

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業(神経・筋疾患分野)

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

平成26年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 松本 直通

(横浜市立大学大学院医学研究科環境分子医科学・教授)

平成27(2015)年 4月

## 目 次

### I . 総括研究報告

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究 -----	1
(資料) 研究全体の流れと進行状況	
松本直通	

### II . 分担研究報告

1 . 稀少な遺伝子変異を認めたてんかんおよび発達障害症例	11
岡本伸彦	
2 . 年齢依存性てんかん性脳症の遺伝型と臨床型の関連性の解明	15
加藤光広	
3 . Cerebral Folate Transport Deficiencyの同胞例	21
小坂仁	
4 . 広汎性発達障害関連遺伝子解析による病態解明研究	27
橋本亮太	

III . 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	33
----------------------------	----

IV . 研究成果の刊行物・別刷 -----	37
------------------------	----

平成26年度厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究開発事業）  
総括研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

研究代表者 松本直通 横浜市立大学大学院医学研究科教授

次世代シーケンサー（NGS）による高出力解析研究により、遺伝子異常の多面性が認識され、疾患群をより正確に診断する（診断率を向上させる）ためには、より多くの責任/関連遺伝子・候補遺伝子を解析することが不可欠である。この解決策に大容量型 NGS を用いた全エクソーム解析が選択肢となるが、やや高コスト（1 サンプル当たり 2014 年度で 13 万円）である。我々は、数十個の遺伝子を集約する新技術と卓上型 NGS を組み合わせ、効率的かつ安価（1 サンプル当たり 3 万 5 千円）に遺伝子異常を同定する技術（統合的遺伝子解析システム）を確立、さらに点変異のみならずコピー数異常の検出も可能とした。平成 25 年度は、この一定の遺伝子に限定した遺伝子パネル統合解析システムと全エクソーム解析との変異検出率やコストを検討し、遺伝子パネルの変異検出率が、パネル/全エクソームコスト比を上回らない限り遺伝子パネル解析を優先するメリットがないことが判明した。よって平成 26 年度は、全エクソーム解析を基本プラットフォームとして研究を進めた。特に全エクソーム解析データを用いた Nord プログラムによる遺伝子選択的 CNV 解析とXHMM プログラムにおける全ゲノム俯瞰的解析について検討した。

分担研究者

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・主任部長

加藤光広・山形大学医学部小児科学講座・講師

小坂仁・自治医科大学小児科学講座・教授

橋本亮太・大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学研究科附属子どもこのころの分子統御機構研究センター/大阪大学大学院医学系研究科・情報統合医学講座精神医学教室・准教授

A．研究目的

本申請研究は、申請者が研究代表を務めた「超細密染色体分析から捉え直すヒト発達障害研究（H22-神経・筋-一般-012）」の成果を受けた発展研究である。H22-24年度

研究費では、高密度マイクロアレーを用いた疾患ゲノム解析を基軸に、West症候群（Am J Hum Genet, 2010）、Kabuki症候群（Nat Genet, 2010）、Microphthalmia with limb anomaly (MLA)症候群（Am J Hum Genet, 2011）、Coffin-Siris症候群（Nat Genet, 2012）、大田原症候群（Ann Neurol, 2012）、Epilepsia, 2012)等で責任遺伝子を同定した。このうち3疾患の遺伝子異常が染色体微細構造異常に絡んでおり、染色体構造異常解析の有用性は明白であった。これらの研究過程で、年齢依存性てんかんの一群の解析は格段に進歩した。最重症系である大田原症候群では、我々が明らかにした責任遺伝子ARX・STXBP1・KCNQ2・CASKと新たにSCN2A（Neurology, 2013）・GNAO1（Am J Hum Genet, 2013）・SLC35A2（Hum

Mut, 2013) を加えておよそ57%で遺伝子異常が明らかになった。また次世代シーケンサー (NGS) による高出力解析研究により、遺伝子異常の多面性 (pleiotropy) が認識され始め、疾患群をより正確に診断する (診断率を向上させる) ためには、より多くの責任/関連遺伝子・候補遺伝子を解析する必要がある。この解決策に大容量型NGSを用いた全exome解析が選択肢となるが、やや高コスト (1サンプル当たり2014年度で13万円) である。我々は、数十個の遺伝子を集約する新技術と卓上型NGSを組み合わせ、効率的かつ安価 (1サンプル当たり3万5千円) に遺伝子異常を同定する技術 (統合的遺伝子解析システム) を確立し、さらに点変異のみならずコピー数異常の検出も可能とした。平成25年度は、この一定の遺伝子に限定した遺伝子パネル統合解析システムと全エクソーム解析との変異検出率やコストを検討し、遺伝子パネルの変異検出率が、パネル/全エクソームコスト比を上回らない限り遺伝子パネル解析を優先するメリットがないことが明らかとなった。よって平成26年度は、全エクソーム解析を基本プラットフォームとして研究を進めた。SNVとCNVを統合的に解析するシステムを確立し、効率的にヒト発達障害の遺伝子異常・分子病理を明らかにし、有効な診断システムの確立を目指すことを目的とする。

## B. 研究方法

### I. 症例集積

小児神経臨床研究ネットワーク等を通じて全国の小児神経科医から年齢依存性てんか

んとその類縁疾患を、臨床遺伝ネットワーク等を通じて集積した知的障害関連疾患を集積する。

### II. 統合的遺伝子解析システム開発

平成25年度に遺伝子を限定して統合的に解析する統合的遺伝子解析システムそのものに全エクソーム解析を上回るメリットが少ないことが明らかとなった。よって平成26年度は、本システムでCNV解析に有効であったNordプログラムを全エクソーム解析で可能かどうかの検討に変更することにした。

### III. インフォーマティクス解析

NGS解析で既に全エクソン解析において研究室内で確立した解析フローを統合遺伝子解析システムにも応用する。NGSデータは、研究室独自のインフォーマティクスフローにより効率的な点変異の検出が可能で、かつCNVに関してはAlexNORDプログラムと全ゲノムを俯瞰するXHMM解析法の確立を目指す。

### IV. バックアップシステム

従来型の超細密マイクロアレーと全エクソーム解析・全ゲノム解析による網羅的なゲノム解析手法を遺伝子統合解析システムでの陰性例に適宜用いて新規遺伝子異常とコピー数異常を同定する。

### V. 効果的遺伝子診断システムの確立

本研究の知見に基づく迅速、効果的かつ安価な疾患遺伝子診断システムを考案する。本研究は、所属施設IRBの承認を受け適切な倫理的配慮と手続きを得て行われた。

## C . 研究結果

### I . 症例集積

小児神経臨床研究ネットワーク（蔵王セミナー等で交流）等を通じて全国の小児神経科医から年齢依存性てんかんとその類縁疾患を含めた計 1040 例の世界的にも突出した症例が集積した。さらに臨床遺伝ネットワーク等により遺伝医学専門医や小児神経科医の協力のもと知的障害関連疾患を呈する症例が 2170 例集積した。今後も種々のチャンネルを通して継続的にこれらの疾患群の集積に努める。

### II. 統合的遺伝子解析システム開発

平成 25 年度研究で遺伝子パネル/全エクソーム解析の価格比（3.5 万円/11 万円(2013 年時) = 31.8%）を超える変異検出率をパネルで超えない限り、全エクソーム解析を第一選択とする方が安価で迅速であるとの結論に至った。よって明らかに検出率が 32% を大きく超えることが期待できる疾患はパネルを作成するがそれ以外は全エクソーム解析を選択することとし、平成 26 年度は主として全エクソーム解析をメインプラットフォームとしてシステム構築を進めた。

### III. インフォーマティクス解析

NGS 解析で既に全エクソーム解析において研究室内で確立した解析フローを統合遺伝子解析システムにも応用する。Miseq データは、Novoalign/Picard/GATK/Annova を組み合わせた研究室独自の Ecome により効率的な解析が可能である。さらに遺伝子パネルを用いた NGS データから特に欠失を

効率的に検出する Alex NORD プログラムで非常に小さな（100 bp 程度）欠失検出が可能であったため、平成 26 年度は全エクソーム解析データを用いて Nord プログラムが正確に CNV 検出可能化の検討を加えた。遺伝子パネル解析は解析する遺伝子数が限定的であるため比較的深いシーケンスリードを得ることが可能である（通常数百リード）。一方全エクソーム解析では、通常百リード程度の解析にとどまるため、遺伝子パネルに比して浅いシーケンスリード数の全エクソームデータでも正確に CNV 検出が可能かどうかを検討し、遺伝子パネルと同様な検出感度を有することが判明した。全エクソーム解析データを用いてXHMM法でCNV解析もマイクロアレーで検出される 200 kb サイズを超える CNV の 90% 以上が検出可能であることを確認している。さらにマイクロアレーで検出できない 10 Kb 以下の CNV 検出が XHMM では検出され、一定の正確性を有することから特に重要な遺伝子を巻き込む小さな CNV は注意して解析をすることで病的な以上を検出できる可能性が示された。

### IV. バックアップシステム

従来型の超細密マイクロアレーも CNV 異常の検出から責任遺伝子の特定する手法として依然重要で統合遺伝子解析システムと並行して適宜行っている。

### V. 効果的遺伝子診断システムの確立

平成 25・26 年度研究の知見に基づいて効果的かつ安価な疾患遺伝子診断システムの検討を続けている。遺伝子パネルでの遺伝子変異同定率が遺伝子パネル / 全エク

ソーム解析のコスト比を超え無い限りパネルを利用するメリットがないことが明らかになり全エクソーム解析の解析レベルを向上させるかを主軸に研究を進めている。全エクソーム解析で難治性てんかんに関しての新しい遺伝子として平成 25 年は *SCN2A* (Neurology, 2013), *GNAOI* (Am J Hum Genet, 2013), *SLC35A2* (Hum Mut, 2013),平成 26 年は *PIGA* (Neurology 2014, 雑誌の表紙を飾る)等の単離にも成功し遺伝子変異同定率の向上に寄与している。

#### D . 考察

遺伝子パネルと全エクソーム解析のパフォーマンスとコストの検討及び上記 2 手法のデータを利用した CNV 解析システムをセットアップし、マイクロアレーデータとの比較を行った。遺伝子パネルはコストメリットは明らかだが、検出率が低い場合全エクソーム解析に移行せざる負えないことも多く、コスト・スピードの観点で全エクソーム解析を第一選択とするメリットも明らかになった(平成 25 年度)。全エクソームシークエンスデータを用いた CNV 解析では、Nord プログラムも遺伝子パネル解析と同等の検出感度で CNV を検出し、XHMM ではマイクロアレーで明らかとなった 200 kb サイズ以上の CNV の 90%以上が感度よく検出可能であり、マイクロアレーの検出限界である 10 Kb 以下の欠失等が検出される可能性があること等などが判明し、その特徴を生かしたデータ利用が重要である。

#### E . 結論

H26 年度は、全エクソーム解析データでも Alex Nord プログラムは問題なく稼働し、XHMM では 200 kb 以上の CNV のおよそ 90%は検出可能であった。全エクソーム解析を用いて大田原症候群の新規遺伝子として *SCN2A*( Neurology, 2013 )・*GNAOI*( Am J Hum Genet, 2013 )・*SLC35A2* ( Hum Mut, 2013 )に加えて *PIGA*(Neurology, 2014)、雑誌の表紙を飾る)を公表した。また幼少期には発達障害、青年期に急速に神経変性が進行して寝たきりになる SENDA の責任遺伝子 *WDR45*( Nat Genet, 2013 )や Coffin-Siris 症候群の新たな遺伝子 *SOX11* を見いだした( Nat Commun, 2014 )。以上の統合的な遺伝子解析システム構築と本システムを利用した発達障害の責任遺伝子の解析が計画通り順調に進んでいる。

#### F . 健康危険情報

本研究遂行上、健康危機に関わる問題は生じていない。

#### G . 研究発表

##### 1 . 論文発表

Miyatake S, \*Matsumoto N (\*: correspondence). Clinical exome sequencing in neurology practice. Nat Rev Neurol 10(12):676-678, 2014.

Tsurusaki Y, Ohashi H, Phadke S, Koshimizu E, Kou I, Shiina M, Suzuki T, Okamoto N, Imamura S, Yamashita M, Watanabe S, Yoshiura K-i, Kodera H, Miyatake S, Nakashima N, Saitsu H, Ogata K, Ikegawa S, Miyake N, and \*Matsumoto N. De novo *SOX11* mutations cause Coffin-Siris syndrome. Nat Commun 5:4011.

Miyatake S, Osaka H, Shiina M, Sasaki M, Takahashi J, Haginoya K, Wada T, Morimoto M, Ando N, Ikuta Y, Nakashima N, Tsurusaki Y, Miyake N, Ogata K, \*Matsumoto N, \*Saitsu H (\*: co-correspondence). Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies, Neurology 82(24):2230-2237, 2014.

