

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患等克服研究事業

**デルマタン4-0-硫酸基転移酵素-1欠損に基づく
エーラスダンロス症候群の病態解明と治療法の開発**

平成24年度～25年度 総合研究報告書

研究代表者 古庄 知己

平成26(2014)年 3月

目 次

1 . 総合研究報告書

デルマタン4- <i>O</i> -硫酸基転移酵素-1欠損に基づくエーラスダンロス症候群 (DDEDS) の病態解明と 治療法の開発	----- 1
古庄知己	

2 . 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 36

平成24年度～25年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
総合研究報告書

デルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群（DDEDS）の
病態解明と治療法の開発

研究代表者 古庄知己 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部

研究要旨

エーラスダンロス症候群（Ehlers-Danlos Syndrome; EDS）は、皮膚・関節の過伸展性、各種組織の脆弱性を特徴とする先天性疾患の総称であり、頻度は1/5000人とされる。研究代表者らは、平成21-23年度難治性疾患克服研究事業の支援を受けて、進行性結合組織脆弱性（皮膚過伸展・脆弱性、全身関節弛緩・脱臼・変形、巨大皮下血腫）、発生異常（顔貌の特徴、先天性多発関節拘縮）に特徴付けられるEDSの新病型を見出した（*Kosho et al., 2005; Kosho et al., 2010*）。さらに、原因遺伝子がデルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1（D4ST1）をコードする *CHST14* であること、本症における進行性結合組織脆弱性は「D4ST1の欠損 デコリンに付加するグリコサミノグリカン鎖の組成変化（正常ではデルマトン硫酸[DS]であるが、患者ではコンドロイチン硫酸[CS]に置換） デコリンを介するコラーゲン細線維の assembly 不全」によることを明らかにした（*Miyake et al., 2010*）。ほぼ同時に、稀な多発関節拘縮症”Adducted thumb-clubfoot syndrome”および他のEDS患者において *CHST14* 変異が見出された（*Dündar et al., 2009; Malfait et al., 2010*）。研究代表者らは、詳細な臨床的検討から、これらを同一疾患と結論付け、デルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群（D4ST1-deficient EDS ; DDEDS）と命名、その診療指針を提案した（*Shimizu et al., 2011; Kosho et al., 2011*）。

本研究班は、臨床遺伝、遺伝子解析、病理解析、糖鎖医学解析、再生医療、遺伝子治療の専門家の叡智を結集し、DDEDSの自然歴および健康管理指針の構築と根治療法の開発を目指すことにより、進行性の結合組織脆弱性病変に苦しむ患者のQOLを向上させることである。臨床的検討、遺伝子解析、病理解析、糖鎖医学的検討、iPS細胞を用いた病態解析、ノックアウト（*Chst14^{-/-}*）マウスを用いた病態解析、アデノ随伴ウイルス（AAV）を用いた遺伝子治療の開発といったプロジェクトが有機的に連携しながら動いている。

臨床的検討：平成24年度～25年度、本研究班においては、新たに3家系4患者が確定診断され、現時点で論文誌上の発表、研究会での報告を加え合計30家系41患者が見出されている。DDEDSは比較的頻度の高い重要なEDSの1病型と考えられる。患者のQOLまた時には生命を左右するきわめて重要な合併症である反復性巨大皮下血腫への予防対策としてDDAVP（デスマプレッシン）点鼻療法が3患者に試され、いずれもきわめて有用であった。3患者において系統的な聴覚評価が行われ、高音部の聴力低下が示された。今後、国内外での診断要請に応えられる臨床的遺伝子解析体制の構築が期待される。

遺伝子解析：本症と臨床的に診断されたが、*CHST14* 変異が検出されなかった8患者について、第2の疾患遺伝子を同定するために全エキソームシーケンシングを行った。EDSの既知遺伝子内に3家系においてそれぞれ1つのsequence variantsが認められたが、その病的意義は明らかでない。EDS関連既知遺伝子に変異を認めない5家系では、2家系以上に共通してsequence variantsの認められる遺伝子は認められず、遺伝的異質性が示唆された。

病理解析：平成 24 年度、患者皮膚の病理解析を施行、光顕では、表皮が薄く波打っている、表皮直下の真皮のコラーゲン線維束が繊細になっている、といった特徴が認められた。抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学分析では、コントロールではコラーゲン線維束に不均一ながらべったりと抗デコリン抗体により染色されたが、患者ではコラーゲン線維束に沿って filamentous に染色された。Cupromeronic blue (CB) 染色を用いた電顕分析により、患者の真皮のコラーゲン細線維を束ねるデコリンの GAG 鎖を観察することに成功した。平成 25 年度、ノックアウト (*Chst14^{-/-}*) マウスの皮膚病理解析を施行、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比較して、HE 染色では皮膚真皮膠原線維束の好酸性が低下し、抗デコリン免疫組織化学では粘膜固有層のデコリン陽性線維の分布が粗になっていた。Cupromeronic blue (CB) 染色を用いた電顕分析ではコラーゲン細線維に付着する GAG 鎖が不鮮明であり、コラーゲン細線維径の大小不同が目立っていた。また胃粘膜については粘膜固有層のデコリン陽性線維の分布が粗になっていた。

糖鎖医学的検討：尿中 CS/DS 分析を施行、健常人尿中には DS が検出されたが、患者では全く DS 鎖が検出されなかったことから、本所見は診断においても、治療効果の評価においても、無侵襲で有用な指標と考えられた。c.2_10TGTTCCCCCdel (homo); p.Met1? という変異を有する新規患者由来の線維芽細胞では、わずかに DS 鎖の合成が認められ、DS 合成状態と臨床症状との関係が注目された。ノックアウト (*Chst14^{-/-}*) マウスの尿および皮膚においても、患者同様 DS が消失しており、同マウスが病態を再現していることが示された。

iPS 細胞を用いた病態解析：1 人の DDEDS 患者由来 iPS 細胞を樹立、さらに 2 人分を作成中である。iPS 細胞としての未分化能および多能性は、健常人由来 iPS 細胞と同等であった。患者 iPS 細胞を SKID マウスに移植することにより生じた奇形種では、患者組織と同様に、デコリン染色状態が低下しており、「デコリンによるコラーゲン細線維の assembly 不全」という DDEDS の病態の本質を再現していると考えられた。以上から、今回樹立した iPS 細胞は疾患モデルとして適切であると考えられた。神経細胞への分化誘導に成功、患者由来 iPS 細胞の方が、健常人由来 iPS 細胞に比べて、分化誘導効率が低下している傾向が示され、神経細胞発達・分化調節に関わる遺伝子群などに発現の低下が見られた。また、患者由来 iPS 細胞は、健常人由来 iPS 細胞に比べて、Laminin および P-cadherin の発現が低下しており、細胞接着能が低い傾向にあった。さらに、心筋細胞への分化へも成功した。

ノックアウトマウスを用いた病態解析：既に樹立されたヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウスの凍結精子を用いて凍結受精卵を作製、個体を復元した。ヘテロマウスを交配し、ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスを得る一方、スピードコンジェニック法により C57BL/6J 系統を遺伝的背景に持つホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスの作出を試みた。しかし、C57BL/6J への置換率が高くなるほど出生率が低下したため、129/C57BL/6J ハイブリッドマウスの繁殖・維持を行い、表現型、糖鎖医学的、生理学的検討を行った。DDEDS 患者同様尿や皮膚中 DS の著減を呈し、D4ST1 酵素活性喪失に基づく病態を再現していると考えられた。ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスは、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比べて低体重、強い後彎、顔貌の左右非対称を認め、病理組織解析や張力解析において皮膚や筋組織の脆弱化が示唆された。衰弱した高齢 *Chst14^{-/-}* マウスにおいては、自発行動量の低下、骨格筋病理所見による機能低下が認められた。以上から、ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスは DDEDS 患者で認められるような進行性全身結合組織脆弱性を再現しており、治療実験に利用できるモデル動物と位置付けられた。

遺伝子治療研究：ヒト *CHST14* 遺伝子またはマウス *Chst14* 遺伝子を組み込んだ AAV ベクターを感染させたヒト腎臓由来の 293 細胞およびヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス由来皮膚線維芽細胞においては、ネガティブコントロールと比較して、3 倍以上の有意な硫酸基転移活性上昇を示し、遺伝子導入した D4ST1 タンパクが機能性であることが示された。さらに、D4ST1 発現 AAV ベクターの大量調製に成功し、モデル動物を用いた治療実験の準備が整った。

研究分担者

小林身哉（金城学院大学・生活環境学部食環境栄養学科・教授）
菅原一幸（北海道大学大学院先端生命科学研究
院・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシ
グナリング医療応用研究室・教授）
福嶋義光（信州大学医学部遺伝医学・予防医学講
座・教授）
籟持淳（獨協医科大学皮膚科・教授）
武田伸一（独立行政法人国立精神・神経医療研究
センター・神経研究所・遺伝子疾患治療研究
部・部長）
佐々木克典（信州大学医学部・組織発生学講座・
教授）
中山淳（信州大学大学院医学系研究科・分子病理
学・教授）
松本直通（横浜市立大学大学院医学研究科遺伝
学・教授）
野村義宏（東京農工大学農学部・硬蛋白質利用研
究施設・准教授）
岡田尚巳（独立行政法人国立精神・神経医療研究
センター・神経研究所・遺伝子疾患治療研究
部・室長）
三宅紀子（横浜市立大学大学院医学研究科遺伝
学・准教授）
岳鳳鳴（信州大学医学部・組織発生学講座・助教）
水本秀二（北海道大学大学院先端生命科学研究
院・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシ
グナリング医療応用研究室・博士研究員、現・
名城大学・薬学部・病態生化学研究室）

A. 研究目的

Ehlers-Danlos 症候群(EDS)は、皮膚の過伸展性、
関節弛緩など結合組織の脆弱性を持つ先天性疾
患の総称であり、古典型(Classical type)、関節過
動型(Hypermobility type)、血管型(Vascular type)、
後側彎型(Kyphoscoliosis type)、多発関節弛緩型
(Arthrochalasia type)、皮膚脆弱型
(Dermatosparaxis type)の6つの主病型に分類さ
れている。いずれも、コラーゲン分子そのもの、
または修飾酵素の遺伝子変異により生じる。最近、
大病型に属さない新たな病型が、その生化学的、
遺伝学的基盤とともに相次いで発見されている。
全病型を合わせた推定頻度は約 1/5000 人とされ
ている。

新型EDS (EDS, Kosho Type)は、EDS 班の活動

において発見した、顔貌上の特徴、先天性多発関
節拘縮、進行性の結合組織脆弱性（皮膚弛緩、関
節弛緩・変形、巨大皮下血腫など）を呈する全く
新しいタイプの EDS である（*Kosho et al., Am J
Med Genet 138A: 282-287, 2005* ; *Kosho et al., Am J
Med Genet 152A: 1333-1346, 2010*）。両親血族婚の
2 家系を対象としたホモ接合性マッピング、ハブ
ロタイプ解析で候補領域を 6.3Mb まで狭め、この
領域に存在する遺伝子 *CHST14* が本疾患の責任遺
伝子であることを突き止めた。*CHST14* は、デル
マタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST1) をコード
する遺伝子であり、発症機構として「**D4ST1 欠損
→デコリンに付加するグリコサミノグリカン
(GAG)鎖の組成変化(デルマタン硫酸[DS]が消
失し、コンドロイチン硫酸[CS]に置換する)→デ
コリンが媒介するコラーゲン細線維の assembly
不全**」という病態を示した（*Miyake et al., Hum
Mutat 31: 966-974, 2010*）。ほぼ同時に、D4ST1 の
欠損が、内転母指および内反足を特徴とする新し
い多発関節拘縮症“adducted thumb-clubfoot
syndrome (ATCS)”（*Dündar et al., Am J Hum Genet
85: 873-882, 2009*）および、後側彎型 EDS の亜型
に分類されていた一部の患者（Musculocontractural
EDS ; MCEDS）（*Malfait et al., Hum Mutat 31:
1233-1239, 2010*）の原因であると報告された。そ
して、ATCS の発見グループからは、本症は
「dermatan sulfate-deficient ATCS」と命名すべきで
あり、EDS との分類は不適切であるとの主張が展
開された。その根拠は、本症においては先天性多
発関節拘縮、顔貌上の特徴、口唇口蓋裂、腸・腎
の異常、筋緊張低下など通常 EDS には見られない
症状があること、分子病態が EDS とは異なること
であった（*Janecke et al., Hum Mutat 32: 484-485,
2011*）。

平成 21-23 年度 EDS 班（研究代表者：古庄知己）
の活動において、新たに見出した EDSKT の 2 症
例と既報告の EDSKT、ATCS、MCEDS 合計 20 症
例の臨床像を包括的かつ詳細に分析し、これらが
D4ST1 欠損に基づく臨床的に同一の疾患であり、
進行性結合組織脆弱性（皮膚過伸展・脆弱性、全
身関節弛緩・慢性脱臼・変形、巨大皮下血腫など）
および発生異常（顔貌の特徴、先天性多発関節拘
縮など）に特徴付けられる EDS の新病型と結論付
けた。さらに、D4ST1-deficient EDS (DEEDS) と
命名するとともに以下の診療指針を提案した
（*Shimizu et al., Am J Med Genet 155A: 1949-1958,
2011*; *Kosho et al., Hum Mutat 32: 1507-1509, 2011*;

< 診療指針の構築 >

診断	<p>新生児期、顔貌上の特徴（大きい大泉門、眼間開離、小さく、眼瞼裂斜下、青色強膜、短い鼻、低形成の鼻柱、低位かつ後傾した耳介、高口蓋、長い人柱、薄い上口唇、小さい口、小さく後退した下顎）骨格症状（内転母指、内反足を含む多発関節拘縮）で疑い、CHST14 遺伝子解析を行う。</p> <p>診断時のスクリーニングとして、先天性心疾患、眼奇形、泌尿生殖器奇形、難聴の有無を評価する。</p>
乳幼児期	<p>内反足に対する整形外科的治療（装具、手術）運動発達遅滞に対する理学療法を行う。</p> <p>便秘に対して緩下剤投与、浣腸を行う。</p> <p>男児では停留精巣に対する固定術を行う。</p>
定期検診	<p>整形外科：足部変形、脊椎変形。</p> <p>眼科：斜視、屈折異常、緑内障。</p> <p>耳鼻科：滲出性中耳炎、難聴。</p> <p>泌尿器科：排尿障害、膀胱拡張。</p> <p>循環器科：弁の異常（MVP などあれば、感染性心内膜炎の予防）上行大動脈拡張。</p>
外傷対策	<p>転倒などの外傷により、皮膚裂傷、関節脱臼を生じやすい。</p> <p>巨大皮下血腫については、DDAVP 点鼻療法が有効。</p>
思春期以降	<p>二次性徴の観察（女性では乳房発育不全、男性では性腺機能低下の可能性）。</p> <p>（血）気胸、憩室穿孔に対する治療。</p>
その他	<p>皮膚の過敏性のため、採血時のゴム駆血、上腕での血圧測定が著しい苦痛を伴うので、配慮する（幅広いゴムや徒手的駆血、手首式血圧計）。</p>

本研究班は、臨床遺伝、遺伝子解析、病理解析、糖鎖医学解析、再生医療、遺伝子治療の専門家の叡智を結集し、DDEDS の自然歴および健康管理指針の構築と根治療法の開発を目指すことにより、進行性の結合組織脆弱性病変に苦しむ患者のQOLを向上させることである。以下のプロジェクトが有機的に連携しながら動いている。

臨床的検討

遺伝子解析

病理解析

糖鎖医学的検討

iPS 細胞を用いた病態解析

モデルマウスを用いた病態解析

遺伝子治療の開発

B. 研究方法

臨床的検討

本研究班における解析状況および国内外の研究施設における解析状況を収集することにより、全患者のリストアップを試みた。

遺伝子解析

直接シーケンスによる *CHST14* 遺伝子解析を継続するとともに、臨床的に疑われたが変異陰性であった 8 患者に対して次世代シーケンサを用いた全エクソーム解析を行った。

SureSelect Human All Exon kit (Agilent 社)を用いてゲノム分画を行い、HiSeq2000 および HiSeq2500 (Illumina 社) で大量塩基配列解読を行った。 novoalign (mapping), GATK (variant call), ANNOVAR (annotation) を用いた解析フローを使用し、In-house exome data, ESP6500, dbSNP135 (common), dbSNP137(common) に登録のある病的ではないと考えられる variants は候補から除外し、まず EDS の既知遺伝子に認められる variants を確認した。

表 EDS を引き起こす既知遺伝子

遺伝子名	EDS 病型 (遺伝形式)
<i>ADAMTS2</i>	Type VIIc (AR)
<i>B3GALT6</i>	Progeroid type (AR)
<i>B4GALT7</i>	Progeroid type (AR)
<i>CHST14</i>	D4ST1 deficient EDS, Kosho type (AR)
<i>COL1A1</i>	Arthrochalasia type (AD)
<i>COL1A2</i>	Arthrochalasia type (AD)
"	Cardiac valvular form (AR)
<i>COL3A1</i>	Vascular-type (AD)
<i>COL5A1</i>	Classical type (AD)
<i>COL5A2</i>	Classical type (AD)
<i>DSE</i>	Musculocontractural (AR)
<i>FKBP14</i>	Variant type (AR)
<i>FLNA</i>	EDS with heterotopia, periventricular (XR)
<i>MTHFR</i>	Type IV (AR)
<i>PLOD1</i>	Kyphoscoliosis type (AR)
<i>SLC39A13</i>	Spondylocheiro dysplastic form (AR)
<i>TNXB</i>	EDS like due to tenascin-XB deficiency (AR)

