

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

# コフィン・サイリス症候群の 分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 三宅 紀子

平成26(2014)年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告	
コフィン・サイリス症候群の分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発 三宅紀子（横浜市立大学医学部遺伝学）	----- 2
II. 分担研究報告	
1. 責任遺伝子別にみたコフィン・サイリス症候群の臨床的検討 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）	----- 11
2. コフィン・サイリス症候群における新規疾患遺伝子の同定 松本直通（横浜市立大学医学研究科遺伝学）	----- 25
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 32
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 39

# **I . 總括研究報告**

総括研究報告書

コフィン・サイリス症候群の分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発

代表研究者 三宅紀子 横浜市立大学医学研究科遺伝学

研究要旨

コフィン・サイリス症候群（Coffin-Siris syndrome: CSS）は、知的障害、成長障害、特異的顔貌（疎な頭髪、濃い眉と睫毛、厚い口唇など）、手足の第5指の爪および末節骨の無～低形成を主徴とする先天性奇形症候群であり、常染色体優性遺伝と常染色体劣性遺伝の二つの遺伝形式が想定されている。長年にわたり、その責任遺伝子が不明であったが、全エクソーム解析を用いた網羅的解析により、責任遺伝子である *SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARIDIA*, *ARID1B* の5つの遺伝子を2012年に我々が同定した。また、この際 CSS の非典型例において変異を報告した *SMARCA2* 遺伝子は CSS の類似疾患の Nicolaides-Baraitser 症候群（以下 NCBRS）の責任遺伝子として後に登録された。これらの遺伝子は、いずれもクロマチン・リモデリング因子の一つである SWI/SNF 複合体の構成因子であり、これらの6遺伝子のいずれかに変異を認めた症例は、129症例中65症例（50.3%）であった。更に、本研究で新規の責任遺伝子 X gene を同定するのに成功し、CSS の遺伝的要因及び発症病態の全貌解明に迫る基盤を確実に整えつつある。

また我々は、SWI/SNF 複合体の責任遺伝子別に CSS の臨床像を評価したところ、原因となる遺伝子により表現型や重症度に差があることが明らかとなった。これらの情報をもとに、本症候群の診療ガイドラインを作成した。国内外から症例が多数集積できており、世界における本症候群解析の拠点となっていると思われる。今後も継続した解析を進めることでその役割を果たし、医療・福祉の面でできる限り貢献したい。

A. 研究目的

コフィン・サイリス症候群（Coffin-Siris syndrome: CSS, MIM #135900）は、1970年に Coffin と Siris により初めて報告された先天性奇形症候群である。疾患区分は、(9) 神経系疾患、(17) 奇形症候群に該当する。

本症候群は、重度の知的障害、成長障害、特異的顔貌（疎な頭髪、濃い眉と睫毛、厚い口唇など）、手足の第5指の爪および末節骨の無～低形成を主徴とする疾患である。稀な疾患であり、正確な頻度は不明である。ほとんどが孤発例であるが、家族例や同胞例の報告も散見されるため、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝の両方の遺伝形式が想定されている。

我々は、2004年より本症候群症例の収集を開始し、2012年エクソーム解析により22症例中19症例(86%)において、SWI/SNF 複合体の構成分子をコードする、*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARIDIA*, *ARID1B* の5遺伝子のいずれかにヘテロ接合性変異を同定した (Tsurusaki et al., 2012, Nature Genetics)。その

際、CSS の非典型例において変異を報告した *SMARCA2* 遺伝子は、のちに CSS の類似疾患である Nicolaides-Baraitser 症候群(以下 NCBRS)の原因遺伝子として報告された (Van Houdt et al., 2012, Nature Genetics)。SWI/SNF 複合体遺伝子の内、今回同定した5遺伝子のヘテロ接合変異により CSS の8割は説明できるが、残りの2割の原因は不明で、発症メカニズムも未解明である。さらに、常染色体劣性遺伝形式をとる CSS の一群も存在する可能性があり、遺伝的要因の全貌解明には必要不可欠である。疾患の遺伝的異質性を考慮し、新規疾患遺伝子を同定することで本症候群における遺伝的要因の全貌を明らかにすることを目的とした。また、臨床面での問題点として、Coffin-Siris 症候群の診断基準はまだ明確なものは存在せず、診療ガイドラインも適切なものが存在しない。本研究班では、遺伝子診断で確定した症例の知見から、CSS の診断基準や診療ガイドラインを作成することと、将来的に臨床応用可能な診断方法と治療法開発に有用な遺伝学的基盤を確立することを目的とした。

## B. 研究方法

### 症例集積・臨床所見の評価 (岡本)

本研究においては、正確に臨床診断された症例を解析することが必須であり、分担研究者・岡本は CSS および NCBRS の高い経験値を有す。本年度は大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科でフォロー中の CSS 症例 15 症例および内外の報告例のデータを分析し、CSS の診断と治療に有用なガイドラインを作成する。本研究は横浜市立大学倫理委員会の承認を受け適切な倫理的配慮と手続きを経て行われる。

### ターゲットリシーケンスによる変異解析 (三宅・松本)

遺伝子の数や検体数によっては、従来の Sanger 法や high resolution melting 法より、ゲノム分画と low throughput NGS を併用したターゲットリシーケンスのほうが迅速かつ安価に実施可能である。ターゲットリシーケンスの bait をデザインした当時、SWI/SNF 複合体を形成すると知られていた 21 遺伝子を標的として、Haloplex [Agilent] と MiSeq [Illumina] を用いてターゲットリシーケンスを行った。

### エクソームシーケンスを用いた新規責任遺伝子の特定 (三宅・松本)

ターゲットリシーケンスより候補遺伝子 21 遺伝子内に病的変異が同定されなかった 6 症例および新規の 95 症例対して、全エクソームシーケンスを行った。2 例以上に共通してバリエーションを持つ遺伝子を選出し、両親検体が得られた検体に対して *de novo* 変異であるかどうかを検証し、その病原性を検討した。

ゲノム分画には、SureSelect Human All Exon kit (Agilent 社) をもちいた。大量塩基配列解読は HiSeq2000 および HiSeq2500 (Illumina 社) を使用し、解析は novoalign (mapping), GATK (variant call), ANNOVAR (annotation) を用いた解析フローを使用した。病的ではないと考えられる、In-house exome data, ESP6500, dbSNP137 に登録のある variant は候補から除外した。

### 遺伝子型・表現型関連性の検証と診断基準の確立 (岡本・三宅・松本)

変異解析と表現型関連を分析し、さらに類似疾患である NCBRS との鑑別点を明らかにし、CSS

の診断基準を明確にする。

### 臨床応用可能な精度の高い診断法・治療法開発に有用な基盤研究 (三宅・松本)

迅速遺伝子診断法の開発・バイオマーカー探索・治療等に有用な標的分子検索等を行う。特に本症候群の責任遺伝子は SWI/SNF 複合体を形成し、遺伝子異常が同じシグナル系で作用していることが想定され、変異遺伝子が異なっても同じシグナル因子が標的分子となりうる可能性もある。

### (倫理面への配慮)

遺伝子解析にあたり、保護者の代諾により書面で同意を得た。試料提供者の人権の保護及び法令等の遵守への対応として、特に以下の点に留意する。(1) 研究対象者の拒否権の尊重: 患者およびその血縁者が研究への参加を自由に同意・拒否できるように配慮し、研究参加を許諾した場合でも拒否した場合でも全く同質の治療が行われることを説明する。

(2) インフォームドコンセント: 本研究の主旨、方法、危険性の有無などを十分に説明した後、文書による同意を得て提供された試料のみを研究に用いる。

(3) 知る権利・知らないでいる権利の尊重: 研究への参加の承諾は書面により行う。十分な判断力のない患者では、代諾者に対する説明を十分に行い、同意を得た上で行う。保護者が希望すれば、研究結果は原則的に伝える(連結可能)。個人情報保護のために、すべての研究において、患者の臨床情報は匿名化の上収集、処理され、厳重に保管される。以上から倫理面において問題がないと判断している。

本研究計画は、三省のヒトゲノム解析に関する共通指針(2001年・2005年改正)を遵守して組織された横浜市立大学医学部倫理委員会において、既に本研究の申請・承認を得て承認された研究計画を遵守し研究を遂行する。

## C. 研究結果

### 症例集積・臨床所見の評価 (岡本)

2012年に初めて CSS の責任遺伝子を発表した後、国内外から新たに 106 症例を集積し、総計 129 症例を集積した。本研究で作成した CSS 臨床症状チェックリストの回答結果をもとに、臨床症状別に本症候群の特徴をまとめた。(詳細は研究分担者・岡本の項)

### ターゲットリシーケンスによる変異解析 (三宅・松本)

デザイン当時、SWI/SNF 複合体を形成すると言われていた 21 遺伝子を標的として、Haloplex [Agilent]を用いてターゲットリシークエンスを行った。塩基配列解読は、MiSeq [Illumina]を用い本アプローチにより解析を行った 8 症例中、2 症例において *ARID1A* 遺伝子に病的変異を同定した (Tsurusaki et al., 2013 Clin. Genet. )

エクソームシークエンスを用いた新規責任遺伝子の特定 (三宅・松本)

