

機関番号：10107

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390301

研究課題名（和文）ゲノムアレイを用いた先天異常症の効率的診断法の確立と疾患特異的構造異常の検索

研究課題名（英文）New diagnostic approach for malformation syndromes and genome-wide search for syndrome specific genome imbalance using DNA microarray

研究代表者

蒔田 芳男（MAKITA YOSHIO）

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：20271778

研究成果の概要（和文）：

染色体構造異常診断型アレイである Genome Disorder Array の臨床的有用性の検討と既知染色体微細欠失重複症例の除外を目的に染色体構造異常診断型アレイを作成しスクリーニングを行ってきた。診断用アレイ用の BAC の新たに選択し Genome Disorder Array version 3.0 の構成を決定した。このアレイは、富士フィルムから GD700 として発売され、(株) BML での受託研究検査として採用されるに到った。

患児の表現型(phenome)の記載は、原因遺伝子未単離の既知疾患の診断とともに、新しい疾患概念の構築につながる可能性がある。少数チームでこのシステムに登録された症例の phenome の検討を行うとともに患探索型アレイによる疾患特異的ゲノム構造異常の検索を行い3つの新規疾患単位を提唱することができた。診断用アレイで異常を検出は検出できなかった症例のから平成20年度は、アジレント社の 244K アレイで 13 例を平成21年度はアフィメトリクスの 2.7M オリゴアレイで 10 症例解析を行ったが、明らかな異常を検出できなかった。

関連施設との症例収集は、この3年間で281例となり、バンキングも同時進行しており解析可能な状態になった。

研究成果の概要（英文）：

We developed a diagnostic array(Genome Disorder Array) in order to exclude structural chromosome aberrations in patients with known chromosomal micro-deletion and micro-duplication syndromes. Genome Disorder Array version 3.0 was selected to determine the configuration. Fuji Film was released this array as the GD700. Specific phenome may lead to the construction of a new disease concept. According to phenome analysis and high-density BAC array analysis, we proposed three new syndromes with specific chromosome aberration. We collected 281 cases in three years and also proceed to establish the cell-line.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	3,800,000	1,140,000	4,940,000
2009年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2010年度	2,200,000	660,000	2,860,000
年度			
年度			
総計	8,700,000	2,610,000	11,310,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学、胎児新生児医学

キーワード：先天異常、染色体異常、アレイ CGH 法、奇形症候群

1. 研究開始当初の背景

我が国の小児の疾病構造は、感染症、栄養障害の二大疾患が激減したために、残った先天異常を初めとする原因不明の慢性疾患が主要な疾患になった。従って、小児医療の最も重要な課題の一つは、これらの疾患群の原因を明らかにし、診断法、治療法、発症予防法の開発を推進することである。

現在染色体微細決卒症候群の診断は、専攻する臨床診断がなければ不可能であり、臨床遺伝専門医のお得意芸とされ、一般性普遍性を与える臨床検査法の開発が置き去りにされてきた。また奇形症候群をはじめとする先天異常症の多くは、遺伝的致死であることや家系例が少ないために、連鎖解析や Sib pair 法などの遺伝学的な解析方法が応用できず系統的な原因遺伝子検索が遅れている。

2. 研究の目的

私たちは、高精度ゲノムアレイを導入することで①一般性普遍性をもつ染色体構造異常診断型アレイの開発②染色体転座以外の微細欠失・重複という構造異常をターゲットにして原因遺伝子探索のブレークスルーを与えることを目的とした。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために以下の方法を行った。①検体の収集：臨床遺伝の専門医を有する大学小児科、小児病院 15 施設の協力を得て検体の収集を行う。②細胞の株化とバンキング：バンク先は東京医科歯科大学難治疾患研究所・バイオリソース室。③患児の表現型 (phenome) 解析：患児の phenome の記載は、原因遺伝子未単離の既知疾患の診断とともに、新しい疾患概念の構築につながる可能性がある。phenome を解析する情報を整理するために共通の情報シートを作成して web 上での登録を行う。④疾患探索型アレイによる疾患特異的ゲノム構造異常の探索：高精度 BAC アレイやオリゴアレイでの検討⑤染色体構造異常診断型アレイの構成の検討と検証。