病理解析

【患者組織の病理解析】

対象

P281L/Y293C を有する 3 患者、P281L/C289S を有する 1 患者、および健常人の皮膚検体を対象とした。

光顕分析

4 患者および健常人 1 人皮膚由来パラフィンブロックを用いて、AZAN 染色を行い観察した。

抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学分析

3 患者および健常人 1 人皮膚由来パラフィンブロックを抗ヒト・デコリン抗体 (マウスモノクローナル抗体) で染色し、観察した。

Cupromeronic blue (CB) 染色を用いた電顕分析

3 患者由来皮膚検体をグルタルール固定後、洗浄し、GAG 鎖に特異的に反応する 0.05% (w/v) Cupronic blue 液で染色した。洗浄後、0.034M sodium tungstate で後染色した。洗浄、脱水、包埋し、観察した。

【ノックアウトマウスの病理解析】

対象

一般光顕観察、抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学解析においては、3 か月齢のホモ (*Chst14^{-/-}*) マウス、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウス

の背部皮膚および胃粘膜を解析した。

Cupromeronic blue (CB) 染色を用いた電顕分析においては、1 歳齢の *Chst14^{-/-}* マウス、*Chst14^{+/-}* マウス、WT マウスの皮膚を解析した。

一般光顕・免疫組織化学分析

組織を 20%中性緩衝ホルマリン液で固定した後、パラフィン切片を作成し、HE 染色とビオチン化抗マウスデコリン抗体 (polyclonal goat IgG、R&D Systems) を用いた免疫染色を行った。

電顕分析 (Cupromeronic blue[CB]染色)

グルタルール固定後、洗浄し、GAG 鎖に特異的に反応する 0.05% (w/v) Cupronic blue 液で染色した。洗浄後、0.034M sodium tungstate で後染色した。洗浄、脱水、包埋し、観察した。

糖鎖医学的検討

患者の尿中のコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量と構造解析

5 人の患者 (P281/Y293C が 2 人、P281L/homo が 2 人、P281L/C289S が 1 人) 由来の尿を、限外濾過膜を用いて遠心濃縮後、次に細菌由来のコンドロチナーゼ ABC (CS、DS 両方を二糖単位にまで切断する)、コンドロチナーゼ AC (CS 部分を二糖単位にまで切断し、DS 部分には作用しない)、コンドロチナーゼ B (DS 様構造部分のみを二糖単位にまで切断し、CS 様構造部分には作用しない) で消化後、陰イオン交換 HPLC で各二糖組成の分析と CS および DS 様構造の定量を行った。

尿検体を得られた DDEDS 患者と同姓で年齢が同一もしくは近い 5 人の健常人由来の尿を、限外濾過膜を用いて遠心濃縮後、次にコンドロチナーゼ ABC、コンドロチナーゼ AC、コンドロチナーゼ B で消化し、陰イオン交換 HPLC で各二糖組成の分析と CS および DS 鎖の定量を行った。

EDS 患者の繊維芽細胞由来が産生するコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量と構造解析

c.2_10TGTTCCCCdel (homo); p.Met1? という変異を有する EDS 患者および未分類 EDS 患者由来の繊維芽細胞を培養後、80%コンフルエントに達した後、線維芽細胞用の完全無血清培地

(COSMEDIUM H001)で3日間培養し、コンディショントメディアを回収した。限外ろ過膜を利用した遠心濃縮カラム(AmiconUltra-4, 10k)で濃縮し、次に細菌由来のコンドロチナーゼABC、コンドロチナーゼAC、コンドロイチナーゼBで消化後、消化物の陰イオン交換HPLCで各二糖組成の分析とCSおよびDS鎖の定量を行った。

D4ST-1を組み込んだアデノ随伴ウイルス感染細胞のD4ST活性測定

研究分担者の国立精神・神経医療研究センター神経研究所・武田伸一博士、岡田尚巳博士らによって作製された *CHST14* 遺伝子または *Chst14* 遺伝子導入アデノ随伴ウイルス(AAV)を感染させたヒト腎臓由来 293 細胞とヘテロ(*Chst14*^{+/-})マウス由来皮膚線維芽細胞を用いて、D4ST活性を測定した。それらのホモジェネートを酵素源とし、³⁵S 標識した活性硫酸(³⁵S-PAPS)を硫酸基供与体、脱硫酸化DSを受容体基質として、37°Cで数時間反応させ、ゲルろ過により、反応生成物(³⁵S-デルマトン)を分離した。得られた画分を液体シンチレーションカウンターで放射活性を測定し、硫酸基の転移活性とした。

ノックアウトマウスの皮膚・尿中のコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量

ホモ(*Chst14*^{-/-})マウス由来皮膚から、アクチナーゼ処理、トリクロロ酢酸処理、エタノール沈殿、限外ろ過膜による濃縮・脱塩によって、グリコサミノグリカン抽出・精製した。得られたDS、コンドロイチン硫酸、ヘパラン硫酸を含むグリコサミノグリカン画分を、細菌由来のコンドロチナーゼABC、コンドロチナーゼAC、コンドロイチナーゼBで消化後、陰イオン交換HPLCで各二糖組成の分析とCSおよびDS **糖構造**の定量を行った。

ホモ(*Chst14*^{-/-})マウス由来の尿を限外ろ過膜で遠心濃縮後、コンドロチナーゼABC、コンドロチナーゼAC、コンドロイチナーゼBで消化し、陰イオン交換HPLCで各二糖組成の分析とCSおよびDS鎖の定量を行った。

iPS細胞を用いた病態解析

対象

P281L/Y293Cを有するDDEDS女性患者

(Patient 12、表1に準じる)の皮膚線維芽細胞より熊本大学で樹立されたiPS細胞(A108)および健常人より京都大学で樹立されたiPS細胞(201B7、235G)を対象とした。さらに、P281L/Y293Cを有する女性患者(Patient 17)およびM1?を有する男性患者(Patient 30)由来培養皮膚線維芽細胞から、iPS細胞樹立を試みている。

ゲノム異常の検証

DDEDS患者由来のiPS細胞からゲノムDNAを抽出し、*CHST14* 遺伝子のタンパク質翻訳領域をカバーするようPCRプライマーを設計しPCR-ダイレクトシーケンスを行った。さらに、iPS細胞樹立に際して獲得されたコピー数変異の有無を検証するため、同一患者の血液由来のゲノムDNAとiPS細胞由来のゲノムDNAに対してコピー数解析を行った。アレイはCytoScan HD(Affymetrix社)を使用し、Chromosome Analysis Suite Software(Affymetrix社)を用いて解析を行った。

DDEDS患者由来iPS細胞の性質についての検討

形態：A108および201B7をマウス胚線維芽細胞(MEF)上に成長させ、iPS細胞コロニーの形態を観察した。

アポトーシス解析：A108および201B7のiPS細胞コロニーに対してTUNEL染色を行い、アポトーシスを分析した。

未分化能の検討：A108および201B7のiPS細胞コロニーに対して、未分化状態のマーカーであるOct3/4、Nanog、SSEA-3、SSEA-4の免疫染色を行い、未分化状態を分析した。

多能性の検討：A108の胚様体(EB)を作成し、自然分化させ、免疫染色とRT-PCRにより、三胚葉のマーカー(内胚葉：Foxa2, Pdx1；中胚葉：Nkx2.5, Brachyury；外胚葉：Nestin)について多能性を検討した。さらに、A108のiPS細胞をSKIDマウスに移植し、奇形種発生の有無、発生していればその組織を検討した。

A108のiPS細胞由来の奇形種におけるデコリンおよび型コラーゲンの分布を免疫染色で検討した。

抗デコリン抗体と抗型コラーゲン抗体を用いた免疫染色分析：A108および201B7のiPS細胞

胞コロニーに対し、抗デコリン抗体および抗型コラーゲン抗体で染色した。

抗ラミニン抗体と抗 P-カドヘリン抗体を用いた免疫染色分析：マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析の結果により、A108 細胞において発現低下を来していた細胞外マトリックス関係遺伝子のうち Laminin と Pan-cadherin (P-cadherin) 遺伝子に着目し、抗 Laminin 抗体および抗 P-cadherin 抗体を用いた免疫染色分析を行った。

iPS 細胞接着能力および増殖能力分析：A108 と 201B7 における細胞接着能や増殖能を MTT アッセイ (RI を使用せずに、僧坊続食、活性、および障害性を定量する方法) により分析した。

神経細胞への分化誘導

A108 および 201B7 の iPS 細胞を用いて、神経系への分化誘導を行った (表 1)。神経形成を確認するために、神経前駆細胞マーカーである Nestin、Pax6 の発現を、RT-PCR と Real time-PCR により検討した。神経分化効率を確認するために、TujIII、MAP2 抗体を用いた免疫染色および Map2 遺伝子の Real time-PCR 分析を行った。

A108 および 201B7 から分化誘導した神経細胞に対して、Human HT-12 (v4) (Illumina 社) を用いたマイクロアレイ発現解析を行った。さらに、上記マイクロアレイ発現解析結果に基づくパスウェイ解析および iPS 細胞と分化誘導した神経細胞に対する TUNEL 染色により、apoptosis の状態を検討した。

さらに、別な iPS 細胞クローン (同一患者、同時に樹立したもの) を用いて、神経細胞への分化誘導を試みた。

心筋細胞への分化誘導

A108 および 201B7 を用いて、心筋細胞への分化誘導を試みた。心筋細胞への分化の確認には、抗 Troponin (cTnT) 抗体を用いた。また、Real-time PCR により、心筋分化効率および心筋線維収縮関連遺伝子発現について検討した。

モデルマウスを用いた病態解析

Chst14^{-/-} コンジェニック系統作出

米国の非営利的マウス供給センター (Mutant Mouse Regional Resource Centers ; MMRRC) より提供されたヘテロ (*Chst14*^{+/-}) マウスの凍結精子を用いて凍結受精卵を作製 (株式会社トランスジェニックに受託) 後、国立精神・神経医療研究センター神経研究所にて個体を復元した。遺伝的背景を均一化するため C57BL/6J 系統への戻し交配を行った。戻し交配の期間を短縮するために、マイクロサテライトマーカー解析を用いたスピードコンジェニック法を行った。尻尾から抽出したゲノム DNA に特異的な 58 種類のマーカーに対応したプライマーを用いて PCR を行い、増幅産物のサイズを区別することで C57BL/6J 系統への置換率を評価した。

遺伝的背景の均一化による出生率への影響を検討するため、*Chst14*^{+/-} マウス雌雄を交配させ、各遺伝子型の出生率を世代ごとに算出した。また、胎生致死かどうかを検討するため、妊娠 14.5 日目のマウスを解剖し、胎児の遺伝子型を PCR により解析した。

ホモ (*Chst14*^{-/-}) マウスの表現型解析

形態観察：ヘテロ (*Chst14*^{+/-}) マウスの雌雄を交配させて作出したホモ (*Chst14*^{-/-}) マウスの経時的な体重測定、CT 画像解析による骨格ならびに形態の観察を行った。

病理組織学的解析：15 週齢および 55 週齢マウスを解剖後、前脛骨筋の凍結切片を作製した。これを用いて、HE 染色および免疫染色を行った。抗ラミニン抗体を用いて筋線維基底膜の免疫染色を行い、その断面積を測定した。抗 Myosin heavy chain-Ia, IIa, IIb 抗体を用いて免疫染色し、筋線維タイプの割合を産出した。

皮膚の機能解析：結合組織の機能評価として、コラーゲン膜などの物性を測定する引張試験機 (島津製作所, EZ-S 500N) を用いてマウス皮膚の引張強度を測定した。マウス背部皮膚を物理的に除去し、4 cm × 1 cm に裁断して解析に用いた。皮膚片の両端を固定して縦方向に引っ張り、皮膚が切断する直前の張力を引張強度とした。

行動解析：行動評価としてホイールケージを用いて自発行動量解析を行った。マウスをホイールケージ内で飼育し、1 週間の予備飼育後、

1日あたりの自発走行距離および最高走行速度を測定した。

握力測定：齋藤式マウス用握力測定装置を用いて解析を行った。尾部をつかみ両手足で金網をつかませ、前肢が金網の端に到達するまで引っ張り、機械に内蔵されたバネに対する抵抗値を測定することでマウスの金網を握る力の最大値を測定した。測定は5秒間のインターバルをはさみながら5回行い、平均を各個体の値とした。

CT撮像：イソフルラン麻酔下でマウスの骨格をCT（島津製作所、Clairvivo CT）で撮影した。撮影条件はClairvivo CT専用ソフトウェア（島津製作所）で設定を行った。撮影後はOxirixソフトウェアで画像解析を行い、角度を算出し、後彎の評価を行った。

遺伝子治療の開発

ヒト *CHST14* およびマウス *Chst14* cDNA を組み込んだ AAV ベクタープラスミド DNA を構築し、HEK293 細胞に遺伝子導入後、抗 D4ST1 抗体を用いたウエスタンブロッティングおよび酵素活性測定を行って、D4ST1 の機能発現を確認した。このベクタープラスミドを用いて、ヒトおよびマウス D4ST1 発現 1 型 AAV ベクターを作製した（rAAV1-CAG-hD4ST1-WPRE、および rAAV1-CAG-mD4ST1-WPRE）。細胞内でのベクターによる D4ST-1 機能発現は、マウス胎児由来線維芽細胞（野生型、*Chst14*^{+/+} および *Chst14*^{-/-} 各 1 株）およびヒト皮膚由来線維芽細胞に遺伝子導入して確認した。

倫理面への配慮

本研究は、(1) 人を対象とした遺伝子解析研究、臨床研究、患者由来検体を用いた病態解析研究、(2) iPS 細胞を用いた病態解析研究、(3) 疾患動物モデルを用いた基礎的研究、(4) 遺伝子治療の開発研究からなる。

人を対象とした遺伝子解析研究、臨床研究、患者細胞を用いた病態解析研究は、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部（研究代表者）、獨協医科大学皮膚科（研究分担者：籾持淳博士、研究協力者：林周次郎博士）、横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学（研究分担者：松本直通博士、三宅紀子博士）、北海道大学大学院先端生命科学研究院・生命機能科学研究部門プロテオグリカンシグナリ

ング医療応用研究室（菅原一幸博士、水本秀二博士）、東京農工大学農学部硬蛋白質利用研究施設（野村義宏博士）、金城学院大学生生活環境学部食環境栄養学科（小林身哉博士）、信州大学大学院医学研究科分子病理学（中山淳博士）において、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針（平成 16 年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）および臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年厚生労働省告示第 415 号）を遵守して行う。研究代表者は、平成 19 年～22 年には「新型エーラスダンロス症候群の遺伝子解析（受付番号 214）」として、平成 22～24 年は「D4ST1 欠損症（エーラスダンロス症候群、古庄型）の遺伝子解析（受付番号 304）」として、平成 25 年 1 月以降は「D4ST1 欠損に基づくエーラスダンロス症候群の遺伝子解析および病態探索」として、信州大学医学部医倫理委員会の承認を得ている。また、遺伝子解析を実施する共同研究施設においても、倫理委員会の承認を得ている。糖鎖医学的検討については、「骨異形成症及び関節疾患におけるグリコサミノグリカンの機能解明」として、北海道大学の倫理委員会の承認を得ている。新たに遺伝子解析を行う患者・家族に対しては、研究代表者・分担者またはそのガイダンスを受けた患者主治医により、患者・家族に十分な説明を行い、同意を得ることを原則とした。また、診療施設から臨床情報を収集する際には、個人情報保護に留意した。

iPS 細胞を用いた病態解析研究は、主に信州大学医学部組織発生学（佐々木克典博士、岳鳳鳴博士）において、ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針（平成 18 年厚生労働省告示第 425 号）を遵守して行う。

疾患動物モデルを用いた基礎的研究は、主に国立精神・神経医療研究センター神経研究所・遺伝子疾患治療研究部（武田伸一博士、岡田尚巳博士）において、厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針（平成 18 年 6 月 1 日付厚生労働省大臣官房厚生科学課長通知）を遵守して行う。実施にあたっては、動物実験の 3 原則「代替法の利用」、「使用数の削減」、「苦痛の軽減」を遵守する。

遺伝子治療の開発研究は、主に国立精神・神経医療研究センター神経研究所・遺伝子疾患治療研究部（武田伸一博士、岡田尚巳博士）において、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 16 年文部

科学省・厚生労働省告示第2号)を遵守して行う。

C. 研究結果

臨床的検討

平成 24 年度～25 年度、本研究班においては、3 家系 4 患者（国内 2 家系 2 患者、国外 1 家系 2 患者）において、臨床症状から疑われ、CHST14 遺伝子解析で診断が確定した。論文誌上の発表、研究会での報告を加え、現在までに合計 30 家系 41 患者が見出された。

論文報告例

患者	家系	出身	CHST14 変異	性別	初回報告年齢
1	1	トルコ	V49X homo	F	3.5y
2				M	1.5y
3				F	6y
4	2	日本	Y293C homo	M	4y
5				M	7m
6	3	オーストリア	R213P homo	M	0d†
7				M	12m
8	4	トルコ	[R135G;L137Q] homo	F	1-4m†
9				M	1-4m†
10				M	1-4m†
11				M	3m
12	5	日本	P281L/Y293C	F	11y
13	6	日本	P281L homo	F	14y
14	7	日本	P281L homo	M	32y
15	8	日本	K69X/P281L	M	32y
16	9	日本	P281L/C289S	F	20y
17	10	日本	P281L/Y293C	F	4y
18	11	トルコ	V49X homo	F	22y
19				F	21y
20	12	インド	E334Gfs*107 homo	F	12y
21	13	日本	P281L/Y293C	M	2y

