

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 24 - 25 年度 総合研究報告書

研究代表者 黒澤 健司

平成 26 年（2014）年 3 月

# 目次

## ・総合研究報告

- 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

- 正常日本人における染色体欠失・重複のとりまとめ・・・ 18  
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・・・ 23  
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・・・ 27  
大橋博文

- マイクロアレイ解析による先天異常症候群の臨床研究・・・ 34  
岡本伸彦

- 先天多発奇形/知的障害(MCA/ID)患児を対象としたマイクロアレイスクリーニングの  
検討・・・ 37  
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・・・ 43  
山本俊至

- ・研究成果の刊行に関する一覧表・・・ 47

- ・研究成果に関する刊行物・別刷・・・ 56

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）  
総合研究報告書

**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。MCA/DD・IDは遺伝的異質性が極めて高く、全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査での解析が診断検査として最も有用であった。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。マイクロアレイ染色体検査適応症例、つまりMCA/DD・IDは少なくとも500出生に1例と考えられ、検査需要推定の参考データとなった。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病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。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）  
川上紀明（国家公務員共済組合連合会名城病院整形外科 部長）

### 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

我が国の乳児死亡および新生児死亡の原因の第1位は「先天奇形、変形および染色体異常」で20年以上変わらない。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。しかし病因別にみると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。研究班は実際にMCA/DD・IDの解析研究、および医療管理の専門家から構成した。発生頻度の推定、診断技術として期待されるマイクロアレイ染色体検査の有用性と需要、診断アルゴリズムの確立などをまとめた。1年目の目標である、診断そのものが困難である本疾患の診断アルゴリズムは学会報告をし、本疾患の診断技術の一つとして注目されるマイクロアレイ染色体検査の有用性

も明らかにした(黒澤健司、第115回日本小児科学会、第54回日本小児神経学会発表、第57回日本人類遺伝学会)。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

### 小児病院遺伝外来受診群を手掛かりとしたMCA/DD・ID発生頻度の推定

#### 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、1999年から2010年までの12年間の状況をまとめた。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、マイクロアレイ染色体検査など)を組み合わせて診断解析を進めた。診断分類としては、a) 既知症候群、b) 染色体異常症(染色体標準G分染法で確定が可能)、c) MCA/DD・ID(症状から既知症候群が想定できない)、d) その他(遺伝カウンセリング)の4つの範疇に受診症例を分類した。受診は院内併診と院外からの紹介によった。

#### b) 埼玉県立小児医療センター(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における直近の平成23年度1年間の遺伝科初診の統計を参考として集計した。

### 小児病院遺伝外来受診MCA/DD・ID集団に対するマイクロアレイ染色体検査の有用性

#### 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施の実態を検討した。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（小崎健次郎分担研究者）**

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、各施設ごとに粗データファイル（エクセル形式）から個人情報削除し、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。

東京女子医科大学統合医科学研究所では、診断ガイドラインに沿って新規 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った。

### **次世代シーケンサーによる染色体欠失の試み (小崎健次郎研究分担者)**

全遺伝子の翻訳領域をアジレント社 SureSelect を用いて濃縮した後、イルミナ

社 MiSeq によりシーケンシングを行った。シーケンス断片をソフトウェア bwa を用いてヒトの参照配列 (hg19) に整列させた。さらに、ソフトウェア GATK により局所的な整列を行った。完全に重複して PCR のアーチファクトと考えられる断片についてはソフトウェア Picard を用いて除去したのち、各塩基あたりの読み深度を評価した。正常検体由来の読み深度の平均値を求め、検体の読み深度と比較した。分析のアルゴリズムに Li らの Contra プログラムを用いた。対話的に解析を進めるための独自のスクリプトを作成した。

分析のパラメータはデフォルトの値を用いた。得られた領域は bed ファイル形式に変換し、ゲノムデータ表示ソフトウェア igv により表示した。既知のコピー数多型 (欠失・挿入) を、公的データベースより入手し、同時に表示させた。

### **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**

### **小児病院遺伝外来受診群を手掛かりとした MCA/DD・ID 発生頻度の推定**

#### **a) 神奈川県立こども医療センター (黒澤分担研究者)**

遺伝外来受診状況は、神奈川県内の小児

遺伝性疾患・先天異常の発生状況を反映し、さらに医療ニーズも反映していることが推察される。1999年から2010年までの12年間に神奈川県立こども医療センター遺伝外来を受診した3663例を診断・受診内容別に分類し、その受診傾向からMCA/DD・IDは少なくとも500出生に1例で、この推測値は最小見積もりとみなされた。

#### b) 埼玉県立小児医療センター（大橋研究分担者）

平成23年度の遺伝科初診341例を検討した。染色体異常症が130例、診断不明（MCA/MR）が66例（19%）であった。ダウン症を除いた場合にはMR/MCAは27%を占めた。

#### 小児病院遺伝外来受診 MCA/DD・ID 集団に対するマイクロアレイ染色体検査の有用性

##### a) 神奈川県立こども医療センター（黒澤）

MCA/DD・ID557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。

##### 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

診断が未確定の先天多発奇形/精神遅滞（MCA/MR）患者を特定のキーワードを用いて抽出した42例を対象に、マイクロアレイ染色体検査（限界感度約150Kb）を順次施行し、4名のコピー数異常を診断した。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

マイクロアレイCGH解析を行った49症例のうち、解析終了37症例、結果陽性6症例であった（2012年4月 - 2013年3月）。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）**

4施設・健常人63名から575か所のCNVデータが得られた。複数施設の複数検体で共通して重複もしくは欠失している部位が確認された。

### **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。

### **次世代シーケンサーによる染色体欠失の試み（小崎健次郎研究分担者）**

アレイ CGH 検査で16番染色体短腕に欠失を認める患者について次世代シーケンサーを用いた解析でも、欠失を証明することができた。一方で、アレイ CGH では欠失の無い範囲についても欠失が示唆された。アレイ CGH 検査をゴールドスタンダードと考えるならば、Contra による解析結果の特異度が低いと予測される。

### **D. 考察**

MCA/DD・ID は遺伝的異質性が極めて高く、結果として全ゲノムを対象とするマイクロアレイ染色体検査での解析が診断検査として最も確実であることが分かった。適応症例（需要）は少なくとも500出生に1例と考えられ、遺伝外来受診集団を手掛かりとした場合、2つの小児病院の結果はほぼ一致したものであった。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検出率も、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(2013年度も含めた検出率は、現在集計中)。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、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。さらに、これまでメンデル遺伝病と考えられていた複数の疾患の病因解明の手掛かりとなる情報もえることができた。

マイクロアレイ染色体検査を施行するにあたっての注意点は日本小児遺伝学会ホームページでも喚起されており、今回の多施設研究でも Dismorphology の経験が豊富な臨床遺伝専門医が行っているので、適正に施行されたと言える。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有用性も提示することができた。しかも、次世代シーケンサーの有用性は網羅的解析としての有用性だけでなく、シーケンスのリード数を CNV 変換することによる、マイクロアレイ染色体検査の代替の可能性も提示することができた。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。

一方で、基本となる解析アルゴリズムを

具体的検出率と合わせて提示して提言することもできた。マイクロアレイ染色体検査が広く臨床検査として用いられる基礎資料となることが期待される。

## 1) 達成度

第1年目の目標である診断未定多発奇形・発達遅滞(MCA/DD・ID)の発生頻度の推定、MCA/DD・IDの診断確定のためのマイクロアレイ染色体検査の解析精度と需要、診断アルゴリズムの確立、「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」との連携、MCA/DD・ID症例の病態の把握、を達成することができた。第2年目の目標の、診断アルゴリズムに基づく具体的な診断指針は、マイクロアレイ染色体検査の適応、検出されたCNVの解釈アルゴリズム、CNVの解釈分類、などとして、レビューとしてまとめることができた(2013)。医療管理指針は、マイクロアレイ染色体を臨床検査として進める際の具体的な注意事項をレビューとしてまとめた(2013)。ホームページでの公開を予定としているが、現在計画途中で、未達成となっている。

## 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義

海外発表および英文発表合わせ、複数提示することができ、我が国の多発奇形・発達遅滞研究のレベルの高さを示すことができた。社会的意義については、アルゴリズムを示すことによって、一般臨床医がこうした多発奇形・発達遅滞の医療に一定の理解を示し、検査プランが立てやすくなることが期待される。こうした医療サイドの理解は結果としてその疾患の予後改善につながる。また、疾患の診断と原因を明らかにすることにより、遺伝カウンセリング

を通して再発リスクの評価と予後を明確に示すことができるので、結果として予後改善につながると思われる。根本治療は得られないものの、こうした社会的意義を通しての予後改善に期待したい。

## 3) 今後の展望について

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。

## 4) 研究内容の効率性について

マイクロアレイ染色体検査の対費用効率については、極めて安定した陽性検出率から確認することができた。これは、適応症例を適切に選択した各分担研究者・研究協力者の臨床判断に由来する。研究の効率を考える上で、複数の施設を比較検討したことは極めて意義深いと思われた。

研究成果から一足飛びに我が国の多発奇形・発達遅滞症例の医療の向上は期待できない。基準や指針を明らかにしたことは、一般臨床医の理解を得ることに有用な資料の提示につながる。我が国の多発奇形・発達遅滞症例の医療の向上の基盤整備に相当すると思われる。

## 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】

Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K. A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy. *Pediatr Radiol* 2012;42:380-2.

Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui M, Masuno M. Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia. *Cong Anom* 2012;52:78-81.

Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.2;p12.3). *Cong Anom* 2012;52:106-110.

Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M, Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masun M, Yamada K, Kurosawa K. Expression Analysis of a 17p Terminal Deletion, including YWHAЕ, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl. *Am J Med Genet Part A* 2012;158A:2347-2352.

Soneda A, Teruya H, Furuya N, Yoshihashi H, Enomoto K, Ishikawa A, Matsui K, Kurosawa K. Proportion of malformations and genetic disorders among cases encountered at a high-care unit in a children's hospital. *Eur J Pediatr* 2012;171:301-5.

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, 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*. 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)
- 2 . 学会発表  
【黒澤健司】
- Kurosawa K, Enomoto K, Kondoh T, Mizuno S, Adachi M, Muroya K, Yamanouchi Y, Nishikawa T, Furuya N, Tominaga M, Kuroda Y, Naruto T, Ida K, Sengstag T, Manabe R, Masuno M. Trio-exome sequencing identifies mutations of the gene encoding the histone acetyltransferase KAT6B/MYST4 in individuals with the Young-Simpson syndrome. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Kuroda Y, Saito T, Nagai J, Ida K, Naruto T, Masuno M, Kurosawa K. Microdeletion of 19p13.3 in a girl with Peutz-Jeghers syndrome, intellectual disability, hypotonia, and dysmorphic features. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Enomoto K, Sugawara Y, Hotate H, Motoyoshi Y, Hatai Y, Mizutani S, Kurosawa K. TSC2-PKD1 contiguous deletion syndrome with aortic stenosis and severe myopia. 62nd America Society of Human Genetics, San Francisco 2012.11.6-10.
- Kurosawa K, Tominaga M, Furuya N, Enomoto K, Saito T, Nagai J, Masuno M, Hamanoue S, Shiomi M, Kigasawa H. 1p22 microdeletion represents a novel contiguous gene syndrome associated Diamond-Blackfan anemia. 2012 European Society of Human Genetics 2012.6.23-26. Nürnberg
- 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 NXPH2 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
- 【小崎里華】**
- 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 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, TTsunoda T, Kato M, Saitoh S, Yamasaki M, Y 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

なし  
2 . 実用新案登録  
なし  
3 . その他  
なし

#### **H . 知的財産権の出願・登録状況**

1 . 特許取得

## 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

遺伝子変異は、影響を受ける領域の大きさによって分類される。単塩基から数十塩基の変異、数百塩基～数千塩基の変異、100000塩基以上の欠失や重複など、変異の大きさによって検出に最適な分析法が異なる。単塩基から数十塩基の変異については次世代シーケンサーの実用化にともない、比較的容易に検出されるようになった。さらに大きい欠失や重複の検出にはマイクロアレイ染色体検査が用いられる。患者の症状から遺伝子変異の型・大きさを予見することは困難であるため、シーケンシングないしマイクロアレイ染色体検査を行い、変異が同定されなければ、もう片方の分析を行うというserial analysisを行うことが一般的である。このことは検査コストの増加や検査プロトコルの複雑化の原因となっている。本研究では、次世代シーケンサーを用いて点変異の検出に並行して、欠失や重複の検出が可能かどうかを検討した。染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因の候補遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。

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の情報を機械的に個人情報に完全に削除した上、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。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。また、次世代シーケンサー解析に際して、これらのCNVの情報を勘案することが必要と考えられた。

### A. 研究目的

<次世代シーケンサーを用いた染色体欠失検出の試み>

遺伝子の異常は、その大きさによって分類される。一塩基置換や数塩基の欠失・重複はSanger法により検出される。単一エクソンより大きな欠失はMLPA法、100キロベースを超えるような欠失はFISH法で検出される。患者の症状から遺伝子変異の型・大きさを予見することは困難であるため、シーケンシングないしマイクロアレイ染色体検査を行い、変異が同定されなければ、もう片方の分析を行うというserial analysisを行うことが一般的である。このことは検査コストの増加や検査プロトコルの複雑化の原因となっている。

近年、一塩基置換や数塩基の欠失は次世代シーケンサーによって比較的簡便に検出できるようになった。次世代シーケンサーは技術的な制約からアーチファクトとして点変異が発生する。これを避けるために同じ塩基を多重に読み取る原理となっている。同じ塩基を読む回数を読み

深度と称する。欠失ないし重複のある部分は欠失・重複の無い領域と比較して読み深度が減少ないし増加する。読み深度の増減を統計的に評価し、欠失・重複を判定できる可能性が期待されている。点変異の解析のために次世代シーケンサーから得られる出力を用いて単一エクソンより大きな欠失や、100キロベースを超えるような欠失が検出できれば、遺伝子診断の臨床応用に大きく貢献出来る。本研究では、塩基レベルでlog比を評価することによりg c含量によるバイアスを避けるという原理にもとづくアルゴリズムにより遺伝子欠失の検出を試みた。

<アレイデータの集積>

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、健常な両親から得られた日本人のCNVデータを集積し、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

### 方法1(NGSを用いた染色体欠失検出の試み)

全遺伝子の翻訳領域をアジレント社 SureSelectを用いて濃縮した後、イルミナ社 MiSeqによりシーケンシングを行った。

シーケンス断片をソフトウェアbwaを用いてヒトの参照配列(hg19)に整列させた。さらに、ソフトウェアGATKにより局所的な整列を行った。完全に重複してPCRのアーチファクトと考えられる断片についてはソフトウェア Picardを用いて除去したのち、各塩基あたりの読み深度を評価した。正常検体由来の読み深度の平均値を求め、検体の読み深度と比較した。

分析のアルゴリズムにLiらのContraプログラムを用いた。対話的に解析を進めるための独自のスクリプトを作成した。

分析のパラメータはデフォルトの値を用いた。Li J, Lupat R, Amarasinghe KC, Thompson ER, Doyle MA, Ryland GL, Tothill RW, Halgamuge SK, Campbell IG, Gorringer KL. *Bioinformatics*. 2012 15;28:1307-13. CONTRA: copy number analysis for targeted resequencing.

得られた領域はbedファイル形式に変換し、ゲノムデータ表示ソフトウェアigvにより表示した。既知のコピー数多型(欠失・挿入)を、公的データベース

(<http://projects.tcag.ca/variation/downloads/variation.hg19.v10.nov.2010.txt>)より入手し、同時に表示させた。

例えば、chr16\_del.sorted.bedをcontraの出力、既知のコピー数多型のある領域をvariation.h19.sorted.bedとした場合

```
bedtools subtract -a chr16_del.sorted.bed -b variation.h19.sorted.bed >
```

```
chr16_del_nocnp.sorted.bed
```

として結果を得た。

### 方法2(アレイデータの集積)

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

施された患児の両親とした。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)。

これらのデータはとりまとめに際してはカスタムのソフトウェアをこども医療センターに配布し、こども医療センター内で個人情報を削除した上、20人分のデータを単一データファイルとした。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た。

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

### 結果1

アレイCGH検査で16番染色体短腕に欠失を認める患者について次世代シーケンサーを用いた解析結果を示す。Contraによる解析によっても、16番染色体上に欠失を証明することができた(付図)。

一方で、アレイCGHでは欠失の無い範囲についても欠失が示唆された。アレイCGH検査をゴールドスタンダードと考えるならば、Contraによる解析結果の特異度が低いと予測される。

### 結果2

健常人20名から共通して重複もしくは欠失している部位が確認された。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で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、複数力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

### 考察1

染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。一方で特異度の点からは臨床応用のためには解決すべき課題を認めた。特に正常対照を増やし、統計的な検出力を高めること、点変異の検出とシームレスに実施できるようなパイプラインとすること、などと思われる。Contraと同じ目的で用いられるプログラムとして隠れマルコフモデルを用いたアルゴリズム等(XHMM)も新たに発表されており、各プログラムのパフォーマンスの比較が必要と思われる

## 考察2

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。

また、次世代シーケンサー解析に際して、これらのCNVの情報を勘案することが必要と考えられた。

## E . 結論

染色体の欠失の検出に次世代シーケンサーが利用できることが示された。特異度については評価が不十分であるものの、疾患原因の候補遺伝子の推定などの探索的な検討には有用であると期待された。

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、不可欠なリ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
- 6) Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*. 2012;158(3):514-518.
- 7) Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K. EEC syndrome-like phenotype in a patient with an IRF6 mutation. *Am J Med Genet A*. 2012;158(5):1219-1220.
- 8) Takenouchi T, Nakazawa M, Kanemura Y, Shimozato S, Yamasaki M, Takahashi T, Kosaki K. Hydrocephalus with Hirschsprung disease: severe end of X-linked hydrocephalus spectrum. *Am J Med Genet A*. 2012;158(4):812-5.
- 9) Tanaka R, Takenouchi T, Uchida K, Sato T, Fukushima H, Yoshihashi H, Takahashi T, Tsubota K, Kosaki K. Congenital corneal staphyloma as a complication of Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A*. 2012;158(8):2000-2002.
- 10) Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R. Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi

syndrome. Congenit Anom .  
2012;52(2):82-86.