4. 研究成果

関連施設との症例収集は、この 3 年間で 281 例となり、バンキングも同時進行しており解析可能な状態になった。

関連施設から提供された症例の phenome の解析は、蒔田、岡本、水野の少数チームで行った。これにより、新規疾患単位と考えられる症例を抽出し、疾患探索型アレイによる疾患特異的ゲノム構造異常の検索を同時に進めた。その結果、3つの新規疾患単位を提唱することができた。一つは、小頭症と X 連鎖性優性遺伝形式をとる精神遅滞症候群で

あり CASK 遺伝子の異常を認めた (AJMG 2009)。残りの二つは、現在のところ責任遺伝子の童貞には至っていないものの 10q24 微細欠失、10p12.1-p11.23 欠失である。また、高精度 BAC アレイでの検索で異常を検出できなかった症例のから平成 20 年度は、アジレント社の 244K アレイで 13 例を平成 21 年度はアフィメトリクス社の 2.7M オリゴアレイで 10 症例解析を行ったが、明らかな異常を検出することはできなかった。

染色体構造異常診断型アレイである Genome Disorder Array の構築と臨床的有用性の検討を行ってきた。この診断型アレイは、既知染色体微細欠失重複症例の除外を目的にしている。すでに構築されていた診断用アレイである Genome Disorder Array version 3.0 に新しい微細欠失症候群診断用の BAC を搭載した Genome Disorder Array version 3.0 の構成を決定した。このアレイは、富士フィルムから GD700 として発売され、(株) BML での受託研究検査として採用され平成 22 年 4 月から共用が開始されている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

①Hayashi S, Mizuno S, Migita O, Okuyama T, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J.

The CASK gene harbored in a deletion detected by array-CGH as a potential candidate for a gene causative of X-linked dominant mental retardation. Am J Med Genet A. 2008 Aug 15; 146A(16):2145-51.

②Hayashi S, Okamoto N, Makita Y, Hata A, Imoto I, Inazawa J.

Heterozygous deletion at 14q22.1-q22.3 including the BMP4 gene in a patient with psychomotor retardation, congenital corneal opacity and feet polysyndactyly. Am J Med Genet A. 2008 Nov 15;146A(22):2905-10.

③金子実基子、鮫島希代子、西川智子、古谷憲孝、吉橋博史、蒔田芳男、羽田 明、稲澤讓治、千代豪昭、黒澤健司

原因不明多発奇形・精神遅滞症例を対象とした染色体微細構造異常解析における遺伝カウンセリング 日本遺伝カウンセリング学会誌 29(2)57-61(2009)

④Hayashi S, Imoto I, Aizu Y, Okamoto N, Mizuno S, Kurosawa K, Honda S, Araki

S, Mizutani S, Numabe H, Saitoh S, Kosho T, Fukushima Y, Mitsubuchi H, Endo F, Chinen Y, Kosaki R, Okuyama T, Ohki H, Yoshihashi H, Ono M, Takada F, Ono H, Yagi M, Matsumoto H, Makita Y, Hata A, Inazawa J.

Clinical application of array-based comparative genomic hybridization by two-stage screening for 536 patients with mental retardation and multiple congenital anomalies.

J Hum Genet. 2011 Feb;56(2):110-24.

⑤ Nakamura E, Makita Y, Okamoto T, Nagaya K, Hayashi T, Sugimoto M, Manabe H, Taketazu G, Kajino H, Fujieda K.

5.78 Mb terminal deletion of chromosome 15q in a girl, evaluation of NR2F2 as candidate gene for congenital heart defects. Eur J Med Genet. 2011 May-Jun;54(3):354-6

〔学会発表〕(計19件)

① 蒔田芳男, 藤枝憲二, 齊藤伸治, 羽田 明, 石井拓磨, 吉橋博史, 黒澤健司, 小崎里華, 小野正恵, 沼部博直, 水野誠司, 古庄知己, 福嶋義光, 岡本伸彦, 三淵 浩, 知念安紹, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治
ゲノムアレイを用いた先天異常症の効率的診断法の確立と疾患特異的構造異常の探索
第111回日本小児科学会学術集会
2008/4/25-27 東京

② 蒔田芳男, 齊藤伸治, 羽田 明, 石井拓磨, 吉橋博史, 黒澤健司, 小崎里華, 小野正恵, 沼部博直, 水野誠司, 古庄知己, 福嶋義光, 岡本伸彦, 三淵 浩, 知念安紹, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治
ゲノムアレイを用いた先天異常症の効率的診断法の確立と疾患特異的構造異常の探索
第53回日本人類遺伝学会 2008/9/12-15
横浜