1<sup>st</sup> コホートで、CSS および類似疾患の NCBRS の既知の 6 遺伝子 (*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*) に変異が 8 割程度同定されたため、ターゲットリシークエンスで大部分の症例に変異が同定でき、変異が同定されない症例にのみ新規遺伝子同定を目的として全エクソームシークエンスを行う予定であった。しかしながら、2<sup>nd</sup> コホートで収集された症例には、非典型例も含まれており、ターゲットリシークエンスで最初に解析した 8 症例中、2 症例にしか候補遺伝子内に病的変異を同定しなかった。また、ターゲットリシークエンスの系は複数症例 (今回の系では 8 症例) をまとめて解析する必要があることから、個別の迅速な解析が難しい状況があった。一方で、全エクソームシークエンスは当教室で常時稼働しており、SWI/SNF complex 関連遺伝子に変異が同定されない場合であっても、同じデータセットを用いて全遺伝子を網羅的に再解析できるメリットがあり、またこの 1 年間で全エクソームシークエンスの価格が低下し、ターゲットリシークエンスのコスト面の利点が減ったことを受け、以降の解析は全エクソームシークエンスで行う方針に変更した。

現在までに、ターゲットリシークエンスもしくは全エクソームシークエンスを行った症例は、129 症例であり、そのうち CSS および類似疾患の NCBRS の既知の 6 遺伝子 (*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*) に変異を認めた症例は、65 症例 (50.3%) である。

また、CSS の新規遺伝子を同定し、現在論文投稿中である。

遺伝子型・表現型関連性の検証と診断基準の確立 (岡本・三宅・松本)

自験例および最近の遺伝子診断で確定した症例の報告を整理し、SWI/SNF 複合体の責任遺伝子別に CSS の臨床像をまとめた。更に、研究分担者・岡本により Coffin-Siris 症候群診療ガイドラインが作成された (詳細は研究分担者・岡本の項)

臨床応用可能な精度の高い診断法・治療法開発に有用な基盤研究 (三宅・松本)

今のところ、CSS 症例に同定されているのは、SWI/SNF 複合体関連の遺伝子のみであるが、それらに共通する特定のシグナル分子の同定には至っていない。

D. 考察

症例集積・臨床所見の評価

2012 年の遺伝子同定の発表以来、国内外から症例および臨床症状を集積 (総計 129) 症例できており、臨床医との協力体制も確立できており、今後も良好な研究体制が継続できると考える。症例の集積により、さらに臨床像を明確にすることが可能となる。

遺伝子解析

1<sup>st</sup> コホートの症例に比べ、2<sup>nd</sup> コホートでは非典型例の CSS/NCBRS も解析対象としているため、既知の疾患遺伝子の同定率は 8 割から 6 割程度に低下した。しかしながら、これらの既知遺伝子に変異が同定されない症例を集積・解析することで、新規疾患遺伝子同定が可能となる。今後は、解析スピード、コスト、今後のデータの利用価値等を考慮し、全エクソーム解析を中心に行う予定である。より安価で、個別対応可能なターゲットリシークエンスの系が確立できれば、移行することも考慮する。

遺伝子型・表現型関連性の検証と診断基準の確立

本研究により、遺伝子型・表現型関連に関しては、それぞれの原因遺伝子型により臨床所見の特徴をまとめることができた。詳細は、Coffin-Siris 症候群診療ガイドラインに記載している (研究分担者・岡本の項)。診断基準の確立には、更なる症例の集積と詳細な臨床症状、長期的な自然歴の観察および臨床検査データの集積が必要である。今後も引き続き各臨床医との連携により臨床情報を集積し、診断基準を確立する。

臨床応用可能な精度の高い診断法・治療法開発に有用な基盤研究

今のところ、CSS のマーカー分子は同定されていないため、遺伝子診断は研究室レベルのターゲットリシークエンス、もしくは全エクソーム解析

が現実的である。今後さらに遺伝学的解析を進めることでCSSの原因となる関連分子を同定し、ヒトの発生におけるSWI/SNF複合体機能の全貌を明らかにすることで、本症候群発症につながる共通分子の同定につなげたい。

## E . 結論

Coffin-Siris症候群について研究の進歩を概説した。症例の蓄積からエビデンスを集積し、適切な診療ガイドラインにむけての端緒ができたと考えられる。更に、本研究で新規のCSS遺伝子の同定に成功しており（論文投稿中）、目的の達成度は高いと考える。

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

- 1: 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] PubMed PMID: 24459086.
- 2: 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] PubMed PMID: 24458657.
- 3: Nakajima J, Eminoglu TF, Vatansever G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Kawashima H, **Matsumoto N**, **Miyake 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] PubMed PMID: 24430573.
- 4: Nakamura K, Osaka H, Murakami Y, Anzai R, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Miyake 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] PubMed PMID: 24417746.
- 5: 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, **Miyake 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36228. Epub 2013 Nov 25. PubMed PMID:24352916.

- 6: 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] PubMed PMID: 24253414.
- 7: 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 Dec;34(12):1708-14. doi: 10.1002/humu.22446. Epub 2013 Oct 15. PubMed PMID: 24115232.
- 8: Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, **Matsumoto N**, **Miyake N**. A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? *Hum Genet*. 2014 Feb;133(2):225-34. doi: 10.1007/s00439-013-1372-6. Epub 2013 Oct 8.
- 9: 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, **Miyake 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. doi: 10.1007/s10048-013-0375-8. Epub 2013 Oct 4. PubMed PMID: 24091540.
- 10: 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 Dec;58(12):822-4. doi: 10.1038/jhg.2013.104. Epub 2013 Oct 3.
- 11: 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.

doi:10.1371/journal.pone.0074167. PubMed PMID: 24066114; PubMed Central PMCID:PMC3774667.

12: Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu YP, Oh EC, **Miyake 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. doi: 10.1073/pnas.1308243110. Epub 2013 Sep 16. PubMed PMID: 24043777; PubMed Central PMCID: PMC3791719.

13: 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, **Miyake N**, Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, **Matsumoto N**, Saitsu H. De Novo mutations in GNAO1, encoding a Gao subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet*. 2013 Sep 5;93(3):496-505. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.07.014. Epub 2013 Aug 29. PubMed PMID: 23993195; PubMed Central PMCID: PMC3769919.

14: 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. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a43e57. Epub 2013 Aug 9. PubMed PMID:23935176.

15: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36083. Epub 2013 Aug 5. PubMed PMID: 23918631.

16: **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: 0.1002/ajmg.a.36072. Epub 2013 Aug 2. PubMed PMID: 23913813.

17: 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. Epub 2013 Jul 15. PubMed PMID: 23857099.

18: 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] PubMed PMID: 23826986.

19: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36026. Epub 2013 Jul 4. PubMed PMID: 23824987.

20: 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] PubMed PMID: 23815551.

21: 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, Sivadurai 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.

- doi:10.1016/j.ajhg.2013.05.004. Epub 2013 Jun 6. PubMed PMID: 23746549; PubMed Central PMCID: PMC3710748.
- 22: 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] PubMed PMID: 23745724.
- 23: Kondo Y, Koshimizu E, Megarbane A, Hamanoue H, Okada I, Nishiyama K, Kodera H, Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Doi H, **Miyake 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35983. Epub 2013 May 23. PubMed PMID: 23703728.
- 24: 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, 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. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.04.003. Epub 2013 May 9. PubMed PMID: 23664117; PubMed Central PMCID: PMC3675233.
- 25: 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, **Miyake 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. doi: 10.1111/epi.12203. Epub 2013 May 10. PubMed PMID: 23662938.
- 26: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35933. Epub 2013 May 1. Review. PubMed PMID: 23637025.
- 27: Nakamura K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, **Miyake 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] PubMed PMID: 23623288.
- 28: 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, **Miyake 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. doi: 10.1111/epi.12200. Epub 2013 Apr 26. PubMed PMID:23621294.
- 29: 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 Jun;58(6):391-4. doi: 10.1038/jhg.2013.25. Epub 2013 Apr 4. PubMed PMID: 23552673.
- 30: 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.* 2013 May;161A(5):1073-7. doi: 10.1002/ajmg.a.35661. Epub 2013 Mar 5. PubMed PMID: 23463723.
- 31: Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Lee BJ, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, Doi H, **Miyake 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. Epub 2013 Feb 18. PubMed PMID: 23441109; PubMed Central PMCID: PMC3580970.

32: Saitsu H, Nishimura T, Muramatsu K, Koder 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, **Miyake 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. doi: 10.1038/ng.2562. Epub 2013 Feb 24. PubMed PMID:23435086.

33: Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, **Miyake 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. doi: 10.1002/mds.25296. Epub 2013 Jan 16. PubMed PMID: 23325613.

34: 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] PubMed PMID: 23643445.

35: 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 Aug 16. pii: S0387-7604(13)00230-1. doi: 10.1016/j.braindev.2013.07.009. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23958593.

36: **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 Jul 27. pii: S0387-7604(13)00208-8. doi:10.1016/j.braindev.2013.07.002. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23899771.

37: 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)*

38: 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. doi:10.1016/j.braindev.2012.05.002. Epub 2012 May 31. PubMed PMID: 22656320.

39: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35861. Epub 2013 Jul 19. PubMed PMID: 23873869.

40: 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 Jun 15;190(12):6209-20. doi: 10.4049/jimmunol.1300303. Epub 2013 May 20. PubMed PMID: 23690476.