- 11) Nomura T, Takenouchi T, Fukushima H, Shimozato S, Kosaki K, Takahashi T. Catastrophic Autonomic Crisis With Cardiovascular Collapse in Spinal Muscular Atrophy With Respiratory Distress Type 1. J Child Neurol. 2012 Aug 16.
- 12) Osumi T, Miharuru M, Fuchimoto Y, Morioka H, Kosaki K, Shimada H. The germline TP53 mutation c.722 C>T promotes bone and liver tumorigenesis at a young age. Pediatr Blood Cancer. 2012;15;59(7):1332-3.

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

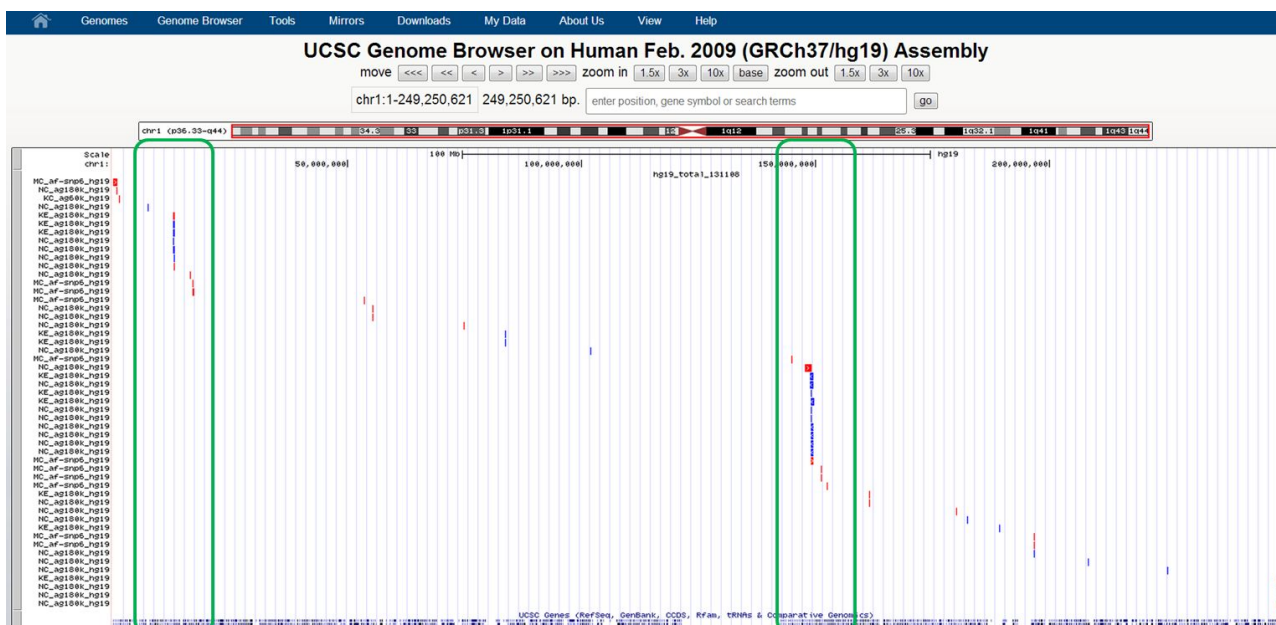
(表1)

日本人正常人に認められる欠失・重複範囲を示す BED 形式ファイルの一部  
第1カラムは染色体番号、第2カラムは始点、第3カラムは終点。  
右端のカラムは欠失・重複の種別で、-は欠失を示し、+は重複を示す。

```
hg19_total_131108.bed
track name=hg19_total_131108 description="hg19_total_131108" visibility=2 visibility=2 colorByStrand="255,0,0 0,0,255"
chr1 1189360 1446873 KC_ag60k_hg19 0 +
chr2 89606481 90234023 KC_ag60k_hg19 0 -
chr2 13664684 14293009 KC_ag60k_hg19 0 +
chr2 89441848 90234023 KC_ag60k_hg19 0 -
chr2 89441848 90234023 KC_ag60k_hg19 0 -
chr3 70921422 71041666 KC_ag60k_hg19 0 -
chr3 41457495 41614509 KC_ag60k_hg19 0 -
chr3 70921422 71113993 KC_ag60k_hg19 0 -
chr3 174159572 174622270 KC_ag60k_hg19 0 +
chr4 104027285 104118000 KC_ag60k_hg19 0 +
chr6 32485173 32565064 KC_ag60k_hg19 0 -
chr6 32485173 32604038 KC_ag60k_hg19 0 -
chr7 72044007 72286210 KC_ag60k_hg19 0 -
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 39258894 39386158 KC_ag60k_hg19 0 +
chr8 3583303 4767606 KC_ag60k_hg19 0 -
chr10 55040578 56196446 KC_ag60k_hg19 0 -
chr14 20253739 20376267 KC_ag60k_hg19 0 -
chr14 20253739 20376267 KC_ag60k_hg19 0 +
chr15 31014508 31077833 KC_ag60k_hg19 0 -
chr15 31014508 31077833 KC_ag60k_hg19 0 -
```

(図1)

日本人正常人に認められる欠失・重複範囲をゲノムブラウザー上で表示した例  
表示範囲のうち、青色は欠失を、赤色は重複を示す。  
緑色で囲った範囲については相当数の正常人で欠失ないし重複を認めることから、日本人の正常多型であると理解される。





## 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

診断そのものが困難である多発奇形・発達遅滞の診断アルゴリズムを確立し、本疾患の診断技術の一つとして注目されるマイクロアレイCGHの有用性を明らかにする。診断未定例の症例登録を行い、「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携を図り、発生頻度の推定も行う。

### 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。

また「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携のため、通常アレイCGHで解析されるサイズの遺伝子欠失が次世代シーケンサーによって検出可能かどうかの検討を行った。解析のためにはコンピュータプログラムContraを使用している。

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。

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

24-25年度、マイクロアレイCGH解析を行った対象は87症例、解析終了84症例、結果陽性8症例であった(2012年4月-2014年3月)。眼球の発生に関わる遺伝子の2重欠失の症例、18番環状染色体モザイクによるPitt-Hopkins症候群症例、全前脳胞症-裂手・裂足症(Hartsfield症候群)がXq24重複により発症すること、8q24.3欠失(1.8Mb)症例、15q11.2欠失(4.9Mb)症例であり、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い、国内・国際学会、国際誌に発表することが出来た。

「難病・がん等の疾患分野の医療の実用化事業」と連携のため、通常アレイCGHで解析されるサイズの遺伝子欠失が次世代シーケンサーによって検出精度の検討を行った。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。アレイCGHにより検出された欠失範囲を次世代シーケンサーの結果のビューアーであるigvで表示させるスクリプトを作成した。

## 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・網羅的解析が望ましく、アレイCGHは、極めて有用であることが実証された。

当施設における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、アレイCGHは商業ベースでは一部の検査会社が受託しているが、自費診療で高額な点が問題となっている。有用性において立証できたことから、今後は、真の臨床応用、すなわち、保険収載を含めベッドサイドでの国民への還元が求められると考える。

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。現時点では、アレイCGHによる欠失範囲を次世代シーケンサーで確実に検出することは困難であり、アレイCGH検査の実施が必須であると考えられた。一方、点変異はアレイCGH検査によって検出することは不可能であり、両者は相補的な検査であると判断された。

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 CTNNB1 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

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*. 56(1):50-3.2013

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*. 158(A)(10):2621-3.2012

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*. 158(A)(10):2537-41.2012

Kosaki R, Nagao K, Kameyama K, Suzuki M, Fujii K, Miyashita T. Heterozygous tandem duplication within the PTCH1 gene results in nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Am J Med Genet A*. 158(7):1724-28.2012

Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R. Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*. 52(2):82-6.2012

Miyazaki O, Nishimura G, Sago H, Horiuchi T, Hayashi S, Kosaki R.

Prenatal diagnosis of fetal skeletal dysplasia with 3D CT. *Pediatr Radiol*. 42(7):842-52.2012

Kosaki R, Kaneko T, Torii C, Kosaki K. EEC syndrome-like phenotype in a patient with an IRF6 mutation. *Am J Med Genet A*. 158A(5):1219-20.2012

Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K. Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations. *Am J Med Genet A*. 158A(3):514-8.2012

Okamoto N, Hayashi S, Masui A, Kosaki R, Oguri I, Hasegawa T, Imoto I, Makita Y, Hata A, Moriyama K, Inazawa J. Deletion at chromosome 10p11.23-p12.1 defines characteristic phenotypes with marked midface retrusion. *J Hum Genet*. 57(3):191-6.2012

Kasahara M, Sakamoto S, Kanazawa H, Karaki C, Kakiuchi T, Shigeta T, Fukuda A, Kosaki R, Nakazawa A, Ishige M, Nagao M, Shigematsu Y, Yorifuji T, Naiki Y, Horikawa R. Living-donor liver transplantation for propionic acidemia. *Pediatr Transplant*. 16(3):230-4.2012

小崎里華 : 先天異常の分類 小児科臨床 66 巻増刊号 2013

## 2. 学会発表

Narumi Y, Nishina S, Tokimoto M, Aoki Y, Kosaki R, Kosho T, Murata T, Takada F, Fukushima Y. Missense mutation of *MAF* in a Japanese pedigree with congenital cataract. *American Society of Human Genetics*, 2013

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 *FBN1* causing a recognizable phenotype.  
European Society of Human Genetics, 2013  
6.9

Shimizu A, Torii C, Suzuki N, Mutai, J, Kudoh H, Kosaki R, Matsuunaga T, Kosaki K. Rapid and efficient mutation in the hundreds of target genes by bench-top next generation sequencer with custom target capture method.  
American Society of Human Genetics, 2012

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 連合に類似する多発奇形症例 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, XYYYYY 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.