22	14	日本	F209S/P281L	M	6y
23	15	オランダ	V48X homo	F	20y
24	16	アフガニスタン	R274P homo	F	11y
25				F	0y
26	17	ミコウスキー	G228Lfs*13	F	16y

論文未報告例

患者	家系	出身	CHST14 変異	性別	初回報告年齢
27	18	日本	P281L/W162X	F	18y
28	19	日本	P281L homo	F	?
29		日本		F	16y
30	20	日本	M1? Homo	M	11y
31	21	日本	F209S/P281L	F	41y
32	22	日本	F209S homo	M	18y
33	23	日本	F209S/P281L	M	15y
34	24	日本	compound hetero	F	34y
35	25	日本	P281L homo	M	13y
36	26	日本	F209S/P281L	M	11y
37	27	ベルギー	R29Gfs*113 homo	M	18y?
38	28	ベルギー	Q133Rfs*14 homo	M	34y?
39	29	ベルギー	M280L homo	M	4y?
40	30	メキシコ	E262K homo	M	4y
41		メキシコ		F	2y

DDEDS における反復性巨大皮下血腫に対する予防対策としてこれまでに 1 患者において DDAVP（デスモプレッシン）点鼻療法が導入されていた（Kosho et al., Am J Med Genet 138A: 282-287,

2005; Kosho et al., *Am J Med Genet* 152A: 1333-1346, 2010)。平成 25 年度新たに巨大皮下血腫の反復のために QOL の低下を招いている 2 患者において同療法が導入された。使用した薬剤は、Fehring Pharmaceuticals 社の Octostim nasal spray である。両患者において安全に同療法は導入され、重大な出血予防に役立っている。

平成 25 年度 3 患者に対して、信州大学医学部附属病院耳鼻咽喉科難聴専門外来において、詳細な聴覚評価を行った。12 歳男児では、難聴の自覚ははっきりしないが健診で時々 4kHz の異常を指摘されていた。聴力検査では両耳ともに 2~4kHz に軽度感音難聴を認め、DPOAE は 3~6kHz の DP レベルの低下を認めた。20 歳女性では、聴力検査で右に 8kHz の軽度閾値上昇を認め、DPOAE で 3~6kHz の DP レベルの低下を認めた。7 歳女児では、自覚症状はないが、聴力検査にて両耳の 8kHz 軽度閾値上昇と DPOAE で DP レベルの低下を認めた。

謝辞：聴力評価を行っていただきました信州大学医学部附属病院耳鼻咽喉科・人工聴覚器講座・岩崎聡教授(現 国際医療福祉大学教授)に感謝いたします。

遺伝子解析

全エクソーム解析により、全コード領域の 91.6% 以上は x20 の read depth で読まれていた。8 家系全例で *CHST14* 遺伝子に variant call はなかった。3 家系においては別の EDS 病型の疾患遺伝子内にそれぞれ 1 variant を認めた。

更に、新規責任遺伝子を同定するため、これら以外の家系で 2 家系以上に共通してバリエーションの認められる遺伝子を検索したが、今のところその条件を満たす遺伝子の同定には至っていない。

病理解析

【患者組織の病理解析】

光顕分析

弱拡大では、患者の表皮は、コントロールに比べて、波打ち、薄い、という特徴があった(図 1a)。

強拡大では、表皮直下の真皮のコラーゲン線維が繊細になっていた。真皮のコラーゲン線維束はコントロール並の太さで存在するものもあれば、コ

ントロールに比べて、繊細になって存在するものもあった(図 1b)。

Cupromeronic blue (CB) 染色を用いた電顕分析

通常のエレクトロ染色 (Uranyl acetate [UA]のみ) では、コラーゲン細線維のまわりに電子密度の高い線維状物質がまとわりついている様子が観察された(図 2b、Patient 30)。CB 染色により、コラーゲン細線維に付着した GAG 鎖が可視化された(図 2b)。

P281L/Y293C を有する 1 患者 (Patient 12) において、通常のエレクトロ染色のみでは、表層はコラーゲン細線維が細く、ランダムに走行していた。深層ではコラーゲン細線維は太く束になって走行していた。CB 染色により、コラーゲン細線維に付着した GAG 鎖が可視化された。表層では GAG 鎖はランダムに描出され、深層では整然と描出されていた(図 2a)。

P281L/Y293C を有する別の 1 患者 (Patient 21) においても、CB 染色により、コラーゲン細線維に付着した GAG 鎖が可視化された。表層では GAG 鎖はランダムに描出され、深層では整然と描出されていた(図 2b)。

抗デコリン抗体を用いた免疫組織化学分析

光顕では、コントロールではコラーゲン線維束に不均一ながらべったりと抗デコリン抗体により染色されたが、患者ではコラーゲン線維束に filamentous に染色された(図 3)。

【ノックアウトマウスの病理解析】

一般光顕・免疫組織化学分析

皮膚：ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスでは、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比べて、HE 染色における皮膚真皮膠原線維束の好酸性が低下していた(図 4)。

また、デコリン免疫染色におけるデコリン陽性線維の分布は疎となっていた(図 4)。

胃：ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスでは、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比べて、HE 染色における所見に明らかな相違は見出せなかったが、デコリン免疫染色では粘膜固有層のデコリン陽性線維の分布が粗になっていた(図 5)。

電顕分析 (Cupromeronic blue[CB]染色)

CB 染色により、コラーゲン細線維に付着した GAG 鎖が可視化された。ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスの皮膚では、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比べて、コラーゲン細線維に付着する GAG 鎖が不鮮明であった。横断像では、コラーゲン細線維の直径が、ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスではバラツキがあり、細いものも多かった (図 6、7)。

糖鎖医学的検討

患者の尿中のコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量と構造解析

健常人由来の尿では、DS が検出されたのに対し、DDEDS 患者では、DS が全く検出されなかった。

EDS 患者の線維芽細胞由来が産生するコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量と構造解析

無血清培地で培養した c.2_10TGTTCCCCCdel (homo); p.Met1? という変異を有する患者由来皮膚線維芽細胞のコンディションドメディウムを用いて DS の定量を行った。その結果、これまでに検討した DDEDS 患者では、全く DS が検出されなかったのに対して [Miyake *et al.*, Hum Mutat. (2010) 31, 966-974]、本患者由来の線維芽細胞では、ごく少量の DS 鎖が合成されていた。興味深いことに、以前の DS 鎖がまったく合成されていない DDEDS 患者と比較して、本患者の症状は若干軽症である (内反足がない) ことから、ごく少量合成されている DS 鎖が EDS の症状を軽減していると推察された。一方、健常人と比較して CS の二糖量には大差がなかった。

D4ST1 を組み込んだアデノ随伴ウイルス感染細胞の D4ST 活性測定

ネガティブコントロールである GFP 発現細胞と比較して、293 細胞で発現させたヒト D4ST-1 およびマウス D4st-1 は、3 倍以上の有意な硫酸基転移活性上昇を示した。ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス由来皮膚線維芽細胞に発現させたヒト D4ST-1 およびマウス D4st-1 も、ネガティブコントロールと比較して、10 倍高い活性が検出された。

ノックアウトマウスの皮膚・尿中のコンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸の定量

ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスでは、ヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウス、WT マウスと比べて、皮膚の DS の 4-O-

硫酸化構造が 0.6% と著減し、CS の 4-O-硫酸化構造が 5~7 倍に著増、6-O-硫酸化構造も 2~8 倍に増加していた。また、尿中 DS は全く検出されなかった。

iPS 細胞を用いた病態解析

ゲノム異常の検証

iPS 細胞由来のゲノム DNA の解析により、*CHST14* 遺伝子のコード領域内に新たな変異は同定されなかった。iPS 細胞にのみに認められるコピー数変化として、4 番染色体に 1 箇所の欠失が検出された。本欠失は *GRID2* 遺伝子 (NM_001510.2) 内の 91 kb の欠失であり、protein coding exon である exon3 を含む。本欠失は q-PCR による検証でも確認された。

DDEDS 患者由来 iPS 細胞の性質についての検討

形態: A108 および 201B7 の iPS 細胞コロニーの間には、光学顕微鏡分析において次のような相違点を確認された。(1) A108 の iPS 細胞のサイズは、201B7 の iPS 細胞より小さい。(2) A108 の iPS 細胞間境界は不明瞭であり、いくつかの細胞では融合していた。(3) A108 の iPS 細胞では、細胞質に多くの空胞が認められた (図 8)。電子顕微鏡分析においては、A108 の iPS 細胞において多くの空胞が認められた (図 9)。

アポトーシス解析: A108 および 201B7 の iPS 細胞コロニーにおけるアポトーシス状態には差は認められなかった (図 10)。

未分化能の検討: A108 および 201B7 の iPS 細胞コロニーいずれにおいても、Oct3/4、Nanog、SSEA-3、SSEA-4 は高発現であり、十分な未分化状態であることが確認された (図 11)。

多能性の検討: 自然分化させた A108 の胚様体 (EB) において、免疫染色と RT-PCR いずれについても、三胚葉のマーカー (内胚葉: *Foxa2*, *Pdx1*; 中胚葉: *Nkx2.5*, *Brachyury*; 外胚葉: *Nestin*) は発現しており、多能性を有することが確認された (図 12)。さらに、A108 の iPS 細胞を SKID マウスに移植して 4 週間後、奇形種が発生した。組織を検討すると、消化管様 (内胚葉) 平滑筋 (中胚葉) 色素細胞 (外胚葉) など三胚葉由来の組織が認められた (図 13)。脈絡叢のような構造も発見され、神経のマーカー *TujIII* でこの構造に神経が存在することが確認された (図

14)。

A108 の iPS 細胞由来の奇形種では、201B7 の iPS 細胞由来の奇形種と比べて、デコリンおよび型コラーゲンの染色状態はいずれも弱かった(図 15)。

抗デコリン抗体と抗型コラーゲン抗体を用いた免疫染色分析：A108 では、抗デコリン抗体に対する染色性も、抗型コラーゲン抗体に対する染色性も、弱かった(図 16)。

抗ラミニン抗体と抗 P-カドヘリン抗体を用いた免疫染色分析：未分化の iPS 細胞コロニーが緊密に充填し、高い核対細胞質比を持っていた。しかし、A108 の境界も、いくつかの細胞が融合したところを見つけた(図 17)。抗 Laminin 抗体を用いた免疫染色分析において、201B7 では全ての細胞の周囲に Laminin 発現が観察されたが、A108 では Laminin 発現が確認されない細胞があった(図 18)。抗 P-cadherin 抗体を用いた免疫染色分析において、201B7 では全ての細胞の周囲に P-cadherin 発現が観察されたが、A108 では P-cadherin が発現していない細胞が観察された(図 19)。特に、細胞融合が見られる部位に Laminin および P-cadherin 発現は消失していた。

iPS 細胞接着能力および増殖能力分析：MTT アッセイで定量化された A108 の細胞接着能は、201B7 より軽度低下していた(図 20)。他方、細胞増殖能は、両細胞で有意な差は認められなかった(図 21)。

神経細胞への分化誘導

A108 の iPS 細胞からの神経への分化誘導に関しては、201B7 の iPS 細胞からの神経への分化誘導と比べて、神経前駆細胞マーカー Nestin および Pax6 の発現はいずれも弱かった(図 22)。

成熟ニューロンへの分化誘導に関しては、A108 の iPS 細胞由来の神経系細胞において、201B7 の iPS 細胞由来の神経系細胞よりも、TujIII、MAP2 抗体を用いた免疫染色の染色状態は弱かった。また、Real time-PCR により測定された Map2 遺伝子の発現量は低かった(図 23)。

分化誘導された神経細胞を対象としてマイクロアレイ発現解析を施行、A108 では 201B7 に比べて、神経細胞発達に関わる 23 遺伝子、神経細胞分化の調節に関わる 11 遺伝子、神経細

胞相互接着に関わる 4 遺伝子、軸索伸長の促進に関わる 4 遺伝子、樹状細胞形態形成に関わる 5 遺伝子、神経伝達物質の分泌調節に関わる 6 遺伝子、神経細胞の migration に関わる 9 遺伝子の発現が低下していた(図 23)。

パスウェイ解析の結果、apoptosis 促進遺伝子が up-regulate され、apoptosis 抑制遺伝子が down-regulate されている傾向が観察された(図 24)。TUNEL 染色では、apoptosis 陽性細胞は A108 由来神経細胞において 3.95%、201B7 由来神経細胞において 0.74%と増加していた(図 25)。

同一患者由来の別の iPS 細胞クローンを用いて、神経細胞への分化誘導を検討した結果、TujIII 抗体および抗 Cabidin 抗体にて、iPS 細胞から神経細胞への分化を確認した。A108 における神経分化効率は、201B7 より低くなっていた。シナプスは A108 由来神経細胞においても、201B7 由来神経細胞においても、形成されていた(図 26)。

DDEDS 患者由来 iPS 細胞から心筋細胞への分化誘導

235G においては分化誘導開始後 7 日目に(図 27)、A108 においては 12 日目に(図 28) 拍動心筋が観察された。iPS 細胞から心筋細胞への分化は抗 Troponin I (cTnT) 抗体で確認、心筋細胞特異的な横紋も観察された(図 29)。心筋への分化効率を調べるために、 β -actin を基準として、Real-time PCR で Troponin I (cTnT) 遺伝子発現を検討したが、A108 と 235G では有意な差は認められなかった(図 30)。心筋線維収縮関連遺伝子発現を調べるために、Troponin I (cTnT) を基準として、SLC8A1 (calcium regulation in cardiac cell) および CNN (Calponin 1, Calcium binding protein) の発現を検討したが、A108 と 235G では有意な差は認められなかった(図 31)。

モデルマウスを用いた病態解析

ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスの復元および系統維持

C57BL/6J 系統への遺伝的背景の均一化を行うため、C57BL/6J との交配を 4 世代進めて、常染色体の 98.3%および性染色体が C57BL/6J 系統へ置換されたマウスが得られた。しかしながら、この世代のヘテロ ($Chst14^{+/-}$) マウスから

ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスの産出は得られなかった (図 32)。出生率低下の原因として胎生致死の可能性を検討するため、胎児のジェノタイプングを行ったところ、胎生 14.5 日目にホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスは 28.6% の割合で存在したため、出生前に死に至ることが示唆された。そこで、129/C57BL/6J ハイブリッド (C57BL/6J への置換率 40-65%) のホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスの繁殖・維持を行い、解析に用いた。

ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスの表現型解析

ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスは野生型マウスに比べ、幼若期から成長期にかけて低体重であり、発育不良が示唆された (図 33)。また、DDEDS 患者で認められる様に、このマウスにおいても顔貌の左右非対称を認めた (図 34)。DDEDS に特徴的な顕著な関節拘縮は、ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスの外見上の観察および CT 撮像においては認められなかったものの、高齡ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウス (55 週齢) では、強い後彎を示す個体が CT 撮像にて確認された (図 35)。

皮膚病理組織学的解析では、若年期ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウス (15 週齢雄) においてもデコリン陽性線維の分布が疎であり、コラーゲン線維形成不全が認められた。また、ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウス (15 および 55 週齢) は、皮膚の引張強度が低下していた (図 36)。

ホームケージ内の自発行動量を測定したところ、高齡ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウス (雌) において行動量の低下 (図 37)、および走行速度の減少が認められた (図 38)。本解析における行動量は、情動および筋機能の影響を受けることが考えられる。そこで我々はまず、一部のエーラスダンロス患者で骨格筋萎縮の報告 (Voermans N.C. *et al.*, *Am. J. Med. Genet. A.*, 2012) があることから、筋機能評価を行った。

幼少期から経時的に握力を測定した結果、ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスでは常にヘテロ ($Chst14^{+/-}$) マウスや WT マウスと比較して弱い傾向にあった (図 39)。また、衰弱した高齡ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウスでは、間質の広がりとともに筋線維の大小不同が認められ (図 40)、前脛骨筋における筋線維断面積は WT マウスに比べ、平均値が約 2 分の 1 に減少していた (図 41)。さらに、遅筋線維の割合が野生型マウスに比べ、10 倍以上増加していた (図 42)。な

お、これらの異常所見は若年ホモ ($Chst14^{-/-}$) マウス (15 週齢雄) では認められなかった。

遺伝子治療の開発

ヒトおよびマウス D4ST1 発現 AAV ベクターを大量調製し、各々 1.7×10^{14} v.g. および 1.8×10^{13} v.g. を回収することができた。このベクターを用いて遺伝子導入を行った細胞抽出液において、D4ST1 活性の増加が認められた。

D. 考察

臨床的検討

日本を中心に、新たな DDEDS 患者が見出されている。今後は、国内外からの遺伝子診断要請に持続的に応じられる検査体制の構築が必要である。研究代表者らは、遺伝子解析担当の分担研究者である松本直通博士、三宅紀子博士の協力を得て、臨床的遺伝子解析体制の構築に着手している。症状の共通性を有する他疾患との鑑別や新規症候群の存在も視野に入れた段階的な次世代シーケンス体制である。一次スクリーニングとして、信州大学医学部附属病院遺伝子診療部において ion PGM™ のプラットフォームを利用した EDS を中心とした遺伝性結合組織疾患関連遺伝子の網羅的解析を行う。陰性例に対しては、二次スクリーニングとして、横浜市立大学大学院医学研究科遺伝学において、ハイエンド機種を用いたエクソーム解析を行う、というものである。さらに長期的には、保険収載化を目標とした検査体制の整備も必要と考える。