## 総説

“Progress in heritable soft connective tissue disorders” by Springer Volume 802, 2014, pp 145-159  
「 Ehlers-Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities 」 **Noriko Miyake**, Tomoki Kosho, **Naomichi Matsumoto**

Vergano SS, Santen G, Wieczorek 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/>)

## 2 . 学会発表

### 【国内】

1. **三宅紀子**、**矢野正二**、**後藤雄一**、**松本直通** <sup>1</sup>  
“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 )

2. **植田紀美子**、**川戸和美**、**松田圭子**、**三島祐子**、**山本悠斗**、**岡本伸彦** “コフィン・サイリス症候群における高カルシウム尿症”第 58 回日本人類遺伝学会 ( 仙台 )

3 . The 10<sup>th</sup> International Workshop on Advanced Genomics. **Naomichi Matsumoto** “Mendelian Exome Analysis”@ National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013

4 . 第 17 回小児分子内分泌研究会特別講演・**松本**

直通「次世代シーケンサーを用いてわかってきたこと」平成 25 年 7 月 7 日札幌北広島クラッセホテル

5. 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・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」平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京

6. 第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム 1・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」平成 25 年 7 月 19 日アクトシティ 浜松コンgresセンター・浜松

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

8. 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 松本直通「コントロールデータベースに関する話題」平成 25 年 8 月 24 日@京都大学(芝蘭会館)

9. 現場の会第三回研究会基調講演・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」平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場@神戸

10. 第 23 回遺伝医学セミナー講義・松本直通「遺伝性疾患の責任遺伝子単離法」平成 25 年 9 月 7 日三井ガーデンホテル千葉@千葉市

11. 第 22 回発達腎研究会・特別講演・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」平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター@高槻市

12. 第 18 回山形小児神経研究会・特別講演・松本直通「次世代シーケンス解析でわかってきたこと」平成 25 年 9 月 27 日パレスグランデール@山形市

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

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

#### 【海外】

1. The 13<sup>th</sup> Annual Meeting of East Asian Union of Human Genetics Societies (Harbin, China) 「Mutations of histone modification genes in Kabuki syndrome」 Oral Communication. Miyake N

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

3. 7<sup>th</sup> International Symposium of Rare Diseases (Seoul, Korea) 「NGS application for rare congenital diseases」 Oral presentation. Miyake N

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

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

#### 3. 知的財産権の出願・登録状況 【特許取得】

特願 2013-252720・鶴崎美德/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

#### 4. 報道等 なし

## II. 分担研究報告

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

コフィン・サイリス症候群の分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発

分担研究課題：責任遺伝子別にみたコフィン・サイリス症候群の臨床的検討

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

Coffin-Siris 症候群（以下 CSS）は長らく責任遺伝子が不明であったが、2012 年になって Tsurusaki らはクロマチン・リモデリング因子のひとつである、SWI/SNF 複合体サブユニットの異常が原因であることを解明した。原因不明の知的障害症例の中で CSS を的確に診断し、臨床像を深めることが課題である。SWI/SNF 複合体サブユニットを構成する因子は多数存在するが、責任遺伝子によって CSS の臨床像に差が存在する。本研究では、遺伝子診断で確定した CSS 自験例の知見から、責任遺伝子別にみたコフィン・サイリス症候群の臨床的検討を行った。

従来思われていたよりも CSS は表現型が多彩であり、多くの潜在例がいると考えられる。多数例について臨床的評価を行い、疾患の特徴を明確化することにより、全国の CSS をもつ患者が適切な診療を受けることが期待される。

責任遺伝子が判明したことは CSS の研究に大きな進歩をもたらした。CSS に留まらず、クロマチン・リモデリングと知能、先天異常症候群、悪性腫瘍との関連は大きなトピックとなっている。クロマチン・リモデリングの異常によって発生段階でどのような変化が生じて多彩な臨床所見を呈するのか、さらなる研究が必要である。研究の進展によっては今後の治療方法の開発につながることを期待される。

### A．研究目的

Coffin-Siris 症候群（以下 CSS）は 1970 年に Coffin（コフィン）博士と Siris（サイリス）博士によって報告された特異顔貌、身体所見、知的障害を伴う多発先天異常症候群である。手足の第 5 指の末節骨と爪が無形成であることが多いため、（Fifth digit syndrome：第 5 指症候群）とも呼ばれる。

原因遺伝子は長らく不明であったが、2012 年になって Tsurusaki らは全エクソーム解析を用いて、クロマチン・リモデリング因子のひとつである、SWI/SNF 複合体サブユニット（switching defective/sucrose nonfermenting (SWI/SNF) chromatin remodeling complex）の異常が CSS の原因であることを解明した。SWI/SNF 複合体サブユニットを構成する因子は多数存在するが、その中の複数の遺伝子（*SMARCB1*、*SMARCA4*、*SMARCE1*、*ARID1A*、*ARID1B*）において変異が同定された。SMARCB1 は、SWI/SNF-related, Matrix-associated Actin-dependent Regulator of Chromatin の略である。後述するように、責任遺伝子によって CSS の臨床像には差が存在する。Santen らも CSS における *ARID1B* 遺伝子のハプロ不全を報告した 2)。ARID1B は、AT-Rich, Interaction Domain-containing protein の略である。さらに、*ARID1B* 遺伝子は原因不明の知的障害の中に多く存在することが報告されている。Nicolaidis-Baraitser 症候群（以下 NCBRS）は CSS と症状が類似する先天異常症候群であるが、やはり SWI/SNF 複合体サブユニットの *SMARCA2* 遺伝子異常によることが判明した。このようにクロマチン・リモデリングの異常が疾患の原因と判明したことは知的障害の研究に大きな進歩を

もたらした。

しかし、Coffin-Siris 症候群の診断基準はまだ明確なもの存在しない。診療ガイドラインも適切なもの存在しない。本研究班では、遺伝子診断で確定した症例の知見から、CSS の診断基準や診療ガイドラインを作成することが目的である。

### B．研究方法

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科でフォロー中の CSS 症例 16 症例および内外の報告例のデータを分析し、CSS の診断と治療に有用なガイドラインを作成する。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析にあたり、保護者の代諾により書面で同意を得た。

### C．研究結果

#### 1) 成長発達面

CSS は低出生体重のことが多い。生後も哺乳障害を認め、体重増加不良となる。哺乳栄養障害のため、経鼻栄養チューブを必要とする例がある。胃食道逆流症の合併例がある。乳幼児期に上気道感染を反復しやすい。感染症対策が重要である。筋緊張は低く、運動発達は遅延する。言語発達も遅延し、全般的な発達遅延となる。発達遅滞の程度は中度から重度が多く、重症例では歩行機能獲得や言語表出に至らない。ただし、言語表出が苦手でも、筆談やキーボード入力による意思疎通が可能な例がある。

*ARID1B* 変異例では変異のパターンによっては軽症で、言語発達も良好な例が存在するようである。

## 2) 神経症状

中枢神経系の合併症として、小頭症、てんかん、脳梁欠損症ないし脳梁低形成、小脳低形成、Dandy-Walker 奇形などがある。責任遺伝子による差もあるが、運動機能障害が軽く、多動を伴う例がある。小頭症は認めない例も多く、あっても軽度なことが多い。てんかんについては疑われた場合は脳波検査や頭部画像診断を行い、適切な治療を行う。

## 3) 視聴覚の問題

各種眼科的異常、難聴に注意する必要がある。難聴に対しては補聴器や人工内耳を検討する。

## 4) 特異顔貌

CSS の診断で特に重要な点は Dysmorphology である。特異顔貌（粗野な顔貌、濃い眉、長い睫毛、厚い鼻翼、上口唇の薄いヒゲ、厚い口唇）や身体所見から疑いを持つことが可能である。背部や上腕など多毛を認める。頭髪が疎である。頭髪の密度が低く、頭髪の中に頭皮が透けてみえる傾向がある。毛髪線は低位である。

## 5) 骨格系

CSS では骨格系の特徴が診断に重要である。特に第指の末節骨と爪が無形成であることが多い。他の指趾の爪も低形成のことがある。ただし、爪に異常を認めない CSS も存在し、爪低形成は必発の所見ではない。関節が柔らかい傾向がある。年長例では側彎症の合併に注意が必要である。脊椎 XP による評価が重要である。

## 6) 内臓疾患

一部の CSS 症例で先天性心疾患を合併する。動脈管開存、心室中隔欠損症、心房中隔欠損症などが見られる。初診時に心エコーなどで評価するべきである。

嘔吐が多い場合、胃食道逆流症に注意が必要である。チューブ栄養や胃瘻を検討する。

水腎症、膀胱尿管逆流、停留精巣、尿道下裂などの泌尿器系異常の例もある。高カルシウム尿症を伴う例が存在する。腎結石を伴う例があり、注意すべき合併症と思われる。尿 Ca/Cr 比を調べる。

## 7) 検査所見

一般的な血液検査では CSS 症例では異常を認めないが、てんかんや脳梁欠損の例があるので脳波や頭部画像診断は重要である。

各種染色体異常症を鑑別するために G 分染色体法はまず実施する必要がある。ただし、ARID1B を含む染色体 6q25 の欠失によるハプロ不全による CSS 類似症例があるため、マイクロアレイ染色体検査も実施すべきである。

遺伝子解析は研究室レベルで実施される。SMARC 遺伝子群は機能獲得変異によると考えられる。ARID1B 遺伝子変異はナンセンス変異やフレームシフト変異の例が多く、ARID1B 遺伝子についてはハプロ不全による機能喪失変異が基本病態と考えられる。関連遺伝子を網羅的に解析するには次世代シー

クエンサーが有用である。

## D. 考察

自験例および最近の遺伝子診断で確定した症例の報告を整理し、SWI/SNF 複合体の責任遺伝子別に CSS の臨床像をまとめた。OMIM 番号と染色体上の座位も示した。責任遺伝子によって症状に差が存在し、正確な診断がその後のフォローに重要である。

### ARID1B 遺伝子 [OMIM \* 614556] 染色体座位 6q25.3

CSS の原因遺伝子として最も頻度が高い。CSS の 70% が ARID1B 変異によると考えられている。

身体所見としては濃い眉、長い睫毛、厚い口唇など粗野な顔貌を認める。出生体重は平均的である。低身長や小頭症の程度は強くない。ARID1B 異常の場合は、CSS としての特徴が顕著でない症例もある。爪低形成は全く認めない例もあり、爪低形成を重視すると看過する可能性もある。精神運動発達遅滞は軽度から重度まで幅があるが、CSS の他の責任遺伝子の場合と比べて知的障害の程度は軽い傾向がある。てんかん、自閉症、多動性や衝動性を認めることがある。頭部 MRI 検査において脳梁欠損や低形成を認める例がある。