岡田 朋美 大柴 葉子 佐々木 愛子 谷口 公介 杉林 里佳 住江 正大 和田 誠司 柿島 裕樹 小

須賀 基通 小崎 里華 小澤 伸晃 左合 治彦: 羊水検査において FISH 法 (AneuVysion) と G-band 法で異なった核型結果が得られた 2 例 第 57 回 日本人類遺伝学会 2012.10.26

藤田 秀樹 小崎 里華: 当院で経験した未診断の発達遅滞・先天性多発奇形症例のアレイ CGH 解析 (続報) 第 57 回 日本人類遺伝学会 2012.10.26

和田 友香 花井 彩江 佐々木 愛子 藤田 秀樹 小崎 里華: 近四倍体と 18 トリソミーのモザイクの 1 女児例 第 57 回 日本人類遺伝学会 2012.10.26

藤田秀樹 小崎里華 : アレイ CGH で 1q24-q25 領域に欠失を認めた精神運動発達遅滞児についての検討 第 52 回 日本先天異常学会 2012.7.6

武内俊樹 下郷幸子 山崎麻美 小崎里華 小崎健次郎 高橋高雄: L1CAM 変異により発症した先天性水頭症と Hirshsprung 病の合併例 第 54 回 日本小児神経学会総会 2012.4.19

柳橋達彦 小崎健次郎 小崎里華 吉橋博史 井原正博 高橋孝雄: Williams 症候群における欠失範囲の大きさと発達遅滞の重症度との関係 第 115 回 日本小児学会学術集会 2012.4.22

一宮優子 石黒精 中館尚也 前川貴伸 小崎里華 藤田秀樹 阪井裕一 : TPO 受容体作動薬が有効であった 3p12-13 欠失の難治性慢性 ITP 第 115 回 日本小児学会学術集会 2012.4.22

藤田 秀樹 小崎里華 : アレイ CGH で 2p 部分欠失を認めた自閉症患者についての検討 第 35 回 日本小児遺伝学会学術集会 2012.4.19

## 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

## 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 科長

### 研究要旨

本分担研究として以下の4課題を行った。1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定。埼玉県立小児医療センターにおける平成23年度の遺伝科初診341例を検討した。染色体異常症が130例、診断不明(MCA/MR)が66例(19%)であった。ダウン症を除いた場合にはMR/MCAは27%を占めた。2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価。同センターでの平成23年度に実施した染色体検査(FISHを含む)の総数は275件(異常検出率27%)、遺伝子検査(シーケンス解析)は88件(異常32%)、全サブテロメアMLPA解析40例(異常13%)、遺伝子内エキソン単位の欠失・重複MLLPA解析40例(異常率14%)、MS-MLPA解析34例(異常26%)、マイクロアレイ解析76例(異常11%)だった。3) 先天異常症候群の集団外来による家族支援。患者家族への情報の還元と心理支援の実践を目的としたもので、平成24年度は、6月から12月まで、毎月2回、計14回の外来を開催した。参加家族数は2~30(平均12)家族、他県からの参加家族も平均3家族あった。アンケート(回収率67%)では、とてもよかった71%、よかった28%をあわせて99%。どちらでもないとの評価の方が1名のみであった。平成25年度は、計15回の外来を開催した。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)であり、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。新たな形態の集団外来として、個別の疾患の枠を超えた疾患横断的な集団外来の開催も試みた。4) Wolf-Hirschhorn症候群(WHS; 4pモノソミー症候群)の遺伝子型-表現型関連の検討。国内8施設合計22例のWHS確定例を対象に、オリゴアレイCGH法を用いた欠失領域の解析結果を、臨床所見と比較検討した。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、LEMT1遺伝子より遠位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。

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

多発奇形・発達遅滞例の確定診断を行うことは、その後に疾患特異的自然歴情報に基づいた健康管理の前提となる。しかし、種々の遺伝学的検査法の進歩によっても未だに臨床診断ならびに遺伝学的確定診断のなされない診断未定患者が多く存在する。平成24年度の分担研究として、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

支援に関する次の3点について行うこととした。

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定。2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価。3) 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。さらに、平成25年度は、上記3)の継続とともに、4) マイクロアレイ解析に基づいたWolf-Hirschhorn症候群の遺伝子型-表現型検討も行った。

### B. 研究方法

### 1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定

埼玉県（人口約700万人；年間出生数約6万人）の小児医療施設である埼玉県立小児医療センターの平成23年度の遺伝科初診の統計を集計した。

### 2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価

埼玉県立小児医療センターの平成23年度の遺伝学的検査の実施の実態を検討した。

### 3) 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

種々の先天異常症候群について、疾患集団外来の開催を通じた患者家族への情報提供と心理支援の実践を行う。基本的に毎月2疾患を取り上げて、埼玉県立小児医療センターに通院中の患者家族に郵送で集団外来開催の案内を行い、事前申し込みの予約を行う。集団外来のプログラムは、医療サイドからの情報提供と自由意見交流会か、自由意見交流会単独とした。これらの集団外来の進行コーディネーターは医師ではなく認定遺伝カウンセラーが担当した。取り上げる疾患の選定については、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決定した。

平成24年度には、参加者にアンケートを行った。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った。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ったこととした。

### 4) 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

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。

## C. 研究結果

### 1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定

平成23年度1年間の遺伝科初診患者を集計した結果、受診総数は341例で、そのうち染色体異常症が130例（ダウン症：94、18トリソミー：3、13トリソミー：2、4pモノソミー：2、18qモノソミー：2、その他は各々1例ずつ）、そして診断不明（MR/MCA）例が66例（19%）であった。このうち、全県下からの当センターへの紹介率が際立って高いダウン症を除いた247例中のMR/MCAの占める割合は27%であった。

### 2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価

平成23年度の遺伝学的検査の実施の実態を検討した。a) 染色体検査（FISHを含む）の総数は275件であった。そのうち異常は75例（異常検出率27%）で、常染色体数的異常7、性染色体数的異常3、構造異常19、微細欠失9であった。残り200例（23%）は異常がなかった。b) 遺伝子検査はPCR-ダイレクトシーケンス解析を総計9種類の遺伝子に関して延べ88例に施行した結果の異常検出率は32%だった。MLPA解析としては、全サブテロメア解析が40例（異常率13%）、遺伝子内エキソン単位の欠失・重複解析が40例（異常率14%）、インプリンティング疾患であるPrader-Willi/Angelman症候群、Russell-Silver/Beckwith-Wiedeman症候群のMS-MLPA解析が34例（異常率26%）であった。c) マイクロアレイ解析は76例に行い異常率は11%であった。

### 3) 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24年度に開催した集団外来の状況を表1に示す。本年6月から12月まで、毎月2回、計14回の開催だった。参加家族数は2~30（平均12）家族、他県からの参加家族も平均3家族あった。ア

ンケート(回収率67%)では、とてもよかった71%、よかった28%をあわせて99%。どちらでもないとの評価の方が1名のみであった。

平成25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(表2)。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。平成25年度の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。

#### 4) 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、他領域重複併発が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。

#### D. 考察

診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定のため、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における直近の平成23年度1年間の遺伝科初診の統計を参考として集計した。その結果、診断不明(MR/MCA)例が66例(19%)であった。このうち、全県下からの当センターへの紹介率が際立って高いダウン症を除いた247例中のMR/MCAの占める割合は27%であった。これはいまだ臨床診断あるいは遺伝学的原因診断がなし得ていない患児が多く存在することを示している。

一方、確定診断のための遺伝学的検査の施行実績を同様に埼玉県立小児医療センター遺伝監査室の1年間の実績から検討したところ、染色体検査(FISHを含む)、PCR-ダイレクトシーケンスによる遺伝子検査、MLPAによる全サブテロメア解析と遺伝子内エキソン単位の欠失・重複解析、

MS-MLPAによるインプリンティング疾患解析、マイクロアレイ解析と多様な解析法を必要に応じて選択して施行しており、その異常検出率はおおむね10-30%程度であった。

先天異常症候群のほとんどは稀少疾患である。それゆえに、診断された患者家族の不安と孤独は深いものとなる。先天異常症候群の診断と健康管理のためのフォローアップは医療機関で行われる。その医療機関で開催される集団外来は、上記の不安と孤独をもつ患者家族の心理的支援として大変有益と思われる。また新たに、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。