\*Kato M#, \*Saitsu H#, \*Murakami Y (\*: co-first authors, #: co-correspondence), Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R,

- Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N. *PIGA* mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology* 82(18):1587-1596, 2014.
- \*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. *Clin Genet* 85(4): 396-398, 2014
- \*Miyake N, Kosho T, Matsumoto N. Ehlers–Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. J. Halper (ed.), *Progress in heritable soft connective tissue diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology* 802. Pp145-159, 2014 Springer Netherland, Houten, Netherland
- 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* 4(2):175-177, 2014
- Fukai R, Hiraki Y, Nishimura G, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, \*Matsumoto N, \*Miyake N (\*: co-corresponding). A de novo 1.4-Mb deletion at 21q22.11 in a boy with developmental delay. *Am J Med Genet Part A* 164(4):1021-1028, 2014.
- Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, \*Matsumoto N, \*Miyake N (\*: co-correspondence). A Novel *WTX* Mutation in a Female Patient who has Osteopathia Striata with Cranial Sclerosis and Hepatoblastoma. *Am J Med Genet Part A* 164A(4):998-1002, 2014.
- Ohba C, Okamoto N, Murakami Y, Kawato K, Suzuki Y, Ikeda T, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Kinoshita T, \*Matsumoto N, \*Saitsu H (\*: co-correspondence). *PIGN* mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy. *Neurogenet* 59(5):292-295, 2014.
- Leventer RJ, Jansen FE, Mandelstam SA, Ho A, Mohamed I, Sarnat HB, Kato M, Fukasawa T, Saitsu H, Matsumoto N, Itoh M, Kalnins RM, Chow CW, Harvey AS, Jackson GD, Crino PB, Berkovic SF, Scheffer IE. Is Focal Cortical Dysplasia sporadic? Family evidence for genetic susceptibility. *Epilepsia*; 55(3):e22-26, 2014.
- Ohba C, MD, Kato M, Takahashi S, Lerman-Sagie T, Lev D, Terashima H, Kubota M, Kawawaki H, Matsufuji M, Kojima Y, Tateno A, Goldberg-Stern H, Straussberg R, MD, Marom D, Leshinsky-Silver E, Nakashima M, Nishiyama K, Tsurusaki T, Miyake N, Tanaka F, \*Matsumoto N, \*Saitsu H (\*: co-correspondence). Early onset epileptic encephalopathy caused by de novo *SCN8A* mutations. *Epilepsia* ;55(7):994-1000, 2014.
- Imagawa E, Kayserili H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Nishimura G, Ikegawa S, \*Matsumoto N\*, \*Miyake N (\*: co-correspondence). Severe manifestations of Hand-Foot-Genital syndrome associated with a novel *HOXA13* mutation. *Am J Med Genet Part A* 164A(9):2398-2402, 2014.
- #Ohba C, #Nabatame S, (# denotes equal contribution) Iijima Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Tanaka F, Ozono K, Saitsu H\*, Matsumoto N\* (\*: co-corresponding). De novo *WDR45* mutation in a patient showing clinically Rett syndrome with childhood iron deposition in brain. *J Hum Genet* 59(5):292-295, 2014.
- #Miyatake S, #Koshimizu E (# denotes equal contribution), Hayashi YK, Miya K, Shiina M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ogata K, Nishino I, \*Matsumoto N. Deep sequencing detects very low-grade somatic mosaicism in the unaffected mother of siblings with nemaline myopathy. *Neuromuscul Disord* 24(7):642-647, 2014.
- Nakashima M, Kashii H, Murakami Y, Kato M, Tsurusaki Y, Miyake N, Kubota M, Kinoshita T, Saitsu H, Matsumoto N\*. Novel compound heterozygous *PIGT* mutations caused multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome 3. *Neurogenet* 15(3):193-200, 2014
- Ozawa T, \*Koide R, Nakata Y, Saitsu H, Matsumoto N, Takahashi K, Nakano I, Orimo S. A novel *WDR45* mutation in a patient with static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA). *Am J Med Genet Part A* 164(9):2388-2390, 2014.
- \*Matsumoto N. A message from the new Editor-in-Chief. *J Hum Genet*. 2014 59(1):1.
- Yasuda Y, \*Hashimoto R (\* denotes a corresponding author), Fukai R, Okamoto N, Hiraki Y, Yamamori H, Fujimoto M, Ohi K, Taniike M, Mohri I, Nakashima M, Tsurusaki T, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N, Takeda M. The *NPH1* duplication in autism spectrum disorder with normal intellectual ability: a case series. *Ann Gen Psychiatry*. 13:22, 2014.
- \*Miyake N (\*: corresponding author), Tsurusaki Y, Matsumoto N. Numerous BAF complex genes are mutated in Coffin-Siris syndrome. *Am J Med Genet Part C* 166(3):257-261, 2014.
- \*Nakashima M (\*: corresponding author), Takano K, Osaka H, Aida N, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Causative novel *PNKP* mutations and concomitant *PCDH15* mutations in a patient with microcephaly with early-onset seizures and developmental delay syndrome and hearing loss. *J Hum Genet* 59(8):471-474, 2014.
- Ben-Omran T, Lakhani S, Almureikhi M, Ali R, Takahashi A, Miyake N, Matsumoto N, Ikegawa S, Superti-Furga A, \*Unger S. Cono-spondylar dysplasia: Clinical, radiographic, and molecular findings of a previously unreported disorder. *Am J Med Genet Part A* 164(9):2147-2152, 2014.
- \*Yoshida K (\*: correspondence), Miyatake S, Kinoshita T, Doi H, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. ‘Cortical cerebellar atrophy’ dwindles away in the era of next-generation sequencing (correspondence). *J Hum Genet* 59(10):589-590, 2014.
- Katagiri S, Akahori M, Sergeev Y, Yoshitake K, Ikeo K, Furuno M, Hayashi T, Kondo M, Ueno S, Tsunoda K, Shinoda K, Kuniyoshi K, Tsurusaki Y, Matsumoto N, Tsuneoka H, Iwata T. Whole exome analysis identifies frequent *CNGA1* mutations in Japanese population with autosomal recessive

- retinitis pigmentosa. *Plos One* 9(9):e108721, 2014.
- Tsurusaki Y, Yonezawa R, Furuya M, Nishimura G, Pooh RK, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, Saito S, \*Matsumoto N. Whole exome sequencing revealed causative biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss. *Clin Genet* (in press)
- Nakamura K, Osaka H, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, \*Matsumoto N, \*Saitsu H (\*: co-correspondence). *PIGO* mutations in epileptic encephalopathy with mild elevation of alkaline phosphatase levels. *Epilepsia* (in press).
- \*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* (in press).
- Tsurusaki Y, Okamoto N, Ohashi H, Mizuno S, Matsumoto N, Makita Y, Fukuda M, Isidor B, Perrier J, Aggarwal S, Al-Kindy A, Liebelt J, Mowat D, Nakashima M, Saitsu H, Miyake N, \*Matsumoto N. Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder. *Clin Genet* (in press).
- \*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* (in press)
- Hara M, Ohba C, Yamashita Y, Saitsu H, Matsumoto N, \*Matsuishi T. *De novo SHANK3* mutation causes a female patient with Rett syndrome like phenotype. *Am J Med Genet Part A* (in press).
- Ohashi T, Akasaka N, Kobayashi Y, Magara S, Kawashima H, Matsumoto N, Saitsu H, \*Tohyama J. Infantile epileptic encephalopathy with a hyperkinetic movement disorder and hand stereotypies arising from a novel SCN1A mutation. *Epileptic Disord* (in press)
- Kodera H, Ando N, Yuasa I, Wada Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitoh S, \*Matsumoto N, \*Saitsu H (\*:co-corresponding). Compound heterozygous mutations in *COG2* encoding a subunit of the conserved oligomeric Golgi complex cause congenital disorder of glycosylation. *Clin Genet* (in press)
- Nakajima J, Okamoto N, Tohyama J, Kato M, Arai H, Funahashi O, Tsurusaki Y, Nakashima M, Kawashima H, Saitsu H, Matsumoto N<sup>#</sup>, Miyake N<sup>#</sup> (<sup>#</sup>: co-corresponding). *De novo EEFlA2* mutations in patients with characteristic facial features, intellectual disability and, autistic behaviors and epilepsy. *Clin Genet* (in press)
- Endo Y, \*Noguchi S, Hara Y, Hayashi YK, Motomura K, Murakami N, Tanaka S, Yamashita S, Kizu R, Bamba M, Goto Y, Matsumoto N, Nonaka I, Nishino I. Dominant mutations in *ORAI1* cause tubular-aggregate- myopathy with hypocalcemia by constitutive activation of store-operated Ca<sup>2+</sup> channel. *Hum Mol Genet* (in press).
- Okubo M<sup>#</sup>, Fujita A<sup>#</sup> (# denotes equal contribution), Saito Y, Komaki H, Ishiyama A, Kojima E, Koichihara R, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Yamazaki H, Kusaka K, Tanaka H, Matsumoto N, Sasaki M. A family of distal arthrogryposis type 5 due to a novel *PIEZO2* mutation. *Am J Med Genet Part A* (in press)
- Suzuki T, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Takeda S, \*Matsumoto N. Precise detection of chromosomal translocation or inversion breakpoints by whole genome sequencing. *J Hum Genet* (in press).
- Doi H, Ushiyama M, Baba T, Tani K, Shiina M, Ogata K, Miyatake S, Fukuda-Yuzawa Y, Tsuji S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Ikeda S, Tanaka F, Matsumoto N, \*Yoshida K. Late-onset spastic ataxia phenotype in a patient with a homozygous *DDHD2* mutation. *Sci Rep* (in press)
- \*Miyatake S, \*Koshimizu E, (\*: corresponding author), Tada H, Satoshi Moriya S, Takanashi J, Hirano Y, Hayashi M, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Matsumoto N, Saitsu H. Atypical giant axonal neuropathy arising from a homozygous mutation by uniparental isodisomy. *Clin Genet* (in press)
- \*Saitsu H, Yamashita S, Tanaka Y, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, \*Matsumoto N. Compound heterozygous *BRAT1* mutations cause familial Ohtahara syndrome with hypertonia and microcephaly. *J Hum Genet* (in press)
- Zerem A, Lev D, Blumkin L, Goldberg-Stern H, Michaeli-Yossef Y, Halevy A, Kivity S, Nakamura K, Matsumoto N, Leshinsky-Silver E, Saitsu H, \*Lerman-Sagie T. Paternal germline mosaicism of a *SCN2A* mutation results in Ohtahara syndrome in half siblings. *Eur J Paediatr Neurol* (in press)
- \*Wada T, Takano K, Tsurusaki Y, Miyake N, Nakashima M, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese familial case of myoclonus–dystonia syndrome with a splicing mutation in the *SGCE* gene. *Pediatr Int* (in press)
- Kubota K, Saito Y, Ohba C, Saitsu H, Fukuyama T, Ishiyama A, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Matsumoto N. Brain magnetic resonance imaging findings and auditory brainstem response in a child with spastic paraplegia 2 due to a *PLP1* splice site mutation. *Brain Dev* (in press)
- \*Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Doi H, Miyake N, Goto Y, Nishino I, Ohtake A, King M-C, \*Matsumoto N (\*: co-correspondence). A girl with West syndrome and autistic features harboring a *de novo* *TBL1XR1* mutation. *J Hum Genet* (in press)
- Cho SY, Asharani PV, Kim OH, Iida A, Miyake N, Matsumoto N, Nishimura G, Ki CS, Hong G, Kim SJ, Sohn YB, Park SW, Lee J, Kwun Y, Carney TJ, Huh R, Ikegawa S<sup>#</sup>, Jin DK<sup>#</sup>. (\*: co-correspondence) (# denotes equal contribution). Identification and in vivo functional characterization of novel compound heterozygous *BMP1* variants in osteogenesis imperfecta. *Hum Mut* (in press)
- Shimajima K, Okumura A, Ikeno M, Nishimura A, Saito A, Saitsu H, Matsumoto N, \*Yamamoto T. A *de novo* *TUBB4A* mutation in a patient with hypomyelination mimicking Pelizaeus-Merzbacher disease. *Brain Dev* (in press)
- Nakashima M, Miyajima M, Sugano H, Iimura Y, Kato M, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Arai H, \*Matsumoto N. The somatic *GNAQ* mutation c.548G>A (p.R183Q) is consistently found in



- Sturge-Weber syndrome. *J Hum Genet* (in press)
- Inui T, Kobayashi T, Kobayashi S, Sato R, Endo W, Kikuchi A, Nakayama T, Uematsu M, Takayanagi M, Kato M, Saitsu H, Matsumoto N, Kure S, Haginoya K. Efficacy of long term weekly ACTH therapy for intractable epilepsy. *Brain Dev* (in press)
- Uchino S, Saitsu H, Kumada S, Nakata Y, Matsumoto N. Stereotypic hand movements in  $\beta$ -propeller protein-associated neurodegeneration: first video report. *Mov Disord* (in press)
- \*Takahashi S, Yamamoto S, Okayama A, Araki A, Saitsu H, Matsumoto N, Azuma H. Electroclinical features of epileptic encephalopathy caused by SCN8A mutation. *Pediatr Int* (in press).
- Yoshimura-Furuhata M, Nishimura-Tadaki A, Amano Y, Ehara T, Hamasaki Y, Muramatsu M, Shishido S, Aikawa A, Hamada R, Ishikura K, Hataya H, Hidaka Y, Noda S, Koike K, Wakui K, Fukushima Y, Matsumoto N, Awadu M, Miyake N, Kosho T\*. Renal complications in 6p duplication syndrome: microarray-based investigation of the candidate gene(s) for the development of congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) and focal segmental glomerular sclerosis (FSGS). *Am J Med Genet Part A* (in press)
- Kodera H, Osaka H, Iai M, Aida N, Yamashita A, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H\*, Matsumoto N\* (\*: co-corresponding). Mutations in the glutaminyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. *J Hum Genet* (in press)
- \*Takano K, Tsuyusaki Y, Sato M, Takagi M, Anzai R, Okuda M, Iai M, Yamashita S, Okabe T, Aida N, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese girl with a severe form of vanishing white matter disease resembling Cree leukoencephalopathy. *Brain Dev* (in press).
- Hiraki Y, Miyatake S, Hayashidani M, Nishimura Y, Matsuura H, Kamada M, Kawagoe T, Yunoki K, Okamoto N, Yofune H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saito H, Murakami A, Miyake N, Nishimura G, Matsumoto N. Aortic aneurysm and craniosynostosis in a family with Cantu syndrome. *Am J Med Genet Part A* 164(1):231-236, 2014.
- \*Takanashi JI, Osaka H, Saitsu H, Sasaki M, Mori H, Shibayama H, Tanaka M, Nomura Y, Terao Y, Inoue K, Matsumoto N, Barkovich JA. Different patterns of cerebellar abnormality and hypomyelination between POLR3A and POLR3B mutations. *Brain Dev* 36(3):259-263, 2014.
- Nakamura K, Jinnou H, Yokochi K, Okanishi T, Enoki H, Ohki S, Nishiyama K, Kodera H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake M, Matsumoto N, Saitsu H\*. A de novo *CASK* mutation in pontocerebellar hypoplasia type 3 with early myoclonic epilepsy and tetralogy of Fallot. *Brain Dev* 36(3): 272-273, 2014.
- Kutuk MS, Balta B, Kodera H, Matsumoto N, \*Saitsu H, Doganay S, Canpolat M, Dolanbay M, Unal E, Dundar M. Is there relation between COL4A1/A2 mutations and antenatally detected fetal intraventricular hemorrhage? *Childs Nerv Syst* 30(3):419-424, 2014.
- Imagawa E, Osaka H, Yamashita A, Shiina M, Takahashi E, Hideo Sugie H, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Ogata K, Matsumoto N, \*Miyake N. A hemizygous *GYG2* mutation causes Leigh syndrome. *Hum Genet* 133 (2):225-234, 2014

## 2. 学会発表

- 第 37 回日本小児遺伝学会学術集会・シンポジウム・松本直通「次世代シーケンサー解析のポテンシャルと小児医療」平成 26 年 4 月 10 日名古屋市立大学桜山キャンパス・名古屋
- The 9<sup>th</sup> Cherry Blossom Symposium. Symposium 4 “Clinical testing and automation utilizing new technology” Naomichi Matsumoto “Next generation sequencing dissecting human genetic diseases” Yokohama Red Brick Warehouse No. 1, April 19, 2014
- 第 382 回医学研究の基礎を語り合う集い・松本直通「遺伝性疾患におけるエクソーム解析の有用性」平成 26 年 4 月 21 日東京慈恵医科大学
- 九州大学産婦人科セミナー・松本直通「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノム時代を迎えて」平成 26 年 5 月 21 日第二博多偕成ビルアイクレオ
- 信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所設立記念講演会・記念講演会・松本直通「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノムシーケンス時代を迎えて」平成 26 年 5 月 25 日・信州大学医学部・松本
- 第 55 回日本神経病理学会総会学術集会・松本直通（シンポジスト）「WDR45 mutations cause static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood」@シンポジウム 1 (English)「Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation (NBIA)：急速に広がる疾患概念」平成 26 年 6 月 7 日学術総合センター
- 藤田保健衛生大学遺伝子網羅的解析センター開所記念セミナー・特別講演「ゲノム解析と医療：1000 ドルゲノム時代を迎えて」平成 26 年 6 月 21 日@藤田保健衛生大学・豊橋