Hoyer らは、887 例の原因不明の知的障害患者において ARID1B の変異解析を行った。その結果、8 名 (0.9%) でナンセンス変異やフレームシフト変異を同定した。非症候群性知的障害の原因として ARID1B は最も多いもののひとつである。典型的な CSS から非症候群性の知的障害まで、ARID1B 変異の表現型は幅が広い。

染色体 6q25 の微細欠失例もあるが、G 分染法で同定できず、マイクロアレイ解析が必要な場合もある。

### ARID1A 遺伝子 [OMIM\*603024]

染色体座位 1p36

複数の責任遺伝子の中では最も重度である。知的障害は重く、言語獲得はみられない。身体的合併症も重症であり、外科的治療を要することもある。早期死亡例もある。フレームシフト変異やナンセンス変異があったことから、ARID1A 遺伝子はハプロ不全で発症すると考えられる。また、ARID1A 遺伝子変異はモザイクで存在し、胚細胞変異は胎生致死になる可能性が高いという報告がある。

### SMARCB1 遺伝子 [OMIM\*601607]

染色体座位 22q11.23

この遺伝子変異の場合、典型的な CSS の所見を認める。遺伝子別にみると、最も重症度が高い。特異顔貌や爪低形成を認める。乳児期より哺乳摂食障害や嘔吐を認め、身長体重増加不良が顕著である。胃食道逆流症の合併が多い。知的障害は重度である。運動機能障害も強い。小頭症で、MRI で脳梁欠損や低形成、小脳低形成を認める。先天性心疾患、難聴の合併も多い。SMARCB1 遺伝子の場合、発症機序としては機能獲得変異ないしドミナントネガティブ効果の可能性もある。機能喪失変異は腫瘍発生（神経鞘腫症）と関連する。

*SMARCA2* 遺伝子 [OMIM\*600014] 染色体座位 9p24

この遺伝子異常では CSS でなく、NCBRS の臨床像をとる。NCBRS は重度知的障害、特徴的顔貌、てんかん、低身長、疎な頭髪、短指、指関節がめだつ、幅広い末節骨などの特徴を持つ。爪低形成は主要症状ではない。多くの例は言語獲得に至らないが、理解面の発達は期待できる。*SMARCA2* 遺伝子変異を認めた場合は、NCBRS の症状について検討を行う必要がある。

*SMARCA4* 遺伝子 [OMIM\*603254] 染色体座位 19p13.2

CSS の典型例の場合もあれば、非特異的な知的障害と診断される症例もある。やはり哺乳栄養障害、成長障害を認める。知的障害の程度に幅が広く、軽度から重度の例がある。言語理解は表出より良好である。有意語は乏しくても、文字を理解し、筆談できる症例も存在する。自閉症や多動症の合併例もある。てんかんの合併は多くない。年長例では側彎症の合併が多い。

*SMARCE1* 遺伝子 [OMIM\*603111] 染色体座位 17q21.2

現時点では世界で 3 例のみの報告である。低出生体重、生後の低身長、先天性心疾患、小頭症を認める。知的障害は重度である。粗野な顔貌はめだたないが、爪および末節部の低形成は顕著である。全足趾の爪が低形成である点が *SMARCE1* 変異の特徴である。

*PHF6* 遺伝子 [OMIM\*300414] 染色体座位 Xq26.3

この遺伝子は、Borjeson-Forssman-Lehmann 症候群として男性の知的障害の原因遺伝子として知られていたが、CSS 女児例で変異を同定したという報告がある。国内例では *PHF6* 変異例はまだない。

## E. 結論

Coffin-Siris 症候群について研究の進歩を概説した。症例の蓄積からエビデンスを集積し、適切な診療ガイドラインにむけての端緒ができたと考えられる。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

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;161A:1221-37.

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.

岡本伸彦「臨床医が知っておきたい先天異常」 Coffin-Siris 症候群 日本臨床 第 6 6 巻増刊号

岡本伸彦「Coffin-Siris 症候群と SWI/SNF クロマチン・リモデリング複合体」小児科診療 第 7 6 巻 7 号

## 2. 学会発表

コフィン・サイリス症候群における高カルシウム尿症 大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科 植田紀美子、川戸和美、松田圭子、三島祐子、山本悠斗、岡本伸彦第 58 回日本人類遺伝学会

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



# Coffin-Siris 症候群診療ガイドライン

第2案

2014年1月作成

大阪府立母子保健総合医療センター 遺伝診療科

岡本伸彦

平成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

コフィン・サイリス症候群の分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発

代表 三宅紀子（横浜市立大学遺伝学）

# 内 容

はじめに  
有病率 病因  
臨床症状 検査所見  
遺伝カウンセリング  
治療と健康管理  
遺伝子タイプ各論  
診断基準案  
年齢別健康チェックガイドライン

### 【はじめに】

Coffin-Siris 症候群（以下 CSS）は 1970 年に Coffin（コフィン）博士と Siris（サイリス）博士によって報告された特異顔貌、身体所見、知的障害を伴う多発先天異常症候群である。手足の第 5 指の末節骨と爪が無形成であることが多いため、（Fifth digit syndrome：第 5 指症候群）とも呼ばれる。

### 【有病率】

有病率に関する正確なデータはないが、分担研究者の勤務する小児病院では、15 例をフォロー中であり、有病率のわかっている主要な症候群と比較すると 3 - 5 万人出生に対し 1 人程度と思われる。ただし、CSS の非典型例は非特異的な精神遅滞と診断されている可能性があり、実際の有病率はこれを大きく超えるものと推測される。

### 【病因】

原因遺伝子は長らく不明であったが、2012 年になって我々は全エクソーム解析を用いて、クロマチン・リモデリング因子のひとつである、SWI/SNF 複合体サブユニット（switching defective/sucrose nonfermenting (SWI/SNF) chromatin remodeling complex）の異常が CSS の原因であることを解明した（Tsurusaki et al., 2012 Nature Genetics）。SWI/SNF 複合体サブユニットを構成する因子は多数存在するが、その中の複数の遺伝子（*SMARCB1*、*SMARCA4*、*SMARCE1*、*ARID1A*、*ARID1B*）において変異が同定された。SMARC は、SWI/SNF-related, Matrix-associated Actin-dependent Regulator of Chromatin の略である。後述するように、責任遺伝子によって CSS の臨床像には差が存在する。

同時期に Santen らも CSS における *ARID1B* 遺伝子のハプロ不全を報告した。さらに、*ARID1B* 遺伝子は原因不明の知的障害の中に多く存在することが報告された。この中には CSS としての症状が明確でない例も含まれる。Nicolaidis-Baraitser 症候群（以下 NCBRS）は CSS と症状が類似する先天異常症候群であるが、やはり SWI/SNF 複合体サブユニットの *SMARCA2* 遺伝子異常によることが判明した。このようにクロマチン・リモデリングの異常と先天異常症候群、知的障害との関連が注目されている。

## 【臨床症状】

### 1) 成長発達面

CSSは低出生体重児のことが多い。生後も哺乳障害を認め、体重増加不良となる。哺乳栄養障害のため、経鼻栄養チューブを必要とする例がある。胃食道逆流症の合併例があり、噴門形成術や胃瘻手術が必要になった例も存在する。

乳幼児期に上気道感染を反復しやすい。一般的な免疫学的検査では特別な異常所見は認めない。

乳児期においては筋緊張低下を認め、顎定、寝返り、座位、立位、歩行など運動発達は遅延する。言語発達も遅延し、全般的な発達遅延となる。発達遅滞の程度は中度から重度が多く、重症例では歩行機能獲得や言語表出に至らない。ただし、言語表出が苦手でも、筆談やキーボード入力による意思疎通が可能な例がいる。

### 2) 神経症状

中枢神経系の合併症として、小頭症、てんかん、脳梁欠損症ないし脳梁低形成、小脳低形成、Dandy-Walker 奇形などがある。責任遺伝子による差もあるが、運動機能障害が軽く、多動を伴う例がある。小頭症は認めない例も多く、あっても軽度なことが多い。

### 3) 視聴覚の問題

各種眼科的異常、難聴に注意する必要がある。

### 4) 特異顔貌

CSSの診断で特に重要な点はDysmorphology(形態異常学)である。特異顔貌(粗野な顔貌、濃い眉、長い睫毛、厚い鼻翼、上口唇の薄いヒゲ、厚い口唇)や身体所見から疑いを持つことが可能である。背部や上腕など多毛を認める。頭髪が疎である。頭髪の密度が低く、頭髪の中に頭皮が透けてみえる傾向がある。毛髪線は低位である。

自験例15例の症状の分析では、小児においても上口唇の薄いヒゲを認める例が多い印象がある。

### 5) 骨格系

第指の末節骨と爪が無形成であることが多い。他の指趾の爪も低形成のことがある。ただし、爪に異常を認めないCSSも存在し、爪低形成は必発の所見ではない。関節が柔らかい。年長例では側彎症の合併に注意が必要である。

### 6) 内臓疾患

一部の症例で先天性心疾患を合併する。動脈管開存、心室中隔欠損症、心房中隔欠損症などが見られる。嘔吐が多い場合、胃食道逆流症に注意が必要である。水腎症、膀胱尿管逆流、停留精巣、尿道下裂などの泌尿器系異常の例もある。