DDEDS における反復性巨大皮下血腫は、患者の QOL また時には生命を左右するきわめて重要な合併症であり、このマネジメントは急務である。平成 25 年度までに 3 患者において導入した DDAVP 点鼻療法は、(1) リスクある外傷時に現場で速やかに対応できる、(2) 一般に患者は血管確保が困難であるため点鼻療法は苦痛なく確実に投与できるというアドバンテージがある、といった点で有用性が高い。問題は、国内で採用されていないために、医師個人輸入に頼っており、また高額なため、安定的な供給に不安が残ることである。今後は、国内で安定的に使用できるよう、国内での保険収載となるよう手続きを進めていく必要がある。

DDEDS 患者においては高音部の聴力低下などが指摘されていたが、系統的に聴覚評価が行われたことはなかった。今回 3 患者全てに高音部の聴力低下が確認された。今後、聴力低下の機序を解明していく必要がある。

遺伝子解析

臨床的に DDEDS が疑われたが、*CHST14* 遺伝子に変異を認めなかった 8 患者を対象に全エクソーム解析を行った。その結果、3 症例に EDS の他の病型の既知遺伝子内に sequence variants を検出した。この病的意義に関しては、家系内 segregation の確認等、両親検体を用いた検証が必要である。

変異の認められなかった 5 家系に関しては、新規遺伝子が原因である可能性があり、2 家系以上に共通して変異を持つ遺伝子を検索しているが、今のところこの条件を満たす遺伝子は同定されていない。複数に遺伝子異常が類似の臨床像を呈していると推測される。

病理解析

患者検体を用いた病理解析

光顕および抗デコリン抗体を用いた免疫組織学的解析結果は、明らかにコントロールとは異なるものであった。興味深いことに、光顕では一見正常形態に見えたコラーゲン線維束部においても、明らかに異なる抗デコリン抗体の反応であったことから、真皮深層においても、デコリン-GAG 鎖複合体、すなわちデコリン・プロテオグリカンがコラーゲン細線維を packing している状態は異なっていることを示している。

CB 染色を施した電顕観察は、デコリン・プロテオグリカンとコラーゲン細線維との関係を決定しうるきわめて有効な手段であると期待される。GAG 鎖がコラーゲン細線維のバンドのどの位置にリンクするのかを明らかにする必要がある。さらに、今後、患者検体と年齢、性別、採取部位をマッチさせた正常コントロールを入手し、詳細に比較検討することが必須である。

ノックアウトマウス検体を用いた病理解析

ノックアウト (*Chst14*^{-/-}) マウスの皮膚 HE 染色所見、抗デコリン免疫組織化学所見は、*Chst14*^{+/-} マウス、WT マウスと比べて相違はあったが、ヒト患者の所見よりは顕著でなかった。ヒト患者では、

加齢に伴い皮膚の抗デコリン免疫組織化学所見が顕著になる傾向にあり、実際臨床的にも同様の傾向が見られたことから、マウスにおいても加齢による変化を観察する必要があると考えられた。現在、1 歳齢のマウスの解析を進めている。

胃粘膜において、抗デコリン免疫組織化学では粘膜固有層におけるデコリン分布に差があるようであった。ヒトでは 1 患者において特段のリスクファクターのない状態で、重篤な胃潰瘍を発症した。DDEDS 患者が実際胃粘膜の脆弱性を有するか、引き続き検討が必要である。

CB 染色を施した電顕観察は、デコリン・プロテオグリカンとコラーゲン細線維との関係を決定しうるきわめて有効な手段であると期待される。今回観察された *Chst14*^{-/-} マウスの GAG 鎖の不鮮明さ、コラーゲン細線維径の大小不同が疾患特異的变化であるかどうか、引き続き解析数を増やして検討していく必要がある。

糖鎖医学的検討

患者検体を用いた糖鎖解析

DDEDS 患者において尿中 DS は検出されないのに対して、健常人由来の尿において確実に検出されたことから、DDEDS 診断につながる簡便なスクリーニング方法としての有用性が示された。

c.2_10TGTTCCCCCdel (homo); p.Met1? という変異を有する DDEDS 患者由来の線維芽細胞では、ごく少量の DS 鎖が合成されていた。したがって、本患者では、D4ST1 が正しく翻訳されていないか、D4ST1 の酵素活性が低下しているか、細胞内局在が攪乱されているか、タンパク質発現量が少ない等が考えられ、その結果として、大部分の DS の合成不全を起こし、EDS が発症すると考えられた。

ノックアウトマウス検体を用いた糖鎖解析

AAV に組み込んだヒト D4ST-1 およびマウス D4st-1 は、ヒトの細胞 (293 細胞) にもヘテロ (*Chst14*^{+/-}) マウス由来皮膚線維芽細胞に導入され、酵素活性を発揮することが分かった。したがって、AAV を用いた遺伝子治療を目的とした研究の基盤が構築できたといえる。

ノックアウト (*Chst14*^{-/-}) マウスの皮膚においても、DDEDS 患者と同様に DS がほとんど検出されず、尿中には完全欠損であったことから、このマ

ウスは適切な DDEDS のモデルになりうると考えられた。

iPS 細胞を用いた病態解析

平成 24 年度までに DDEDS 患者由来 iPS 細胞を世界で初めて樹立した。十分な未分化能および多能性を有しており、iPS 細胞としての本質的機能が確認された。患者皮膚組織での検討結果と同様、SKID マウスに発生させた奇形種におけるデコリン染色状態は、患者では明らかに低下しており、「**デコリンによるコラーゲン細線維の assembly 不全**」という DDEDS の病態を反映したモデルとして矛盾はないと考えられた。

iPS 細胞のゲノム構成が末梢血由来ゲノム DNA から変化を来しているかを高密度 SNP アレイで検証し、iPS 細胞由来のゲノム DNA のみに *GRID2* 遺伝子内に 91 kb の欠失を認めた。これは本 iPS 細胞の樹立過程において獲得されたコピー数異常であり、今後本 iPS 細胞を用いた病態解析を展開していく際には、慎重に解釈する必要があると考えられた。

さらに、神経細胞への分化誘導に成功、DDEDS 患者由来 iPS 細胞では健常人由来 iPS 細胞に比べて、神経細胞系への分化誘導効率が低下していること、神経細胞発達・分化調節に関わる遺伝子群などに発現の低下が見られることが明らかになった。DDEDS 患者の多くは最終的に正常範囲の知能レベルを有しているが、発達遅滞、画像上脳室拡大を呈する児が多いことが、こうした神経系の遺伝子発現状態とどのように関連しているか、さらなる精査が必要である。また、患者 iPS 細胞由来の奇形種において、通常認められない脳脈絡叢様の組織が認められた。DDEDS 患者においては、脳室拡大を伴う場合が少なくなく、今回の所見との関係が注目されることである。

患者由来 iPS 細胞は、健常人由来 iPS 細胞に比べて、Laminin および P-cadherin の発現が低下しており、実際細胞接着能が低い傾向にあった。全身性結合組織脆弱性とどのように関連しているか、今後も他系統の細胞に分化させたもので検証していく必要がある。

本年度初めて心筋細胞への分化誘導に成功した。DDEDS 患者では、心筋異常の報告はないが、上行大動脈拡張、弁異常、また反復性巨大皮下血腫から推測される筋性動脈脆弱性が観察されてお

り、今後は血管平滑筋細胞への分化誘導、機能解析を行っていく必要がある。

モデルマウスを用いた病態解析

C57BL/6J 系統への遺伝的背景の均一化を試みたが、置換率増加とともにホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスの出生率が低下した。同ノックアウトマウスに関する先行論文においても同様に結果であることをふまえ (Akyuz, N. *et al.*, *Glycobiology*, 2012)、C57BL/6J 系統への置換率の低い *Chst14^{-/-}* マウスを繁殖維持し、研究を遂行することとした。

ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスでは発育不良、特徴的な顔貌を示し、高齢個体では強い後彎が認められた。さらに、皮膚および筋組織においては、病理所見および引張強度の低下や握力低下を示した。これらはヒト患者における表現型に類似するものであった。

握力低下は一般的には筋力低下を裏付けるものであるが、DDEDS 患者では先天性関節拘縮の影響もあると推測される。しかし、ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスにおいては先天性関節拘縮は認められなかったため、primary な筋肉の異常に関係している可能性が考えられた。

ホモ (*Chst14^{-/-}*) マウスの産出数が低く、解析例が少ないため、引き続き解析を行う必要があるが、本分担研究において明らかとなった表現型は DDEDS 患者の症状に近く、治療研究の評価項目となる可能性が示唆された。

遺伝子治療の開発

平成 25 年度作製した D4ST1 発現 AAV ベクターのヒト細胞 (293 細胞) およびヘテロ (*Chst14^{+/-}*) マウスの培養皮膚線維芽細胞に対する感染実験により、D4ST1 の強制発現が確認できたことから、次年度以降本ベクターの改良を図りながら治療実験を行っていく基盤ができたといえる。

患者への治験を視野に入れて、次年度以降、以下のような課題を一つ一つ克服していく必要がある。

どの血清型の AAV ベクターを選択するか。

標的臓器の決定とそれに準じた適切な *CHST14* 遺伝子の発現カセットの構築。

***Chst14*^{-/-} マウス由来細胞での治療実験。**

患者由来皮膚線維芽細胞での治療実験。

***Chst14*^{-/-} マウスを用いた治療実験。**

E . 結論

本研究班の活動および国内外の他施設の報告より、これまでに30家系41患者が見出され、DDEDSが比較的頻度の高い重要なEDSの1病型であることが示された。DDAVPが反復性巨大皮下血腫のマネジメントに有効であること、高音部の聴力低下があることが明らかにされた。

臨床的には疑われるがCHST14変異の検出されなかった8患者において全エクソーム解析が行われたが、原因遺伝子同定には至っていない。

患者皮膚組織の抗デコリン染色パターンは疾患特異的であった。ノックアウト (*Chst14*^{-/-}) マウスでは、患者ほど顕著でないものの特徴を有しており、D4ST1欠損症におけるデコリン・プロテオグリカンとコラーゲン細線維との相互位置関係異常を再現している。

患者においても、ノックアウト (*Chst14*^{-/-}) マウスにおいても、皮膚および尿中DSはほぼ完全に欠損していた。ヒトCHST14およびマウス*Chst14*を組み込んだAAVの感染により、ヒト細胞(293細胞)およびヘテロ (*Chst14*^{+/-}) マウス由来皮膚線維芽細胞におけるD4ST1およびD4st1酵素活性は著増した。

患者由来iPS細胞はiPS細胞として十分な未分化能、多能性を有しており、分化誘導した神経細胞では、健康人由来iPS細胞から分化誘導した神経細胞に比べて、分化誘導効率が不良で、神経細胞発達・分化調節に関わる遺伝子群などに発現の低下が見られた。患者由来iPS細胞は、健康人由来iPS細胞に比べて、LamininおよびP-cadherinの発現が低下しており、細胞接着能が低い傾向にあった。さらに、心筋細胞への分化へも成功した。

ホモ (*Chst14*^{-/-}) マウスの遺伝的背景をC57BL/6J系統へ均一化すると、出生率が著しく低下したため、C57BL/6Jへの置換率の低いハイブリッドマウスを安定的に作出する必要がある。出生後の成長障害、顔貌の非対称性、DSの欠乏状態、皮膚の脆弱化、筋力低下、衰弱高齢

マウスでの後彎など患者の似た症状を呈した。筋力低下の背景として、骨格筋における間質の広がりおよび筋線維の細径化、遅筋化が関与している可能性が考えられた。

高力価のD4ST1発現AAVベクターが作製できたため、マウスを用いた治療実験の準備が整った。

平成26年度以降、遺伝子解析体制を維持して患者を収集し臨床的検討を行い、iPS細胞やノックアウトマウスを利用した病態解析研究を推進するとともに、高力価のD4ST1発現AAVベクターを用いた治療実験にとりかかる計画である。

F . 健康危険情報

特になし。

G . 研究発表

1 . 論文発表

平成25年度

Kosho T (corresponding author), Mizumoto S, Sugahara K. Carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-O) sulfotransferase 14 (CHST14). In: Handbook of glycosyltransferases and related genes (Taniguchi N, Honke K, Fukuda M, Narimatsu H, Yamaguchi Y, Angata T, eds), Springer (in press).

Shimizu K, Wakui K, **Kosho T (corresponding author)**, Okamoto N, Mizuno S, Itomi K, Hattori S, Nishio K, Samura O, Kobayashi Y, Kako Y, Arai T, Oishi 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 Part A [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 (corresponding author)**. Surgical intervention for esophageal atresia in

patients with trisomy 18. *Am J Med Genet Part A* 164(2): 324-330, 2014.

Kosho T (corresponding author), Kuniba H, Tanikawa Y, Hashimoto Y, Sakurai H. Natural history and parental experience of children with trisomy 18 based on a questionnaire given to a Japanese trisomy 18 parental support group. *Am J Med Genet Part A* 161A(7): 1531-1542, 2013.

Kosho T (corresponding author), 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 Part A* 161A(6): 1221-1237, 2013.

Tsurusaki Y, **Kosho T (equal contribution, corresponding author)**, Hatasaki K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Doi H, Saitsu H, Miyake N, Matsumoto N. Exome sequencing in a family with an X-linked lethal malformation syndrome: clinical consequences of hemizygous truncating OFD1 mutations in male patients. *Clin Genet* 83(2): 135-144, 2013.

Kosho T. Discovery and delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome. In: *Current Genetics in Dermatology* (Oiso N, Kawada A, eds), InTech, Croatia, pp73-86, 2013.

Miyake N, **Kosho T**, Matsumoto N. Ehlers-danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. *Adv Exp Med Biol* 802:145-59, 2014.

Sugiura K, Takeichi T, Tanahashi K, Ito Y, **Kosho T**, Saida K, Uhara H, Okuyama R, Akiyama M. Lamellar ichthyosis in a collodion baby caused by CYP4F22 mutations in a non-consanguineous family outside the Mediterranean. *J Dermatol Sci*, 2013 [Epub ahead of print].

Nitta H, Unoki M, Ichiyanagi K, **Kosho T**, Shigemura T, Takahashi H, Velasco G,

Francastel C, Picard C, Kubota T, Sasaki H. Three novel ZBTB24 mutations identified in Japanese and Cape Verdean type 2 ICF syndrome patients. *J Hum Genet* 58(7): 455-460, 2013.

Tanaka K, Sekijima Y, Yoshida K, Tamai M, **Kosho T**, Sakurai A, Wakui K, Ikeda S, Fukushima Y. Follow-up nationwide survey on predictive genetic testing for late-onset hereditary neurological diseases in Japan. *J Hum Genet.* 58(8): 560-563, 2013.

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 Part A* 161(9): 2234-2243, 2013.

Higashimoto K, Jozaki K, **Kosho T**, Matsubara K, Fuke T, Yamada D, Yatsuki H, Maeda T, Ohtsuka Y, Nishioka K, Joh K, Koseki H, Ogata T, Soejima H. A novel de novo point mutation of the OCT-binding site in the IGF2/H19-imprinting control region in a Beckwith-Wiedemann syndrome patient. *Clin Genet* [Epub ahead of print].

Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Muramatsu H, Takahashi Y, Natsume J, Kojima S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, **Matsumoto N**, **Miyake N**. A novel WTX mutation in a female patient with osteopathia striata with cranial sclerosis and hepatoblastoma. *Am J Med Genet A.* 2014 Jan 23. doi: 10.1002/ajmg.a.36369. [Epub ahead of print].