第 110 回日本精神神経学会学術総会・松本直通 (シンポジスト)「発達障害のゲノム解析」シンポジウム 50「精神疾患における分子と臨床の架け橋～病因と治療」2014 年 6 月 27 日パシフィコ横浜、横浜

がん研臨床試験・研究センター 第 12 回臨床研究セミナー松本直通「遺伝性疾患のゲノム解析 ---1000 ドルゲノム時代を迎えて---」2014 年 7 月 3 日がん研究会・東京

横浜市立大学先端医科学研究センター市民講座・松本直通「難病を解き明かすヒト全遺伝子・全ゲノム解析」2014 年 8 月 7 日ウィリング横浜・横浜  
文部科学省イノベーションシステム整備事業先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の形成」第 5 回公開シンポジウム・松本直通「ヒト発生・発達異常の分子探索と診断法の開発」2014 年 8 月 19 日・県民共済みなとみらいホール・横浜

KOBE 内分泌・代謝スキルアップセミナー特別講演・松本直通・「ゲノム解析と医療--1000 ドルゲノム時代を迎えて--」平成 26 年 8 月 23 日@ホテルクラウンパレス神戸

第 17 回胎児遺伝子診断研究会・セミナー 1・松本直通「次世代シーケンサーの活用法」平成 26 年 11 月 7 日@ハウステンボス・佐世保

第 56 回日本先天代謝異常学会総会・松本直通・シンポジスト・「次世代シーケンサーによる遺伝子解析」平成 26 年 11 月 14 日@江陽グランドホテル・仙台

日本人類遺伝学会第 59 回大会・松本直通・シンポジスト「次世代シーケンサーを用いた染色体・ゲノム構造異常解析」平成 26 年 11 月 21 日@タワーホール船堀・東京

日本人類遺伝学会第 59 回大会・松本直通・NPG ランチョンセミナー「人類遺伝学研究におけるデータ

ベースの重要性」平成 26 年 11 月 22 日@タワーホール船堀・東京

The 37<sup>th</sup> annual meeting of the molecular biology society of Japan. Matsumoto N (as a symposist). “Congenital intellectual disability syndromes arising from mutations of epigenetic regulators” in the symposium for epigenetic dysregulation and disease. Pacifico Yokohama, Yokohama, Nov 27, 2014.

平成 26 年度報告会・松本直通「TUBB4A 変異による先天性白質形成不全症」・精神・神経疾患研究開発費 (佐々木班)・平成 26 年 11 月 30 日・NCNP

平成 26 年度報告会・松本直通「Coffin-Siris 症候群の新規遺伝子探索」精神・神経疾患研究開発費 (後藤班)・平成 26 年 12 月 9 日・NCNP

日本遺伝子診療学会：遺伝子診断・検査技術推進フォーラム公開シンポジウム 2014「個別化医療を進めるために」ランチョンセミナー・松本直通「臨床に役立つ次世代シーケンサーの活用法」・平成 26 年 12 月 12 日・コクヨホール (品川)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

PCT/JP2014/065217 (2014 年 6 月 9 日)「重度の知的障害及び運動発達遅滞を伴う難治性てんかんの検出方法」松本直通・才津浩智

指定国移行日本のみ特願 2013-552406 (2014 年 7 月 14 日)「コフィン - シリス症候群の検出方法」松本直通・三宅紀子・鶴崎美徳

指定国移行 (JST 採択) 日本・特願 2013-542930 (移行日 2014 年 4 月 24 日)・米国・14/357,373 (2014 年 5 月 9 日)「孔脳症又は脳出血のリスクを予測する方法」松本直通・才津浩智

特許第 5608863 号「新生児期～乳児期発症の難治性てんかんの検出方法」松本直通・才津浩智 (2014 年 9 月 12 日登録・日本)

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・平成 26 年 2 月 7 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

て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

PCT/JP2012/83113 松本直通 / 鶴崎美德 / 三宅紀

子・コフィン - シリス症候群の検出方法・平成

24 年 12 月 20 日

PCT/JP2012/77903 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・平成 24 年 10

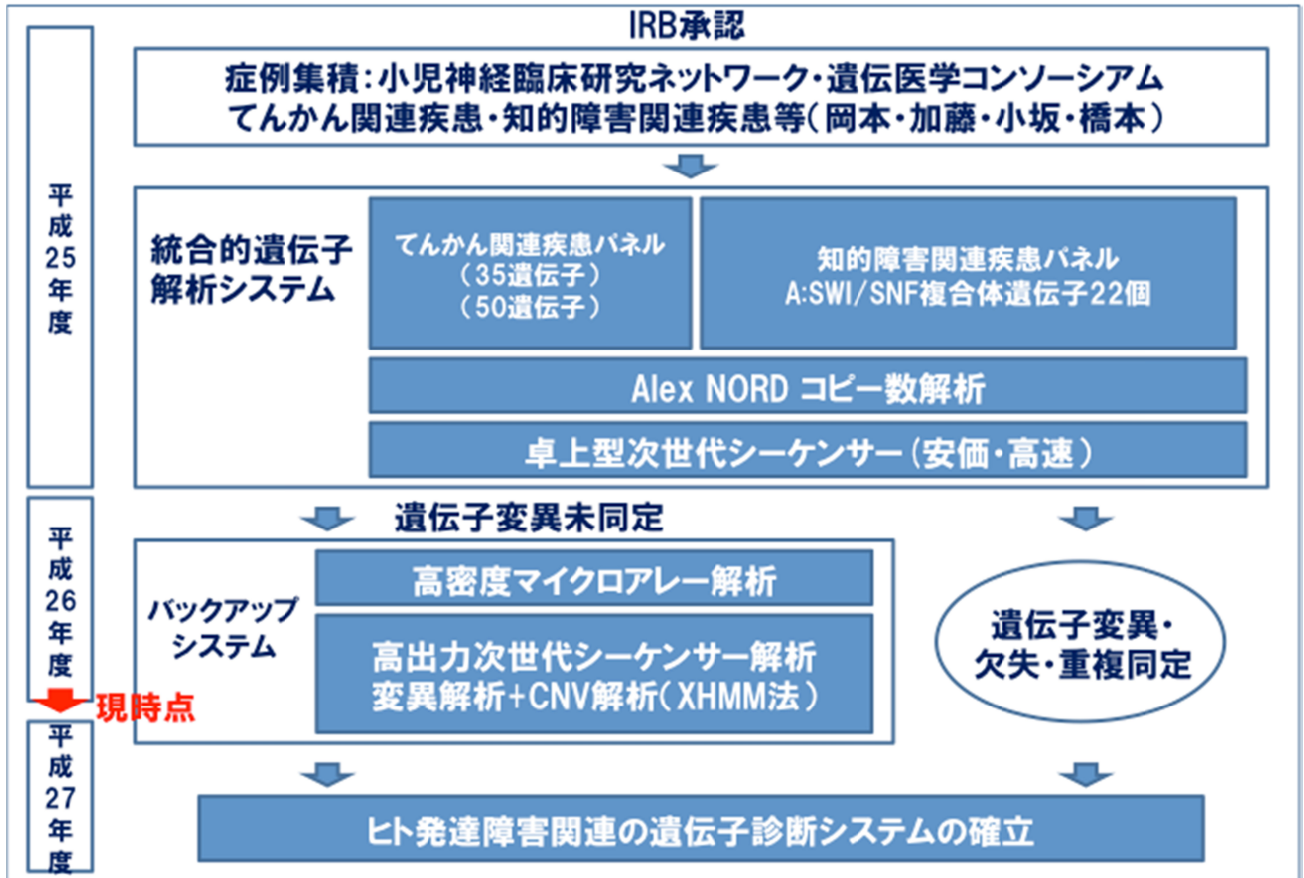
月 29 日

特願 2012-180356・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・平成 24

年 8 月 16 日

研究全体の流れと進行状況



厚生労働科学研究費補助金  
障害者対策総合研究事業(神経・筋疾患分野)

「統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究」  
(主任研究者 横浜市立大学大学院環境分子医科学 松本直通)

K B G 症候群の臨床的研究

研究分担者 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

**研究要旨**

K B G 症候群は、常染色体優性遺伝の先天異常症候群である。巨歯、特異顔貌、低身長、骨格異常、様々な程度の知的障害や発達障害を伴う。16q24 に座位する *ANKRD11* (Ankyrin repeat domain-containing protein 11) が疾患責任遺伝子である。

近年、マイクロアレイ染色体検査や次世代シーケンサーによる解析で *ANKRD11* 遺伝子欠失や変異が同定される場合もあり、本症候群の報告が増加している。自験例 3 症例を通じて、K B G 症候群の臨床像を把握し、的確な診断を行い、医学的管理をすすめる指針を検討した。

共同研究者

大阪府立母子保健総合医療センター遺伝  
診療科

松田圭子、山本悠斗、吉井啓示、三島祐  
子

**A. 研究目的**

K B G 症候群 (#148050 KBG syndrome  
Macrodontia, mental retardation,  
characteristic facies, short stature,  
and skeletal anomalies) は、常染色体優  
性遺伝の先天異常症候群である。KBG は最  
初の報告の患者のイニシャルである。巨  
歯、特異顔貌、低身長、骨格異常、様々  
な程度の知的障害や発達障害を伴う。  
16q24 に座位する *ANKRD11* (Ankyrin  
repeat domain-containing protein 11)

が疾患責任遺伝子である (Sirmaci et  
al.)。塩基置換、遺伝子内微小欠失、  
16q24.3 微小欠失例などが報告されてい  
る。

従来、KBG 症候群の報告例は少なく、遺  
伝子レベルで変異の証明に至った例はさ  
らに稀である。

近年、マイクロアレイ染色体検査次世  
代シーケンサーによる解析で *ANKRD11* 遺  
伝子変異や欠失が同定される場合もある。

自験例 3 症例を通じて、K B G 症候群  
の臨床像を把握し、的確な診断を行い、  
医学的管理をすすめる指針を作成するこ  
とが本研究の目的である。

**B. 研究方法**

検討対象は、大阪府立母子保健総合医  
療センター遺伝診療科受診中の症例で、

主任研究者の横浜市立大学で遺伝学的検査を行い、K B G 症候群の診断にいたった 3 症例である。成長発達の評価や合併症の評価を実施した。

解析にあたっては遺伝カウンセリングを行い、書面で同意を得た。

### C. 研究結果

#### 【症例 1】7 歳男児

低出生体重児で、新生児一過性多呼吸を認めた。精神運動発達遅滞は遅れ、3 歳で歩行開始となった。4 歳時、体重 13.3 kg (-1.4 SD), 身長 100.6 cm (-0.3 SD), 頭囲 51.5 cm (0.6 SD) であった。特異顔貌、巨歯を認めた。短指、骨年齢遅延、側彎症を認めた。一般血液検査、G 分染法では異常を認めなかった。頭部 MRI で小脳低形成を認めた。脳波で多焦点性棘波を認めたが、あきらかなてんかん発作は現時点で認めていない。

知的障害の精査目的で大阪府立母子保健総合医療センター遺伝診療科を紹介された。特異顔貌と巨歯から K B G 症候群を疑い、マイクロアレイ染色体検査を行った。

*ANKRD11* 遺伝子を含む微細欠失を認めた (Miyatake et al. Am J Med Genet A. 2013)。

#### 【症例 2】10 歳男児

満期産正出生体重児で、周産期に特記事項なし。運動発達は問題なかったが、言語遅滞を認めた。体格は標準的であった。特異顔貌、巨歯を認めた。短指、骨年齢遅延を認めた。頭部 MRI、脳波に異常なく、てんかん発作は現時点で認め

ていない。乱視であった。

言語遅滞にくわえ、こだわりの強さ、社会性の遅れを認め、自閉症スペクトラムの基準を満たした。

当初、歌舞伎症候群の疑いをもたれ、精査目的で紹介となった。歌舞伎症候群としては非典型的であった。次世代シーケンサー解析の結果、*ANKRD11* 遺伝子変異が同定された。

#### 【症例 3】2 歳女児

精神運動発達遅滞の精査目的で受診。早産低出生体重児で、周産期に特記事項なし。乳児期に點頭てんかんを発症した。脳波は全般性高振幅棘波徐波を認めた。精神運動発達遅滞を認め、2 歳で未歩行、有意語なしである。体格は標準的であった。特異顔貌、巨歯を認めた。頭部 MRI で脳梁脂肪腫を認めた。

點頭てんかんの責任遺伝子同定目的で次世代シーケンサー解析の結果、*ANKRD11* 遺伝子変異が同定された。

### D. 考察

K B G 症候群の 3 症例を経験した。国内での報告例は稀であるが、1 施設で 3 症例を経験したということは、潜在的な症例の存在を示唆するものである。症例 1 は K B G 症候群を当初から疑ったが、症例 2 と 3 は次世代シーケンサー解析で変異が同定され、臨床的な再評価後に K B G 症候群で矛盾がないと判断した。しかし、表現型の多様性が顕著であった。

#### (1) 特異顔貌

3 症例とも顔貌所見は K B G 症候群と矛

盾しなかった。

乳幼児期は円形顔貌であるが、成長すると三角顔になる。眼間開離、内眼角外方偏位、幅広い眉毛、長い眼瞼裂、平坦な鼻梁、鼻翼低形成上向きの鼻孔、長い人中、小顎、薄い上口唇、弓型の上口唇を認める。

歯異常（巨歯、特に門歯および側切歯がめだつ、幅広い上顎門歯、切歯癒合、乏歯症）はK B G症候群の大きな特徴である。乳歯の段階で特徴を認めていた。

K B G症候群では小頭症を伴うとされるが、3症例では顕著な小頭は認めなかった。

#### （2）精神運動発達について

K B G症候群ではほとんどの例で軽度ないし中等度の精神遅滞を伴うとされる。重度の例も存在する。*ANKRD11*を含む微細欠失単一遺伝子異常の場合と比較して合併症の状況や障害の重要度に明確な差がないといわれているが、症例1は微細欠失例で重度精神運動発達遅滞であった。症例2は軽度精神運動発達遅滞と自閉症を合併した。K B G症候群では自閉症スペクトラム障害の合併が多いとされる。自閉症の基礎疾患で注意が必要と考えられる。症例3も重度であった。點頭てんかんを併発したことが要因と考えられた。

#### （3）神経系合併症

K B G症候群では、全般性強直間代けいれんなど、てんかんの合併例も見られる。症例3は點頭てんかんを認めた。K B G症候群での點頭てんかん合併は非常に稀と考えられるが、點頭てんかんの基

礎疾患として考慮に入れる必要があると思われる。

K B G症候群の頭部MRIでは脳室拡大、脳梁形成異常などの報告がある。症例1は小脳虫部低形成であった。症例3は脳梁脂肪腫という稀な所見を認めた。脳梁脂肪腫はPai症候群において有名な所見である。Pai症候群は責任遺伝子は不明である。Pai症候群とK B G症候群との関連について今後の検討が必要と思われる。

#### （4）身体発育について

低身長は必発ではないが、多くの例で認め、受診のきっかけとなることがある症状である。一部の例は子宮内発育遅延である。今回の3症例では低身長は顕著でなかったが、一部の例で骨年齢遅延を認めた。

#### （5）骨格系所見

短指、第5指彎曲、側彎や後彎など肋骨脊椎異常を認める。X線所見 骨年齢遅延、脊椎異常（前方切痕、椎間板低形成、ブロック脊椎、椎体骨癒合、椎弓異常）などを認める。股関節異常やペルテス病の例もある。症例1は側彎を認めた。

#### （6）その他の合併症

K B G症候群では時に難聴の合併も見られる。今回の3症例で難聴はなかったが、K B G症候群では聴力検査が必要である。

K B G症候群では一部の例で先天性心疾患を合併する。従って、K B G症候群を疑った場合、先天性心疾患の精査をおこなうべきである。

男児では停留精巣も時にみられる合併症である。

#### (7) 鑑別診断

K B G 症候群では高口蓋、粘膜下口蓋裂、二分口蓋垂、鼻咽腔閉鎖不全などの口蓋異常を認めることがある。従って 22q11.2欠失症候群と鑑別が必要である。

K B G 症候群でも逆三角形頭部や第5指彎曲を認める。低身長の場合、シルバー・ラッセル症候群の特徴を満たす可能性があり、注意する。

コルネリア・デランゲ症候群、歌舞伎症候群やコフィン・サイリス症候群との類似点もある。

#### E. 結論

K B G 症候群の報告例は少ないが、未診断例が存在する可能性が高い。精神運動発達遅滞、自閉症状に加え、特異顔貌、骨格所見、歯の所見が参考になる。

先天性心疾患やてんかんの合併例があるので、K B G 症候群を疑った場合は的確な合併症の精査が必要である。

#### 参考文献

Sirmaci A, Spiliopoulos M, Brancati F, et al.  
Mutations in ANKRD11 cause KBG syndrome, characterized by intellectual

disability, skeletal malformations, and macrodontia.