### 7) 主な検査

一般的な血液検査では異常を認めない。適宜、健康状態の評価目的などで採血を行う必要がある。

てんかんや脳梁欠損の例があるので脳波や頭部画像診断は重要である。心疾患を疑えば、胸部XP、心電図、心エコー検査を行う。胃食道逆流症を疑えば、造影検査を行う。腎疾患を疑えば、検尿や腎エコー、造影検査を行う。

各種染色体異常症を鑑別するためにG分染色体法はまず実施する必要がある。ただし、ARID1Bを含む染色体6q25の欠失によるハプロ不全によるCSS類似症例があるため、マイクロアレイ染色体検査も実施すべきである。

遺伝子解析は研究室レベルで実施される。クロマチン・リモデリング関連遺伝子を網羅的に解析するには次世代シーケンサーが有用である。

### 【鑑別診断】

CSS の鑑別診断としては、ルビンシュタイン・テイビ症候群、コルネリア・デランゲ症候群、ムコ多糖症などがある。詳細な症状の分析で鑑別可能である。

胎児性ヒダントイン症候群は母親の妊娠中の抗てんかん薬服用既往がある。爪の低形成など、CSS と非常によく似た所見を呈する例がある。胎児性ヒダントイン症候群では口唇口蓋裂の合併が多いが、CSS では口唇口蓋裂の合併はあったとしても偶然と考えられる。

GPI アンカー欠損症、(Mabry 症候群など高 ALP 血症を伴う精神遅滞)でも末節骨、爪低形成を伴うことがある。血清 ALP 高値が続く場合は本症を念頭に入れる必要がある。好中球表面の GPI アンカー型蛋白の発現を調べることで診断できる。

DOOR 症候群 (deafness, onychodystrophy, osteodystrophy, and mental retardation) も爪異常を特徴とするので鑑別にあがる。

### 【遺伝カウンセリング】

従来、CSS の遺伝形式は常染色体劣性遺伝と考えられていたが、両親を含めた遺伝子診断実施例は現在のところ全例 *de novo* 変異であるので、常染色体優性遺伝と考えられる。性腺モザイクなどの例外的な事象を別にすれば、同胞での再発の可能性はないと考えてよい。

遺伝子診断にあたっては、実施前後の遺伝カウンセリングが必要である。突然変異についての説明を行う必要がある。

### 【治療と健康管理】

CSS に対しては根本的な治療はない。乳児期より、栄養管理、感染症対策、療育訓練が重要である。てんかんに対しては一般的な治療を行う。

## 【遺伝子タイプ各論】

SWI/SNF 複合体の責任遺伝子別に CSS の臨床像をまとめた。OMIM 番号と染色体上の座位も示した。

### ARID1B 遺伝子 [OMIM \* 614556] 染色体座位 6q25.3

CSS の原因遺伝子として最も頻度が高い。CSS の 70% が ARID1B 変異によると考えられている。

身体所見としては濃い眉、長い睫毛、厚い口唇など粗野な顔貌を認める。出生体重は平均的である。低身長や小頭症の程度は強くない。ARID1B 異常の場合は、CSS としての特徴が顕著でない症例もある。爪低形成は全く認めない例もあり、爪低形成を重視すると看過する可能性もある。精神運動発達遅滞は軽度から重度まで幅があるが、CSS の他の責任遺伝子の場合と比べて知的障害の程度は軽い傾向がある。てんかん、自閉症、多動性や衝動性を認めることがある。頭部 MRI 検査において脳梁欠損や低形成を認める例がある。

Hoyer らは、887 例の原因不明の知的障害患者において ARID1B の変異解析を行った。その結果、8 名 (0.9%) でナンセンス変異やフレームシフト変異を同定した。非症候群性知的障害の原因として ARID1B は最も多いもののひとつである。典型的な CSS から非症候群性の知的障害まで、ARID1B 変異の表現型は幅が広い。

染色体 6q25 の微細欠失例もあるが、欠失のサイズによっては G バンド分染法で検出できず、マイクロアレイ解析が必要な場合もある。

### ARID1A 遺伝子 [OMIM\*603024] 染色体座位 1p36

既知の責任遺伝子の中では重症な部類に入る。知的障害は重く、言語獲得はみられない。身体的合併症も重症であり、外科的治療を要することもある。早期死亡例もある。フレームシフト変異やナンセンス変異があったことから、ARID1A 遺伝子はハプロ不全で発症すると考えられる。また、ARID1A 遺伝子変異は体細胞モザイクで存在し、胚細胞変異は胎生致死になる可能性が高いという報告がある。

### SMARCB1 遺伝子 [OMIM\*601607] 染色体座位 22q11.23

この遺伝子変異の場合、典型的な CSS の所見を認める。遺伝子別にみると、重症度が高い方になる。特異顔貌や爪低形成を認める。乳児期より哺乳摂食障害や嘔吐を認め、身長体重増加不良が顕著である。胃食道逆流症の合併が多い。知的障害は重度である。運動機能障害も強い。小頭症で、MRI で脳梁欠損や低形成、小脳低形成を認める。先天性心疾患、難聴の合併も多い。SMARCB1 遺伝子変異の場合、CSS の発症機序としては機能獲得変異ないしドミナントネガティブ効果の可能性もある。機能喪失変異は腫瘍発生（神経鞘腫症）と関連する。SMARCB1 遺伝子の変異はエクソン 8 ないし 9 の機能ドメインにホットスポットが存在する。Kleefstra 症候群に似た症例が報告されているが、変異の位置が異なる。

### SMARCA2 遺伝子 [OMIM\*600014] 染色体座位 9p24

この遺伝子異常では CSS でなく、NCBRS の臨床像をとる。NCBRS は重度知的障害、特徴的顔貌、てんかん、低身長、疎な頭髪、短指、指関節が目立つ、幅広い末節骨などの特徴を持つ。爪低形成は主要症状ではない。多くの例は言語獲得に至らないが、理解面の発達は期待できる。SMARCA2 遺伝子変異を認めた場合は、NCBRS の症状について検討を行う必要がある。

### SMARCA4 遺伝子 [OMIM\*603254] 染色体 19p13.2

CSS の典型例の場合もあれば、非特異的な知的障害と診断される症例もある。やはり哺乳栄養障害、成長障害を認める。知的障害の程度に幅が広く、軽度から重度の例がある。言語理解は表出より良好である。有意語は乏しくても、文字を理解し、筆談できる症例も存在する。自閉症や多動症の合併例もある。てんかんの合併は多くない。年長例では側彎症の合併が多い。

### SMARCE1 遺伝子 [OMIM\*603111] 染色体座位 17q21.2

現時点では世界で 3 例のみの報告である。低出生体重、生後の低身長、先天性心疾患、小頭症を認める。知的障害は重度である。粗野な顔貌はめだたないが、爪および末節部の低形成は顕著である。全足趾の爪が低形成である点が SMARCE1 変異の特徴である。

### PHF6 遺伝子 [OMIM\*300414] Xq26.3

この遺伝子は、Borjeson-Forssman-Lehmann 症候群として男性の知的障害の原因遺伝子として知られていたが、CSS 女児例で変異を同定したという報告がある。国内例はまだない。

## 【Coffin-Siris 症候群診断基準案】

### 多くの例で認める所見

精神運動発達遅滞

乳児期の哺乳栄養障害、体重増加不良、筋緊張低下

特異顔貌（濃い眉、長い睫毛、上口唇の薄いヒゲ、厚い口唇、耳介異常）

疎な頭髪、背部や四肢の多毛

### 必発でないが重要な所見

爪低形成・末節骨無形成ないし低形成 特に第 指趾低形成例が多い

### 時に合併する所見

脳梁欠損ないし低形成

先天性心疾患

側彎症

てんかん

【Coffin - Siris 症候群 健康チェックガイドライン】

チェックリスト

	新生児期	乳児期	幼児期
症状・注意点	哺乳状態 嘔吐の有無 筋緊張	成長発達遅滞 感染症反復 嘔吐 哺乳不良 便秘	成長発達遅滞 感染症反復 てんかん発作
評価項目	総合的な診察 診断を疑う  新生児スクリーニング 先天性心疾患の検査 心電図・胸部 X-P 聴力検査・ABR 血液・尿検査 染色体検査  遺伝子検査*	1-3ヶ月毎診察 身長・体重・頭囲 哺乳栄養状況  発達の評価  運動発達確認 視力・聴力 血液・尿検査  脳波・頭部 MRI  遺伝子検査*	3-6ヶ月ごと診察 身長・体重・頭囲  発達評価 視力・聴力 血液・尿検査  脳波・頭部 MRI  遺伝子検査*
専門診療科	新生児科 遺伝診療科 遺伝カウンセリング* 合併症によって 循環器科 小児外科など	小児科 小児神経、遺伝など 眼科・耳鼻咽喉科 予防接種 Hib・肺炎球菌 RS(シナジス)	小児科 小児神経、遺伝など 眼科・耳鼻咽喉科 整形外科 歯科  予防接種 心疾患あればシナジス
療育や教育、福祉		保健師訪問 家族支援	早期療育 PT OT ST 幼児教室など 療育手帳 身障手帳