Fukai R, Hiraki Y, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, **Matsumoto N**, **Miyake N**. A de novo 1.4-Mb deletion at 21q22.11 in a boy with developmental delay. *Am J Med Genet A.* 2014 Jan 23. doi: 10.1002/ajmg.a.36377. [Epub ahead of

- print].
- Nakajima J, Eminoglu TF, Vatanserver G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, **Matsumoto N**, **Mivake N**. A novel homozygous YARS2 mutation causes severe myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia 2. *J Hum Genet*. 2014 Jan 16. doi: 10.1038/jhg.2013.143. [Epub ahead of print].
- Nakamura K, Osaka H, Murakami Y, Anzai R, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Mivake N**, Kinoshita T, **Matsumoto N**, Saitsu H. PIGO mutations in intractable epilepsy and severe developmental delay with mild elevation of alkaline phosphatase levels. *Epilepsia*. 2014 Jan 13. doi: 10.1111/epi.12508. [Epub ahead of print].
- Hiraki Y, Miyatake S, Hayashidani M, Nishimura Y, Matsuura H, Kamada M, Kawagoe T, Yunoki K, Okamoto N, Yofune H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Murakami A, **Mivake N**, Nishimura G, **Matsumoto N**. Aortic aneurysm and raiosynostosis in a family with Cantu syndrome. *Am J Med Genet A*. 2014 Jan;164(1):231-6.
- Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, **Mivake 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].
- 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, **Mivake 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 Dec;34(12):1708-14.
- Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, **Matsumoto N**, **Mivake N**. A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? *Hum Genet*. 2014 Feb;133(2):225-34.
- Ohba C, Osaka H, Iai M, Yamashita S, Suzuki Y, Aida N, Shimozawa N, Takamura A, Doi H, Tomita-Katsumoto A, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, **Mivake N**, Eto Y, Tanaka F, **Matsumoto N**, Saitsu H. Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood. *Neurogenetics*. 2013 Nov;14(3-4):225-32.
- Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, **Matsumoto N**, **Mivake N**. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet*. 2013 Dec;58(12):822-4.
- Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Mivake 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.
- Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu YP, Oh EC, **Mivake N**, Benaglio P, Harper S, Koskiniemi-Kuendig H, Venturini G, Sharon D, Koenekoop RK, Nakamura M, Kondo M, Ueno S, Yasuma TR, Beckmann JS, Ikegawa S, **Matsumoto N**, Terasaki H, Berson EL, Katsanis N, Rivolta C. Whole genome sequencing in patients with retinitis pigmentosa reveals pathogenic DNA structural changes and NEK2 as a new disease gene. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Oct 1;110(40):16139-44.
- Nakamura K, Kodera H, Akita T, Shiina M, Kato M, Hoshino H, Terashima H, Osaka H, Nakamura S, Tohyama J, Kumada T, Furukawa T, Iwata S, Shiihara T, Kubota M, Miyatake S, Koshimizu E, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Mivake N**, Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, **Matsumoto N**, Saitsu H. De Novo mutations in GNAO1, encoding a Gαo subunit of heterotrimeric G proteins, cause

- epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet.* 2013 Sep 5;93(3):496-505.
- Nakamura K, Kato M, Osaka H, Yamashita S, Nakagawa E, Haginoya K, Tohyama J, Okuda M, Wada T, Shimakawa S, Imai K, Takeshita S, Ishiwata H, Lev D, Lerman-Sagie T, Cervantes-Barragán DE, Villarroel CE, Ohfu M, Writzl K, Gnidovec Strazisar B, Hirabayashi S, Chitayat D, Myles Reid D, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Miyake N**, Hayasaka K, **Matsumoto N**, Saitsu H. Clinical spectrum of SCN2A mutations expanding to Ohtahara syndrome. *Neurology.* 2013 Sep 10;81(11):992-8.
- Fukai R, Ochi N, Murakami A, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, **Matsumoto N**, **Miyake N**. Co-occurrence of 22q11 deletion syndrome and HDR syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013 Oct;161(10):2576-81.
- 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 Y, Taguri M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Yoshiura K, **Matsumoto N**, Niikawa N. MLL2 and KDM6A mutations in atients with Kabuki syndrome. *Am J Med Genet A.* 2013 Sep;161(9):2234-43.
- Doi H, Ohba C, Tsurusaki Y, Miyatake S, **Miyake N**, Saitsu H, Kawamoto Y, Yoshida T, Koyano S, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Tanaka F, **Matsumoto N**. Identification of a novel homozygous SPG7 mutation in a Japanese patient with spastic ataxia: making an efficient diagnosis using exome sequencing for autosomal recessive cerebellar ataxia and spastic paraplegia. *Intern Med.* 2013;52(14):1629-33.
- Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh R, Nakashima M, Saitsu H, **Miyake N**, Saito S, **Matsumoto N**. Whole exome sequencing revealed biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. *Clin Genet.* 2013 Jul 5. doi: 10.1111/cge.12215. [Epub ahead of print].
- Fujita A, Suzumura H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Harada N, **Matsumoto N**, **Miyake N**. A unique case of de novo 5q33.3-q34 triplication with uniparental isodisomy of 5q34-qter. *Am J Med Genet A.* 2013 Aug;161A(8):1904-9.
- 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]
- Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, **Miyake N**, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Osaka H, Yamashita S, Ohya T, Sakamoto Y, Koshimizu E, Imamura S, Yamashita M, Ogata K, Shiina M, Bryson-Richardson RJ, Vaz R, Ceyhan O, Brownstein CA, Swanson LC, Monnot S, Romero NB, Amthor H, Kresoje N, Sivadorai P, Kiraly-Borri C, Haliloglu G, Talim B, Orhan D, Kale G, Charles AK, Fabian VA, Davis MR, Lammens M, Sewry CA, Manzur A, Muntoni F, Clarke NF, North KN, Bertini E, Nevo Y, Willichowski E, Silberg IE, Topaloglu H, Beggs AH, Allcock RJ, Nishino I, Wallgren-Pettersson C, **Matsumoto N**, Laing NG. Mutations in KLHL40 are a frequent cause of severe autosomal-recessive nemaline myopathy. *Am J Hum Genet.* 2013 Jul 11;93(1):6-18.
- Nakamura K, Kato M, Tohyama J, Shiohama T, Hayasaka K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Miyake N**, **Matsumoto N**, Saitsu H. AKT3 and PIK3R2 mutations in two patients with megalencephaly-related syndromes: MCAP and MPPH. *Clin Genet.* 2013 Jun 10. doi: 10.1111/cge.12188. [Epub ahead of print]
- Kondo Y, Koshimizu E, Megarbane A, Hamanoue H, Okada I, Nishiyama K, Kodera H,

- Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Doi H, **Mivake N**, Saitsu H, **Matsumoto N**. Whole-exome sequencing identified a homozygous FNBP4 mutation in a family with a condition similar to microphthalmia with limb anomalies. *Am J Med Genet A*. 2013 Jul;161A(7):1543-6.
- Nakajima M, Mizumoto S, **Mivake N**, Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, Horikawa R, Lai A, Mendoza-Londono R, Dupuis L, Chitayat D, Howard A, Leal GF, Cavalcanti D, Tsurusaki Y, Saitsu H, Watanabe S, Lausch E, Unger S, Bonafé L, Ohashi H, Superti-Furga A, **Matsumoto N**, Sugahara K, Nishimura G, Ikegawa S. Mutations in B3GALT6, which Encodes a Glycosaminoglycan Linker Region Enzyme, Cause a Spectrum of Skeletal and Connective Tissue Disorders. *Am J Hum Genet*. 2013 Jun 6;92(6):927-34.
- Kodera H, Kato M, Nord AS, Walsh T, Lee M, Yamanaka G, Tohyama J, Nakamura K, Nakagawa E, Ikeda T, Ben-Zeev B, Lev D, Lerman-Sagie T, Straussberg R, Tanabe S, Ueda K, Amamoto M, Ohta S, Nonoda Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, **Mivake N**, Hayasaka K, King MC, **Matsumoto N**, Saitsu H. Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy. *Epilepsia*. 2013 Jul;54(7):1262-9.
- Nakamura K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Mivake N**, **Matsumoto N**, Saitsu H, Jinnou H, Ohki S, Yokochi K, Okanishi T, Enoki H. A de novo CASK mutation in pontocerebellar hypoplasia type 3 with early myoclonic epilepsy and tetralogy of Fallot. *Brain Dev*. 2013 Apr 24. pii: S0387-7604(13)00133-2. doi: 10.1016/j.braindev.2013.03.007. [Epub ahead of print].
- Kato M, Yamagata T, Kubota M, Arai H, Yamashita S, Nakagawa T, Fujii T, Sugai K, Imai K, Uster T, Chitayat D, Weiss S, Kashii H, Kusano R, Matsumoto A, Nakamura K, Oyazato Y, Maeno M, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Mivake N**, Saito K, Hayasaka K, **Matsumoto N**, Saitsu H. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia*. 2013 Jul;54(7):1282-7.
- Iida A, Okamoto N, **Mivake 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 Jun;58(6):391-4.
- Miyatake S, Murakami A, **Okamoto N**, Sakamoto M, **Mivake 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*. 2013 May;161A(5):1073-7.
- Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Lee BJ, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, Doi H, **Mivake N**, Kim JH, Yu YS, **Matsumoto N**. Pathogenic mutations in two families with congenital cataract identified with whole-exome sequencing. *Mol Vis*. 2013;19:384-9.
- Saitsu H, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera H, Kumada S, Sugai K, Kasai-Yoshida E, Sawaura N, Nishida H, Hoshino A, Ryujin F, Yoshioka S, Nishiyama K, Kondo Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, **Mivake N**, Arakawa H, Kato M, Mizushima N, **Matsumoto N**. De novo mutations in the autophagy gene WDR45 cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood. *Nat Genet*. 2013 Apr;45(4):445-9, 449e1.
- Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, **Mivake N**, Saitsu H, Ohba C, Fukai R, Miyatake S, Joki H, Koyano S, Suzuki Y, Tanaka F, Kuroiwa Y, **Matsumoto N**. A novel SCARB2 mutation causing late-onset progressive myoclonus epilepsy. *Mov Disord*. 2013 Apr;28(4):552-3.
- Takanashi JI, Osaka H, Saitsu H, Sasaki M, Mori H, Shibayama H, Tanaka M, Nomura Y, Terao Y, Inoue K, **Matsumoto N**, James Barkovich A. Different patterns of cerebellar abnormality and hypomyelination between POLR3A and POLR3B mutations. *Brain*

Dev. 2013 May 3. pii: S0387-7604(13)00132-0. doi:10.1016/j.braindev.2013.03.006. [Epub ahead of print].

- Nakayama T, Saitsu H, Endo W, Kikuchi A, Uematsu M, Haginoya K, Hino-Fukuyo N, Kobayashi T, Iwasaki M, Tominaga T, Kure S, **Matsumoto N**. RBPJ is disrupted in a case of proximal 4p deletion syndrome with epilepsy. *Brain Dev.* 2013 [Epub ahead of print].
- Okamoto N, Yamagata T, Yada Y, Ichihashi K, **Matsumoto N**, Momoi MY, Mizuguchi T. Williams-Beuren syndrome with brain malformation and hypertrophic cardiomyopathy. *Brain Dev.* 2013 [Epub ahead of print].
- Ichinose Y, Miwa M, Onohara A, Obi K, Shindo K, Saitsu H, **Matsumoto N**, Takiyama Y. Characteristic MRI findings in beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN). *Neurol Clin Pract* (in press).
- Nonoda Y, Saito Y, Nagai S, Sasaki M, Iwasaki T, **Matsumoto N**, Ishii M, Saitsu H. Progressive diffuse brain atrophy in West syndrome with marked hypomyelination due to SPTAN1 gene mutation. *Brain Dev.* 2013 Mar;35(3):280-3.
- 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 Sep;161(9):2291-3.
- Sun SL, Horino S, Itoh-Nakadai A, Kawabe T, Asao A, Takahashi T, So T, Funayama R, Kondo M, Saitsu H, **Matsumoto N**, Nakayama K, Ishii N. Y chromosome-linked B and NK cell deficiency in mice. *J Immunol.* 2013 190(12):6209-20.
- Vergano SS, Santen G, Wiczorek D, Wollnik B, **Matsumoto N**, Deardorff MA: Coffin-Siris Syndrome (April 2013) in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2013. Available at

<http://www.genetests.org>.
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK131811/>).

- Nakayama J**: α 1,4-*N*-acetylglucosaminyltransferase. In *Handbook of Glycosyltransferases and Related Genes*, 2nd ed. (edited by Taniguchi N, Honke K, Fukuda M, Narimatsu H, Yamaguchi Y, Angata T), Springer-Verlag (in press).
- Kamigaito T, Okaneya T, Shimojo H, Nishizawa O, **Nakayama J (corresponding author)**: Overexpression of *O*-GlcNAc by prostate cancer cells is significantly associated with poor prognosis of patients. *Prostate Cancer Prost Dis*, (in press).
- Shiratsu K, Higuchi K, **Nakayama J (corresponding author)**: Loss of gastric gland mucin-specific *O*-glycan is significantly associated with progression of differentiated-type adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Sci* (in press).
- Iwaya Y, Hasebe O, Koide N, Kitahara K, Suga T, Shinji A, Muraki T, Yokosawa S, Yamada S, Arakura N, Tanaka E, **Nakayama J (corresponding author)**: Reduced expression of \square GlcNAc in Barrett's esophagus adjacent to Barrett's adenocarcinoma - Possible biomarker to predict the malignant potential of Barrett's esophagus -. *Histopathology*, (in press).
- Kobayashi T, Yan H, Kurahashi Y, Ito Y, Maeda H, Tada T, Hongo K, **Nakayama J (corresponding author)**: Role of GalNAc4S-6ST in astrocytic tumor progression. *PLoS One* 8, e54278, 2013.
- Sugiyama R, Agematsu K, Migita K, **Nakayama J**, Mokuda S, Ogura F, Haraikawa K, Okumura C, Suehiro S, Morikawa S, Ito Y, Masumoto J. Defect of suppression of inflammasome-independent interleukin-8 secretion from SW982 synovial sarcoma cells by familial Mediterranean fever-derived pyrin mutations. *Mol Biol Rep*, (in press).
- Nakahara A, Yoshida T, Yazawa M, Ehara T, **Nakayama J**, Kakita A, Ogura R, Asakawa M, Suzuki-Kouyama E, Oyanagi K: Gliomatosis encephali" as a novel category

- of brain tumors by the first autopsy case report of gliomatosis cerebelli. *Neuropathology*, (in press).
- Ito Y, Vela JL, Matsumura F, Hoshino H, Tyznik A, Lee H, Girardi E, Zajonc DM, Liddington, Kobayashi M, Bao X, Bugaytsova J, Borén T, Jin R, Zong Y, Seeberger PH, **Nakayama J**, Kronenberg M, Fukuda M: Helicobacter pylori cholesteryl α -glucosides contribute to its pathogenicity and immune response by natural killer T cells. *PLoS One* 8, e78191, 2013.
- Iwaya Y, Kobayashi M, Momose M, Hiraoka N, Sakai Y, Akamatsu T, Tanaka E, Ohtani H, Fukuda M, **Nakayama J**: High levels of FOXP3⁺ regulatory T cells in gastric MALT lymphoma predicts responsiveness to Helicobacter pylori eradication. *Helicobacter* 18, 356-362, 2013.
- Miyamoto T, Suzuki A, Asaka R, Ishikawa, Yamada Y, Kobara H, **Nakayama J**, Shiozawa T: Immunohistochemical expression of core2 β 1-6 N-acetylglucosaminyl transferase 1 (C2GnT1) in endometrioid type of endometrial carcinoma: a novel potential prognostic factor. *Histopathology* 62, 986-993, 2013.
- Kashima Y, Takahashi M, Shiba Y, Itano N, Izawa A, Koyama J, **Nakayama J**, Taniguchi S, Kimata K, Ikeda U: Crucial role of hyaluronan in neointimal formation after vascular injury. *PLoS One* 8, e58760, 2013.
- Suzuki-Anekoji M, Suzuki A, Wu S-W, Angata K, Murai K, Sugihara K, Akama TO, Khoo K-H, **Nakayama J**, Fukuda MN, Fukuda M: In vivo regulation of steroid hormones by the chst10 sulfotransferase in mouse. *J Biol Chem* 288, 5007-5016, 2013.
- Tateishi K, Ikeda M, Yokoyama T, Urushihata K, Yamamoto H, Hanaoka M, Kubo K, Sakai Y, **Nakayama J**, Koizumi T: Primary malignant sarcomatoid mesothelioma in the pericardium. *Intern Med* 52, 249-253, 2013.
- Ohya A, Kobayashi M, Sakai Y, Kawashima H, Kageyama S, **Nakayama J**: Lymphocyte recruitment via high endothelial venules in lymphoid stroma of Warthin's tumour. *Pathology* 45, 150-154, 2013.
- Maruyama M, Kobayashi M, Sakai Y, Hiraoka N, Oya A, Kageyama S, Tanaka E, **Nakayama J**, Morohoshi T: Periductal induction of high endothelial venule-like vessels in type 1 autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 42, 53-59, 2013.
- Amano J, **Nakayama J**, Yoshimura Y, Ikeda U: Clinical classification of cardiovascular tumors and tumor-like lesions, and its incidences. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 61, 435-447, 2013.
- Mizumoto S**, Fongmoon D, **Sugahara K**: Interaction of chondroitin sulfate and dermatan sulfate from various biological sources with heparin-binding growth factors and cytokines. *Glycoconjugate J* 30(6): 619-632, 2013.
- *Nakajima M, * **Mizumoto S**, *Miyake N, Kogawa R, Iida A, Ito H, Kitoh H, Hirayama A, Mitsubuchi H, Miyazaki O, Kosaki R, Horikawa R, Lai A, Mendoza-Londono R, Dupuis L, Chitayat D, Howard A, Ferraz-Leal G, Cavalcanti D, Tsurusaki Y, Saitsu H, Watanabe S, Lausch E, Unger S, Bonafe L, Ohashi H, Superti-Furga A, Matsumoto N, **Sugahara K**, Nishimura G, Ikegawa S. (*equal contribution) Mutations in *B3GALT6*, which encodes a glycosaminoglycan linker region enzyme, cause a spectrum of skeletal and connective tissue disorders. *Am J Hum Genet* 92(6): 927-934, 2013.
- *Muller T, * **Mizumoto S**, *Suresh I, Komatsu Y, Vodopiutz J, Dundar M, Straub V, Lingenhel A, Melmer A, Lechner S, Zschocke J, **Sugahara K**, Janecke AR. (*equal contribution) Loss of dermatan sulfate epimerase (DSE) function results in musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome. *Hum Mol Genet* 22(18): 3761-3772, 2013.
- *Iida A, *Simsek-Kiper PO, * **Mizumoto S**, Hoshino T, Elcioglu N, Horemuzova E, Geiberger S, Yesil G, Kayserili H, Unite GE, Boduroglu K, Watanabe S, Ohashi H, Alanay Y, **Sugahara K**, Nishimura G, Ikegawa S. (*equal contribution) Clinical and radiographic features of the autosomal recessive form of brachyolmia caused by *PAPSS2* mutations. *Hum Mutat* 34(10): 1381-1386, 2013.
- Mizumoto S**. Reduction of chondroitin