Am J Hum Genet. 2011 Aug  
12;89(2):289-94.

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; 161A:1073-7.

Ockeloen CW, Willemsen MH, de Munnik S, et al. Further delineation of the KBG syndrome phenotype caused by ANKRD11 aberrations.

Eur J Hum Genet. [Epub ahead of print]

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

別途参照

##### 2. 学会発表

#### G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし



平成 26 年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
分担研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

分担研究課題：年齢依存性てんかん性脳症の遺伝型と臨床型の関連性の解明

分担研究者 加藤光広 山形大学医学部小児科学講座

研究要旨：

PIGA は GPI(glycosyl-phosphatidyl-inositol)アンカーの最初の生合成ステップに関わり、モザイク変異により発作性夜間血色素尿症を引き起こす。最近、先天性 PIGA 変異の 1 家系男児 3 例が報告された。年齢依存性てんかん性脳症の患者 172 例について全エクソーム解析を行い、孤発男性 3 例と兄弟 2 例において 4 種類のヘミ接合性 PIGA 変異を同定した。孤発例 3 例は兄弟例 2 例と比較してより重症であった。重症例ではミオクローヌスとサプレッションバースト、高アルカリフォスファターゼ血症が認められ、Schinzel-Giedion 症候群と類似する特異顔貌や外表・内臓奇形を呈し、MRI では髄鞘化遅延と脳幹・基底核・視床・深部大脳白質の拡散制限パターンが特徴的であった。末梢血を用いた CD16 発現の FACS 解析が診断に有用である。年齢依存性てんかん性脳症においても PIGA 変異など先天性 GPI アンカー欠損症に留意する必要がある。

A．研究目的

年齢依存性てんかん性脳症は、発達期に応じた特徴的なてんかん発作と脳波所見を呈し、認知機能や運動障害などの発達障害を併発する。新生児期に発症する大田原症候群と乳児期に発症するウエスト症候群はその代表的疾患であり、私たちはこれまでに ARX, STXBP1, SPTAN1, KCNQ2 など複数の原因遺伝子を明らかにしてきた。

近年、年齢依存性てんかん性脳症において、GPI(glycosyl-phosphatidyl-inositol)アンカー欠損症の報告が散見される。GPI アンカーは、細胞表面タンパク質を細胞膜につなぎとめる糖脂質である。GPI アンカーの生合成とリモデリングには複数の遺伝子が関与し、最初の生合成ステップに関わる PIGA の造血幹細胞系列の後天的体細胞モザイク変異では発作性夜間血色素尿症をきたす。その一方、その他の先天性の GPI アンカー欠損症(PIGM, PIGV, PIGN, PIGL, PIGO, PIGT, PGAP2)では、てんかん性脳症の主症状であるてんかん発作と知的障害、運動障害の他に、顔貌異常などの外表奇形や骨格異常、心臓や腎尿路、消化管などの内臓奇形など多彩な症状が報告されている。最近、過成長と特異顔貌、ミオクローヌバーストを認める先天性 PIGA 変異の 1 家系男児 3 例が報告された(Johnston JJ, et al. Am J Hum Genet 2012)。

本研究では、てんかん性脳症の患者群における

PIGA 遺伝子変異の寄与とその臨床型を明らかにする事を目的とした。

B．研究方法

保護者の承諾を得て、脳形成異常や代謝異常、周産期障害による明らかな原因を除外された年齢依存性てんかん性脳症の患者 172 例（大田原症候群 50 例、早期ミオクローネ脳症 2 例、ウエスト症候群 50 例、乳児移動性部分発作 7 例、分類不能の乳児期発症てんかん性脳症 63 例；男 90 例、女 82 例）の末梢血リンパ球から DNA を抽出し、SureSelectXT Human All Exon Kit を用いて全エクソン領域をキャプチャー後、Illumina HiSeq2000 を用いてシーケンスを行ない、PIGA 変異の有無を確認した。次世代シーケンサーで認められた PIGA 変異は Sanger 法で変異を再確認し、同意が得られた母親の血液から DNA を抽出し保因者の判定を行った。また GPI アンカー型タンパク質の細胞表面への発現を調べるため、PIGA 変異陽性患者と正常対照の末梢血を FLAER と CD59, DAF, CD16, CD24, CD48 に対する各抗体を用いて染色し、フローサイトメトリーによる FACS 解析を行った。さらに、PIGA 変異の機能解析として、プロモーターの強さが異なるベクターを用いて PIGA 欠損 JY5 細胞に野生型と変異型の PIGA cDNA を移入し、GPI アンカー型タンパク質の発現および PIGA タンパク質レベルを調べた。また、変異陽性例の臨床情

報（発作型・脳波・頭部MRI・使用薬剤と効果・併発症など）を収集し、遺伝型、機能解析結果と比較した。

### C．研究結果

孤発例3例と兄弟の2例において4つのヘミ接合性 *PIGA* 変異を同定した。1例の c.1234C>T[p.R412X] 変異は既報告と同一であった。他の3つのミスセンス変異 (c.230G.T [p.R77L], c.616A.T [p.I206F], c.355C.T [p.R119W]) は過去に報告のない新しい変異で、母も同じ変異を有していた。

変異症例の臨床情報のまとめを表に示す。症例1は特異顔貌、水腎水尿管症、肝芽腫の併発から Schinzel-Giedion 症候群として以前報告された (Watanabe S, et al. Brain Dev 34:151-155, 2012)。頭部MRIでは、症例1,2,5の孤発例3例において脳幹、基底核、視床、深部白質に拡散強調画像で高信号域、ADCマップで低信号域が認められた。症例3,4の兄弟例では頭部MRIは正常であった。症例1,2,5の脳波でサブプレッションバーストもしくは類似所見が認められたのに対し、症例3,4ではサブプレッションバーストは認められなかった。

5例ともCD16の細胞表面への発現が、正常の5-15%と著しく低下していた。プロモーターの強さの異なるベクターを用いた強制発現では、野生型cDNAおよび強いプロモーターを用いた変異型cDNAではCD59, DAF, CD48の細胞表面への発現が回復したが、短縮された *PIGA* ではそれらの発現が回復されなかった。弱いプロモーターが組み込まれたベクターでは野生型のみCD59, DAF, CD48の発現が回復し、変異型および短縮された *PIGA* では回復されなかった。強いプロモーターのR412X変異型cDNAを導入した細胞では、*PIGA* の弱い発現が認められた。

### D．考察

てんかん性脳症の発端者172家系中4家系5例に、*PIGA*変異を同定した。*PIGA*の座位はXp22.2に位置し、予想通り患者は全例男性であり、男性における変異頻度は4.4%(4/90)であった。症例1,2,5の孤発例3例は特異顔貌、難治性てんかん、頭部MRI異常、重度の知的障害と運動障害を呈し、兄弟例2例と比較してより重症であった。重症例では、既報告と同じくミオクロヌスとサブプレッションバースト、高アルカリフォスファターゼ血症が認められ、*PIGA*変異例に特徴的な所見と考えられた。既報告と同じナンセンス変異p.R412Xが同定

された症例1は、出生時頭囲の増大、より早期発症の難治性てんかん、呼吸管理を必要とし早期死亡につながる重度呼吸障害など、既報告例3例と同様に、ミスセンス変異例に比べてより重症であった。*PIGA*の完全欠損は雄マウスでは胎生9日に致死となるが、今回の発現実験ではR412Xの顆粒球でGPIアンカー型タンパク質は減少しているが発現が認められた。強いプロモーターでは発現が正常レベルに回復していることから、ストップコドンの読み過ぎしリードスルーによって少量の完全長*PIGA*タンパク質が産生され部分的に機能していると考えられる。

兄弟例p.R77Lは、特異顔貌はなく運動障害も軽度で、発作の開始時期も遅く、脳波も発症時は正常で、頭部MRIにも異常を認めず、高アルカリフォスファターゼ血症はなく、比較的軽症であった。FACS解析では、R412X変異の症例1、R119Wの症例5と異なり、CD16の発現のみが低下し、弱いプロモーターを用いた解析でもR412X変異と比べて、DAFとCD48の発現が多く、機能解析の結果と一致していた。臨床的な重症度は*PIGA*タンパク質の残存活性に比例すると推測される。

大脳白質の髄鞘化遅延と白質、脳梁の低形成、軽度の脳萎縮、軽度の小脳低形成はPIGN, PGAP2, DPM1, DPM2など他の先天性GPIアンカー欠損症でも報告されているが、重症例3例で認められた頭部MRIの拡散強調画像とADCマップの異常信号はこれまで報告がない。類似所見は非ケトン性高グリシン血症、フェニールケトン尿症、メープルシロップ尿症、リー脳症、乳児神経軸索ジストロフィー、ウイルソン病、異染性白質ジストロフィー、カナバン病など特異的な先天性代謝異常症でも認められる。特に、非ケトン性高グリシン血症は早期ミオクロニー脳症の併発が多く、ミオクロヌスと脳波でサブプレッションバーストを示す点が*PIGA*変異例と臨床的にも類似しており、共通の病態が推測される。

症例1はSchinzel-Giedion症候群と共通の臨床所見を示していた。*SETBP1*変異を有さないSchinzel-Giedion症候群の症例においては、*PIGA*変異もしくは他の先天性GPIアンカー欠損症が隠れている可能性がある。

### E．結論

*PIGA* 変異は様々なタイプの乳児期発症てんかん性脳症をきたし、特にミオクロヌスと脳波でサブプレッションバーストを示す。Schinzel-Giedion 症候群と類似する特異顔貌や

外表・内臓奇形を呈し、MRI では髄鞘化遅延と脳幹・基底核・視床・深部大脳白質の拡散制限パターンが特徴的である。末梢血を用いた CD16 発現の FACS 解析が診断に有用である。年齢依存性てんかん性脳症においても *PIGA* 変異など先天性 GPI アンカー欠損症に留意が必要である。

F . 健康危険情報  
特になし。

## G . 研究発表

### 1 . 論文発表

- 1) Saitsu H, Tohyama J, Walsh T, Kato M, Kobayashi Y, Lee M, Tsurusaki Y, Miyake N, Goto YI, Nishino I, Ohtake A, King MC, Matsumoto N: A girl with West syndrome and autistic features harboring a *de novo* *TBL1XR1* mutation. *J Hum Genet* 59:581-583,2014.
- 2) Ohba C, Kato M, Takahashi S, Lerman-Sagie T, Lev D, Terashima H, Kubota M, Kawawaki H, Matsufuji M, Kojima Y, Tateno A, Goldberg-Stern H, Straussberg R, Marom D, Leshinsky-Silver E, Nakashima M, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Tanaka F, Matsumoto N, Saitsu H: Early onset epileptic encephalopathy caused by *de novo* *SCN8A* mutations. *Epilepsia* 55:994-1000,2014.
- 3) Nakashima M, Kashii H, Murakami Y, Kato M, Tsurusaki Y, Miyake N, Kubota M, Kinoshita T, Saitsu H, Matsumoto N: Novel compound heterozygous *PIGT* mutations caused multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome 3. *Neurogenetics* 15:193-200,2014.
- 4) 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* 85:396-8,2014.
- 5) Leventer RJ, Jansen FE, Mandelstam SA, Ho A, Mohamed I, Sarnat HB, Kato M, Fukasawa T, Saitsu H, Matsumoto N, Itoh M, Kalnins RM, Chow CW, Harvey AS, Jackson GD, Crino PB, Berkovic SF, Scheffer IE: Is focal cortical dysplasia sporadic? Family evidence for genetic susceptibility. *Epilepsia* 55:e22-6,2014.
- 6) Kato M, Saitsu H, Murakami Y, Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R, Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N: *PIGA* mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. *Neurology* 82:1587-96,2014.