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投与開始の検討が適切と考えられる。

## E . 結論

1) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の発生頻度の推定、2) 診断未定多発奇形・発達遅滞例の遺伝学的検査実態評価、3) 患児・家族支援としての集団外来の推進、4) マイクロアレイ解析に基づいたWHSの遺伝型-表現型検討、を行った。遺伝学的解析技術には著しい進歩があるが、小児医療において診断未定多発奇形・発達遅滞例はいまだ数多く存在する。効率のよい診断アルゴリズムの開発によって診断率の向上をはかり、診断後の自然歴情報に基づくよりよい健康管理を目指すことが重要である。

## F . 健康危険情報

なし

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

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, Saito 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

5. Fujii K, Ohashi H, Suzuki M, Hatsuse H, Shiohama T, Uchikawa H, Miyashita T. Frameshift mutation in the PTCH2 gene can cause nevoid basal cell carcinoma syndrome. Fam Cancer. 12:611-4, 2013
6. Nishimoto H, Mochizuki H, Iida M, Ohashi H. Patient with terminal 9 Mb deletion of chromosome 9p: Refining the critical region for 9p monosomy syndrome with trigonocephaly. Congenit Anom 53: 49-53, 2013
7. Iijima K, Someya T, Ito S, Nozu K, Nakanishi K, Matsuoka K, Ohashi H, Nagata M, Kamei K, Sasaki S. Focal segmental glomerulosclerosis in patients with complete deletion of one WT1 allele. Pediatrics 129: e1621-5, 2012

## 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.平成24年度開催 先天異常症候群 日付順開催状況とアンケート結果											
日付	疾患名	参加人数	家族数	他県より 家族数	他県より 総人数	アンケート					アンケート 回収率
						とてもよ かった	よかった	どちらで もない	あまり よくな かった	よくな かった	
2012/6/12	ウィリアムス症候群	65	24	9	20	13	4				70.83%
2012/6/19	18q-・リング18症候群	21	8	1	2	7					87.50%
2012/7/10	2q-症候群	6	2	0	0	1					50.00%
2012/7/31	2回コフィンシリシス症候群	15	7	0	0	3	3				85.71%
2012/8/21	ラッセルシルバー症候群	15	6	1	2	1	1				33.33%
2012/8/28	ヤコブセン症候群(11q-症候群)	9	3	0	0	2					66.67%
2012/9/11	コストロ症候群	13	6	0	0	3	3				100.00%
2012/9/18	ソトス症候群	28	15	3	3	10	3				86.67%
2012/10/16	22q11欠失症候群	61	30	3	4	19	9				93.33%
2012/10/19	WAGR症候群	12	7	1	2	3	2	1			71.43%
2012/11/13	コルネリアデランゲ症候群	25	10	1	6	2	2				40.00%
2012/11/20	モザイクDS	23	8	0	0	2	2				50.00%
2012/12/11	カブキ症候群	29	17	8	14	6					35.29%
2012/12/18	ブラダー・ウィリー症候群	49	25	17	7	未	未				
	2012年開催回数 14回										
	2012年合計	371	168	44	60	72	29	1			
	2012年平均	26.50	12.00	3.14	4.29	71.0%	28.0%	1.0%			66.98%

表2. 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・シリシス症候群	疾患の自然歴と健康管理	6	14	2	5
2013/8/6	陥裂狭小症候群	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	ソトス症候群	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	ウィリアムス症候群	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



## マイクロアレイ解析による先天異常症候群の臨床研究

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

マイクロアレイ染色体検査では G 分染法で同定されない微細な染色体異常症が多数診断可能となった。新規微細欠失（重複）症候群も発見されている。先天異常症候群の正確な診断と科学的な病態の解釈は、合併症など経過を予測する上でも重要である。患者をフォローする中で、蓄積した自然歴情報を生かすことにつながる。遺伝形式がわかれば、正確な遺伝カウンセリングが可能になる。平成 24 年度はマイクロアレイ染色体検査の最近の実施例から、メンデル遺伝病の責任遺伝子を含む領域を欠失し、その遺伝病に加えて付加的な症状を呈した症例を報告した。平成 25 年度は新しい先天異常症候群である Pitt-Hopkins 症候群についてマイクロアレイや遺伝子解析を用いて検討を行った。

### 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）

山本俊至

（東京女子医科大学統合医科学研究所）

マイクロアレイにて病的意義があると判断されるコピー数の変化を認め、メンデル遺伝病の責任遺伝子を含む欠失が判明した 5 症例を提示する。

（症例 1）2p24.3 欠失による Feingold 症候群  
多発先天異常、重度精神運動発達遅滞例において、マイクロアレイ解析により、MYCN を含む 2p24.3 の欠失を認めたため、Feingold 症候群と診断した。  
Feingold 症候群は小頭症、指趾奇形、食道閉鎖ないし十二指腸閉鎖、精神遅滞を主要症状とする。常染色体優性遺伝性疾患である。

本例は消化管の先天異常はなかったが、MYCN を含む 2p24.3 の欠失を認めたので、Feingold 症候群と診断し、発達遅滞の原因を同定することができた。

### A. 研究目的

研究分担者が勤務する大阪府立母子保健総合医療センターで診療を行った多発先天異常・発達遅滞症例で、通常の染色体検査で異常を認めなかった症例に対してマイクロアレイ染色体検査を行った。具体的な事例を通じてマイクロアレイ染色体検査の有用性を検討することが本研究の目的である。

### B. 研究方法

精神運動発達遅滞や多発先天異常を有し、通常の染色体検査（G 分染法、FISH 法など）で異常を認めなかった症例。マイクロアレイ解析は共同研究者の東京女子医科大学統合医科学研究所などにおいて実施した。解析にあたっては遺伝カウンセリングを実施し、書面で親に意思確認を行った。結果の説明にあたっては遺伝カウンセリングを実施した。

（症例 2）15q14 欠失による Legius 症候群  
精神運動発達遅滞、ヌーナン症候群様所見、体幹部にカフェオーレ斑の例で、染色体 15q14 に SPRED 1 遺伝子を含む微細欠失を認めた。  
SPRED1 遺伝子は RAS-MAPK 経路に関わる遺伝子で、ヌーナン症候群や神経線維腫症類縁疾患のひとつである、Legius 症候群（neurofibromatosis type 1-like syndrome）の責任遺伝子である。本例も臨床所見とあわせ、Legius 症候群と診断した。

### C. 研究結果

（症例 3）2q24 微細欠失による SCN1A 欠失

前頭縫合早期癒合、精神運動発達遅滞、乳児期発症のてんかん症例において、*SCN1A*(電位依存性ナトリウムチャンネルサブユニット1型蛋白)遺伝子などを含む、染色体2q24の微細欠失を認めた*SCN1A*は乳児重症ミオクロニーてんかん(SME)、Dravet症候群 [OMIM#607208]の責任遺伝子である。

(症例4) *TWIST1* 遺伝子欠失による Saethre-Chotzen 症候群

重度精神運動発達遅滞、右冠状縫合早期癒合症において、Saethre-Chotzen 症候群が疑われ *TWIST1* 遺伝子解析が行われたが変異はなかった。欠失の可能性を考えてマイクロアレイ染色体検査を行った。*TWIST1* を含む 7p21.1-15.3 の欠失を認めた。

(症例5) *MITF* を含む 3p14 欠失による Waardenburg syndrome type IIA

重度精神運動発達遅滞、先天性難聴、多発先天異常を認めたために欠失の可能性を考えてマイクロアレイ染色体検査を行った。その結果、*MITF*(microphthalmia-associated transcription factor) を含む 3p14 欠失を認めた。

平成25年度は、Pitt-Hopkins 症候群12例についてまとめた。本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)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。

## D. 考察

症例1から5はメンデル遺伝病の責任遺伝子を欠失し、ハプロ不全による発症を認めた。

マイクロアレイ染色体検査の実施により、児の病態を客観的に説明することが可能であった。5例とも染色体中間部欠失であり、発症は突然変異と考えられた。性腺モザイクなどの特殊な例外を除けば、同胞の罹患の可能性は非常に低いということになる。これは同胞の罹患の可能性について説明を行う際、重要な所見である。

ある症候群を疑ったが遺伝子診断で変異がなかった場合は、微細欠失を考えてマイクロアレイ染色体検査を行う必要がある。マイクロアレイ異常例では主要な責任遺伝子以外の近傍の遺伝子も同時に欠失するため、他の異常を合併したり、精神運動発達遅滞が重度になる傾向がある。

Pitt-Hopkins 症候群は最近までほとんど認知されていなかったが、12例が確定診断できた。マイクロアレイで欠失を認めた例もあった。

Pitt-Hopkins 症候群では、Walenの診断基準(とMarangiらの診断基準とが存在する。平成25年度の研究対象例でも多くの症例が診断基準に適合した。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も欠失はなく、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。

## E. まとめ

平成24年度研究ではマイクロアレイ染色体検査でメンデル遺伝病の責任遺伝子を含む領域を欠失した5例を報告した。

あるメンデル遺伝病を疑って遺伝子解析をしても異常がなかった場合はマイクロアレイ染色体検査が有効である。欠失範囲に含まれる遺伝子を検討することにより、今後注意すべき合併症がわかる場合もある。

平成25年度はPitt-Hopkins 症候群については、12例の特徴をまとめた。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。