\* 遺伝学的検査は専門医療機関紹介後に実施

チェックリスト（学童期以降）

	小学生	中学生	高校生	成人期
症状・注意点	成長発達遅滞 就学状況 てんかん発作	成長発達遅滞 多動や行動異常 てんかん発作	知的障害 学校での状況 学校との連携 てんかん発作	生活習慣病 精神心理面
評価項目	半年ごと診察 身体発育 発達評価 採血・検尿 視覚・聴覚 側彎 脳波・MRI 心疾患既往者の経過 関節の状態確認 齲歯予防 予防接種状況	内科診察 半年-年1回 身体発育 精神発達 視覚・聴覚 採血・検尿 側彎 脳波・MRI 心疾患既往者の経過 関節の状態確認 齲歯予防 予防接種状況	内科診察 半年-年1回 の診察 身体発育 発達評価 視覚・聴覚 採血・検尿 側彎 予防接種状況	年1回の内科的診察(必要に応じてさらに多い) 身体計測 採血・検尿 生活習慣病
専門診療科	小児科 小児神経・遺伝 眼科 耳鼻咽喉科 整形外科 歯科	小児科 小児神経・遺伝 眼科 耳鼻咽喉科 整形外科 歯科	小児科から内科 小児神経・遺伝 眼科 耳鼻咽喉科 整形外科 歯科 必要時 児童精神科	内科 眼科 耳鼻咽喉科 整形外科 歯科 必要時 精神科
療育や教育、福祉	家族支援 就学支援 療育の継続 言語聴覚訓練	家族支援 就学支援	家族支援 就学就労支援	就労 障害者福祉制度

分担研究報告書

コフィン・サイリス症候群の分子遺伝学的解析と診断・治療法の開発

分担研究課題：コフィン・サイリス症候群における新規疾患遺伝子の同定

分担研究者 松本直通 横浜市立大学医学研究科遺伝学

研究要旨

コフィン・サイリス症候群 (Coffin-Siris syndrome: CSS) は、知的障害、成長障害、特異的顔貌（疎な頭髪、濃い眉と睫毛、厚い口唇など）、手足の第5指の爪および末節骨の無～低形成を主徴とする先天性奇形症候群であり、常染色体優性遺伝と常染色体劣性遺伝の二つの遺伝形式が想定されている。2012年我々は全エクソーム解析を用いた網羅的解析により、*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B* の5つの疾患遺伝子を同定した。今回新たに集積した106症例を対象にターゲットリシーケンスもしくは全エクソーム解析を行い、CSSおよび類似疾患のNCBRSの既知の6遺伝子 (*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*) のいずれかに変異を認められた症例は、129症例中65症例 (50.3%) であった。今回、既知の遺伝子に変異を認めない症例を対象に遺伝学的解析を行い、新規の責任遺伝子 X gene を同定するのに成功した (論文投稿中)。

A. 研究目的

コフィン・サイリス症候群 (Coffin-Siris syndrome: CSS, MIM #135900) は、重度の知的障害、成長障害、特異的顔貌（疎な頭髪、濃い眉と睫毛、厚い口唇など）、手足の第5指の爪および末節骨の無～低形成を主徴とする疾患であり、常染色体優性遺伝、常染色体劣性遺伝の両方の遺伝形式が想定されている。

我々は、2012年エクソーム解析により22症例中19症例 (86%) において、SWI/SNF複合体の構成分子をコードする、*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B* の5遺伝子のいずれかにヘテロ接合性変異を同定した (Tsurusaki et al., 2012, Nature Genetics)。今回同定した5つのSWI/SNF複合体遺伝子のヘテロ接合変異によりCSSの8割は説明できるが、残りの2割の原因は不明であり、常染色体劣性遺伝形式をとるCSSの一群も存在する可能性がある。

今回は、5つの既知遺伝子以外の新規責任遺伝子を同定することを目的として変異解析および全エクソームシークエンスによる網羅的遺伝子検索を行った。

B. 研究方法

ターゲットリシーケンスによる変異解析

遺伝子の数や検体数によっては、従来のSanger法やhigh resolution melting法より、ゲノム分

画とlow throughput NGSを併用したターゲットリシーケンスのほうが迅速かつ安価に実施可能である。ターゲットリシーケンスのbaitをデザインした当時、SWI/SNF複合体を形成すると知られていた21遺伝子 (表1) を標的として、Haloplex [Agilent] とMiSeq [Illumina] を用いてターゲットリシーケンスを行った。

【表1】Haloplexによるデザイン上の21遺伝子 (コード領域) のカバー率

遺伝子名	カバー率 (%)
<i>ACTB</i>	97.9
<i>ACTL6A</i>	100
<i>ACTL6B</i>	100
<i>ARID1A</i>	99.5
<i>ARID1B</i>	100
<i>ARID2</i>	99.8
<i>BRD7</i>	99.5
<i>DPF1</i>	98.9
<i>DPF2</i>	100
<i>DPF3</i>	99.3
<i>HLTF</i>	99.8
<i>PBRM1</i>	99.8
<i>PHF10</i>	100
<i>SMARCA2</i>	99.9
<i>SMARCA4</i>	99.9
<i>SMARCB1</i>	100
<i>SMARCC1</i>	99.8
<i>SMARCC2</i>	100
<i>SMARCD1</i>	100
<i>SMARCD2</i>	100

<i>SMARCD3</i>	99.8
<i>SMARCE1</i>	100

<i>SMARCC1</i>	94.4 ~ 96.9
<i>SMARCC2</i>	100
<i>SMARCD1</i>	98.3
<i>SMARCD2</i>	97.1
<i>SMARCD3</i>	95.4 ~ 100
<i>SMARCE1</i>	99.6 ~ 100

### エクソームシーケンスを用いた新規責任遺伝子の特定

ターゲットリシーケンスより候補遺伝子 21 遺伝子内に病的変異が同定されなかった 6 症例および新規の 95 症例に対して、全エクソームシーケンスを行った。2 例以上に共通してバリエーションを持つ遺伝子を選出し、両親検体が得られた検体に対して *de novo* 変異であるかどうかを検証し、その病原性を検討した。

ゲノム分画には、SureSelect Human All Exon kit (Agilent 社) をもちいた。大量塩基配列解読は HiSeq2000 および HiSeq2500 (Illumina 社) を使用し、解析は novoalign (mapping), GATK (variant call), ANNOVAR (annotation) を用いた解析フローを使用した。病的ではないと考えられる、In-house exome data, ESP6500, dbSNP137 に登録のある variant は候補から除外した。

## C. 研究結果

### ターゲットリシーケンスによる変異解析

デザイン当時、SWI/SNF 複合体を形成すると言われていた 21 遺伝子 (表 1) を標的として、Haloplex [Agilent] を用いてターゲットリシーケンスを行った。塩基配列解読は、MiSeq [Illumina] を用い、各遺伝子のコード領域の x10 のカバー率は表 2 の通りであった。最低でも、93.1% のコード領域を網羅できており、良好なスクリーニング解析ができた。本アプローチにより解析を行った 8 症例中、2 症例において *ARID1A* 遺伝子に病的変異を同定した (Tsurusaki et al., 2013 Clin. Genet.)

【表 2】SWI/SNF 関連の 21 遺伝子のコード領域の x10 のカバー率

遺伝子名	10read 以上で読めた割合(%)
<i>ACTB</i>	98.7
<i>ACTL6A</i>	97.2 ~ 97.8
<i>ACTL6B</i>	100
<i>ARID1A</i>	96.6 ~ 98.6
<i>ARID1B</i>	93.1 ~ 96.2
<i>ARID2</i>	98.5 ~ 100
<i>BRD7</i>	98.6 ~ 99.7
<i>DPF1</i>	93.2 ~ 99.5
<i>DPF2</i>	100
<i>DPF3</i>	96.9 ~ 100
<i>HLTF</i>	95.2 ~ 98.4
<i>PBRM1</i>	99.1 ~ 100
<i>PHF10</i>	95.1 ~ 97.6
<i>SMARCA2</i>	96.8 ~ 98.5
<i>SMARCA4</i>	97.6
<i>SMARCB1</i>	100

### エクソームシーケンスを用いた新規責任遺伝子の特定

1<sup>st</sup> コホートで、CSS および類似疾患の NCBRS の既知の 6 遺伝子 (*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*) に変異が 8 割程度同定されたため、ターゲットリシーケンスで大部分の症例に変異が同定でき、変異が同定されない症例にのみ新規遺伝子同定を目的として全エクソームシーケンスを行う予定であった。しかしながら、2<sup>nd</sup> コホートで収集された症例には、非典型例も含まれており、ターゲットリシーケンスで最初に解析した 8 症例中、2 症例にしか候補遺伝子内に病的変異を同定しなかった。また、ターゲットリシーケンスの系は複数症例 (今回の系では 8 症例) をまとめて解析する必要があることから、個別の迅速な解析が難しい状況があった。一方で、全エクソームシーケンスは当教室で常時稼働しており、SWI/SNF complex 関連遺伝子に変異が同定されない場合であっても、同じデータセットを用いて全遺伝子を網羅的に再解析できるメリットがあり、またこの 1 年間で全エクソームシーケンスの価格が低下し、ターゲットリシーケンスのコスト面の利点が減ったことを受け、以降の解析は全エクソームシーケンスで行う方針に変更した。

現在までに、ターゲットリシーケンスもしくは全エクソームシーケンスを行った症例は、129 症例であり、そのうち CSS および類似疾患の NCBRS の既知の 6 遺伝子 (*SMARCA4*, *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *ARID1B*, *SMARCA2*) に変異を認めた症例は、65 症例 (50.3%) である。

また、CSS の新規遺伝子 gene X を同定し、現在論文投稿中である。

## D. 考察

### 遺伝子解析

1<sup>st</sup> コホートの症例に比べ、2<sup>nd</sup> コホートでは非典型症例の CSS/NCBRS も解析対象としているため、既知の疾患遺伝子の同定率は 8 割から 6 割程度に低下した。しかしながら、これらの既知遺伝子に変異が同定されない症例を集積・解析することで、新規疾患遺伝子同定が可能となる。今後は、解析スピード、コスト、今後のデータの利用価値等を考慮し、全エクソーム解析を中心に行う予定である。より安価で、個別対応可能なターゲットリシーケンスの系が確立できれば、移行することも考慮する。

## E . 結論

本研究で新規のCSS遺伝子の同定に成功しており（論文投稿中）、目的の達成度は高いと考える。

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

1: Hiraki Y, Miyatake S, Hayashidani M, Nishimura Y, Matsuura H, Kamada M, Kawagoe T, Yunoki K, Okamoto N, Yofune H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Murakami A, Miyake 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36228. Epub 2013 Nov 25. PubMed PMID:24352916.