## 学会発表

- 1) Mitsuhiro Kato: Interneuronopathies and genetics of the epileptic encephalopathies. 10th Asian & Oceanian Epilepsy Congress: Singapore, August 7-10, 2014 (invited lecture)
- 2) Jun Tohyama, Noriyuki Akasaka, Yu Kobayashi, Shinichi Magara, Hideshi Kawashima, Mitsuhiro Kato, Naomichi Matsumoto, Hirotomoto Saitsu: Genetic analysis in infantile epileptic encephalopathies with movement disorder: a single center study. 11th European Congress on Epileptology: Stockholm, Sweden June 29 - July 3, 2014
- 3) M. Kato, H. Saitsu, H. Osaka, K. Nakamura, T. Watanabe, H. Terashima, T. Ikeda, T. Kumada, H. Matsumoto, T. Yamaguchi, J. Azuma, Y. Tominaga, M. Shinpoo, H. Arai, S. Hirai, S. Takeshita, E. Nakagawa, H. Uchio, Y. Nonoda, T. Iwasaki, T. Chiyonobu, A. Sudo, S. Kimura, Y. Takami, Y. Inaba, T. Wada, S. Kumada, M. Shimono, S. Miyama, K. Orii, N. Akasaka, J. Tohyama, M. Kubota, M. Nakashima, N. Matsumoto: Epilepsy in *STXBPI* encephalopathy: Clinical delineation of 32 Japanese patients including 14 novel patients. 68th American Epilepsy Society Annual Meeting, December 5-9, 2014, Seattle, USA
- 4) J. Tohyama, M. Nakashima, Z. Rener, Primec, C. Gaik-Siew, S. Nabatame, M. Kato, N. Matsumoto, H. Saitsu: Distinct Phenotypes And Genotypes Of SPTAN1 Encephalopathy. 68th American Epilepsy Society Annual Meeting, December 5-9, 2014, Seattle, USA

H . 知的財産権の出願・登録状況  
なし

表 PIGA 変異例の臨床所見

症例	1	2	3	4	5	IV-2	IV-4
Familial or sporadic	Sporadic	Sporadic	Familial (Proband)	Familial (Brother)	Sporadic	Familial (Proband)	Familial (Brother)
Mutation	c.1234C>T (p.R412X)	c.616A>T (p.I206F)	c. 230G>T (p.R77L)	c. 230G>T (p.R77L)	c.355C>T (p.R119W)	c.1234C>T (p.R412X)	c.1234C>T (p.R412X)
Current age	Six years	10 years	Eight years	18 months	15 months	Died at 11 weeks	Died at 10 weeks
Sex	Male	Male	Male	Male	Male	Male	Male
Clinical diagnosis	Ohtahara syndrome, early myoclonic encephalopathy, Schinzel–Giedion syndrome	West syndrome with hypomyelination	Early-onset epileptic encephalopathy	Early-onset epileptic encephalopathy	West syndrome		
Polyhydramnios	+	-	-	-	+	-	+
Gestation	33 weeks	40 weeks	38 weeks	36 weeks	39 weeks	full term	35 weeks
Birth weight	2,857 g	3,566 g	2,715 g	1,896 g	3,468 g	3,540 g	3,500 g
Birth length	42.0 cm	50 cm	50 cm	N.D.	47 cm	53.5 cm	48 cm
Birth head circumference	33.2 cm	N.D.	32.5 cm	N.D.	33.5 cm	37 cm	35.5 cm
Facial dysmorphism	+	+	-	-	+	+	+
Vesicoureteral reflux	+	N.D.	-	-	N.D.	+	N.D.
Joint contractures	+	+	-	-	-	+	+
Hypotonia	+	-	-	-	+	+	+
Hyperreflexia	N.D.	-	-	-	+	+	+

Seizure onset	One month	Three months	Seven months	Seven months	Three months	Neonate	Neonate
Seizure types	Tonic seizures followed by frequent myoclonus	Myoclonus or epileptic spasm-like movement	Tonic seizures, secondarily generalized seizures	Tonic or clonic seizures	Myoclonic seizures, tonic spasms	Myoclonic seizures	Severe myoclonic seizures
EEG findings	Suppression burst at neonatal period	Hypsarrhythmia at 3 months, periodic bursts of multifocal epileptic discharges similar to suppression burst pattern at 10 years	Normal at 7 months, irregular spike-and-slow wave and multifocal spikes at 2 and 5 years	Normal at 7 months	Hypsarrhythmia at 3 months, suppression burst at 5 months	Suppression burst	Suppression burst
Seizure prognosis	Intractable	Intractable	Seizure-free at 3 years with TPM	Seizure free at 15 months	Intractable	Intractable	Intractable
Development	Hypotonic quadriplegia, profound intellectual disability	Spastic quadriplegia, profound intellectual disability	Profound intellectual disability with autism, but no motor disturbance	Moderate intellectual disability, but no motor disturbance	Hypotonic quadriplegia, profound intellectual disability	Early death	Early death
Thin corpus callosum	+	+	-	-	+(at 9 months)	+	+
White matter immaturity	+	+	-	-	+(at 9 months)	+	+
Restricted diffusion pattern	+	+	-	-	+	N.D.	N.D.
Elevated serum alkaline phosphatase	N.D.	+	-	-	+	N.D.	+

IV-2 と IV-4 は既報告(Johnston JJ, et al. Am J Hum Genet 90, 295-300, 2012), N.D., not determined; TPM, topiramate

平成 26 年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）

分担研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究

分担研究課題： Cerebral Folate Transport Deficiency の同胞例

分担研究者 小坂仁

自治医科大学小児科

研究協力者 露崎悠、新保裕子 神奈川県立こども医療センター神経内科

研究要旨：

治療可能発達遅滞および自閉症の原因として、Cerebral Folate Transport Deficiency の同胞例を報告する。エクソーム解析にて FOLR1 遺伝子に c. 374G>T p.Arg125Leu および c.466 T>G p.Trp156Gly のコンパウンドヘテロの遺伝子異常を認めた。髄液中の葉酸値は兄妹ともに測定感度以下であり、フォリン酸投与により、歩行が安定化し、発語も改善を認めた。この疾患の臨床症状は、発達遅滞、小脳失調症、てんかんなど非特異的であり、血清中の葉酸値も正常であるため診断は難しい。治療が有効であるため、早期診断のシステムの構築が望まれる。

A．研究目的

葉酸の細胞内取り込みに関連する輸送体は reduced folate carrier (RFC, SLC19A1) と folate receptor (FR)、SLC46A1 遺伝子にコードされる PCFT の 3 種類が主要な分子である。FR は近位尿細管上皮、脈絡叢などに発現し、FR に葉酸が結合するとエンドサイトーシスを介して細胞内に取り込まれる。FOLR1 遺伝子が Folate Receptor alpha (FR $\alpha$ ) をコードしており、FR 異常は cerebral folate transport deficiency (CFTD) の原因となる (図 1)

この疾患では、フォリン酸内服が有効であるが症状は、発達遅滞、小脳失調、てんかんなど非特異的であり、診断確定例は少ない。今回エクソーム解析により診断された例を経験したので報告する。

B．症例

両親は非血縁者の日本人である。兄は 17 歳男児であり、妊娠分娩歴に異常なし。15 ヶ月より歩行開始。2 歳で失調歩行、言語発達遅滞を認め、てんかんを発症した。VPA, CBZ, ZNS, CZP を内服しても 1 日数回の痙攣が続いた。10 歳時小脳失調と痙攣性対麻痺のため歩行できなくなり、MRI では大脳、小脳の萎縮、右前頭葉皮質下石灰化を認めた。妹は、14 歳女児である。妊娠分娩歴に特記事項なし。2 歳までは発達正常であった。徐々に失調歩行となり、企図振戦と不明瞭言語が認められた。10 歳時に無熱性痙攣があり、脳波異常を認め、てんかんと診断した。14 歳時失調歩行は増悪し、MRI にて小脳萎縮を認めた。

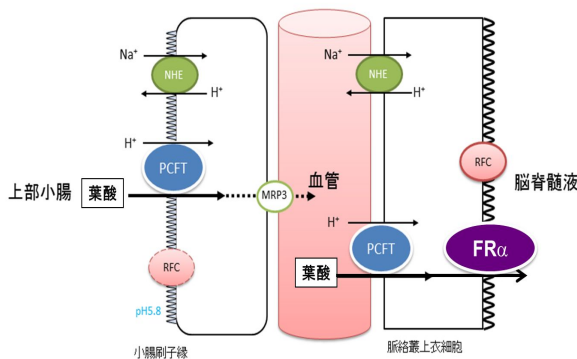
C．研究結果

インフォームドコンセントを得た後、全エクソーム解析を行ったところ FOLR1 遺伝子に c. 374G>T p.Arg125Leu および c.466 T>G p.Trp156Gly のコンパウンドヘテロの遺伝子異常を認めた。この結果を受けて髄液採取を行ったところ葉酸値；5 MTHF (Methyltetrahydrofolic acid) は兄妹ともに 0.0 (nmol/l； normal control； 41-117) であり診断が確定した。

治療後の経過

兄；フォリン酸 1mg/kg/日から内服開始し 5mg/kg/日に増量した。内服開始薬 3 週間で、少しの介助で歩行できるようになり、発語も増加した。痙攣発作も減少傾向。

妹；内服して約 1 ヶ月で、走れるようになる。



NHE: Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger  
MRP3: Multidrug resistance-associated protein 3  
RFC: reduced folate carrier  
proton-coupled folate transporter (PCFT); 先天性葉酸吸収不良  
folate receptor  $\alpha$  (FR $\alpha$ ); 大脳葉酸欠乏症

Tsuji&Osaka  
日本臨床2013  
より改変

図 1，葉酸の吸収に関わる蛋白と対応する疾患

作業療法での細かい作業のスピードも速くなり、2ヵ月後には、質問には“やだ、うん”などの単調な答えであったのが、“乗らない”、“行かない”など自らの言葉で答えられるようになる、などの改善を認めた。また髄液中5 MTHF 値は、兄 75.2, 妹 ; 113.3 と正常化した。

#### D . 考察

FR 異常による Cerebral folate deficiency では、髄液葉酸値は低下するが、腸管吸収は正常であるため血清葉酸値は維持される。このため診断は難しい。本症例のように、治療薬への反応が良いため早期発見、治療が望まれる。

#### E . 結論

統合的遺伝子解析システムから見出される疾患群の中には、治療可能なものも含まれる。それらの早期発見システムの構築も平行して進める必要性が示唆された。

#### G . 研究発表

##### 1 . 論文発表

1. 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 ; 133 : 225-34
2. Okabe T, Aida N, Niwa T, Nozawa K, Shibasaki J, Osaka H. Early magnetic resonance detection of cortical necrosis and acute network injury associated with neonatal and infantile cerebral infarction. Pediatr Radiol. 2014; 53; 448-58
3. Akiyama T, Osaka H, Shimbo H, Nakajiri T, Kobayashi K, Oka M, Endoh F, Yoshinaga H. A Japanese Adult Case of Guanidinoacetate Methyltransferase Deficiency. JIMD Rep. 2014 ; 12 : 65-9
4. Wada T, Haddad MR, Yi L, Murakami T, Sasaki A, Shimbo H, Kodama H, Osaka H, Kaler SG. A Novel Two-Nucleotide Deletion in the ATP7A Gene Associated With Delayed Infantile Onset of Menkes Disease. Pediatr Neurol. 2014; 50: 417-20
5. Shimbo H, Takagi M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Aida N, Osaka H. A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome. Mol Genet Metab Report, 2014; 1:133-138.
6. Ohshiro-Sasaki A, Shimbo H, Takano K, Wada T, Osaka H. A Three-Year-Old Boy With Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome Presenting With Episodic Ataxia. Pediatr Neurol. 2014 Jan;50(1):99-100.
7. Nakashima M, Takano K, Osaka H, Aida N, Tsurusaki Y, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Causative novel PNKP mutations and concomitant PCDH15 mutations in a patient with microcephaly with early-onset seizures and developmental delay syndrome and hearing loss. J Hum Genet. 2014 Aug;59(8):471-4.
8. Miyatake S, Osaka H, Shiina M, Sasaki M, Takanashi J, Haginoya K, Wada T, Morimoto M, Ando N, Ikuta Y, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Ogata K, Matsumoto N, Saitsu H. Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies. Neurology. 2014 Jun 17;82(24):2230-7.
9. Kouga T, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Ishii A, Ihara Y, Hirose S, Yamakawa K, Osaka H. Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol administration in Japanese cases of Dravet syndrome. Brain Dev. 2014 May 9.
10. Kato M, Saitsu H, Murakami Y, Kikuchi K, Watanabe S, Iai M, Miya K, Matsuura R, Takayama R, Ohba C, Nakashima M, Tsurusaki Y, Miyake N, Hamano S, Osaka H, Hayasaka K, Kinoshita T, Matsumoto N. PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features. Neurology. 2014 May 6;82(18):1587-96.
11. van de Kamp J, Errami A, Howidi M, Anselm I, Winter S, Phalin-Roque J, Osaka H, van Dooren S, Mancini G, Steinberg S, Salomons G. Genotype-phenotype correlation of contiguous gene deletions of SLC6A8, BCAP31 and ABCD1. Clin Genet 2014 Mar 5. doi: 10.1111/cge.12355. [Epub ahead of

- print]
12. Numata Y, Gotoh L, Iwaki A, Kurosawa K, Takanashi J, Deguchi K, Yamamoto T, Osaka H, Inoue K. Epidemiological, clinical, and genetic landscapes of hypomyelinating leukodystrophies. *J Neurol*. 2014 Apr;261(4):752-8.
  13. 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 Feb;55(2):e13-7.
  14. Numasawa-Kuroiwa Y, Okada Y, Shibata S, Kishi N, Akamatsu W, Shoji M, Nakanishi A, Oyama M, Osaka H, Inoue K, Takahashi K, Yamanaka S, Kosaki K, Takahashi T, Okano H. Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes. *Stem Cell Reports*. 2014 Apr 24;2(5):648-61.
  15. Tamaura M, Shimbo H, Iai M, Yamashita S, Osaka H. Seizure recurrence following pyridoxine withdrawal in a patient with pyridoxine-dependent epilepsy. *Brain Dev*. 2014 Aug 7. pii: S0387-7604(14)00185-5. doi: 10.1016/j.braindev.2014.07.008. [Epub ahead of print]
  16. Kodera H, Osaka H, Iai M, Aida N, Yamashita A, Tsurusaki Y, Nakashima M, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Mutations in the glutamyl-tRNA synthetase gene cause early-onset epileptic encephalopathy. *J Hum Genet*. 2014 Dec 4. doi:10.1038/jhg.2014.103. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25471517.
  17. Takano K, Tsuyusaki Y, Sato M, Takagi M, Anzai R, Okuda M, Iai M, Yamashita S, Okabe T, Aida N, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Osaka H. A Japanese girl with an early-infantile onset vanishing white matter disease resembling Creeleukoencephalopathy. *Brain Dev*. 2014 Oct 27. pii: S0387-7604(14)00250-2.

doi:10.1016/j.braindev.2014.10.002.

[Epub ahead of print]

18. Niwa T, Aida N, Osaka H, Wada T, Saitsu H, Imai Y. Intracranial Hemorrhage and Tortuosity of Veins Detected on Susceptibility-weighted Imaging of a Child with a Type IV Collagen 1 Mutation and Schizencephaly. *Magn Reson Med Sci*. 2014 Dec 15. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 25500781.

雑誌

- 1) 小坂 仁 大脳萎縮症 編集 水澤秀洋、新領域別症候群シリーズ No.29「神経症候群(第2版) IV、日本臨牀社 p.319-324. 2014
- 2) 小坂 仁 小脳萎縮症 編集 水澤秀洋、新領域別症候群シリーズ No.29「神経症候群(第2版) IV、日本臨牀社 p.325-328. 2014 (査読無)

## 2. 学会発表

Hitoshi Osaka, Hiroko Shimbo, Kei Murayama, Akira Ohtake, Noriko Aida

A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome.

Mitochondrial Medicine 2014: Pittsburgh, PA June 4-7, 2014.

