawa R, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u>	Concurrent deletion of BMP4 and OTX2 genes, two master genes in ophthalmogenesis.	Eur J Med Genet.	56(1)	50-53	2013
Takenouchi T, Enomoto K, Nishida T, Torii C, Okazaki T, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u>	12q14 microdeletion syndrome and short stature with or without relative macrocephaly.	Am J Med Genet A.	158(10)	2542-2544	2012

<p>Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshiihashi H, Takahashi T, Awazu M, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>158(10)</p>	<p>2537-2541</p>	<p>2012</p>
<p>Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u></p>	<p>Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>158(10)</p>	<p>2621-2623</p>	<p>2012</p>
<p>Kosaki R, Takenouchi T, Takeda N, Kagami M, Nakabayashi K, Hata K, Kosaki K.</p>	<p>Somatic CTNNB1 mutation in hepatoblastoma from a patient with Simpson-Golabi-Behmel syndrome and germline GPC3 mutation.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>		<p>Epub ahead of print</p>	<p>2014</p>
<p>Takeuchi T, Hayashida N, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K.</p>	<p>1p34.3 deletion involving GRIK3: Further clinical implication of GRIK family glutamate receptors in the pathogenesis of developmental delay.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>164(2)</p>	<p>456-60</p>	<p>2014</p>
<p>Takeuchi T, Shimizu A, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Saya H, Kosaki K.</p>	<p>Multiple café au lait spots in familial patients with MAP2K2 mutation.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>164(2)</p>	<p>392-6</p>	<p>2014</p>
<p>Sasaki A, Sumie M, Wada S, Kosaki R, Kuroswa K, Fukami M, Sago H, Ogata T, Kagami M.</p>	<p>Prenatal genetic testing for a microdeletion at chromosome 14q32.2 imprinted region leading to UPD(14)pat-like phenotype.</p>	<p>Am J Med Genet A.</p>	<p>164A(1)</p>	<p>264-6</p>	<p>2014</p>
<p>Kubo A, Shiohama A, Sasaki T, Nakabayashi K, Kawasaki H, Atsugi T, Sato S, Shimizu A, Mikami S, Tanizaki H, Uchiyama M, Maeda T, Ito T, Sakabe J, Heike T, Okuyama T, Kosaki R, Kosaki K, Kudoh J, Hata K, Umezawa A, Tokura Y, Ishiko A, Niizeki H, Kabashima K, Mitsuhashi Y, Amagai M.</p>	<p>Mutations in SERPINB7, Encoding a Member of the Serine Protease Inhibitor Superfamily, Cause Nagashima-type Palmoplantar Keratosis.</p>	<p>Am J Hum Genet.</p>	<p>7;93(5)</p>	<p>945-56</p>	<p>2013</p>

Takenouchi T, Hida M, Sakamoto Y, Torii C, Kosaki R, Takahashi T, Kosaki K.	Severe congenital lipodystrophy and a progeroid appearance: Mutation in the penultimate exon of FBN1 causing a recognizable phenotype.	Am J Med Genet A.	161(12)	3057-62.	2013
Nakajima M, Mizumoto S, Miyake N, Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, ほか	Mutations in B3GALT6, which Encodes a Glycosaminoglycan Linker Region Enzyme, Cause a Spectrum of Skeletal and Connective Tissue Disorders.	J Hum Genet.	6:92(6)	927-34	2013
小崎 里華	遺伝の基礎知識・考え方	月刊母子保健	12月号		2013
小崎 里華	遺伝性内分泌疾患に関する遺伝カウンセリング	内分泌・糖尿病・代謝内科	Vo137 No.4		2013
小崎 里華	先天異常の分類	小児科臨床	6 6 巻増刊号		2013
Miyake N, Koshimizu E, Okamoto N, Mizuno S, Ogata T, Nagai T, Kosho T, Ohashi H, ほか	MLL2 and KDM6A mutations in patients with Kabuki syndrome.	Am J Med Genet	A 161	2234-43	2013
Aoki Y, Niihori T, Banjo T, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Ohashi H, ほか	Gain-of-function mutations in RIT1 cause Noonan syndrome, a RAS/MAPK pathway syndrome.	Am J Hum Genet	93	173-80	2013
Takahashi M, Ohashi H.	Craniofacial and dental malformations in Costello syndrome: A detailed evaluation using multi-detector row computed tomography.	Congenit Anom	53	67-72	2013
Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, ほか	Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: detailed description of 21 patients and a review of the literature.	Am J Med Genet.	A 161	1221-37	2013
Fuke T, Mizuno S, Nagai T, Hasegawa T, Horikawa R, Miyoshi Y, Muroya K, Kondoh T, Numakura C, Sato S, Nakabayashi K, Tayama C, Hata K, Sano S, Matsubara K, Kagami M, Yamazawa K, Ogata T	Molecular and Clinical Studies in 138 Japanese Patients with Silver-Russell Syndrome.	PLoS ONE	8(3)	e60105	2013