マイクロアレイ染色体検査や候補遺伝子解析で異常を認めない症例においては次世代シーケンサーを用いた解析が次の段階の解析として必要と考えられる。

## **F. 健康危険情報**

特になし

## **G. 研究発表**

論文

別掲

## **H. 知的財産権の出願・登録**

なし

## 先天多発奇形/知的障害（MCA/ID）患児を対象としたマイクロアレイスクリーニングの検討

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

多発奇形/精神遅滞を有する先天異常児の臨床において、疾患名の診断はその臨床経過と身体的所見から Dysmorphology の知識を利用して行う方法と、特定の領域に絞らず全ゲノム領域をを対象に遺伝学的変化を検出する俯瞰的検査法がある。マイクロアレイ染色体検査は近年一般病院においても導入されはじめ、臨床レベルでの利用が進んでいる。

今回研究分担者の所属する病院診療科に通院中の患者から、染色体 G バンド分染法と全サブテロメア FISH 解析でのスクリーニングを経て診断が未確定の先天多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) 患者 66 例を対象に、マイクロアレイ染色体検査 (限界感度約 150Kb) を順次施行し、10 名のコピー数異常を診断した。10 例中 5 例は過去に報告があり症候群として OMIM に登録されている染色体微細異常症候群であったが、3 例について過去に症例報告が文献検索で該当、2 例は現在欠失領域との関連を検討中である。先天多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) の一般診療において、染色体 G 分染法及び全サブテロメア FISH 解析で異常を検出できない症例の約 15% にマイクロアレイ解析で異常を検出し、マイクロアレイによる先天異常症の原因検索スクリーニングの有用性は高いと考えられた。

### 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

原因の特定できない多発奇形/精神遅滞を有する先天異常児の臨床において、その病因的疾患名の診断はその臨床経過と身体的所見から Dysmorphology の知識を利用して行う方法と、特定の領域に絞らず全ゲノム領域をを対象に遺伝学的変化を検出する俯瞰的検査法を併用する。マイクロアレイ染色体検査は染色体 G バンド分染法に次ぐ俯瞰的検査方法として近年一般病院においても導入されはじめ、臨床レベルでの利用が進んでいる。

今回我々は当該医療施設に通院中の患児を対象に、染色体 G バンド分染法と全サブテロメア FISH 解析でのスクリーニングを経て診断が未確定の先天多発奇形/精神遅滞 (MCA/MR) 患者を抽出し、マイクロアレイ染色体検査を施行し、有意な

結果が得られた症例についてその臨床症状と解析結果について記載し検討する。

#### B. 研究方法

1) 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 バンド分染法及び全サブテロメア FISH 解析で異常が検出されていない症例を抽出対象とした。

2) 該当した診断未定の MCA/MR 患児を対象に、保護者の同意を得られた症例に対して、マイクロアレイ解析 (アジレント社 Array-CGH (Human Genome CGH Microarray 60A Kit, Agilent と Technologies, Santa Clara, CA)) を施行する。

3) 異常所見を呈した患児についてその臨床所見を提示し、OMIM データベース及び過去の症例報告と比較検討する。

## C . 研究結果

診断未特定の複数の大奇形または小奇形をと  
もなう患者は 122 名。過去 3 年以内に通院歴が  
ある症例 114 例から家族の同意の得られた 66 名  
をマイクロアレイ解析の対象とした。

その結果 10 例に病因と考えるコピー数の異  
常を認めた。以下に症例の概容を記載する。

症例 1 ) T.Y. 5 歳男児。

臨床所見：小腸閉鎖、特徴的顔貌、精神遅滞、  
成長障害

アレイ結果 arr 17p11.2 (16,865,923 -  
618,904,953) x 3

17p11.2 に約 2.0Mb の重複。FISH 解析にて  
17p11.2 Smith-Magenis Syndrome 領域のシグナ  
ルの過剰を認めた。

診断： Potocki-Lupski 症候群

### 臨床経過

在胎 40 週、出生時体重 2710g、身長 49.4cm、頭  
囲 31.0cm で正常経膈分娩で出生。出生後の腹部  
膨満があり小腸閉鎖の診断で開腹手術を受ける。  
運動発達の遅れに生後半年頃に気づかれる。

始歩は 20 ヶ月。

特徴的身体所見として、平坦な鼻根、内眼角  
贅皮、眼瞼裂斜下、斜視を認める。第 5 指短小  
はなし。循環器合併症なし。脂腺母斑あり。現  
在の身体計測値 SD は、身長-1.5SD、体重-2SD、  
頭囲-0.5SD。3 歳時の発達指数 61 ( KIDS 乳幼児  
発達スケール )。やや多動傾向があり、他者の反  
応を楽しむ明るい性格特性がある。

症例 2 ) K.M. 4 歳女児 先天性心疾患、精神  
運動発達遅滞、難治性てんかん

arr17p13.2p13.1(4,387,305-7,352,329) x 1

診断： 17p13.1-p13.2 領域に 3.0Mb の欠失

在胎 40 週 0 日に近親婚のない健康な 24 歳の母  
と 26 歳の父から正常経膈分娩で出生。出生時体  
重 3424g、身長 52.5cm、頭囲 34.5cm の標準計測

値。新生児期に心雑音を認め心房中隔欠損と動  
脈管開存症を診断。筋緊張低下が強く運動発達  
の遅れを認める。2 歳半でつかまり立ち可。人見  
知りなく、言語理解言語表出無し。3 歳から脱力  
を伴うてんかん発作が始まり、この頃から自発  
運動が減少し退行を認める。視覚反応が減少し  
黄斑の低形成 ~ 無形成を認めた。

特徴的身体所見として、頭蓋骨早期癒合なし  
幅広の口蓋垂 ( + ) 比較的小さな手足  
を認める。

脳画像は MRI で海馬萎縮。脳波異常を認め現在  
難治性痙攣の加療中。循環器合併症として心房  
中隔欠損 PDA を有する。眼科的合併症として豊  
内斜視。

過去に同部位の欠失例の報告が無く、現在の臨  
床症状との関連を検討中である。

症例 3 ) O.M. 3 歳女児。口唇口蓋裂、先天  
性心疾患、出生前後の成長障害、眼瞼裂狭小眼  
瞼下垂

アレイ結果： arr 16p13.3 (1,206,922 -  
6,552,944) x 3

診断： 16p13.3 重複症候群 (OMIM613458)

在胎 37 週で出生。出生時体重 1682g、身長 41.5cm、  
頭囲 29cm、36 歳の母と 35 歳の父から出生。出  
生前に口唇口蓋裂と先天性心疾患を診断、出生  
後新生児期に口唇裂と粘膜下口蓋裂、難聴、臍  
ヘルニア、外反足を診断される。フォロー四徴  
症を 1 歳 1 ヶ月時に根治術。

出生時から眼瞼裂狭小が認められ、開眼時も  
瞳孔を覆う眼瞼下垂を伴うため、1 歳 3 ヶ月時に  
眼瞼挙上術を受けた。主な身体所見

3 歳児の計測値 ( SD ) : 身長-2.6SD、体重-1.6SD、  
頭囲-3.2SD。

特徴的所見としてカールした毛髪、眼瞼裂狭小、  
眼瞼下垂、薄い眉毛、内眼角贅皮、眼間開離。  
耳介：耳介変形 ( 対耳輪上脚の欠損、耳介低位 )  
口唇裂、口蓋裂、巨舌。四肢：肘関節の拘縮 短  
い母指、母指の近位付着、第 5 指内彎短小。精  
神運動発達：



3歳時で寝返り可、はいはい不可、坐位不可。有意語無し、言語理解は数語。对人的関心と軽度の人見知りはある。

症例4) H.M 2歳女児 精神発達遅滞、二分口蓋垂裂、特徴的顔貌。

arr16p13.11p12.3(15,492,317-18,112,776) × 3  
診断: 16p13.11 重複症候群

患児は、2歳女児。37歳の母と39歳の父から、在胎38週で出生。出生時体重2946g、身長49cm、頭囲34cm。現在の身体計測値は、身長-1.2SD、体重-1.5SD、頭囲-0.7SD。

二分口蓋垂 薄い頭髪 薄い爪 流涙がないを認める。脳画像異常なし。眼科的合併症として斜視があり1歳時に治療。母は強迫神経症の通院歴。

症例5) I.J. 1歳男児: 鎖肛、著しい成長障害、小脳虫部低形成、

arr2p16.1p14(60,676,037-65,731,798) × 1  
診断: 2p14p16.1に約5Mbの欠失、2p16.1-p15欠失症候群(MIM612513)

在胎39週、27歳の母と29歳の父から出生時体重2484g、身長44.5cm、頭囲31cmで正常経膈分娩で出生。出生時に低位鎖肛と小頭を認めた。

その後、僧帽弁逆流、頭蓋骨早期閉鎖、斜視、指関節の伸展制限を診断されている。成長障害が著しく、1歳6ヶ月時の身体計測値SDは、身長-6SD、体重-3.4SD、頭囲-5SDである。精神運動発達遅滞があり、1歳6ヶ月時に寝返り可、坐位不可。1時間毎に覚醒する睡眠障害がある。頭部MRIにて小脳虫部低形成を認める。