ガバペンチンが有効であった GNAO1 変異をもつヒョレアアテトーシスの一例

Efficacy of gabapentin for a case with choreoathetosis who has GNAO1 mutation.

高木真理子<sup>1</sup>, 佐藤睦美<sup>1</sup>, 安西里恵<sup>1</sup>, 奥田美津子<sup>1</sup>, 露崎悠<sup>1</sup>, 高野亨子<sup>1,2</sup>, 井合瑞江<sup>1</sup>, 中村和幸<sup>3,4</sup>, 才津浩智<sup>3</sup>, 小坂仁<sup>1,5</sup>, 山下純正<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神奈川県立こども医療センター神経内科, <sup>2</sup>信州大学医学部遺伝医学予防医学講座, <sup>3</sup>横浜市立大学医学部遺伝学講座, <sup>4</sup>山形大学小児科, <sup>5</sup>自治医科大学小児科学講座

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松



重度精神遅滞，難治性てんかんの臨床像を示し，  
PIGO 遺伝子変異が同定された 1 例

安西里恵<sup>1</sup>，佐藤睦美<sup>1</sup>，高木真理子<sup>1</sup>，奥田美津子<sup>1</sup>，  
露崎悠<sup>1</sup>，高野亨子<sup>1,4</sup>，井合瑞江<sup>1</sup>，中村和幸<sup>2,3</sup>，  
才津浩智<sup>2</sup>，小坂仁<sup>1,5</sup>，山下純正<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神奈川県立こども医療センター神経内科，<sup>2</sup>横浜市立大学医学部遺伝学，<sup>3</sup>山形大学医学部小児科，<sup>4</sup>信州大学医学部遺伝医学，<sup>5</sup>自治医科大学医学部小児科

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.  
浜松

Whole exome sequencing reveals molecular basis of  
childhood cerebellar atrophy

Hitoshi Osaka<sup>1,2</sup>，Yu Tsuyusaka<sup>1</sup>，Mizue Iai<sup>2</sup>，  
Sumimasa Yamashita<sup>2</sup>，Nobuyuki Shimosawa<sup>3</sup>，  
Yoshikatsu Eto<sup>4</sup>，Hiroto Saito<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Jichi Medical School,  
<sup>2</sup>Division of Neurology, Kanagawa Childrens  
Medical Center, <sup>3</sup>Division of Genomics Research,  
Life Science Research Center, Gifu University,  
<sup>4</sup>Advanced Clinical Research Center & Asian LSD  
Center, Institute of Neurological disorders,  
<sup>5</sup>Department of Human Genetics, Graduate School of  
Medicine, Yokohama City University

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.  
浜松

Effect of CYP2C19 polymorphisms on stiripentol  
administration in cases of Dravet syndrome

Takeshi Kouga<sup>1,2</sup>，Mariko Takagi<sup>3</sup>，Rie Anzai<sup>3</sup>，  
Mutsumi Sato<sup>3</sup>，Mitsuko Okuda<sup>3</sup>，Kyoko Takano<sup>3</sup>，  
Mizue Iai<sup>3</sup>，Sumimasa Yamashita<sup>3</sup>，Hitoshi  
Osaka<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Kanagawa Prefectural Institute of Public  
Health, <sup>2</sup>Department of Pediatrics, Jichi Medical  
University, <sup>3</sup>Division of Neurology, Kanagawa  
Children's Medical Center

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.  
浜松

Mutational and functional analysis of Glucose  
transporter 1 deficiency syndrome.

Sachie Nakamura<sup>1</sup>，Hitoshi Osaka<sup>1</sup>，Shinichi  
Muramatsu<sup>2</sup>，Shiho Aoki<sup>1</sup>，Eriko F. Jimbo<sup>1</sup>，  
Takanori Yamagata<sup>1</sup>

Department of Pediatrics<sup>1</sup>，Department of  
Neurology<sup>2</sup>，Jichi Medical University

2014.10.18-22 第 64 回アメリカ人類遺伝学会(サン  
ディエゴ)

ミトコンドリア DNA m.3243A>T 変異を認めた  
mitochondrial encephalomyopathy, lactic  
acidosis and stroke-like episodes の 1 例

池田尚広<sup>1</sup>，山崎雅世<sup>1</sup>，鈴木峻<sup>1</sup>，門田行史<sup>1</sup>，  
小坂仁<sup>1</sup>，杉江秀夫<sup>1</sup>，新保裕子<sup>2</sup>，山形崇倫<sup>1</sup>)  
1)自治医科大学小児科，2)神奈川県立こども医療セ  
ンター臨床研究所

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.  
浜松

Infantile Neuroaxonal Dystrophy 様の脳 MRI 所見  
を示した SLC9A6 変異を有する一例

山本亜矢子<sup>1,2</sup>，和田敬仁<sup>2,3</sup>，新保裕子<sup>2</sup>，松本直  
通<sup>4</sup>，小坂仁<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup>大和市立病院小児科，<sup>2</sup>神奈川県立こども医療セン  
ター神経内科，<sup>3</sup>京都大学大学院医学研究科医療倫  
理学/遺伝医療学，<sup>4</sup>横浜市立大学大学院医学研究科  
遺伝学，<sup>5</sup>自治医科大学小児科学講座 56 回日本小児  
神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

高野亨子<sup>1,2</sup>，佐藤睦美<sup>1</sup>，高木真理子<sup>1</sup>，安西里恵  
<sup>1</sup>，奥田美津子<sup>1</sup>，露崎悠<sup>1</sup>，井合瑞江<sup>1</sup>，山下純正  
<sup>1</sup>，小坂仁<sup>1,3</sup>，佐久間啓<sup>4</sup>，林雅晴<sup>4</sup>

<sup>1</sup>神奈川県立こども医療センター神経内科，<sup>2</sup>信州大  
学医学部遺伝医学・予防医学講座，<sup>3</sup>自治医科大学  
小児科，<sup>4</sup>公益財団法人東京都医学総合研究所脳発  
達・神経再生分野

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.  
浜松

治療可能な小脳失調 : Cerebral Folate Transport Deficiency の同胞例

露崎悠 1, 井合瑞江 1, 安西里恵 1, 佐藤睦美 1, 高木真理子 1, 奥田美津子 1, 高野亨子 1,3, 小坂仁 1,2, 山下純正 1, 才津浩智 4

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 自治医科大学小児科学講座, 3 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 4 横浜市立大学医学部遺伝学

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

当院における副腎白質ジストロフィー6 例の臨床的検討

宮内彰彦 1, 門田行史 1, 池田尚広 1, 川原勇太 1, 長嶋雅子 1, 小坂仁 1, 杉江秀夫 1, 森本哲 1, 渡辺浩史 3, 下泉秀夫 3, 下澤伸行 2, 山形崇倫 1

1 自治医科大学小児科, 2 岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野, 3 国際医療福祉リハビリテーションセンターなす療育園 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

非造影灌流画像, ASL で最も鋭敏にとらえた MELAS の脳卒中様発作の一例

奥田美津子 1, 佐藤睦美 1, 安西里恵 1, 高木真理子 1, 露崎悠 1, 高野亨子 1,2, 井合瑞江 1, 小坂仁 1,3, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 3 自治医科大学小児科学講座 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

頸部動脈解離による脳梗塞

佐藤睦美 1, 高木真理子 1, 安西里恵 1, 奥田美津子 1, 露崎悠 1, 高野亨子 1,2, 小坂仁 1,3, 井合瑞江 1, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 信州大学医学部遺伝医学・予防医学講座, 3 自治医科大学小児科学講座

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30.

浜松

くも膜下出血を合併した Reversible cerebral vasoconstriction syndrome の女児例

吉原尚子 1,2, 和田敬仁 1,3, 高木真理子 1, 佐藤睦美 1, 安西里恵 1, 奥田美津子 1, 露崎悠 1, 小坂仁 1,4, 高野亨子 1,5, 井合瑞江 1, 山下純正 1

1 神奈川県立こども医療センター神経内科, 2 日本赤十字社医療センター小児科, 3 京都大学医学部医療倫理学遺伝医療学講座, 4 自治医科大学小児科学講座, 5 信州大学医学部付属病院遺伝医学講座

56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

早期ステロイドパルス療法によるけいれん重積型急性脳症発症予防効果の検討

池田尚広, 山形崇倫, 谷口祐子, 宮内彰彦, 石井朋之, 長嶋雅子, 門田行史, 小坂仁, 杉江秀夫自治医科大学小児科 56 回日本小児神経学会 2014.5.28-2014.5.30. 浜松

日内変動を伴うジストニアを認める自閉症スペクトラム障害の男児例

宮内彰彦<sup>1)</sup>、門田行史<sup>1)</sup>、長嶋雅子<sup>1)</sup>、杉江秀夫<sup>1)</sup>、小黒範子<sup>2)</sup>、小坂仁<sup>1)</sup>、山形崇倫<sup>1)</sup>

1) 自治医科大学小児科学

2) とちぎリハビリテーションセンター小児科

2014.9.20 第 61 回日本小児神経学会関東地方会 (筑波)

H. 知的所有権の取得状況

1. エリスロポエチン発現増強剤。国際出願  
国際公開番号 : WO2014/080640A1

2. 生体試料中のアミンの測定方法およびその方法を用いる患者のスクリーニング方法

特願 2011-019561 特許第 5662182 号

平成26年度厚生科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）  
分担研究報告書

統合的遺伝子解析システムを用いたヒト発達障害研究  
分担研究課題：広汎性発達障害の遺伝子解析による病態解明研究

研究分担者 橋本 亮太

大阪大学大学院大阪大学・金沢大学・浜松医科大学・千葉大学・福井大学連合小児発達学研究所  
附属子どものこころの分子統御機構研究センター 准教授

### 研究要旨

広汎性発達障害は、自閉性障害やアスペルガー障害などの自閉症スペクトラム障害を指し、環境因子と遺伝因子による多因子疾患と考えられている。広汎性発達障害の一卵性双生児の一致率は60～90%、遺伝率が90%とされており、統合失調症などの他の精神疾患と比較して、遺伝因子の関与が非常に大きい。今までに、いくつかの遺伝子が広汎性発達障害の原因遺伝子として報告されている。最近、広汎性発達障害において、De novo(新規)のCNV (copy number variation: コピー数変異) やSNV(single nucleotide variant)が、その原因となっていることが報告されている。そこで、本研究においては、孤発例の広汎性発達障害患者30例について、De novoのSNVの検討を行う。広汎性発達障害患者30例について、エクソーム解析を行い、次に両親のゲノムサンプルも用いてde novoの検証を行い、最後にサンガーシーケンスによって確認した。その結果、37のde novoのSNVが見出され、そのうちの5つの遺伝子については、既報の遺伝子と一致した。これらのSNVの病的意義については今後の検討を必要とするが、日本人広汎性発達障害患者においてde novoのSNVの報告は初めてであり、広汎性発達障害の病態の解明に役立つ知見であると考えられる。

### A. 研究目的

広汎性発達障害は、自閉性障害やアスペルガー障害などの自閉症スペクトラム障害を指し、環境因子と遺伝因子による多因子疾患と考えられている。広汎性発達障害の一卵性双生児の一致率は60～90%、遺伝率が90%とされており、統合失調症などの他の精神疾患と比較して、遺伝因子の関与が非常に大きい。

広汎性発達障害の家系研究より、いくつかの候補遺伝子が見出されている。neuroligin3/4(NLGN3/4)遺伝子もその一つである。このうちNLGN3(Arg451Cys)遺伝子の変異はNLGN3タンパク質のプロセッシングを障害することが知られている。また、NLGN4遺伝子の1186insT変異はアミノ酸が欠損した未熟なNLGN4遺伝子を作る。Neuroliginは、興奮性シナプスであるグルタミン酸や、抑制性のGABA系シナプスを編成する上で必須の、後シナプスに存在する細胞接着分子とシナプス前-neurexin(NRXN)と結合し、軸索と連絡する際の機能的前シナプス構造を形成する契機となる。neurexin1(NRXN1)遺伝子の変異も広汎性発達障害患者から発見された。さらに、新規のコピー数多型解析により広汎性発達障害患者のNRXN1-containing遺伝子の領域に欠失が認められた。NRXN1とNLGNの結合体はシナプスを発達させる。また、NLGN3遺伝子の変異はNRXN

との結合を阻害する。NLGNは、同じく広汎性発達障害と関連するSHANK3と結合する。SHANKタンパク質は、シナプス形成と樹状突起の成熟に關与する。SHANK3遺伝子を含む遺伝子部位の欠失・転座やSHANK3遺伝子の新規の変異が広汎性発達障害で見出されている。

家族研究ではMorrowらが広汎性発達障害とsodium/hydrogen exchanger 9(NHE9)遺伝子の変異との関連を報告している。NHE9遺伝子は、膜のイオン流入を制御する分子の一つである。一方、広汎性発達障害の一つであるRett症候群は、女性患者の80%において、methyl-CpG-binding protein 2 (MeCP2) 遺伝子のde novo変異が認められる。MeCP2はメチル化CpGジヌクレオチドと結合する翻訳抑制体であり、通常はヒストンジアセチラーゼ1やクロマチンの抑制に關与するタンパク質を誘導する。

今まではこのような家系研究がおこなわれてきたが、近年、広汎性発達障害の孤発例においてde novoのSNVがその発症の原因となっていることが示唆されている。海外の研究グループは、200例の孤発例広汎性発達障害とその両親のエクソーム解析を行い、その結果、多数のde novoのSNVを見出した。その上、少数ではあるがPOGZなどの遺伝子においては、複数の家族においてde novoのmutationが見出され、新

た原因遺伝子として注目を浴びている。

本年度は、孤発性の広汎性発達障害とその両親のサンプルを用いて de novo の SNV の探索を行った。

## B. 研究方法

広汎性発達障害患者 30 例とその両親 60 例において、主任研究者の松本研究室にてエクソームシーケンスを行った。具体的には、SureSelect Human All Exon Kit Ver.4 (51 Mb) (Agilent 社) でエクソームキャプチャーし、HiSeq2000 (Illumina 社) 101 bp ペアエンドリード解析を行った。得られたシーケンスデータは、Novoalign、GATK プログラムを用いて解析し、Annovar プログラムで機能情報 (dbSNP、遺伝子名、SNP functions (missense、nonsense 変異等)、ポジション、アミノ酸置換等) を付与した。コールされてきた全バリエーションは (スプライスサイト ± 10)、以下のように絞り込んだ。Single Nucleotide Polymorphism database (dbSNP) に登録が無いもの、Exome Sequencing Project (ESP、欧米のエクソームシーケンスデータベース) に登録が無いもの <http://evs.gs.washington.edu/EVS/>、松本研究室で既に蓄積されている In-house データベースに登録が無いもの。そして、最両親のデータを用いて、de novo であることを検証した。De novo の SNV と考えられるものについては、サンガーシーケンスにて確認した。本研究は、大阪大学倫理審査委員会と横浜市立大学倫理審査委員会の承認に基づいて行われた。