Hirai M, Muramatsu Y, Mizuno S, Kurahashi N, Kurahashi H, Nakamura M.	Developmental changes in mental rotation ability and visual perspective-taking in children and adults with Williams syndrome	Front Hum Neurosci	11	856	2013
Shimizu K, Wakui K, Kosho T, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oh-Ishi T, Kawame H, Narumi Y, Ohashi H, Fukushima Y.	Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome.	Am J Med Genet A.	2013	Dec 19.[Epub ahead of print]	[Epub ahead of print]
Nishi E, Takamizawa S, Iio K, Yamada Y, Yoshizawa K, Hatata T, Hiroma T, Mizuno S, Kawame H, Fukushima Y, Nakamura T, Kosho T.	Surgical intervention for esophageal atresia in patients with trisomy 18.	Am J Med Genet A.	2013	Dec 5.	[Epub ahead of print]
Suzumori N, Kaname T, Muramatsu Y, Yanagi K, Kumagai K, Mizuno S, Naritomi K, Saitoh S, Sugiura-Ogasawara M.	Prenatal diagnosis of X-linked recessive Lenz microphthalmia syndrome.	J Obstet Gynaecol Res.	39(11)	1545-7	2013
Okamoto N, Ohmachi K, Shimada S, Shimojima K, Yamamoto T.	109 kb deletion of chromosome 4p16.3 in a patient with mild phenotype of Wolf-Hirschhorn syndrome	Am J Med Genet A.	161	1465-9	2013
Okamoto N, Fujii T, Tanaka J, Saito K, Matsui T, Harada N.	A clinical study of patients with pericentromeric deletion and duplication within 16p12.2-p11.2.	Am J Med Genet A.	164	213-9	2014
Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, Matsumoto N, Saitsu H.	PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy.	Neurogenetics.	In press		
Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Dalal A, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N.	Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder.	Clin Genet.	In press		

Miyake N, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, Niikawa N, Matsumoto N.	KDM6A Point Mutations Cause Kabuki Syndrome.	Hum Mutat	34	108-10	2013
Kosho T, Okamoto N, Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kawame H, ほか	Clinical correlations of mutations affecting six components of the SWI/SNF complex: Detailed description of 21 patients and a review of the literature.	Am J Med Genet A.	161	1221-37.	2013
Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Sakamoto M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N.	A de novo deletion at 16q24.3 involving ANKRD11 in a Japanese patient with KBG syndrome.	Am J Med Genet A.	161	1073-7	2013
Shimada S, Okamoto N, Hirasawa K, Yoshii K, Tani Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T.	Clinical manifestations of Xq28 functional disomy involving MECP2 in one female and two male patients.	Am J Med Genet A.	161	1779-85.	2013
Shimada S, Okamoto N, Nomura S, Fukui M, Shimakawa S, Sangu N, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T.	Microdeletions of 5.5 Mb (4q13.2-q13.3) and 4.1 Mb (7p15.3-p21.1) associated with a saethre-chotzen-like phenotype, severe intellectual disability, and autism.	Am J Med Genet A.	161	2078-83.	2013
Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, Maihara T, Chujoh S, Katayama T, Sakazaki H, Matsumoto N, Okamoto N.	A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis.	Am J Med Genet A.	161	2291-3	2013
Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N.	Performance Comparison of Bench-Top Next Generation Sequencers Using Microdroplet PCR-Based Enrichment for Targeted Sequencing in Patients with Autism Spectrum Disorder.	PLoS One.	8	E74167	2013
Kodera H, Nakamura K, Osaka H, Maegaki Y, Haginoya K, Mizumoto S, Kato M, Okamoto N, ほか	De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy.	Hum Mutat.	34	1708-14	2013
Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, ほか	Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome.	J Hum Genet.	58	822-4	2013