過去に報告がある2p16.1-p15欠失症候群(MIM612513)の欠失領域を含み、脳形成異常、指の形態など過去の報告例と類似しており検討中である。

症例6) O.M. 4歳女児 臨床診断: 多発奇形、精神遅滞、先天性心疾患、眼瞼裂狭小。

アレイ結果: arr 16p13.3(1,206,922-6,552,944) × 3

16p13.3 重複症候群

36歳の母と35歳の父から、在胎37週で出生。出生時体重1682g、身長41.5cm、頭囲29cm。

現在の身体計測値SDは、身長-2.6SD、体重-1.6SD、頭囲-3.2SD。

特徴的身体所見として、彎曲した爪 内眼角贅皮 カール頭髪 眼瞼裂狭小を認める。循環器合併症としてファロー四徴症。眼科的合併症として眼瞼下垂 眼瞼裂狭小。耳鼻科的合併症として高度難聴(80-90db)

症例7) H.T 8歳男児

特徴的顔貌、軽度精神遅滞、関節過伸展

アレイ結果: arr Xp21.1 (32,466,962 - 34,371,98) × 3

診断: Xp21.1に約1.9Mbの欠失

本領域には、BMD/DMD筋ジストロフィーに関連するDMD遺伝子の領域を含む。MLPAでの検討で、Dp427C~エクソン29に重複を認める。重複領域に他のOMIM遺伝子は無く、本重複と臨床症状の関係は不明。

症例8) K.F. 12歳男児

軽度精神遅滞、心房中隔欠損症、特徴的顔貌

arr 8p23.1 (7,753,524-11,841,90) × 1

出生時体重2690g、身長45.1cm、頭囲31cm。

現在の身体計測値SDは、身長-.5SD、体重-.5SD、頭囲-2SD。特徴的身体所見として、第5指軽度短小、歯列不整、cowlick hair 後頭部。第4指の屈曲制限135度。頂部の生え際のUpsweetを認める。

症例9) K.T. 眼瞼裂狭小、軽度精神遅滞、特徴的顔貌

arr 10q22.2q22.3(76,741,585-78,399,732) × 1  
診断：10q22.2 に約 1.6Mb の欠失  
6 歳男児。健康な両親（出生時母 27 歳、父 44 歳）の第 2 子として正期産にて出生。出生体重 3514g、身長 51cm、頭囲 35.5cm。新生児期には特記すべき異常や哺乳力不良は認められていない。3 ヶ月時に眼瞼下垂/眼裂狭小と特徴的顔貌を指摘。運動発達の遅れはなく始歩 11 ヶ月。1 歳時斜視が目立つようになる。2 歳時に眼瞼下垂に対して眼瞼形成術。3 歳時身長+1.5SD、体重+2SD、頭囲+0.1SD。耳介は形成の異常があり耳介の位置は低く後方回転している。眉毛は薄く上方に凸である。鼻は低く鼻根部は幅広く扁平。頭髪の量は標準的である。眼瞼裂狭小、眼間開離を認める。四肢に特記すべき異常なし。母指及び母趾の大きさは他の指趾と比べて標準的な大きさ。歯牙早期萌出、及び軽度のエナメル質の低形成を認める。発達は始歩 11 ヶ月。2 歳児の KIDS 乳幼児発達スケールで総合発達指数 96（運動 108、言語理解 84、表出言語 60 以下）、人なつっこい性格である。

症例 10) S.Y 1 歳男児 多発奇形/精神運動発達遅滞  
arr 1q21.3q22(154,187,018-156,132,842) × 1  
診断：1q21.3 領域の 1.9Mb の欠失

在胎 40 週、出生時体重 2535g、身長 49cm、頭囲 31.5cm。1 歳時の身体計測値 SD は、身長-2SD、体重-2.4SD、頭囲-1SD。特徴的身体所見として、斜視 upsweep hair 停留精巣 陰嚢低形成 翼状頸 右前耳瘻孔を認める。脳画像は異常なし眼科的合併症として斜視。同領域の欠失は過去に報告例が 1 例ある。

## D . 考察

過去 3 年以内に通院歴がある症例 114 例から家族の同意の得られた 66 名をマイクロアレイ解析の対象とした。

その結果 10 例に病因と考えるコピー数の異常を認めた。病院として有意なコピー数異常と

考え得る症例のうち、OMIM に登録されている疾患は約半数であり、半数はその解釈を求められる。日常の小児科、小児の臨床遺伝外来での先天異常症の診療において患者にその結果をフィードバックするためには、患者家族自身がこの解釈が必要であるという結果の意義を理解する必要があり、十分に理解するためには遺伝カウンセラーの関わりも重要であろう。

## E . 結論

染色体 G 分染法及び全サブテロメア FISH 解析で異常の検出できない症例の約 15% にマイクロアレイ解析で異常を検出した。先天異常の臨床においてマイクロアレイ法の有用性は高いと考えられた。

## F . 健康危険情報

なし

## G . 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
- 10) Takanashi J, Okamoto N, Yamamoto Y, Hayashi S, Arai H, Takahashi Y, Maruyama K, Mizuno S, Shimakawa S, Ono H, Oyanagi R, Kubo S, Barkovich AJ, Inazawa J. Clinical and radiological features of Japanese patients with a severe phenotype due to CASK mutations. *Am J Med Genet A*. 2012 Dec;158A(12):3112-8.
- 11) Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R. Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2012 Jun;52(2):82-6.
- 12) Honda S, Hayashi S, Nakane T, Imoto I, Kurosawa K, Mizuno S, Okamoto N, Kato M, Yoshihashi H, Kubota T, Nakagawa E, Goto Y, Inazawa J. The incidence of hypoplasia of the corpus callosum in patients with dup (X)(q28) involving MECP2 is associated with the location of distal breakpoints. *Am J Med Genet A*. 2012 Jun;158A(6):1292-303.
- 13) Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Kosho T, Imai Y, Hibi-Ko Y, Kaname T, Naritomi K, Kawame H, Wakui K, Fukushima Y, Homma T, Kato M, Hiraki Y, Yamagata T, Yano S, Mizuno S, Sakazume S, Ishii T, Nagai T, Shiina M, Ogata K, Ohta T, Niikawa N, Miyatake S, Okada I, Mizuguchi T, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Genet*. 2012 Mar 18;44(4):376-8
- 14) Naiki M, Mizuno S, Yamada K, Yamada Y, Kimura R, Oshiro M, Okamoto N, Makita Y, Seishima M, Wakamatsu N. MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome. *Am J Med Genet Part A* 2012.158A:97-102.
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**

該当無し

## 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：**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。本研究においては、診断未定多発奇形・発達遅滞を示す患者を対象とした網羅的ゲノムコピー数解析を行い、新たな疾患単位の同定を行った。

**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：**2人の患者において、過去に1例だけ報告のある3p21.31の微細欠失を認め新規症候群として報告した。15q22の微細欠失患者を1名同定し、諸外国の計5名の共通欠失を示す患者情報を収集し、新規微細欠失症候群と認識できると考え、報告した。また、Xq22の微細欠失を示す女性患者1名を同定し、諸外国から共通する症例をデータベース検索で明らかにし、計5名のgenotype-phenotype連関を解析して報告した。

**結論：**本研究により、これまで明らかになっていない染色体微細欠失症候群を新たに報告した。染色体微細欠失による臨床症状はまだ明らかでないことが多く、今後の症例を積み重ねて新たな疾患概念を確立させていくことが必要であると考えた。

### 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。

#### (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

本研究により 3p21.31 微細欠失症候群、15q22 微細欠失症候群、Xq22 微細欠失症候群の疾患概念を新たに確立し、報告した。

#### D . 考察

本研究によって、過去に報告の無い3つの染色体微細欠失症候群を確立することができた。マイクロアレイ染色体検査は世界的に普及しつつあるが、まだ確立されていない疾患概念が存在すると考えられ、さらに研究を進めていく必要がある。その場合、データベースによるデータ公開と諸外国との共同研究は益々重要となると思われる。