### (倫理面への配慮)

本研究は、精神疾患患者を対象とした遺伝子解析研究である。試料提供者およびその血縁者の遺伝的素因を研究するため、その取り扱いによっては、さまざまな倫理的、社会的問題を招く可能性がある。したがって、文部科学省、厚生労働省、経済産業省告示第 1 号の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会において承認を受けた上で研究を行った。試料提供者への説明とインフォームド・コンセント、個人情報 の 厳 重 な 管 理 ( 匿 名 化 ) などを徹底させた。また、遺伝子解析研究においては、大阪大学倫理審査委員会において承認を受けている。

本研究の説明を行う過程や試料等提供の過程で、強制的な態度や同意の強要をしないことはいうまでもない。試料提供の依頼を拒否したからといって、診療行

為等に不合理または不公平なことが行われることは全くない。また、同意はいつでも文書によって撤回することができ、その場合、試料等は廃棄される。治療中の患者様に関しては、試料提供を依頼することが主治医によって不適切であると判断された場合は、試料提供の依頼は行わない。措置入院している患者様は対象から除外する。

## C. 研究結果

広汎性発達障害 30 例とその両親 60 例を用いたトリオのエクソーム解析によって、37 の de novo の SNV と 1 つの小さな欠失が見出された。37 の SNV 中、3SNP はナンセンス変異、1SNV はフレームシフト、27SNV はミスセンス変異、4SNV はアミノ酸置換のないエクソンの変異、3SNV はスプライシングに影響のある可能性のある変異であった。コーディング領域におけるポイントミューテーション変異の割合は、1 トリオあたり 1.2 程度であり、一般に起こる割合より少し多い可能性があった。

## D. 考察

広汎性発達障害患者の De novo の SNV の検索を行い、37 の de novo の SNV と 1 つの小さな欠失が見出された。日本人における広汎性発達障害の de novo の SNV についての検討は未だなされておらず、評価できる結果である。今回見出された SNV 候補の中で、重複したものは認められなかった。単独の家族において認められる場合には、疾患との関連におけるエビデンスが弱く、注意すべき点であると考えられる。その一方で、今回見出された遺伝子のうち、5 つ (*POGZ*, *PLEKHA4*, *PCNX*, *PRKD2*, *HERC1*) が海外の研究において見出された遺伝子と一致するものであった。複数の de novo 変異が見つかることは、偶然とは考えにくく、広汎性発達障害の遺伝子と考えられる。今後、さらなる検討により広汎性発達障害の病態解明につながることを期待される。

## E. 結論

我々は、ヒト発達障害研究に不可欠な発達障害患者を精神医療現場で診療しつつ、研究への同意を取得し、研究参加していただくシステムの構築に成功している。そして、孤発性の広汎性発達障害において、de novo の SNV の検討を行った。これらの結果は、新たな診断・治療法のシーズと考えられる。このように本研

究は、医療行政上、大変有意義であり、国民の保健・精神医療において多大なる貢献ができると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Miura K, **Hashimoto R**, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Ohi K, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Iwase M, Takeda M. An integrated eye movement score as a neurophysiological marker of schizophrenia. *Schizophrenia Research*, 160(1-3):228-9, 2014.12 doi: 10.1016/j.schres.2014.10.023.
- 2) Li M, Ohi K, Chen C, He Q, Lu JW, Chen C. Luo XJ, Dong Q, **Hashimoto R**, Su B. Failure of replicating the association between hippocampal volume and 3 single-nucleotide polymorphisms identified from the European genome-wide association study in Asian populations. *Neurobiology of Aging*, 35(12):2883e.1-2, 2014.12, doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2014.07.015.
- 3) Kinoshita M, Numata S, Tajima A, Ohi K, **Hashimoto R**, Shimodera S, Imoto I, Takeda M, Ohmori T. Aberrant DNA methylation of blood in schizophrenia by adjusting for estimated cellular proportions. *NeuroMolecular Medicine*, 16:697-703, 2014. 12 doi 10.1007/s12017-014-8319-5
- 4) Shintani N, Onaka Y, **Hashimoto R**, Takamura H, Nagata T, Umeda-Yano S, Mouri A, Mamiya T, Haba R, Matsuzaki S, Katayama T, Yamamori H, Nakazawa T, Nagayasu K, Ago Y, Yagasaki Y, Nabeshima T, Takeda M, Hashimoto H. Behavioral characterization of mice overexpressing human dysbindin-1. *Molecular Brain*, 9;7(1):74, 2014.10
- 5) **Hashimoto R**, Ikeda M, Yamashita F, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Fukunaga M, Nemoto K, Takahashi T, Ochigi M, Onitsuka T, Yamasue H, Matsuo K, Iidaka T, Iwata N, Suzuki M, Takeda M, Kasai K, Ozaki N. Common variants at 1q36 are associated with superior frontal gyrus volume. *Translational Psychiatry*, 4:e472, 2014. 10 doi:10.1038/tp.2014.110
- 6) Miki K, **Hashimoto R**, Shi K, Yukioka M, Opioid therapy for knee osteoarthritis and postoperative persistent pain after knee arthroplasty. *Rheumatology*, 53(10):1723-4. 2014.10 doi:10.1093/rheumatology/keu309
- 7) Iwata R, Ohi K, Kobayashi Y, Masuda A, Masuda A, Iwama M, Yasuda Y, Yamamori H, Tanaka M, **Hashimoto R**, Itohara S, Iwasato T. RacGAP 2-chimaerin function in development adjusts cognitive ability in adulthood. *Cell Report*, 8(5):1257-64, 2014.8 doi: 10.1016/j.celrep.2014.07.047.
- 8) Yamamori H, **Hashimoto R**, Fujita Y, Numata S, Yasuda Y, Fujimoto M, Ohi K, Umeda-Yano S, Ito A, Ohmori T, Hashimoto K, Takeda M. Changes in plasma D-serine, L-serine, and glycine levels in treatment-resistant schizophrenia before and after clozapine treatment. *Neurosci Lett*, 582:93-8, 2014.10 doi: 10.1016/j.neulet.2014.08.052.
- 9) Nishi A, Numata S, Tajima A, Kinoshita M, Kikuchi K, Shimodera S, Tomotake M, Ohi K, **Hashimoto R**, Imoto I, Takeda M, Ohmori T. Meta-analyses of blood homocysteine levels for gender and genetic association studies of the MTHFR C677T polymorphism in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 40(5):1154-63, 2014.9 doi: 10.1093/schbul/sbt154
- 10) Yasuda Y, **Hashimoto R**, Fukai R, Okamoto N, Hirai Y, Yamamori H, Fujimoto M, Ohi K, Taniike M, Mohri I, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N, Takeda M. Duplication of the NPHP1 gene in patients with autism spectrum disorder and normal intellectual ability: a case series. *Annals of General Psychiatry*, 13:22. 2014.8 doi: 10.1186/s12991-014-0022-2.
- 11) Watanabe Y, Tanaka H, Tsukabe A, Kunitomi Y, Nishizawa M, **Hashimoto R**, Yamamori H, Fujimoto M, Fukunaga M, Tomiyama N. Neuromelanin magnetic resonance imaging reveals increased dopaminergic neuron activity in the substantia nigra of patients with schizophrenia. *PLoS One*, 11:9(8):e104619, 2014.8 doi: 10.1371/journal.pone.0104619
- 12) Fujino H, Sumiyoshi C, Sumiyoshi T, Yasuda Y, Yamamori H, Ohi K, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Higuchi A, Hibi Y, Matsuura Y, **Hashimoto R**, Takeda M, Imura O. Performance on the Wechsler Adult Intelligence Scale-III in Japanese patients with schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 68(7):534-541, 2014.7 doi: 10.1111/pcn.12165.
- 13) Yasuda Y, **Hashimoto R**, Ohi K, Yamamori H, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fujino H, Takeda M. Cognitive inflexibility in Japanese adolescents and adults with autism spectrum disorders. *World J Psychiatr*, 22;4(2):42-48, 2014.6 doi: 10.5498/wjp.v4.i2.42
- 14) Nishizawa D, Ohi K, **Hashimoto R**, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Takeda M, Ikeda K. Association between genetic polymorphism rs2952768, close to the METTL21A and CREB1 genes, and intellectual ability in healthy subjects. *Journal of Addiction Research & Therapy*, 5(2):1000178, 2014.6 doi: 10.4172/2155-6105.1000178
- 15) Ohi K, **Hashimoto R**, Ikeda M, Yamashita F, Fukunaga M, Nemoto K, Ohnishi T, Yamamori H, Yasuda Y,

- Fujimoto M, Umeda-Yano S, Watanabe Y, Iwata N, Weinberger DR, Takeda M. Genetic risk variants of schizophrenia associated with left superior temporal gyrus volume. *Cortex*, 58C:23-26, 2014.6 doi: 10.1016/j.cortex.2014.05.011.
- 16) Horiguchi M, Ohi K, **Hashimoto R**, Hao Q, Yasuda Y, Yamamori H, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Takeda M, Ichinose H. A functional polymorphism (C-824T) of the tyrosine hydroxylase gene affects intelligence quotient in schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 68(6):456-62, 2014.6 doi: 10.1111/pcn.12157.
- 17) Dickinson D, Straub RE, Trampush JW, Gao Y, Feng N, Xie B, Shin JH, Lim HK, Ursini G, Bigos KL, Kolachana B, **Hashimoto R**, Takeda M, Baum GL, Rujescu D, Callicott JH, Hyde TM, Berman KF, Kleinman JE, Weinberger DR. Differential Effects of Common Variants in SCN2A on General Cognitive Ability, Brain Physiology, and messenger RNA Expression in Schizophrenia Cases and Control Individuals. *JAMA Psychiatry*. 1;71(6):647-56, 2014.6 doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.157.
- 18) Ohgidani M, Kato T.A., Setoyama D, Sagata N, **Hashimoto R**, Shigenobu K, Yoshida T, Hayakawa K, Shimokawa N, Miura D, Utsumi H, Kanba S. Direct induction of ramified microglia-like cells from human monocytes: Dynamic microglial dysfunction in Nasu-Hakola disease. *Scientific Reports* 14;4:4957, 2014.5 doi: 10.1038/srep04957.
2. 学会発表
- 1) Ohi K, **Hashimoto R**, Ikeda M, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fukunaga M, Fujino H, Watanabe Y, Iwase M, Kazui H, Iwata N, Weinberger DR, Takeda M. Glutamate Networks Implicate Cognitive Impairments in Schizophrenia; Genome-Wide Association Studies of 52 Cognitive Phenotypes. 2014 American College of Neuropsychopharmacology(ACNP), Phoenix, U.S.A., 12.7-11(9),2014. Poster
- 2) Nakazawa T, **Hashimoto R**, Sakoori K, Sugaya Y, Tanimura A, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Umeda-Yano S, Kiyama Y, Konno K, Iwase M, Kazui H, Numata S, Ohnuma T, Iwata N, Ozaki N, Hashimoto H, Watanabe M, Manabe T, Yamamoto T, Takeda M, Kano M. Brain-enriched sorting nexin family proteins regulate spine morphogenesis and are associated with risk for schizophrenia. 2014 American College of Neuropsychopharmacology(ACNP), Phoenix, U.S.A., 12.7-11(9),2014. Poster
- 3) **Hashimoto R**, Ohi K, Yamamori H, Yasuda Y, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Takeda M. Intermediate phenotype studies in schizophrenia ( Current research topics in schizophrenia and future perspectives. ) 29<sup>th</sup> CINP World Congress of Neuropsychopharmacology. Vancouver, Canada, 6.22-26(23), 2014. invited speaker
- 4) Uno K, Nishizawa D, Seol S, Sakai N, Ohi K, Nabeshima T, **Hashimoto R**, Ozaki N, Ikeda K, Miyamoto Y, Nitta A. PCL0 SNP rs13438494 regulates DA and 5-HT uptake, accompanied with splicing efficiency and dependence-like behaviors in genomic association studies. 29th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology. Vancouver, Canada, 6.22-26(24), 2014. poster
- 5) Nishizawa D, Kasai S, Hasegawa J, Sato N, Tanioka F, Nagashima M, Hiroshi U, **Hashimoto R**, Tanaka M, Sugimura H, Ikeda K. Associations of an orexin (hypocretin) receptor 2 gene polymorphism with nicotine dependence found in genome-wide and following association studies. 29th CINP World Congress of Neuropsychopharmacology. Vancouver, Canada, 6.22-26(23), 2014. poster
- 6) 岡右里恵、緒方洋輔、福永雅喜、**橋本亮太**、花川隆、Resting-state functional connectivity MRI を用いた気分障害患者と健常者の判別精度に対する特徴量抽出手法の影響の検討、平成 26 年度包括脳ネットワーク冬のシンポジウム、東京、12.11-13(12), 2014. ポスター
- 7) 永安一樹、松村憲佑、中澤敬信、安田由華、山森英長、梅田知美、大井一高、**橋本亮太**、武田雅俊、橋本均、自閉症関連候補遺伝子のハイスループット機能評価系による解析、平成 26 年度包括脳ネットワーク冬のシンポジウム、東京、12.11-13(12), 2014. ポスター
- 8) 岩田亮平、**橋本亮太**、糸原重美、岩里琢治、RacGAP 2 キメリンによる認知能力の発達の調節、平成 26 年度包括脳ネットワーク冬のシンポジウム、東京、12.11-13(12), 2014. ポスター
- 9) **橋本亮太**、多施設共同研究体制の構築、第 5 回脳表現型の分子メカニズム研究会、東京、12.6-7(6), 2014. 口演
- 10) 近藤健治、**橋本亮太**、池田匡志、高橋秀俊、山森英長、岸太郎、安田由華、島崎愛夕、藤本美智子、大