- 4-O-sulfotransferase-1 expression causes Costello syndrome. *Trends in Glycoscience and Glycotechnology* 25(142), 87-89, 2013.
- Mizumoto S**, Ikegawa S, **Sugahara K**. Human genetic disorders caused by mutations in the genes encoding biosynthetic enzymes for sulfated glycosaminoglycans (Minireview). *J Biol Chem* 288(16): 10953-10961, 2013.
- Yue F**, Shirasawa S, Ichikawa H, Yoshie S, Mogi A, Masuda S, Magai M, Yokohama T, Tomotsune D, Sasaki K. Regenerative Medicine and Tissue Engineering. In Tech. 117-139, 2013.
- Takizawa-Shirasawa S, Yoshie S, **Yue F**, Mogi A, Yokoyama T, Tomotsune D, Sasaki K. FGF7 and cell density are required for final differentiation of pancreatic amylase-positive cells from human ES cells. *Cell Tissue Res. Cell Tissue Res.* 354(3): 751-759, 2013.
- Ichikawa H, Kanoh Y, Shirasawa S, Yokoyama T, **Yue F**, Tomotsune D, Sasaki K. Unique kinetics of Oct3/4 microlocalization following dissociation of human embryonic stem cell colonies. *Ann Anat.* 195(1): 50-56, 2013.
- Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Nitahara-Kasahara Y, Baba Y, Watanabe S, Takeda S, **Okada T**. Robust long-term transduction of common marmoset neuromuscular tissue with rAAV1 and rAAV9. *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2:e95, 2013.
- Kanagawa M, Yu C, Ito C, Fukada S, Hozoji-Inada M, Chiyo T, Kuga A, Matsuo M, Sato K, Yamaguchi M, Ito T, Katanosaka Y, Miyagoe-Suzuki Y, Naruse K, Kobayashi K, **Okada T**, Takeda S, and Toda T. Impaired viability of muscle precursor cells in muscular dystrophy with glycosylation defects and amelioration of its severe phenotype by limited gene expression. *Human Molecular Genetics*, 22(15):3003-15, 2013.
- Nakamura, A., Kobayashi, M., Kuraoka, M., Yuasa, K., Yugeta, N., **Okada, T**. and Takeda, S. Initial pulmonary respiration causes massive diaphragm damage and hyper-CKemia in Duchenne muscular dystrophy dog. *Sci Rep.*, 3:2183., 10.1038/srep02183, 2013.
- Ishibashi H, Motohashi HH, Kumon M, Yamamoto K, Okada H, **Okada T**, Seki K. Efficient embryo transfer in the common marmoset monkey (*Callithrix jacchus*) with a reduced transfer volume: a non-surgical approach with cryo-preserved late-stage embryos. *Biology of Reproduction*, 88(5):115, 2013.
- Ishibashi H, Motohashi HH, Kumon M, Yamamoto K, Okada H, **Okada T**, Seki K. Ultrasound-guided non-surgical embryo collection in the common marmoset. *Reproductive Biology*, 13(2):139-44, 2013.
- Okada T**, Efficient AAV vector production system: Towards gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. In Gene Therapy - Tools and Potential Applications (ed. by Francisco Martin), InTech, pp429-440, 2013.
- Okada T**, Takeda S. Current challenges and future directions in recombinant AAV-mediated gene therapy of Duchenne muscular dystrophy. *Pharmaceuticals* 6(7), 813-836, 2013.
- Kasahara Y, **Takeda S**, **Okada T**. Cell therapeutic approaches using multipotent mesenchymal stromal cells for muscular dystrophy. *Inflammation and Regeneration*. (In press).
- Kawada C, Hasegawa T, Watanabe M, **Nomura Y**. Dietary Glucosylceramide Enhances Tight Junction Function in Skin Epidermis via Induction of Claudin-1. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 77, 867-869, 2013.
- Tsuda Y, **Nomura Y**. Direct observation of hair components involved in formation of permanent waves. *Seni gakkaiishi*, 69, 65-72, 2013.
- Tsuda Y, **Nomura Y**. Properties of alkaline-hydrolyzed waterfowl feather keratin. *Animal Science J* (in press).
- Okabe M, Kitagawa K, Yoshida T, Suguki T, Waki H, Koike C, Furuichi E, Katou K, **Nomura Y**, Uji Y, Hayashi A, Saito S and Nikaido T. Hyperdry human amniotic membrane (HD-AM) is useful material for tissue engineering: Morphological, physical properties and safety as the new biological material. *J. Bio. Mat. Res.*, Part A (in press).
- Hara M, Fujii T, Hashizume R, **Nomura Y**. Effect of strain on human dermal fibroblasts in a

three-dimensional collagen sponge, *Cytotechnology*. (in press).

Uehara K, Hara M, Matsuo T, Namiki G, Watanabe M, **Nomura Y**. Hyaluronic acid secretion by synoviocytes alters under cyclic compressive load in contracted collagen gels. *Cytotechnology* (in press).

Hara M, Nakashima M, Fujii T, Uehara K, Yokono C, Hashizume R, and **Nomura Y**. Construction of collagen gel scaffold is for mechanical stress analysis, *Biosci. Biotechnol. Biochem* (in press).

Uehara K, Takahashi A, Watanabe M, **Nomura Y**. Shark protein improves bone mineral density in ovariectomized rats and inhibits osteoclast differentiation, *Nutrition* (in press).

Murata M, Satoh T, Wakabayashi H, Yamauchi K, Abe F, **Nomura Y**. Oral administration of bovine lactoferrin attenuates UVB-induced skin photodamage in hairless mice, *Journal of Dairy Science* (in press).

古庄知己：遺伝カウンセリングロールプレイ実習～全人的医学教育としての取り組み～. 日本遺伝カウンセリング学会誌 34(1)：17-20, 2013.

古庄知己：デルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群の発見と疾患概念の確立. 日本遺伝カウンセリング学会誌 34(1): 21-29, 2013.

古庄知己：信州大学医学部附属病院遺伝子診療部の取り組み～小児科出身の臨床遺伝科医として思うこと. 日本遺伝カウンセリング学会誌 (in press)

古庄知己：18 トリソミー児の調査を通じて. ネオネイタルケア 26(5), 2013.

古庄知己：その他の遺伝性大動脈瘤・大動脈解離—血管型エーラスダンロス症候群. 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC(42) 大動脈瘤・大動脈解離, 鈴木亨, 永井良三(編) 最新医学社, 大阪, 85-92, 2013.

古庄知己：グリコサミノグリカンの異常と新型 Ehlers-Danlos 症候群 (古庄型). 病理と臨床 31(8): 852-860, 2013.

古庄知己：18 トリソミー症候群. 小児科臨床増刊号『臨床医が知っておきたい先天異常』 66：55-60, 2013.

古庄知己：4p-症候群, 5p-症候群. 周産期医学特集『染色体異常と先天異常症候群の診療ガイド』 43(3): 363-367, 2013.

水本秀二：デルマトン硫酸合成不全によるエーラス・ダンロス症候群の創薬のシーズの開発. 秋山財団年報 26: 73, 2013.

平成 24 年度

Kosho T. Discovery and delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome. In: Current Genetics in Dermatology (Oiso N, Kawada A, eds), InTech.

Miyake N, Kosho T, Matsumoto N. Ehlers-Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. In: Progress in heritable soft tissue disease, Springer (in press).

Tsurusaki Y[#], ***Kosho T**[#] (# denotes equal contribution), Hatasaki K, Narumi Y, Wakui K, Fukushima Y, Doi H, Saito H, **Miyake N**, ***Matsumoto N** (*: co-correspondence). Exome sequencing identifies an *OFDI* mutation in a family of X-linked lethal congenital malformation syndrome: delineation of male Oral-facial-digital syndrome type 1. *Clin Genet* 83(2): 135-144, 2012.

Kondo E, Nishimura T, **Kosho T** (corresponding author), Inaba Y, Mitsuhashi S, Ishida T, Baba A, Koike K, Nishino I, Nonaka I, Furukawa T, Saito K. Recessive RYR1 mutations in a patient with severe congenital nemaline myopathy with ophthalmoplegia identified through massively parallel sequencing. *Am J Med Genet A*. 2012 Apr;158A(4):772-8

Motobayashi M, Nishimura-Tadaki A, Inaba Y, **Kosho T** (corresponding author), Miyatake S, Niimi T, Nishimura T, Wakui K, **Fukushima Y, Matsumoto N**, Koike K. Neurodevelopmental features in 2q23.1 microdeletion syndrome: Report of a new patient with intractable

- seizures and review of literature. *Am J Med Genet Part A* 158 (4): 861-868, 2012.
- Kashizaki F, **Hatamochi A**, Kamiya K, Yoshizu A, Okamoto H. Vascular-type Ehlers-Danlos syndrome caused by a hitherto unknown genetic mutation: a case report. *J Med Case Rep* 7(1): 35, 2013.
- Shimaoka Y, Hayashi S, Hamasaki Y, Terui K, **Hatamochi A**. Patient with the vascular type of Ehlers-Danlos syndrome, with a novel point-mutation in the COL3A1 gene. *J Dermatol* 40(3): 226-228, 2013.
- Hayashi S, Ikeda M, Kitamura Y, Hamasaki Y, **Hatamochi A**. UVA irradiation following treatment with topical 8-methoxypsoralen improves bleomycin-induced scleroderma in a mouse model, by reducing the collagen content and collagen gene expression levels in the skin. *J Dermatol Sci* 67(1): 20-25, 2012.
- Mizumoto S**, **Sugahara K**. Bone and skin disorders caused by a disturbance in the bioynthesis of chondroitin sulfate and dermatan sulfate. In *Extracellular matrix: Pathobiology and signaling* (N. Karamanos ed.) De Gruyter, Berlin, Germany, pp. 97-118, 2012.
- 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** (*: co-corresponding). Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Genet* 44(4):376-378, 2012.
- *Miyake N[#]**, Yano S[#] (# denotes equal contribution), Sakai C, Hatakeyama H, Shiina M, Watanabe Y, Bartley J, Abdenur JE, Wang RY, Chang R, Tsurusaki Y, Doi H, Saitsu H, Ogata K, Goto Y, ***Matsumoto N**. Mitochondrial complex III deficiency caused by a homozygous *UQCRC2* mutation presenting with neonatal-onset recurrent metabolic decompensation. *Hum Mut* (in press).
- *Miyake N**, Mizuno S, Okamoto N, Ohashi H, Shiina M, Ogata K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Saitsu H, ***Matsumoto N** (*: co-corresponding). *KDM6A* point mutations cause Kabuki syndrome. *Hum Mut* 34 (1): 108-110, 2012.
- Miyake N[#]**, Elcioglu NH[#] (# denotes equal contribution), Iida A, Isguven P, Dai J, Murakami N, Takamura K, Cho T-J, Kim O-H, Nagai T, Ohashi H, Nishimura G, **Matsumoto N**, Ikegawa S. *PAPSS2* mutations cause autosomal recessive brachyolmia. *J Med Genet* 49(8): 533-538, 2012.
- Yamashita S, **Miyake N**, **Matsumoto N**, Osaka H, Iai M, Aida N, Tanaka Y. Neuropathology of Leukoencephalopathy with Brainstem and Spinal Cord Involvement and High Lactate caused by a homozygous mutation of *DARS2*. *Brain Dev* (in press).
- Tsurusaki Y, Kobayashi Y, Hisano M, Ito S, Doi H, Nakashima M, Saitsu H, **Matsumoto N**, **Miyake N**. The diagnostic utility of exome sequencing in Joubert syndrome related disorders. *J Hum Genet* (in press).
- Miyatake S, **Miyake N**, Doi H, Ogata K, Kawai M, **Matsumoto N**. A novel SACS mutation in a Japanese family with atypical phenotype of autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS). *Intern Med* 51: 2221-2226, 2012.
- Sakai H, Suzuki S, Mizuguchi T, Imoto K, Doi H, Kikuchi M, Tsurusaki T, Saitsu H, **Miyake N**, Masuda M, **Matsumoto N**. Rapid detection of gene mutations responsible for non-syndromic aortic aneurysm and dissection using two different methods: resequencing microarray

- technology and next-generation sequencing. *Hum Genet* 131: 591-599, 2012.
- Miyatake S, **Miyake N**, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, 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.
- Yoneda Y, Haginoya K, Arai H, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake N**, Osaka H, Kato M, **Matsumoto N**, Saitsu H. *De novo* and inherited mutations in the gene encoding a type IV collagen $\alpha 2$ chain (*COL4A2*) cause porencephaly. *Am J Hum Genet* 90 (1):86-90, 2012.
- Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Nishiyama K, Tsurusaki T, Doi H, **Miyake N**, Ryoo N-K, Kim JH, Yu KS, **Matsumoto N**. A family of oculofaciocardiodental syndrome (OFCD) with a novel *BCOR* mutation and genomic rearrangements involving *NHS*. *J Hum Genet* 57(3): 197-201, 2012.
- Saitsu H, Kato M, **Matsumoto N**. Haploinsufficiency of *STXBPI* and Ohtahara syndrome. Jasper's basic mechanism of the epilepsies, 4th edition, edited by Noebels J, Avoli M, Rogawski M, Olsen RW, and Delgado-Escueta AV. Oxford University Press Page 824-834, 2012.
- Yoneda Y, Saitsu H, Touyama M, Makita Y, Miyamoto A, Hamada K, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake N**, Ogata K, Naritomi K, **Matsumoto N**. Missense mutations in the DNA-binding/dimerization domain of *NFIX* cause Sotos-like syndrome. *J Hum Genet* 50(3): 207-211, 2012.
- Tsurusaki Y, *Saitoh S, Tomizawa K, Sudo A, Asahina N, Shiraishi H, Ito J, Tanaka H, Doi H, Saitsu H, **Miyake N**, ***Matsumoto N** (* denotes co-corresponding). A *DYNCH1* mutation causes a dominant spinal muscular atrophy with lower extremity predominance. *Neurogenet* (in press)
- Saitsu H, Osaka H, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake N**, **Matsumoto N**. A girl with early-onset epileptic encephalopathy associated with microdeletion involving *CDKL5*. *Brain Dev* 34(5): 364-367, 2012
- Hamdan FF[#], Saitsu H[#] (# denotes equal contribution), Masuko K, Gauthier J, Dobrzeniecka S, Spiegelman D, Lacaille JC, Décarie JC, **Matsumoto N**, Rouleau GA, Michaud JL. Mutations in *SPTANI* in intellectual disability and pontocerebellar atrophy. *Eur J Hum Genet* 20 (7): 796-800, 2012.
- Saitsu H[#], Kato M[#] (# denotes equal contribution), Shimono M, Senju A, Tanabe S, Kimura T, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake N**, Hayasaka K, **Matsumoto N**. Association of genomic deletions in the *STXBPI* gene with Ohtahara syndrome. *Clin Genet* 81(4): 399-402, 2012.
- Osaka H, Takagi A, Tsuyusaki Y, Wada T, Iai M, Yamashita S, Shimbo H, Saitsu H, Salomons GS, Jakobs C, Aida N, Shinka T, Kuhara T, **Matsumoto N**. Contiguous deletion of *SLC6A8* and *BAP31* in a patient with severe dystonia and sensorineural deafness. *Mol Genet Metab* 106(1): 43-47, 2012.
- Witzl K, Primec ZR, Stražišar BG, Osredkar D, Pečarič-Meglič N, Kranjc BS, Nishiyama K, **Matsumoto N**, Saitsu H. Early onset West syndrome with severe hypomyelination and coloboma-like optic discs in a girl with *SPTANI* mutation. *Epilepsia* 53(6): e106-110, 2012.

- Saitu H, Kato M, Koide A, Goto T, Fujita T, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N. Whole exome sequencing identifies KCNQ2 mutations in Ohtahara syndrome. *Ann Neurol* 72(2): 298-300, 2012.
- Saitu H, Kato M, Osaka H, Moriyama N, Horita H, Nishiyama K, Yoneda Y, Kondo Y, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Hayasaka K, Matsumoto N. *CASK* aberrations in males with Ohtahara syndrome and cerebellar hypoplasia. *Epilepsia* 53(8): 1441-1449, 2012.
- Terao Y, Saitu H, Segawa M, Kondo Y, Sakamoto K, Matsumoto N, Tsuji S, Nomura Y. Diffuse central hypomyelination presenting as 4H syndrome caused by compound heterozygous mutations in *POLR3A* encoding the catalytic subunit of polymerase III. *J Neurol Sci* 320(1-2): 102-105, 2012.
- Nonoda Y, Saito Y, Nagai S, Sasaki M, Iwasaki T, Matsumoto N, Ishii M, Saitu H. Progressive diffuse brain atrophy in West syndrome with marked hypomyelination due to *SPTAN1* gene mutation. *Brain Dev* (in press).
- Yoneda Y, Haginoya K, Kato M, Osaka H, Yokochi K, Arai H, Kakita A, Yamamoto T, Otsuki Y, Shimizu S, Wada T, Koyama N, Mino Y, Kondo N, Takahashi S, Hirabayashi S, Takanashi J, Okumura A, Kumagai T, Hirai S, Nabetani M, Saitoh S, Hattori F, Yamazaki A, Subo Y, Nishiyama K, Miyatake S, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Matsumoto N, Saitu H. Phenotype spectrum of *COL4A1* mutations: porencephaly to schizencephaly. *Ann Neurol* (in press).
- Miyatake S, Murakami A, Okamoto N, Miyake N, Saitu H, *Matsumoto N. A De Novo Deletion at 16q24.3 Involving *ANKRD11* in a Japanese Patient With KBG Syndrome. *Am J Med Genet Part A* (in press).
- Miyatake S, Touho H, Miyake N, Ohba C, Doi H, Matsumoto N. Sibling cases of Moyamoya disease with different *RNF213* genotypes and varying clinical course and severity. *J Hum Genet* (in press).
- Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitu H, Ohba C, Fukai R, Miyatake S, Koyano S, Suzuki Y, Kuroiwa Y, Matsumoto N. A novel homozygous *SCARB2* mutation causes late-onset progressive myoclonus epilepsy without renal failure. *Mov Disord* (in press).
- Kimura-Ohba S, Kagitani-Shimono K, Hashimoto N, Nabatame S, Okinaga T, Murakami A, Miyake N, Matsumoto N, Osaka H, Hojo K, Tomita R, Taniike M, *Ozono K. A case of cerebral hypomyelination with spondylo-epi-metaphyseal dysplasia. *Am J Med Genet Part A* (in press).
- Ikegawa S, Nakashima M, Matsumoto N. *TGF- β and Genetic Skeletal Diseases*. "TGF β in Human Disease" edited by Moustakas A and Miyazawa K. Springer (submitted).
- Saitu H, Kato M, Matsumoto N. Haploinsufficiency of *STXBPI* and Ohtahara syndrome. *Jasper's basic mechanism of the epilepsies*, 4th edition, edited by Noebels J, Avoli M, Rogawski M, Olsen RW, and Delgado-Escueta AV. Oxford University Press Page 824-834, 2012.
- Mizumoto S, Sugahara K. Glycosaminoglycan chain analysis and characterization (Glycosylation /Epimerization) (Chapter 7) In *Methods in Molecular Biology*, "Proteoglycans: Methods and Protocols" (Rédini, Françoise, ed.), Humana Press, Springer, New York, vol.836, 99-115, 2012.
- Mizumoto S. Reduction of Chondroitin 4-*O*-Sulfotransferase-1 Expression Causes Costello Syndrome (Glycotopic) *Trends in Glycoscience and Glycotechnology*, in press,

2013 年 (March) (doi: 10.4052/tigg.25.00).