#### E . 結論

今回、診断未定多発奇形・発達遅滞を示す女性患者2名において、お互いに重なり合う微細欠失を 3p21.31 領域に認めた。この領域の欠失は過去に1例だけ報告があるが、臨床症状には共通した極めて特徴的な所見があり、新規症候群として認識されると考えられた。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Miya K, Shimojima K, Sugawara M, Shimada S, Tsuru H, Harai-Tanaka T, Nakaoka S, Kanegane H, Miyawaki T, Yamamoto T. A de novo interstitial deletion of 8p11.2 including ANK1 identified in a patient with spherocytosis, psychomotor developmental delay, and distinctive facial features. *Gene* 506: 146-9, 2012.
2. Shimojima K, Okamoto N, Suzuki Y, Saito M, Mori M, Yamagata T, Momoi M, Hattori H, Okano Y, Hisata K, Okumura A, Yamamoto T. Subtelomeric deletions of 1q43q44 and severe brain impairment associated with delayed myelination. *J Hum Genet* 57: 593-600, 2012.
3. Shimojima K, Inoue T, Imai Y, Arai Y, Komoike Y, Sugawara M, Fujita T, Ideguchi H, Yasumoto S, Kanno H, Hirose S, Yamamoto T. Reduced PLP1 expression in induced pluripotent stem cells derived from a Pelizaeus-Merzbacher disease patient with a partial PLP1 duplication. *J Hum Genet* 57: 580-586, 2012.
4. Shimojima K, Okumura A, Mori H, Abe S, Ikeno M, Shimizu T, Yamamoto T. De novo microdeletion of 5q14.3 excluding MEF2C in a patient with infantile spasms, microcephaly, and agenesis of the corpus callosum. *Am J Med Genet* 158A: 2272-6, 2012.
5. Kurosawa K, Tanoshima-Takei M, Yamamoto T, Ishikawa H, Masuno M, Tanaka Y, Yamanaka M. Sirenomelia with a de novo balanced translocation 46,X,t(X;16)(p11.23;p12.3). *Congenital Anomalies* 52: 106-10, 2012.
6. Shimada S, Miya K, Oda N, Watanabe Y, Kumada T, Sugawara M, Shimojima K, Yamamoto T. An unmasked mutation of EIF2B2 due to submicroscopic deletion of 14q24.3 in a patient with vanishing white matter disease. *Am J Med Genet* 158A: 1771-7, 2012.
7. Shimojima K, Mano T, Kashiwagi M, Tanabe T, Sugawara M, Okamoto N, Arai H, Yamamoto T. Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a duplication-inverted triplication-duplication in chromosomal segments including the PLP1 region. *Eur J Med Genet* 55: 400-3, 2012.
8. Nakayama T, Nabatame S, Saito Y, Nakagawa E, Shimojima K, Yamamoto T, Kaneko Y, Okumura K, Fujie H, Uematsu M, Komaki H, Sugai K, Sasaki M. 8p deletion and 9p duplication in two children with electrical status epilepticus in sleep syndrome. *Seizure* 21: 295-9, 2012.
9. Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. *Neurology* 78: 803-810, 2012.
10. Shimojima K, Okumura A, Natsume J, Aiba K, Kurahashi H, Kubota T, Yokochi K, Yamamoto T. Spinocerebellar ataxias type 27 derived from a disruption of the fibroblast growth factor 14 gene with mimicking phenotype of paroxysmal non-kinesigenic dyskinesia. *Brain Dev* 34: 230-233, 2012.
11. Shimojima K and Yamamoto T. Growth profiles of 34 patients with Wolf-Hirschhorn syndrome. *J Pediatr Genet* 1: 33-37, 2012.
12. Takahashi I, Takahashi T, Sawada K, Shimojima K, Yamamoto T. Jacobsen syndrome due to an unbalanced translocation between 11q23 and 22q11.2 identified at age 40 years. *Am J Med Genet A* 158A, 220-223, 2012.
13. Yamamoto T, Shimojima K: Pelizaeus-Merzbacher disease as a chromosomal disorder. *Congenit Anom (Kyoto)* 53: 3-8, 2013.
14. 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.
15. 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.
  16. 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.
  17. 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.
  18. 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.
  19. 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.
  20. 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.
  21. Sangu N, Shimojima K, Shimada S, Ando T, Yamamoto T: Growth patterns of patients with 1p36 deletion syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)* (in press)
  22. 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]
  23. 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: 274-9, 2013.
  24. 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* 161A: 850-855, 2013.
  25. 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
  26. 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.
  27. Shimojima K, Shimada S, Sugawara M, Yoshikawa N, Nijima S, Urao M, Yamamoto T: Challenges in genetic counseling because of intra-familial phenotypic variation of oral-facial-digital syndrome type 1. *Congenital Anomalies* 53, 155-159, 2013.
  28. 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* 161A: 1078-84, 2013.
  29. 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.
  30. 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 Chil Neurol* (in press)
  31. 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.
  32. 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.
  33. 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*

- 161A : 1465-1469, 2013.
34. 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.
  35. 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.
  36. 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)
  37. 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
Tachibana Y, Aida N, Enomoto K, Iai M, Kurosawa K.	A case of Sjögren-Larsson syndrome with minimal MR imaging findings facilitated by proton spectroscopy.	Pediatr Radiol	42	380-2.	2012
Kurosawa K, Enomoto K, Tominaga M, Furuya N, Sameshima K, Iai M, Take H, Shinkai M, Ishikawa H, Yamanaka M, Matsui M, Masuno M.	Spastic quadriplegia in Down syndrome with congenital duodenal stenosis/atresia.	Cong Anom	52	78-81.	2012
Enomoto K, Kishitani Y, Tominaga M, Ishikawa A, Furuya N, Aida N, Masun M, Yamada K, Kurosawa K.	Expression Analysis of a 17p Terminal Deletion, including YWHAE, but not PAFAH1B1, associated with normal brain structure on MRI in a young girl.	Am J Med Genet Part A	158A	2347-2352.	2012
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

Hayashi S, Okamoto N, Chinen Y, Takanashi JI, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J.	Novel intragenic duplications and mutations of CASK in patients with mental retardation and microcephaly with pontine and cerebellar hypoplasia (MICPCH).	Hum Genet.	131	99-110	2012
Yukiko Kawazu, Noboru Inamura, Futoshi Kayatani, Nobuhiko Okamoto, Hiroko Morisaki	Prenatal complex congenital heart disease with Loeys–Dietz syndrome	Cardiology in the Young	22	116-119	2012
Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N.	Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease.	Neurology	78	803-810	2012
Nishina S, Kosaki R, Yagihashi T, Azuma N, Okamoto N, Hatsukawa Y, Kurosawa K, Yamane T, Mizuno S, Tsuzuki K, Kosaki K.	Ophthalmic features of CHARGE syndrome with CHD7 mutations.	Am J Med Genet A.	158A	514-518	2012
Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S,ほか	Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome.	Nat Genet. 2	44	376-378	2012
Honda S, Hayashi S, Nakane T, Imoto I, Kurosawa K, Mizuno S, Okamoto N, Kato M, Yoshihashi H, Kubota T, Nakagawa E, Goto Y, Inazawa J.	The incidence of hypoplasia of the corpus callosum in patients with dup (X)(q28) involving MECP2 is associated with the location of distal breakpoints.	Am J Med Genet A..	158A	1292-1303	2012
Abe Y, Aoki Y, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Nihori T, Matsubara Y.	Costello and CFC syndrome study group in Japan. Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: findings from a nationwide epidemiological survey.	Am J Med Genet A.	158A	1083-1094	2012

Shimojima K, Okamoto N, Suzuki Y, Saito M, Mori M, Yamagata T, Momoi MY, Hattori H, Okano Y, Hisata K, Okumura A, Yamamoto T.	Subtelomeric deletions of 1q43q44 and severe brain impairment associated with delayed myelination.	J Hum Genet.	57	593-600	2012
Shimojima K, Mano T, Kashiwagi M, Tanabe T, Sugawara M, Okamoto N, Arai H, Yamamoto T.	Pelizaeus-Merzbacher disease caused by a duplication-inverted triplication-duplication in chromosomal segments including the PLP1 region.	Eur J Med Genet.	55	400-403	2012
Wada Y, Kadoya M, Okamoto N.	Mass spectrometry of apolipoprotein C-III, a simple analytical method for mucin-type O-glycosylation and its application to an autosomal recessive cutis laxa type-2 (ARCL2) patient.	Glycobiology.	22	1140-1144	2012
Naiki M, Mizuno S, Yamada K, Yamada Y, Kimura R, Oshiro M, Okamoto N, Makita Y, Seishima M, Wakamatsu N.	MBTPS2 mutation causes BRESEK/BRESHECK syndrome	Am J Med Genet Part A	158	97	2012
Yagihashi T, Kosaki K, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Takahashi T, Sato Y, Kosaki R	Age-dependent change in behavioral feature in Rubinstein-Taybi syndrome	Congenit Anom (Kyoto)	52	82	2012
Takanashi J, Okamoto N, Yamamoto Y, Hayashi S, Arai H, Takahashi Y, Maruyama K, Mizuno S, Shimakawa S, Ono H, Oyanagi R, Kubo S, Barkovich AJ, Inazawa J	Clinical and radiological features of Japanese patients with a severe phenotype due to CASK mutations	Am J Med Genet A	158	3112	2012
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
Takenouchi T, Okuno H, Kosaki R, Ariyasu D, Torii C, Momoshima S, Harada N, Yoshinashi H, Takahashi T, Awazu M, <u>Kosaki K.</u>	Microduplication of Xq24 and Hartsfield syndrome with holoprosencephaly, ectrodactyly, and clefting.	Am J Med Genet A.	158(10)	2537-2541	2012
Takenouchi T, Yagihashi T, Tsuchiya H, Torii C, Hayashi K, Kosaki R, Saitoh S, Takahashi T, <u>Kosaki K.</u>	Tissue-limited ring chromosome 18 mosaicism as a cause of Pitt-Hopkins syndrome.	Am J Med Genet A.	158(10)	2621-2623	2012
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.	Am J Med Genet A.		Epub ahead of print	2014
Takeuchi 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	2014
Takeuchi 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	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	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, Kosak 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	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.	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	66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, Ohishi 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
Yamamoto T, Wilsdon A, Joss S, Isidor B, Erlandsson A, Suri M, Sangu N, Shimada S, Shimojima K, LeCaignec 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)