Ichikawa K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N.	Congenital disorder of glycosylation type Ic: report of a Japanese case.	Brain Dev.	35	586-9	2013
Yamamoto T, Shimojima K:	Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder.	Congenit Anom (Kyoto)	53	3-8,	2013.
Shimada S, Okamoto N, Ito M, Arai Y, Momosaki K, Togawa M, Maegaki Y, Sugawara M, Shimojima K, Osawa M, Yamamoto T	MECP2 duplication syndrome in both genders.	Brain Dev	35	411-419	2013
Shimada S, Maegaki Y, Osawa M, Yamamoto T:	Mild developmental delay and obesity in two patients with mosaic 1p36 deletion syndrome.	Am J Med Genet	161A:	1779-85	2013
Ishii A, Shioda M, Okumura A, Kidokoro H, Sakauchi M, Shimada S, Shimizu T, Osawa M, Hirose S, Yamamoto T	A recurrent KCNT1 mutation in two sporadic cases with malignant migrating partial seizures in infancy.	Gene	531	467-71	2013
Eto K, Sakai N, Shimada S, Shioda M, Ishigaki K, Hamada Y, Shinpo M, Azuma J, Tominaga K, Shimojima K, Ozono K, Osawa M, Yamamoto T	Microdeletions of 3p21.31 characterized by developmental delay, distinctive features, elevated serum creatine kinase levels, and white matter involvement.	Am J Med Genet	161A	3049-3056	2013
Yamamoto T, Togawa M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Okamoto N	Narrowing of the responsible region for severe developmental delay and autistic behaviors in WAGR syndrome down to 1.6 Mb including PAX6, WT1, and PRRG4.	Am J Med Genet	164A	634-638	2013
Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T	Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome.	Congenit Anom (Kyoto)			(in press)
Okumura A, Hayashi M, Tsurui H, Yamakawa Y, Abe S, Kudo T, Suzuki R, Shimizu T, Yamamoto T:	Lissencephaly with marked ventricular dilation, agenesis of corpus callosum, and cerebellar hypoplasia caused by TUBA1A mutation.	Brain Dev	35	274-279	2013
Yamamoto T, Matsuo M, Shimada S, Sangu N, Shimojima K, Aso S, Saito K:	De novo triplication of 11q12.3 in a patient with developmental delay and distinctive facial features.	Mol Cytogenet	6	15	2013
Shimojima K, Shimada S, Tamasaki A, Akaboshi S, Komoike Y, Saito A, Furukawa T, Yamamoto T	Novel compound heterozygous mutations of POLR3A revealed by whole-exome sequencing in a patient with hypomyelination.	Brain Dev	36:	315-321	2014

<p>Yamamoto T, Wilsdon A, Joss S, Isidor B, Erlandsson A, Suri M, Sangu N, Shimada S, Shimojima K, Le Caignec C, Samuelsson L, Stefanova M.</p>	<p>An emerging phenotype of Xq22 microdeletions in females with severe intellectual disability, hypotonia and behavioral abnormalities.</p>	<p>J Hum Genet</p>			<p>(early on-line view)</p>