Mizumoto S, Ikegawa S, **Sugahara K**. Human genetic disorders caused by defective genes encoding biosynthetic enzymes for sulfated glycosaminoglycans. *J Biol Chem* (Minireview), in press, (March 1, 2013 as doi:10.1074/jbc.R112.437038).

Ichikawa H, Kanoh Y, Shirasawa S, Yokoyama T, **Yue F**, Tomotsune D, **Sasaki K**. Unique kinetics of Oct3/4 microlocalization following dissociation of human embryonic stem cell colonies. *Ann Anat* 195(1): 50-56, 2013.

Tsuchiya H, Matsunaga T, Aikawa K, Kamada N, Nakamura K, Ichikawa H, **Sasaki K**, Ohmori S. Evaluation of human embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells for detection of CYP1A inducers. *Drug Metab Pharmacokinet* 27(6): 598-604, 2012.

Yoshie S, Ito J, Shirasawa S, Yokoyama T, Fujimura Y, Takeda K, Mizuguchi M, Matsumoto K, Tomotsune D, **Sasaki K**. Establishment of novel detection system for embryonic stem cell-derived hepatocyte-like cells based on nongenetic manipulation with indocyanine green. *Tissue Eng Part C Methods* 18: 12-20, 2012.

Ichikawa H, Nakata N, Abo Y, Shirasawa S, Yokoyama T, Yoshie S, **Yue F**, Tomotsune D, **Sasaki K**. Gene pathway analysis of the mechanism by which the Rho-associated kinase inhibitor Y-27632 inhibits apoptosis in isolated thawed human embryonic stem cells. *Cryobiology* 64: 12-22, 2012.

Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Ohshima-Hosoyama S, Okada H, Wada-Maeda M, Nakamura A, **Okada T**, **Takeda S**. Long-term engraftment of multipotent mesenchymal stromal cells that differentiate to form myogenic cells in dogs with Duchenne

muscular dystrophy. *Mol Ther.* 20(1): 168-177, 2012.

Ito M, Suzuki Y, **Okada T**, Fukudome T, Yoshimura T, Masuda A, **Takeda S**, Krejci E, Ohno K. Protein-anchoring strategy for delivering acetylcholinesterase to the neuromuscular junction. *Mol Ther.* 20(7): 1384-1392, 2012.

Baba Y, Satoh S, Otsu M, Sasaki E, **Okada T**, Watanabe S. In vitro cell subtype-specific transduction of adeno-associated virus in mouse and marmoset retinal explant culture. *Biochimie.* 94(12): 2716-2722, 2012.

Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, **Nitahara-Kasahara Y**, Baba Y, Watanabe S, **Takeda S**, **Okada T**. Robust long-term transduction of common marmoset neuromuscular tissue with rAAV1 and rAAV9. *Mol Ther Nucleic Acids* [in press]

Okada T. Efficient AAV vector production system: Towards gene therapy for Duchenne muscular dystrophy. In *Gene Therapy - Tools and Potential Applications* (ed. by Francisco Martin), InTech [in press]

Tsuda Y, **Nomura Y**. Direct observation of hair components involved in formation of permanent waves. *繊維学会誌*, in press.

Kawada C, Hasegawa T, Watanabe M, **Nomura Y**. Dietary Glucosylceramide Enhances Tight Junction Function in Skin Epidermis via Induction of Claudin-1. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, in press.

Sato Y, Arai KY, Nishiyama T, **Nomura Y**, Kishimoto Y, Aizawa S, Maruyama N, Ishigami A. Ascorbic acid deficiency leads to epidermal atrophy and UVB-induced skin pigmentation in SMP30/GNL knockout hairless mice. *J. Invest. Dermatol* 132: 2112-2115, 2012.

Ohya A, Kobayashi M, Sakai Y, Kawashima H, Kageyama S, **Nakayama J**.

Lymphocyte recruitment via high endothelial venules in lymphoid stroma of Warthin's tumor. *Pathology* 45(2): 150-154, 2013

Maruyama M, Kobayashi M, Sakai Y, Hiraoka N, Oya A, Kageyama S, Tanaka E, **Nakayama J**, Morohoshi T. Periductal induction of high endothelial venule-like vessels in type 1 autoimmune pancreatitis. *Pancreas* 42(1): 53-59, 2013.

Kobayashi M, Hoshino H, Suzawa K, Sakai Y, **Nakayama J**, Fukuda M. Two distinct lymphocyte homing systems involved in the pathogenesis of chronic inflammatory gastrointestinal diseases. *Semin Immunopathol* 34, 401-413, 2012.

Fujiwara M, Kobayashi M, Hoshino H, Uchimura K, Nakada T, Masumoto J, Sakai Y, Fukuda M, **Nakayama J**. Expression of long-form N-acetylglucosamine-6-O-sulfotransferase 1 in human high endothelial venules. *J Histochem Cytochem* 60, 397-407, 2012.

Karasawa F, Shiota A, Goso Y, Kobayashi M, Sato Y, Masumoto J, Fujiwara M, Yokosawa S, Muraki T, Miyagawa S, Ueda M, Fukuda MN, Fukuda M, Ishihara K, **Nakayama J**. Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice. *J Clin Invest* 122, 923-934, 2012.

古庄知己. 結合組織疾患-Marfan 症候群と Ehlers-Danlos 症候群. 内分泌・糖尿病・代謝内科 34(3): 210-220, 2012.

古庄知己. Marfan 症候群, Ehlers-Danlos 症候群. 小児内科増刊号・小児疾患の診断治療基準第 4 版(編集:『小児内科』『小児外科』編集委員会), 東京医学社(東京) 44: 850-853, 2012.

古庄知己. エーラスダンロス症候群. 別冊日本臨牀・新領域別症候群シリーズ No.20・先天異常症候群第 2 版(下), 日本臨牀社, 721-726, 2012.

古庄知己, 福嶋義光. 遺伝カウンセリングのノウハウ. 臨牀と研究 89(5): 635-640, 2012.

2. 学会発表

一般演題

平成 25 年度

古庄知己, 三宅紀子, 福嶋義光, 松本直通: D4ST1 欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群の遺伝子解析状況. 第 36 回日本小児遺伝学会(平成 25 年 4 月 18 日 於 エソール広島, 広島).

古庄知己, 三宅紀子, 福嶋義光: デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群の発見. 第 116 回日本小児科学会学術集会(平成 25 年 4 月 19 日 於 広島).

古庄知己, 石川真澄, 黄瀬恵美子, 鳴海洋子, 関島良樹, 櫻井晃洋, 丸山孝子, 佐藤瞳, 水内麻子, 山下浩美, 玉井真理子, 河村理恵, 涌井敬子, 福嶋義光: 遺伝性・先天性疾患に関する横断的診療連携体制の構築: 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部の挑戦. 第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会(平成 25 年 6 月 20 日~23 日 於 信州大学医学部附属病院, 松本).

古庄知己, 岳鳳鳴, 坂翔太, 積田奈々, 笠原優子, 岡田尚巳, 水本秀二, 小林身哉, 中山淳, 三宅紀子, 野村義宏, 江良折実, 籠持淳, 石川真澄, 涌井敬子, 福嶋義光, 松本直通, 菅原一幸, 佐々木克典, 武田伸一: デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素(D4ST1)欠損による Ehlers-Danlos 症候群(DDEDS)の疾患モデルの構築と検証. 日本人類遺伝学会第 58 回大会(2013/11/21-23 於: 江陽グランドホテル).

Kosho T, Yue F, Saka S, Tsumita N, Kasahara Y, Okada T, Mizumoto S, Kobayashi M, Nakayama J, Miyake N, Nomura Y, Era T, Hatamochi A, Fukushima Y, Matsumoto N, Sugahara K, Sasaki K, Takeda S: Establishment and Validation of iPS Cells and Knockout Mice for dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos Syndrome (DDEDS).

American Society of Human Genetics 63rd
Annual Meeting, Boston, Oct 22-26, 2013.

三宅紀子、矢野正二、後藤雄一、松本直通 1
“*UQCRC2* ホモ接合性変異による新規ミ
トコンドリア呼吸鎖複合体 III 欠損症”第
58 回日本人類遺伝学会 (仙台)。

Miyake N. Mutations of histone modification genes
in Kabuki syndrome. The 13th Annual
Meeting of East Asian Union of Human
Genetics Societies (Harbin, China).

Miyake N, Yano S, Goto Y, Matsumoto N. A
homozygous *UQCRC2* mutation cause a
neonatal onset metabolic decompensation due
to complex III deficiency. The 63th Annual
Meeting of American Society of Human
Genetics (Boston, USA).

Miyake N. NGS application for rare congenital
diseases. 7th International Symposium of Rare
Diseases (Seoul, Korea).

Miyake N, Yano S, Goto Y, Matsumoto N.
homozygous *UQCRC2* mutation cause a
neonatal onset metabolic decompensation due
to complex III deficiency. The European
Human Genetics Conference 2013 (Paris,
France).

Matsumoto N, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera
H, Kumada S, Sugai K, Kasai-Yoshida E,
Sawaura N, Nishida H, Hoshino A, Ryujin F,
Yoshioka S, Arakawa H, Kato M, Mizushima
N, Saitsu H. De novo mutations in the
autophagy gene encoding WDR45 (WIPI4)
cause static encephalopathy of childhood with
neurodegeneration in adulthood. The
European Human Genetics Conference 2013
(Paris, France).

水本秀二、中島正宏、Thomas Müller、三宅紀子、
Indrajit Suresh、古川諒、小松由枝、松本直通、
Andreas R Janecke、池川志郎、菅原一幸。コン
ドロイチン硫酸/デルマタン硫酸の生合成に関
わる酵素の変異による骨・皮膚疾患の糖鎖生
物学的研究(総説講演)。日本生化学会北海道
支部 支部例会第 50 回記念大会(平成 25 年 07
月 26 日、北海道大学医学部フラテ会館、札幌)

水本秀二、中島正宏、Thomas Müller、三宅紀子、
Indrajit Suresh、古川諒、小松由枝、松本直通、
Andreas R Janecke、池川志郎、菅原一幸。グ
リコサミノグリカンの生合成に関わる酵素の
新規変異による脊椎骨端骨幹端異形成症とエ

ーラス・ダンロス症候群の糖鎖生物学的研究。
第 32 回日本糖質学会年会(平成 25 年 8 月 5
日、大阪国際交流センター、大阪)

Yue F, Tomotsune D, Ichikawa H, Yoshie S, Mogi A,
Takahashi Y, Masuda S, Shirasawa S, Yokoyama T,
Nagai M, Sasaki K. Neural Model from iPS cells
from DD-EDS patient. The 11th ISSCR Annual
Meeting. June 13-16, 2013 (Boston, USA)

Yue F, Tomotsune D, Ichikawa H, Yoshie S, Mogi A,
Takahashi Y, Masuda S, Shirasawa S, Yokoyama T,
Nagai M, Sasaki K. DD-EDS patient specific
iPS-derived neurons. 第 12 回日本再生医療学会
総会

Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H,
Chiyo T, Okada H, Okada T, Takeda S.
Engraftment of mesenchymal stromal cells that
can differentiate to form myogenic cells is
enhanced by expressing IL-10 in dog with
Duchenne muscular dystrophy. American
society of gene & cell therapy 16th Annual
meeting, Salt lake city, USA, 5.16, 2013.

Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T,
Nitahara-Kasahara Y, Okada T, Takeda S.
Effective transduction of common marmoset
with rAAV1 and 9 to generate NHP model of
muscular dystrophy. American society of gene
& cell therapy 16th Annual meeting, Salt lake
city, USA, 5.16, 2013.

Hayashita-Kinoh H, Okada H, Nitahara-Kasahara Y,
Chiyo T, Yugeta N, Okada T, Takeda S.
Immune tolerance induction in canine X-linked
muscular dystrophy with trans-placental
rAAV9-microdystrophin transduction.
American society of gene & cell therapy 16th
Annual meeting, Salt lake city, USA, 5.18,
2013.

Uehara K, Takahashi A, Watanabe M, Nomura Y.
Shark (*Prionace glauca*) protein improves bone
mineral density in ovariectomized rats and
inhibits osteoclast differentiation. 10th Asian
Fisheries and Aquaculture Forum, Yeosu, Korea,
4.30, 2013.

Kawada C, Watanabe W, Kurihara H, Furuki S,
Kimura M, Kanemitsu T, Kunou M, Nomura Y.
Oral administration of hyaluronic acid improves
the skin condition in UV-irradiated hairless
mice. Jun. 2013, ヒアルロン酸国際学会。

坂翔太、笠原優子、積田奈々、野村義宏、武田伸一、岡田尚巳、他、「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素 1 欠損型エーラスダンロス症候群モデルマウスの病態解析」(日本生化学会 2013 年 9 月 13 日、パシフィコ横浜)。

Nitahara-Kasahara Y, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, Okada H, **Okada T**, **Takeda S**. Anti-inflammatory therapeutic approach using multipotent mesenchymal stromal cells for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. Japan Society of Gene Therapy 19th Annual meeting, Okayama, 7. 4, 2013.

Okada H, Ishibashi H, Hayashita-Kinoh H, Chiyo T, **Nitahara-Kasahara Y**, **Okada T**, **Takeda S**. Generation of muscular dystrophy NHP model with rAAV1 and 9-mediated transduction of common marmoset. Japan Society of Gene Therapy 19th Annual meeting, Okayama, 7. 4, 2013.

Hayashita-Kinoh H, Okada H, **Nitahara-Kasahara Y**, Chiyo T, Yugeta N, **Okada T**, **Takeda S**. Immune tolerance induction by transplacental transmission of rAAV-microdystrophin in canine X-lined muscular dystrophy. Japan Society of Gene Therapy 19th Annual meeting, Okayama, 7. 4, 2013.

笠原(仁田原)優子、喜納(早下)裕美、千代 智子、岡田 浩典、**岡田 尚巳**、**武田 伸一**「骨髄間質細胞を用いた筋ジストロフィーに対する細胞移植治療法の基盤研究」(第 34 回日本炎症・再生医学会年会 2013 年 7 月 3 日 京都)。

喜納 裕美、**笠原 優子**、弓削田 直子、千代 智子、増田 千明、**岡田 尚巳**、**武田 伸一**「AAV ベクターを用いた DMD に対する遺伝子治療と免疫寛容誘導」(第 8 回 筋ジストロフィー治療研究合同発表会 2013 年 11 月 3 日 兵庫)。

平成 24 年度

古庄知己、清水健司、岡本伸彦、三宅紀子、大橋博文、松本直通、福嶋義光。D4ST1 欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群の診断基準および健康管理指針の構築。第 35 回日本小児遺伝学会(平成 24 年 4 月 19 日 於 久留米大学筑水会館、久留米)。

古庄知己、福嶋義光、三宅紀子、松本直通、水本修二、菅原一幸、坂翔太、野村義宏、岳鳳鳴、佐々木克典、中山淳、岡田尚巳、武田伸一。デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 の欠損による新型 Ehlers-Danlos 症候群の発見、疾患概念の確立、遺伝子治療の開発。第 110 回信州整形外科懇談会(平成 24 年 8 月 18 日 於 信州大学医学部附属病院)。

岳鳳鳴、**古庄知己**、滝澤 佐季子、吉江 進、増田 章子、森崎 美圭、横山 忠幸、友常 大八郎、**佐々木 克典**。Patient-specific iPSC cell-derived neurons of DD-EDS syndrome。第 12 回日本再生医療学会総会(平成 24 年 3 月 21~23 日 於 パシフィコ横浜)。

Kosho T, Mizumoto S, Kobayashi M, Fujita Y, Nakayama J, Miyake N, Nomura Y, Hatamochi A, Fukushima Y, Sugahara K, Matsumoto N. Pathophysiological features of dermatan 4-O-sulfotransferase 1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome (DD-EDS). American Society of Human Genetics 62nd Annual Meeting, San Francisco, Nov 6-10, 2012.

三宅紀子。人類遺伝学会第 57 回大会・一般口演・臨床遺伝学 3・「X 連鎖性を疑われたがミトコンドリア遺伝病であった一難聴家系の解析」平成 24 年 10 月 27 日京王プラザホテル(東京)。

Matsumoto N. European Human Genetics Conference 2012 “Genetic abnormalities in Coffin-Siris syndrome”(poster) (Nuremberg Conference Center, Nuremberg, Germany, June 24-24, 2012)。

Matsumoto N, Tsurusaki Y, **Miyake N**. American Society of Human Genetics Meeting 2012. Mutations affecting components of the SWI/SNF complex cause Coffin-Siris syndrome November 8, 2012 at Moscone Center, San Francisco, CA, USA。

Matsumoto N. The 12th annual meeting of East Asian Union of Human Genetics Societies

(oral presentation) “Medelian exome” Nov 29, 2012 at Seoul National University Hospital, Seoul, Korea.