2: Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Suzuki Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, **Matsumoto N**, Saitu H. PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenetics*. 2013 Nov 20. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24253414.

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**, Saitu H. De Novo Mutations in SLC35A2 Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy. *Hum Mutat*. 2013 Dec;34(12):1708-14. doi: 10.1002/humu.22446. Epub 2013 Oct 15. PubMed PMID: 24115232.

4: Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Ogata K, **Matsumoto N**, Miyake N. A hemizygous GYG2 mutation and Leigh syndrome: a possible link? *Hum Genet*. 2014 Feb;133(2):225-34. doi: 10.1007/s00439-013-1372-6. Epub 2013 Oct 8.

5: 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, Miyake N, Eto Y, Tanaka F, **Matsumoto N**, Saitu 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. doi:

10.1007/s10048-013-0375-8. Epub 2013 Oct 4. PubMed PMID: 24091540.

6: Nakajima J, Okamoto N, Shiraishi J, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitu H, Kawashima H, **Matsumoto N**, Miyake N. Novel FIG4 mutations in Yunis-Varon syndrome. *J Hum Genet*. 2013 Dec;58(12):822-4. doi: 10.1038/jhg.2013.104. Epub 2013 Oct 3.

7: Koshimizu E, Miyatake S, Okamoto N, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitu 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. doi:10.1371/journal.pone.0074167. PubMed PMID: 24066114; PubMed Central PMCID:PMC3774667.

8: Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu YP, Oh EC, **Miyake 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. doi: 10.1073/pnas.1308243110. Epub 2013 Sep 16. PubMed PMID: 24043777; PubMed Central PMCID: PMC3791719.

9: 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, Miyake N, Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, **Matsumoto N**, Saitu H. De Novo mutations in GNAO1, encoding a Gao subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy. *Am J Hum Genet*. 2013 Sep 5;93(3):496-505. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.07.014. Epub 2013 Aug 29. PubMed PMID: 23993195; PubMed Central PMCID: PMC3769919.

10: 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, Witzl 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. doi: 10.1212/WNL.0b013e3182a43e57. Epub 2013 Aug 9. PubMed PMID:23935176.
- 11: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36083. Epub 2013 Aug 5. PubMed PMID: 23918631.
- 12: 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: 0.1002/ajmg.a.36072. Epub 2013 Aug 2. PubMed PMID: 23913813.
- 13: 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. Epub 2013 Jul 15. PubMed PMID: 23857099.
- 14: 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] PubMed PMID: 23826986.
- 15: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.36026. Epub 2013 Jul 4. PubMed PMID: 23824987.
- 16: 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] PubMed PMID: 23815551.
- 17: 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. doi:10.1016/j.ajhg.2013.05.004. Epub 2013 Jun 6. PubMed PMID: 23746549; PubMed Central PMCID: PMC3710748.
- 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] PubMed PMID: 23745724.
- 19: Kondo Y, Koshimizu E, Megarbane A, Hamanoue H, Okada I, Nishiyama K, Kodera H, Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Doi H, Miyake 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35983. Epub 2013 May 23. PubMed PMID: 23703728.
- 20: 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, 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. doi: 10.1016/j.ajhg.2013.04.003. Epub 2013 May 9. PubMed PMID: 23664117; PubMed Central PMCID: PMC3675233.

21: 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, Miyake 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. doi: 10.1111/epi.12203. Epub 2013 May 10. PubMed PMID: 23662938.

22: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35933. Epub 2013 May 1. Review. PubMed PMID: 23637025.

23: Nakamura K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake 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] PubMed PMID: 23623288.

24: 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, Miyake 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. doi: 10.1111/epi.12200. Epub 2013 Apr 26. PubMed PMID:23621294.

25: 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 Jun;58(6):391-4. doi: 10.1038/jhg.2013.25. Epub 2013 Apr 4. PubMed PMID: 23552673.

26: 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.* 2013 May;161A(5):1073-7. doi: 10.1002/ajmg.a.35661. Epub 2013 Mar 5. PubMed PMID: 23463723.

27: Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Lee BJ, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake 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. Epub 2013 Feb 18. PubMed PMID: 23441109; PubMed Central PMCID: PMC3580970.

28: Saitsu H, Nishimura T, Muramatsu K, Kodera H, Kumada S, Sugai K, Kasai-Yoshida E, Sawaura N, Nishida H, Hoshino A, Ryuji F, Yoshioka S, Nishiyama K, Kondo Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake 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. doi: 10.1038/ng.2562. Epub 2013 Feb 24. PubMed PMID:23435086.

29: Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, Miyake 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. doi: 10.1002/mds.25296. Epub 2013 Jan 16. PubMed PMID: 23325613.

30: 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] PubMed PMID: 23643445.

31: 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 Aug 16. pii: S0387-7604(13)00230-1. doi: 10.1016/j.braindev.2013.07.009. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23958593.

32: 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 Jul 27. pii: S0387-7604(13)00208-8. doi:10.1016/j.braindev.2013.07.002. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23899771.

33: 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)*

34: 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. doi:10.1016/j.braindev.2012.05.002. Epub 2012 May 31. PubMed PMID: 22656320.

35: 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. doi: 10.1002/ajmg.a.35861. Epub 2013 Jul 19. PubMed PMID: 23873869.

36: 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 Jun 15;190(12):6209-20. doi: 10.4049/jimmunol.1300303. Epub 2013 May 20. PubMed PMID: 23690476.

## 総説

“Progress in heritable soft connective tissue disorders” by Springer Volume 802, 2014, pp 145-159 「Ehlers-Danlos syndrome associated

with glycosaminoglycan abnormalities」Noriko Miyake, Tomoki Kosho, **Naomichi Matsumoto**

Vergano SS, Santen G, Wiczorek D, Wollnik B, **Matsumoto N**, Dearnorff 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/>)

## 2. 学会発表

1. The 10<sup>th</sup> International Workshop on Advanced Genomics. **Naomichi Matsumoto** “Mendelian Exome Analysis”@ National Center of Sciences, Tokyo, May 21, 2013

2. 第 17 回小児分子内分泌研究会特別講演・松本直通「次世代シーケンサーを用いてわかってきたこと」平成 25 年 7 月 7 日札幌北広島クラッセホテル

3. 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・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」平成 25 年 7 月 13 日都市センターホテル・東京

4. 第 20 回日本遺伝子診療学会大会・シンポジウム 1・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」平成 25 年 7 月 19 日アクトシティ 浜松コンgresセンター・浜松

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

6. 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 松本直通「コントロールデータベースに関する話題」平成 25 年 8 月 24 日@京都大学(芝蘭会館)

7. 現場の会第三回研究会基調講演・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」平成 25 年 9 月 4 日神戸国際会議場@神戸

8. 第 23 回遺伝医学セミナー講義・松本直通「遺伝性疾患の責任遺伝子単離法」平成 25 年 9 月 7 日三井ガーデンホテル千葉@千葉市

9. 第 22 回発達腎研究会・特別講演・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」平成 25 年 9 月 13 日高槻市生涯学習センター@高槻市

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

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

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

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

14. The European Human Genetics Conference 2013 (Paris, France) 「De novo mutations in the autophagy gene encoding WDR45 (*WIPI4*) cause static

encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood」N. Matsumoto, T. Nishimura, K. Muramatsu, H. Kodera, S. Kumada, K. Sugai, E. Kasai-Yoshida, N. Sawaura, H. Nishida, A. Hoshino, F. Ryujin, S. Yoshioka, H. Arakawa, M. Kato, N. Mizushima, H. Saito.

### 3 . 知的財産権の出願・登録状況 【特許取得】

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

### 4 . 報道等 なし

### **III . 研究成果の刊行に関する一覧表**

## 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>Miyake N</u> , Kosho T, <u>Matsumoto N</u>	Ehlers–Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities	Jaroslava Halper	Progress in heritable soft connective tissue disorders	Springer	Springer Netherlands	2013	145-159
Vergano S, Santen S, G, Wiczorek D, Wollnik B, <u>Matsumoto N</u> , Deardorff MA	Coffin-Siris Syndrome	Roberta A Pagon	GeneReviews™ [Internet]	University of Washington	Seattle	2013	<a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13811/">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK13811/</a>