- 井一高、齊藤竹生、武田雅俊、岩田仲生、統合失調症の GWAS によるプレパルス抑制との共通リスク遺伝子の同定、第 47 回精神神経系薬物治療研究報告会、大阪、12.5, 2014. ポスター
- 11) 吉田正俊、三浦健一郎、**橋本亮太**、藤本美智子、山森英長、安田由華、大井一高、武田雅俊、伊佐正、統合失調症患者の静止画自由視時の視線データはサリエンシー計算論モデルによって説明できる、第 4 回生理研-名大合同シンポジウム、名古屋、11.22, 2014. ポスター
- 12) 村松憲佑、永安一樹、中澤敬信、安田由華、山森英長、梅田知美、大井一高、**橋本亮太**、武田雅俊、橋本均、自閉症の疾患特異的候補遺伝子の機能的スクリーニング系の確立、第 24 回日本臨床精神神経薬理学会・第 44 回日本神経精神薬理学会合同年会、名古屋、11.20-22(22), 2014. 口演
- 13) **橋本亮太**、精神疾患の中間表現型研究( Intermediate phenotype studies in psychiatric disorders )、日本神経精神薬理学会第三回学術奨励賞受賞記念講演、11.21, 2014. 講演
- 14) 中澤敬信、**橋本亮太**、永安一樹、安田由華、山森英長、梅田知美、藤本美智子、大井一高、石川充、赤松和土、岡野栄之、武田雅俊、橋本均、iPS 細胞関連技術を用いた統合失調症研究、第 24 回日本臨床精神神経薬理学会・第 44 回日本神経精神薬理学会の合同シンポジウム 1 「iPS 細胞を用いた精神疾患の分子病態研究の現状と展望」名古屋、11.20-22(21), 2014. 口演
- 15) **橋本亮太**、池田匡志、大井一高、安田由華、山森英長、福本素由己、梅田知美、Dickinson D、Aleksic B.、岩瀬真生、数井裕光、尾崎紀夫、Weinberger DR、岩田仲生、武田雅俊、Genome-wide association study of cognitive decline in schizophrenia (統合失調症の認知機能障害の全ゲノム関連解析)、第 59 回日本人類遺伝学会 第 21 回日本遺伝子診療学会合同大会、東京、11.19-22(20), 2014 ポスター
- 16) 森原剛史、佐藤真広、角田達彦、山口由美、赤津裕康、**橋本亮太**、紙野晃人、武田雅俊、疾患感受性のマウス系統間差をトランスクリプトーム解析：アルツハイマー病の A 蓄積量を規定する遺伝子 KLC1E の同定、第 59 回日本人類遺伝学会第 21 回日本遺伝子診療学会合同大会、東京、11.19-22(20), 2014 口頭
- 17) **橋本亮太**、住吉チカ、藤野陽生、山森英長、藤本美智子、安田由華、大井一高、井村修、住吉太幹、武田雅俊、統合失調症患者の認知機能障害の簡易測定法の開発、第 14 回精神疾患と認知機能研究会、東京、11.8, 2014. (講演)
- 18) 藤野陽生、**橋本亮太**、住吉チカ、住吉太幹、山森英長、藤本美智子、安田由華、大井一高、武田雅俊、井村修、統合失調症患者の社会機能に影響する要因、第 14 回精神疾患と認知機能研究会、東京、11.8, 2014. (口演)
- 19) 三木健司、**橋本亮太**、史賢林、行岡正雄、TKA 術後遷延疼痛の実際 米国でのオピオイドの蔓延 (Opioid therapy for knee osteoarthritis and postoperative persistent pain after knee arthroplasty) 第 42 回日本関節病学会 シンポジウム 11「関節手術後の疼痛対策」、東京、11.6-7(7), 2014 シンポジスト・座長 招待講演
- 20) 西澤大輔、笠井慎也、佐藤直美、谷岡書彦、長島誠、氏家寛、**橋本亮太**、田中雅嗣、梶村春彦、池田和隆、ゲノムワイド関連解析によるオレキシン 2 受容体遺伝子多型 Val308Ile とニコチン依存との関連の同定平成 26 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会、横浜、10.3-4(3), 2014 口頭
- 21) **橋本亮太**、山森英長、梅田知美、藤本美智子、安田由華、伊藤彰、武田雅俊、統合失調症患者由来サンプルを用いた統合失調症の病態解明研究、第 11 回 NDDC-JSG 会議、大阪、10.7,2014 口演
- 22) **橋本亮太**、神経化学が読み解く精神疾患の病態メカニズム、第 7 回 (2014 年) 神経化学の若手研究者育成セミナー、奈良、9.29-10.1(29), 2014. 口演
- 23) **橋本亮太**、安田由華、山森英長、大井一高、藤本美智子、梅田知美、武田雅俊、イントロダクション (Introduction)、生物精神・神経化学合同シンポジウム テーマ：朝から生討論：我が国の発達障害研究はトランスレーショナルとなりうるか？ 臨床精神 vs 神経化学、第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(30), 2014. 口演
- 24) **橋本亮太**、大井一高、山森英長、安田由華、藤本美智子、梅田知美、武田雅俊、ビッグサイエンスに対する挑戦：スモールサイエンスと基礎研究の融合 (The challenge to big science: fusion of small science and basic research) シンポジウム 2 「多施設共同研究の意義と日本における現状：欧米に勝つための戦略とは？」第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(29), 2014.



- 25) 齋藤 竹生、池田匡志、近藤健治、岡久祐子、菱本明豊、大沼徹、廣瀬雄一、**橋本亮太**、尾崎紀夫、岩田仲生、ラモトリギン誘発皮疹に関する薬理遺伝学的研究、第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(29-1), 2014. 各賞受賞者ポスター
- 26) 近藤健治、**橋本亮太**、池田匡志、高橋秀俊、山森英長、岸太郎、安田由華、島崎愛夕、藤本美智子、大井一高、齋藤竹生、武田雅俊、岩田仲生、プレパルス抑制関連遺伝子の探索、第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(29), 2014. ポスター
- 27) 安田由華、**橋本亮太**、中江文、康紅玲、大井一高、山森英長、藤本美智子、萩平哲、武田雅俊、自閉症スペクトラム症における感覚過敏についての研究 (Sensory profile in subjects with autism spectrum disorders) 第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(29), 2014. ポスター
- 28) 藤本美智子、**橋本亮太**、三浦健一郎、山森英長、安田由華、大井一高、梅田知美、岩瀬真生、武田雅俊、統合失調症の生物学的マーカーとしての眼球運動スコアの開発、An integrated eye movement score for biological marker of schizophrenia 第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(30), 2014. ポスター
- 29) 山森英長、**橋本亮太**、石間環、藤本美智子、安田由華、大井一高、梅田知美、伊藤彰、橋本謙二、武田雅俊、複数のバイオマーカーを用いた気分障害と統合失調症の補助診断方法確立の検討 (Assessment of a multi-assay biological diagnostic test for mood disorders and schizophrenia) 第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(1), 2014. ポスター
- 30) 布川綾子、渡部雄一郎、飯嶋良味、江川純、金子尚史、澁谷雅子、有波忠雄、氏家寛、稲田俊也、岩田仲生、栃木衛、功刀浩、糸川昌成、尾崎紀夫、**橋本亮太**、染矢俊幸、TPH2 遺伝子と日本人統合失調症との 2 段階関連解析、第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(29), 2014. ポスター
- 31) 江川純、飯嶋良味、渡部雄一郎、布川綾子、金子尚史、有波忠雄、氏家寛、稲田俊也、岩田仲生、功刀浩、糸川昌成、佐々木司、尾崎紀夫、**橋本亮太**、澁谷雅子、井桁裕文、染矢俊幸、マイクロ RNA30E 遺伝子の稀な変異と統合失調症との関連、第 36 回日本生物学的精神医学会・第 57 回日本神経化学学会大会合同年会、奈良、9.29-10.1(1), 2014. ポスター
- 32) **橋本亮太**、精神疾患とその偏見への挑戦：こころの扉を開き克服するまで、新適塾「脳はおもしろい」第 6 回会合、大阪、9.17, 2014. 講演
- 33) 中澤敬信、**橋本亮太**、橋本均、細胞内タンパク質輸送と統合失調症、生体機能と創薬シンポジウム 2014、大阪、8.28-29(28), 2014. ポスター
- 34) **橋本亮太**、精神疾患分野から-多施設共同研究による倫理的問題点-、ヒトゲノム解析研究倫理審査を考える会、東京、8.3, 2014. 講演
- 35) 安田由華、**橋本亮太**、大井一高、山森英長、梅田知美、藤本美智子、武田雅俊、孤発性自閉症スペクトラム障害のトリオにおけるエクソーム解析による de novo 変異の同定、新学術領域研究「脳疾患のゲノム情報」第三回研究班会議、東京、7.20, 2014. 口頭
- 36) 三木健司、史賢林、**橋本亮太**、林淳一郎、行岡正雄、小島崇宏、裁判における CRPS 症例の診断書からみた妥当性、第 12 回整形外科痛みを語る会、福岡、6.28-29, 2014. 招待講演
- 37) **橋本亮太**、山森英長、藤本美智子、安田由華、大井一高、梅田知美、武田雅俊、治療抵抗性統合失調症への果てしなき挑戦：治療のゴールはどこにあるのか？第 110 回日本精神神経学会学術総会、横浜、6.26-28(27), 2014. 口演
- 38) 山森英長、**橋本亮太**、藤本美智子、安田由華、大井一高、福本素由己、武田雅俊、阪大病院でのクロザピンの使用経験と有用性、第 17 回和風会精神医学研究会、大阪 6.8, 2014. 口頭
- 39) **橋本亮太**、精神疾患のバイオマーカー研究-DSM-5 への挑戦-、北里大学精神科教室拡大研究会、4.17, 2014. 招待講演
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
該当なし。
  2. 実用新案登録該当なし。
  3. その他  
該当なし。



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

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
Miyatake S, * <u>Matsumoto N</u> (*: correspondence).	Clinical exome sequencing in neurology practice.	Nat Rev Neurol	10(12)	676-678, 2	2014
Tsurusaki Y, et al., * <u>Matsumoto N</u> .	De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. Nat Commun	Nat Commun	5	4011	2014
Miyatake S, et al., * <u>Matsumoto N</u> , *Saitu H (*: co-correspondence)	Expanding the phenotypic spectrum of TUBB4A-associated hypomyelinating leukoencephalopathies,	Neurology	82(24)	2230-2237	2014
*Kato M, et al., <u>Matsumoto N</u> .	PIGA mutations cause early-onset epileptic encephalopathies and distinctive features.	Neurology	82(18)	1587-1596,	2014
*Nakamura K, et al., <u>Matsumoto N</u> , Saitu H.	AKT3 and PIK3R2 mutations in two patients with megalencephaly-related syndromes.	Clin Genet	85(4):	396-398	2014
*Miyake N, et al., <u>Matsumoto N</u> .	Ehlers–Danlos syndrome associated with glycosaminoglycan abnormalities. J. Halper (ed.), Progress in heritable soft connective Tissue diseases,	Advances in Experimental Medicine and Biology	802	145-159	2014

Ohba C, et al., <u>*Matsumoto N</u> , <u>*Saito H</u> (*: co-correspondence).	PIGN mutations cause congenital anomalies, developmental delay, hypotonia, epilepsy, and progressive cerebellar atrophy.	Neurogenet	59(5)	292-295	2014
Leventer RJ, et al., <u>Matsumoto N</u> , et al.	Is Focal Cortical Dysplasia sporadic? Family evidence for genetic susceptibility.	Epilepsia	55(3)	e22-26	2014
Ohba C, et al., <u>*Matsumoto N</u> , <u>*Saito H</u> (*: co-correspondence).	Early onset epileptic encephalopathy caused by de novo SCN8A mutations.	Epilepsia	55(7)	994-1000	2014
#Miyatake S, #Koshimizu E (# denotes equal contribution), et al., <u>*Matsumoto N</u> .	Deep sequencing detects very low-grade somatic mosaicism in the unaffected mother of siblings with nemaline myopathy.	Neuromuscul Disord	24(7)	642-647	2014
Nakashima M, et al., <u>Matsumoto N</u> *.	Novel compound heterozygous PIGT mutations caused multiple congenital anomalies-hypotonia-seizures syndrome 3.	Neurogenet	15(3)	193-200	2014
*Miyake N (*: corresponding author), et al., <u>Matsumoto N</u> .	Numerous BAF complex genes are mutated in Coffin-Siris syndrome.	Am J Med Genet Part C	166(3)	257-261	2014
Katagiri S, et al., <u>Matsumoto N</u> , et al.	Whole exome analysis identifies frequent CNGA1 mutations in Japanese population with autosomal recessive retinitis pigmentosa.	Plos One	9(9)	e108721	2014
Tsurusaki Y, et al., <u>*Matsumoto N</u>	Whole exome sequencing revealed causative biallelic IFT122 mutations in a family with CED1 and recurrent pregnancy loss.	Clin Genet	85(6)	592-594	2014

Nakamura K, et al., * <u>Matsumoto N</u> , *Saito H (*: co-correspondence).	PIGO mutations in epileptic encephalopathy with mild elevation of alkaline phosphatase levels.	Epilepsia	55(2)	e13-7	2014
Tsurusaki Y, et al., * <u>Matsumoto N</u> .	Coffin-Siris syndrome is a SWI/SNF complex disorder.	Clin Genet	85(6)	548-554	2014
Ohashi T, et al., <u>Matsumoto N</u> , et al.	Infantile epileptic encephalopathy with a hyperkinetic movement disorder and hand stereotypies arising from a novel SCN1A mutation.	Epileptic Disord	16(2)	208-212	2014
Imagawa E, et al., * <u>Matsumoto N</u> , *Miyake N	A hemizygous GYG2 mutation causes Leigh syndrome.	Hum Genet	133 (2)	225-234	2014
Okabe T, Aida N, Niwa T, Nozawa K, Shibasaki J, <u>Osaka H</u> .	Early magnetic resonance detection of cortical necrosis and acute network injury associated with neonatal and infantile cerebral infarction.	Pediatr Radiol	53	448-458	2014
Akiyama T, <u>Osaka H</u> , Shimbo H, Nakajiri T, Kobayashi K, Oka M, Endoh F, Yoshinaga H.	A Japanese Adult Case of Guanidinoacetate Methyltransferase Deficiency.	JIMD Rep	12	65-69	2014
Wada T, Haddad MR, Yi L, Murakami T, Sasaki A, Shimbo H, Kodama H, <u>Osaka H</u> , Kaler SG.	A Novel Two-Nucleotide Deletion in the ATP7A Gene Associated With Delayed Infantile Onset of Menkes Disease.	Pediatr Neurol	50	417-420	2014
Shimbo H, Takagi M, Okuda M, Tsuyusaki Y, Takano K, Iai M, Yamashita S, Murayama K, Ohtake A, Goto Y, Aida N, <u>Osaka</u>	A rapid screening with direct sequencing from blood samples for the diagnosis of Leigh syndrome.	Mol Genet Metab Report	1	133-138	2014

Ohshiro-Sasaki A, Shimbo H, Takano K, Wada T, <u>Osaka H.</u>	A Three-Year-Old Boy With Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome Presenting With Episodic Ataxia.	Pediatr Neurol	50(1)	99-100	2014
Numata Y, Gotoh L, Iwaki A, Kurosawa K, Takanashi J, Deguchi K, Yamamoto T, <u>Osaka H.</u> , Inoue K.	Epidemiological, clinical, and genetic landscapes of hypomyelinating leukodystrophies.	J Neurol	261(4)	752-758	2014
Numasawa-Kuroiwa Y, Okada Y, Shibata S, Kishin N, Akamatsu W, Shoji M, Nakanishi A, Oyama M, <u>Osaka H.</u> , Inoue K, Takahashi K, Yamanaka S,	Involvement of ER Stress in Dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 Missense Mutations Shown by iPSC-Derived Oligodendrocytes.	Stem Cell Reports	24;2(5)	648-661	2014
Yasuda Y, <u>Hashimoto R.</u> , Ohi K, Yamamori H, Fujimoto M, Umeda-Yano S, Fujino H, Takeda M.	Cognitive inflexibility in Japanese adolescents and adults with autism spectrum disorders.	World J Psychiatry	22;4(2)	42-48	2014