招待講演

平成 25 年度

古庄知己: 「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群 (DDEDS) の発見」第 11 回東北小児成長フォーラム(2014/1/30 於 ホテルメトロポリタン仙台)。

古庄知己: 「小児科領域における遺伝学の進歩」松本市小児科医会(2014/1/25 於 松本館丸ノ内ホール)。

古庄知己: 「遺伝性・先天性疾患を持つ人たちを診療し、支援する側から日本の出生前診断を考える～18 トリソミーの臨床研究と信州 NIPT ワーキングの取り組みを通じて～」第 156 回染色体研究会 (2013/12/14 於 東京医科大学病院)。

古庄知己: 「新型出生前検査の実際と問題点～18 トリソミーに関する最新の知見を含めて～」第 249 回長野県周産期カンファレンス(2013/11/6 於 信州大学医学部附属病院)。

古庄知己: 「信州での PWS ケア～信州 PWS プロジェクト～」 Meet the Specialists (2013/9/15 於 六本木アカデミーヒルズ)。

古庄知己: 「18 トリソミーの会アンケート調査結果論文化までの道のり」 18 トリソミーの会 公開シンポジウム in 滋賀 (2013/7/14 於 ピアザ淡海 滋賀県立県民交流センター)。

古庄知己: 「信州大学医学部附属病院遺伝子診療部の取り組み～小児科出身の遺伝科医としての関わりと想い」古庄知己 シンポジウム 2 「出生前診断新時代を迎えて」第 37 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会 (平成 25 年 6 月 22 日 於 川崎市産業振興会館、川崎)。

古庄知己: 「EDS 研究の現状」2013 年度 JEFA 総会 (2013/5/25 於 日本医科大学)。

Matsumoto N. Mendelian Exome Analysis. The 10th International Workshop on Advanced Genomics. National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013.

松本直通: 遺伝性難治疾患の網羅的エクソーム

解析拠点の構築 .次世代解析装置を用いた難病の原因究明、治療法開発研究プロジェクトの成果発表会(平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京)。

松本直通: 疾患ゲノム解析における次世代シーケンサーの有用性 . 第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム 1 (平成 25 年 7 月 19 日アクトシティー浜松コンgresセンター・浜松)。

松本直通: 次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析 . CiRA genomics epigenomics and bioinformatics seminar series VIII (平成 25 年 8 月 23 日、CiRA 京都大学)。

松本直通: コントロールデータベースに関する話題 .厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成 25 年度第 1 回ワークショップ(平成 25 年 8 月 24 日、京都大学芝蘭会館)。

松本直通: NGS がもたらしたヒト疾患ゲノム解析のパラダイムシフト .現場の会第三回研究会基調講演 (平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場、神戸)。

松本直通: 遺伝性疾患の責任遺伝子単離法 . 第 23 回遺伝医学セミナー講義 (平成 25 年 9 月 7 日、三井ガーデンホテル千葉)。

松本直通: 次世代シーケンサーを用いた疾患ゲノム解析: 現状と限界 . 第 22 回発達腎研究会・特別講演(平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター、高槻市)。

松本直通: 次世代シーケンス解析で分かってきたこと . 第 18 回山形小児神経研究会・特別講演(平成 25 年 9 月 27 日パレスグランデール、山形市)。

松本直通: ヒト疾患エクソーム解析の現状と課題 . 第 58 回日本人類遺伝学会大会・シンポジスト (平成 25 年 11 月 23 日、江陽グランドホテル仙台)。

松本直通: 希少疾患・難病の全エクソーム解析-現状と課題-. 日経バイオテク「希少疾患・難病の治療薬開発におけるゲノム活用」(平成 25 年 12 月 3 日、秋葉原コンベンションホール)。

Sugahara K (Invited lecture): “Wobble chondroitin sulfate (CS) oligosaccharide motifs and mass production of GAG oligosaccharides” **The 21st GAG Symposium** (2013, 9/19, villa Vigoni, Italy).

Sugahara K (Invited lecture): “ Mechanism of glycosaminoglycan-mediated tumor metastasis. Novel role for RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products)” **FEBS Advanced Lecture Course on Matrix Pathobiology, Signaling and Molecular Targets** (2013, 9/27, Kos Island, Greece).

野村義宏「膠の温故知新」膠文化研究会 第3回公開研究会(2013年6月23日 東京芸術大学).

野村義宏「食材(特に動物性の)の未利用資源の有効利用」食材細胞推進シンポジウム(2013年9月6日 東京都中小企業 秋葉原庁舎).

野村義宏、「サメの丸ごと活用による東日本大震災からの復興支援 ~ 気仙沼での取り組み ~」食品膜・分離技術研究会 第25回秋季研究例会(2013年11月8日 川口総合文化センター リリア).

平成24年度

古庄知己。「デルマトン硫酸 4-O-硫酸基転移酵素(D4ST-1)欠損による新型エーラスダンロス症候群の発見および疾患概念の確立~根治療法の開発をめざして~」国立精神・神経医療研究センター神経研究所 所内セミナー(平成24年4月20日 於 研究所3号館セミナールーム、小平).

古庄知己。「整形外科疾患は遺伝性・先天性疾患の宝庫~代表的疾患から古庄型 EDS まで~」信州大学医学部整形外科学教室・整形外科セミナー(平成24年9月3日 於 信州大学医学部附属病院).

古庄知己。「デルマトン硫酸 4-O-硫酸基転移酵素(D4ST-1)欠損による新型エーラスダンロス症候群の発見および疾患概念の確立」第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会・市民公開シンポジウム(平成24年6月9日~10日 於 信州大学医学部附属病院、松本)

古庄知己。「遺伝カウンセリングロールプレイ実習~全人的医学教育としての取り組み~」第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会・市民公開シンポジウム(平成24年

6月9日~10日 於 信州大学医学部附属病院、松本)

古庄知己。「EDSの臨床~基本的なこと、新しいこと~」**古庄知己** 2012年度JEFA総会(2012/6/30、於 横浜市浦舟地域ケアプラザ)

Matsumoto N. 2012 Illumina Asica Pacific Scientific Summit [Exome analysis in mendelian disorders] (Invited speaker) (Sheraton Mirage Resort & Spa Gold Coast, Gold Coast, Australia, April 24, 2012) .

松本直通。神戸大学大学院医学研究科講義「遺伝性疾患のエクソーム解析」・H24年5月29日・神戸大学医学部。

松本直通 第5回みやこ小児神経臨床懇話会(特別講演)「小児神経疾患における遺伝子研究の新潮流」H24年6月9日・メルパルク京都。

松本直通。2012 イルミナ次世代シーケンサーユーザーフォーラム(招待講演)。「遺伝性疾患のエクソーム解析」・H24年6月20日・東京国際フォーラム。

松本直通。次世代シーケンス拠点班(松本班)講演会 **松本直通**「次世代シーケンスを用いた遺伝性疾患へのアプローチ」H24年7月10日・大宮ソニックシティ・大宮。

松本直通。埼玉医科大学ゲノム医学研究センター学術セミナー「遺伝性疾患のエクソーム解析」・H24年7月13日・埼玉医科大学。

松本直通。厚生労働科学研究費補助金難治性疾患等克服研究事業「次世代遺伝子解析装置を用いた難病研究」平成24年度第1回公開ワークショップ「遺伝性難治疾患の網羅的エクソーム解析拠点の構築」H24年9月6日京都大学医学研究科芝蘭会館。

松本直通。第34回日本生物学的精神医学会・シンポジウム1(シンポジスト)「自閉症スペクトラムとてんかんに着目したゲノム解析」2012年9月28日・神戸国際会議場。

松本直通。厚生労働科学研究費・難治性疾患克

服研究事業神経変性疾患に関する調査研究
班・「病態に根ざした ALS の新規治療開発」
分科班・平成 24 年度ワークショップ「次世
代シーケンサーを活用した遺伝性疾患の網
羅的エクソーム解析」平成 24 年 10 月 5 日
@東京(シェーンバッハサボー) .

Matsumoto N. Translational Genomics Conference
2012 (Keynote speaker) Exome sequencing in
mendelian disorders. (Hyatt Reagency Jeju,
Jeju, Korea, Oct 13, 2012) .

松本直通 . 生命医薬情報学連合大会 2012 (招聘
講演) 「 遺伝性疾患のエクソーム解析 」 平成
24 年 10 月 17 日 @ 東京 (タワーホール船堀) .
人類遺伝学会第 57 回大会・ランチョンセミナ
ー 1 **松本直通** 「 遺伝性疾患の効率的な次世
代シーケンス解析 」 (アジレント共催) 平成
24 年 10 月 25 日京王プラザホテル(東京) .

Matsumoto N. The 57th annual meeting, Japanese
Society of Human Genetics. (Symposist)
“Isolation of genes causative for genetic
diseases by next generation sequencer” in
Symposium 5 entitled “Next Generation
Sequencing for disease-genome analysis”. Oct
25, 2012 at Keoi Plaza Hotel, Tokyo .

松本直通 . ゲノム解析懇話会(トランスジェニッ
ク共催)「次世代シーケンスを用いた疾患ゲ
ノム解析」平成 24 年 10 月 25 日京王プラザ
ホテル(東京) .

松本直通 . 人類遺伝学会第 57 回大会・基本講
座・いまさら聞けない「遺伝医学」(講師)
「次世代シーケンサー入門」平成 24 年 10
月 26 日京王プラザホテル(東京) .

松本直通 . 新学術領域研究「転写サイクル」平
成 24 年度第 1 回領域会議「SWI/SNF 複合
体異常が来す Coffin-Siris 症候群」平成 24
年 10 月 29 日・長崎大学医学部良順会館 .

松本直通 . 平成 24 年度脳科学戦略推進プログ
ラム成果報告会「発達障害に関わる分子異
常探索」平成 24 年 11 月 21 日京都市リサーチ
パーク・京都 .

松本直通 . 平成 24 年度脳科学戦略推進プログ
ラム課題 F 発達障害研究チーム第二回分科
会「発達障害に関わる分子異常探索」平成
24 年 11 月 22 日京都市リサーチパーク・京都 .

松本直通 . 第 152 回染色体研究会・特別講演「エ
クソーム解析」平成 24 年 12 月 1 日・東京
医科大学病院・東京 .

松本直通 . 精神・神経疾患研究開発費 23-5 「筋
ジストロフィーおよび関連疾患の診断・治
療開発を目指した基盤研究」平成 24 年度
「西野班」班会議特別講演「遺伝性疾患の
エクソーム解析」平成 24 年 12 月 8 日・JA
共済ビル・東京 .

松本直通 . 第 35 回日本分子生物学会年会ワー
クショップ・精神のオミックス(オーガナイ
ザー内匠透・松本直通)「発達障害における
ゲノム解析：次世代技術を用いて」(シンポ
ジスト)平成 24 年 12 月 13 日福岡国際会議
場・福岡 .

松本直通 . Advans 研究会 2012・招聘講演「遺
伝性疾患のエクソーム解析」平成 24 年 12
月 15 日ホテルグランドパレス・東京 .

受賞

古庄知己 : 平成 25 年度信州大学医学部医学科顕
彰 (平成 26 年 3 月 24 日) .

古庄知己 : 平成 25 年度日本医師会医学研究奨励
賞「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1 欠損
に基づくエーラスダンロス症候群の病態解
明と治療法の開発」(平成 25 年 11 月 1 日
於 日本医師会館) .

古庄知己、三宅紀子、福嶋義光 : 第 116 回日本小
児科学会学術集会最優秀演題賞 (広島県知
事賞)「デルマタン 4-O-硫酸基転移酵素-1
欠損に基づく新型エーラスダンロス症候群
の発見」(平成 25 年 4 月 19 日 於 広島)

古庄知己、三宅紀子、福嶋義光、松本直通 : D4ST1
欠損に基づく Ehlers-Danlos 症候群の遺伝
子解析状況 . 第 36 回日本小児遺伝学会 (平
成 25 年 4 月 18 日 於 エソール広島、広
島) .

中山淳 : 平成 25 年度信州大学医学部医学科顕彰
(平成 26 年 3 月 24 日) .

中山淳：日本病理学賞「糖鎖遺伝子：クローニングから機能解析,そして病理学へ-1,4-N-アセチルグルコサミン転移酵素を中心に-」

中山淳：日本組織細胞化学会学会賞（高松賞）
「胃粘膜における腺粘液糖鎖の機能」

H. 知的財産権の出願・登録状況

平成 25 年度

特願 2013-252720・**鶴崎美徳**/**松本直通**・Coffin-Siris 症候群の新規遺伝子診断法・平成 25 年 12 月 6 日。

PCT/JP2013/71620・**松本直通**/**三宅紀子**・ミトコンドリア複合体 III 欠乏症患者又は保因者の検出方法・平成 25 年 8 月 9 日。

特願 2013-157339 号 **松本直通**/**三宅紀子**・ケトン血症を伴うリー脳症患者または保因者の検出法。平成 25 年 7 月 31 日。

特願 2013-123660 **才津浩智**/**松本直通**・小児期のでんかんおよび不随意運動をきたす疾患の検出方法・平成 25 年 6 月 12 日。

岡田尚巳、**笠原優子**、**武田伸一**「移植用幹細胞及びその製造方法」特願 2013-108408、平成 25 年 5 月 22 日出願

岡田尚巳、千代智子、**武田伸一**「薬剤取り込み増強剤」特願 2012-078035、平成 24 年 3 月 29 日出願、PCT/JP2013/059470、平成 25 年 3 月 29 日出願(PCT)

野村義宏、**北浦敏彦**「熱可塑性樹脂」特許 5305320、特許権者：農工大ティー・エル・オー(株)、登録日：平成 25 年 7 月 5 日

平成 24 年度

松本直通、**鶴崎美徳**、**三宅紀子**「コフィン - シリス症候群の検出方法」PCT/JP2012/83113、平成 24 年 12 月 20 日。

才津浩智、**松本直通**「孔脳症又は脳出血のリスクを予測する方法」PCT/JP2012/77903、平成 24 年 10 月 29 日。

松本直通、**三宅紀子**「ミトコンドリア複合体 III

欠乏症の確定診断法」特願 2012-180356、平成 24 年 8 月 16 日。

岡田尚巳、千代智子、**武田伸一**「薬剤取り込み増強剤」特願 2012-078035、平成 24 年 3 月 29 日出願。

岡田尚巳、**武田伸一**、喜納裕美「薬剤送達粒子及びその製造方法」特願 2011-092252 PCT/JP2012/060229、平成 24 年 4 月 16 日出願。

野村義宏「毛髪処理方法」特許 4931010 特許権者：東洋羽毛工業(株)、(国)東京農工大学、登録日：平成 24 年 2 月 24 日。

野村義宏「骨粗鬆症の予防又は改善剤」特許権者：農工大ティー・エル・オー(株)、登録日：平成 24 年 5 月 25 日。

野村義宏「皮革改質剤」特許 5011471 特許権者：(国)東京農工大学、大阪化成(株)、東京都、登録日：平成 24 年 6 月 15 日。

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
<u>Kosho T</u> (corresponding author), Mizumoto S, Sugahara K	Carbohydrate (N-acetylgalactosamine 4-O) sulfotransferase 14 (CHST14)	Taniguchi N, Honke K, Fukuda M, Narimatsu H, Yamaguchi Y, Angata T	Handbook of glycosyltransferases and related genes	Springer		In press	
<u>Kosho T</u>	Discovery and delineation of dermatan 4-O-sulfotransferase-1 (D4ST1)-deficient Ehlers-Danlos syndrome	Oiso N, Kawada A	Current Genetics in Dermatology	InTech	Croatia	2013	73-86
<u>古庄知己</u>	Marfan症候群, Ehlers-Danlos症候群	『小児内科』『小児外科』編集委員会	小児内科増刊号・小児疾患の診断治療基準第4版	東京医学社	東京	2012	850-853
<u>古庄知己</u>	エーラスダンロス症候群		別冊日本臨牀・新領域別症候群シリーズNo.20・先天異常症候群第2版(下)	日本臨牀社		2012	721-726

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
*Muller T, *Mizumoto S, *Suresh I, Komatsu Y, Vodopiutz J, Dundar M, Straub V, Lingenhel A, Melmer A, Lechner S, Zschocke J, <u>Sugahara K</u> , Janecke AR (*equal contribution)	Loss of dermatan sulfate epimerase (DSE) function results in musculocontractural Ehlers-Danlos syndrome.	Hum Molec Genet	22(18)	2013	3761-37 72
古庄知己	デルマトタン4-O-硫酸基転移 酵素-1欠損に基づく新型エー ラスダンロス症候群の発見 と疾患概念の確立 .	日本遺伝カウンセ リング学会誌	34(1)	2013	21-29
古庄知己	グリコサミノグリカンの異 常と新型Ehlers-Danlos症候群 (古庄型).	病理と臨床	31(8)	2013	852-860
古庄知己	結合組織疾患-Marfan症候群 とEhlers-Danlos症候群	内分泌・糖尿病・ 代謝内科	34(3)	2012	210-220

作成上の留意事項

研究成果の刊行に関する一覧表は、別紙4「研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト」を参考に作成すること。

- (1) 日本工業規格A列4番の用紙を用いること。
- (2) 文字の大きさは、10～12ポイント程度とする。