## 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
Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Muramatsu H, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Miyake N</u>	A novel <i>WTX</i> mutation in a female patient with osteopathia striata with cranial sclerosis and hepatoblastoma.	Am J Med Genet A.	(in press)	(in press)	2014
Fukai R, Hiraki Y, Nishimura G, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Miyake N</u>	A de novo 1.4-Mb deletion at 21q22.11 in a boy with developmental delay.	Am J Med Genet A.	(in press)	(in press)	2014
Nakajima J, Eminoglu TF, Vatansever G, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Miyake N</u>	A novel homozygous <i>YARS2</i> mutation causes severe myopathy, lactic acidosis, and sideroblastic anemia 2.	J Hum Genet	(in press)	(in press)	2014
Nakamura K, Osaka H, others, <u>Miyake N</u> , Kinoshita T, <u>Matsumoto N</u> , Saito H	<i>PIGO</i> mutations in intractable epilepsy and severe developmental delay with mild elevation of alkaline phosphatase levels.	Epilepsia	(in press)	(in press)	2014
Hiraki Y, others, <u>Okamoto N</u> , others, <u>Miyake N</u> , Nishimura G, <u>Matsumoto N</u>	Aortic aneurysm and retrograde anastomosis in a family with Cantu syndrome.	Am J Med Genet A.	164	231-6	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohba C, <b>Okamoto N</b> , others, <b>Miyake N</b> , Tanaka F, Kinoshita T, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	<i>PIGN</i> mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy	Neurogenetics	(in press)	(in press)	2013
Kodera H, others, <b>Okamoto N</b> , others, <b>Miyake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	De Novo Mutations in <i>SLC35A2</i> Encoding a UDP-Galactose Transporter Cause Early-Onset Epileptic Encephalopathy.	Hum Mutat	34	1708-14	2013
Imagawa E, others, <b>Matsumoto N</b> , <b>Miyake N</b> .	A hemizygous <i>GYG2</i> mutation and Leigh syndrome: a possible link?	Hum Genet.	133	225-34	2014
Ohba C, others, <b>Miyake N</b> , Eto Y, Tanaka F, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood.	Neurogenetics	14	225-32	2013
Nakajima J, <b>Okamoto N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , <b>Miyake N</b> .	Novel <i>FIG4</i> mutations in Yunis-Varon syndrome.	J Hum Genet.	58	822-4	2013
Koshimizu E, Miyatake S, <b>Okamoto N</b> , Nakashima M, Tsurusaki Y, <b>Miyake N</b> , Saitsu H, <b>Matsumoto N</b> .	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
Nishiguchi KM, Tearle RG, Liu YP, Oh EC, <b>Miyake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Terasaki H, Bersohn EL, Katsanis N, Rivolta C.	Whole genome sequencing in patients with retinitis pigmentosa reveals pathogenic DNA structural changes and <i>NEK2</i> as a new disease gene.	Proc Natl Acad Sci U S A.	110	16139-44	2013
Nakamura K, others, <b>Miyake N</b> , Hayasaka K, Ogata K, Fukuda A, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	De Novo mutations in <i>GNAOI</i> , encoding a Gαo subunit of heterotrimeric G proteins, cause epileptic encephalopathy.	Am J Hum Genet.	93	496-505	2013
Nakamura K, others, <b>Miyake N</b> , Hayasaka K, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	Clinical spectrum of <i>SCN2A</i> mutations expanding to Ohtahara syndrome.	Neurology.	81	992-8	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Fukai R, Ochi N, Murakami A, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, <b>Matsumoto N</b> , <b>Mivake N</b> .	Co-occurrence of 22q11 deletion syndrome and HDR syndrome.	Am J Med Genet A.	161	2576-81	2013
<b>Mivake N</b> , Koshimizu E, <b>Okamoto N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Niikawa N.	<i>MLL2</i> and <i>KDM6A</i> mutations in patients with Kabuki syndrome.	Am J Med Genet A.	161	2234-43	2013
Doi H, Ohba C, Tsurusaki Y, Miyatake S, <b>Mivake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> .	Identification of a novel homozygous <i>SPG7</i> 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.	52	1629-33	2013
Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh R, Nakashima M, Saito H, <b>Mivake N</b> , Saito S, <b>Matsumoto N</b> .	Whole exome sequencing revealed biallelic <i>FT122</i> mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss.	Clin Genet.	(in press)	(in press)	2013
Fujita A, Suzumura H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Harada N, <b>Matsumoto N</b> , <b>Mivake N</b> .	A unique case of de novo 5q33.3-q34 triplication with uniparental isodisomy of 5q34-qt.	Am J Med Genet A.	161	1904-9	2013
Tsurusaki Y, <b>Okamoto N</b> , others, <b>Mivake N</b> , <b>Matsumoto N</b> .	Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder	Clin Genet.	(in press)	(in press)	2013
Ravenscroft G, Miyatake S, Lehtokari VL, Todd EJ, Vornanen P, Yau KS, Hayashi YK, <b>Mivake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Laing NG.	Mutations in <i>KLHL40</i> are a frequent cause of severe autosomal-recessive nemaline myopathy.	Am J Hum Genet	93	6-18	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura K, Kato M, Tohyama J, Shiohama T, Hayasaka K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, <b>Mivake N, Matsumoto N</b> , Saitsu H.	<i>AKT3</i> and <i>PIK3R2</i> mutations in two patients with megalencephaly-related syndromes: MCPAP and MPPH.	Clin Genet.	(in press)	(in press)	2013
Kondo Y, Koshimizu E, Megarbane A, others, Miyatake S, Tsurusaki Y, Nakashima M, Doi H, <b>Mivake N</b> , Saitsu H, <b>Matsumoto N</b> .	Whole-exome sequencing identified a homozygous <i>FNBP4</i> mutation in a family with a condition similar to microphthalmia with limb anomalies.	Am J Med Genet A.	161	1543-6	2013
Nakajima M, Mizumoto S, <b>Mivake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Sugahara K, Nishimura G, Ikegawa S.	Mutations in <i>B3GALT6</i> , which Encodes a Glycosaminoglycan Linker Region Enzyme, Cause a Spectrum of Skeletal and Connective Tissue Disorders.	Am J Hum Genet.	92	927-34	2013
Kodera H, Kato M, others, <b>Mivake N</b> , Hayasaka K, King MC, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	Targeted capture and sequencing for detection of mutations causing early onset epileptic encephalopathy.	Epilepsia.	54	1262-9	2013
Kosho T, <b>Okamoto N</b> , Ohashi H, Tsurusaki Y, Imai Y, Hibi-Koike Y, Kawame H, others, <b>Mivake N</b> , <b>Matsumoto N</b> .	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
Nakamura K, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, <b>Mivake N</b> , <b>Matsumoto N</b> , others, Enoki H.	<i>A de novo</i> <i>CASK</i> mutation in pontocerebellar hypoplasia type 3 with early myoclonic epilepsy and tetralogy of Fallot.	Brain Dev.	(in press)	(in press)	2013
Kato M, Yamagata T, others, <b>Mivake N</b> , Saito K, Hayasaka K, <b>Matsumoto N</b> , Saitsu H.	Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by <i>KCNQ2</i> mutation.	Epilepsia.	54	1282-7	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Iida A, <b>Okamoto N</b> , <b>Miyake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> , Ikegawa S.	Exome sequencing identifies a novel <i>INPPL1</i> mutation in opsismodysplasia.	J Hum Genet.	58	391-4	2013
Miyatake S, Murakami A, <b>Okamoto N</b> , Sakamoto M, <b>Miyake N</b> , Saitsu H, <b>Matsumoto N</b> .	A de novo deletion at 16q24.3 involving <i>ANKRD11</i> in a Japanese patient with KBG syndrome.	Am J Med Genet A.	161	1073-7	2013
Kondo Y, Saitsu H, Miyamoto T, Lee BJ, Nishiyama K, Nakashima M, Tsurusaki Y, Doi H, <b>Miyake N</b> , Kim JH, Yu YS, <b>Matsumoto N</b> .	Pathogenic mutations in two families with congenital cataract identified with whole-exome sequencing.	Mol Vis.	19	384-9	2013
Saitsu H, others, <b>Miyake N</b> , Arakawa H, Kato M, Mizushima N, <b>Matsumoto N</b> .	De novo mutations in the autophagy gene <i>WDR45</i> cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood.	Nat Genet.	45	445-9	2013
Higashiyama Y, Doi H, Wakabayashi M, Tsurusaki Y, <b>Miyake N</b> , others, <b>Matsumoto N</b> .	A novel <i>SCARB2</i> mutation causing late-onset progressive myoclonic epilepsy.	Mov Disord.	28	552-3	2013
Takanashi JI, Osaka H, Saitsu H, others, Inoue K, <b>Matsumoto N</b> , James Barkovich A.	Different patterns of cerebellar abnormality and hypomyelination between <i>POLR3A</i> and <i>OLR3B</i> mutations.	Brain Dev.	(in press)	(in press)	2013
Nakayama T, Saitsu H, Endo W, Kikuchi A, others, Kure S, <b>Matsumoto N</b> .	RBPJ is disrupted in a case of proximal 4p deletion syndrome with epilepsy.	Brain Dev.	(in press)	(in press)	2013
<b>Okamoto N</b> , Yamagata T, Yada Y, Ichihashi K, <b>Matsumoto N</b> , Momoi MY, Mizuguchi T.	Williams-Beuren syndrome with brain malformation and hypertrophic cardiomyopathy.	Brain Dev.	(in press)	(in press)	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ichinose Y, Miwa M, Onohara A, Obi K, Shindo K, Saitsu H, <u>Matsumoto N</u> , Takaiyama Y.	Characteristic MRI findings in beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAAN).	Neurol Clin Pract	(in press)	(in press)	2013
Nonoda Y, Saito Y, Nagai S, Saasaki M, Iwasaki T, <u>Matsumoto N</u> , Ishii M, Saitsu H	Progressive diffuse brain atrophy in West syndrome with marked hypomyelination due to <i>SPTANI</i> gene mutation.	Brain Dev.	35	280-3	2013
Yokoo N, Marumo C, Nishida Y, Iio J, Maeda S, Nonaka M, others, <u>Matsumoto N</u> , <u>Okamoto N</u>	A case of Toriello-Carey syndrome with severe congenital tracheal stenosis.	Am J Med Genet A.	161	2291-3	2013
Sun SL, Horino S, Itoh-Nakadai A, Kawabe T, Asao A, Takahashi T, So T, Funayama R, Kondo M, Saitsu H, <u>Matsumoto N</u> , Nakayama K, Ishii N.	Y chromosome-linked B and NK cell deficiency in mice.	J Immunol.	190	6209-20	2013