③ 蒔田芳男, 長屋 建, 高橋 悟, 藤枝憲二, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治
商用プローブにてモザイクが検出された Miller-Dieker 症候群の1例
第53回日本人類遺伝学会 2008/9/12-15
横浜

④ 蒔田芳男
新しい染色体微細欠失・重複症候群の発見と臨床応用
シンポジウム XI 進化する細胞遺伝学
第53回日本人類遺伝学会 2008/9/12-15
横浜

⑤ 蒔田芳男, 齊藤伸治, 羽田 明, 吉橋博史, 黒澤健司, 小崎里華, 小野正恵, 沼部博直, 水野誠司, 福嶋義光, 岡本伸彦, 三淵 浩, 知念安紹, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治
ゲノムアレイを用いた精神遅滞の診断プラットフォームの開発
第112回日本小児科学会学術集会
2009/4/17-19 奈良

⑥ 林 深, 本田尚三, 井本逸勢, 蒔田芳男, 羽田 明, 稲澤譲治
アレイ CGH を用いた多発奇形を伴う精神遅滞症例解析5年間の実績
第112回日本小児科学会学術集会
2009/4/17-19 奈良

⑦ 宮本晶恵, 蒔田芳男, 福田郁江, 田中 肇, 岡 隆治, 長 和彦, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治
サブテロメア欠失症候群: 1p36 欠失症候群の1例
第51回日本小児神経学会総会
2009/5/28-30 米子

⑧ 林 深, 岡本伸彦, 水野誠司, 小野正恵, 小崎里華, 奥山虎之, 知念安紹, 蒔田芳男, 羽田 明, 井本逸勢, 稲澤譲治
小頭症と小脳脳幹部低形成を伴う発達遅滞の原因遺伝子の候補である CASK の解析
第51回日本小児神経学会総会
2009/5/28-30 米子

⑨ 岡本伸彦, 平井聡里, 青天目信, 荒井 洋, 林 深, 井本逸勢, 稲澤譲治, 蒔田芳男
小頭症と小脳脳幹部低形成を呈する CASK 異常症の臨床像
第51回日本小児神経学会総会
2009/5/28-30 米子

⑩ 林 深, 岡本奈那, 本田尚三, 蒔田芳男, 羽田 明, 井本逸勢, 稲澤譲治
アレイ CGH 法を用いた多発奇形を伴う精神遅滞症例解析の4年間の実績
第54回日本人類遺伝学会 2009/9/23-26
東京

⑪ 会津善紀, 井本逸勢, 林 深, 小澤伸晃, 左合治彦, 山口敏和, 永田欽也, 宮本 力, 蒔田芳男, 羽田 明, 稲澤譲治, アレイ CGH 診断法実用化コンソーシアム
GDA700 による染色体微細異常解析受託システムの構築
第54回日本人類遺伝学会 2009/9/23-26
東京

⑫ 林 深, 岡本伸彦, 水野誠司, 小野正恵,

小崎里華、奥山虎之、知念安紹、蒔田芳男、羽田 明、井本逸勢、稲澤讓治
小頭症と小脳脳幹部低形成を伴う発達遅滞
12例におけるCASK遺伝子の解析
第54回日本人類遺伝学会 2009/9/23-26
東京

⑬ 岡本奈那、林 深、黒澤健司、水野誠司、蒔田芳男、羽田 明、井本逸勢、森山啓司、稲澤讓治
新規症候群の可能性のある10q24微細欠失を伴う2症例の報告
第54回日本人類遺伝学会 2009/9/23-26
東京

⑭ 岡本伸彦、林 深、井本逸勢、稲澤讓治、蒔田芳男、羽田 明
アレイCGHで診断された1p34.3微細欠失
第54回日本人類遺伝学会 2009/9/23-26
東京

⑮ 蒔田芳男
新しい染色体微細欠失・重複症候群の発見と臨床応用
分野別シンポジウム「先天性疾患における最近の進歩：病因解明から遺伝子診断へ」
第114回日本小児科学会学術集会
2010/4/23-25 盛岡

⑯ 蒔田芳男、アレイCGH診断法実用化コンソーシアム
先天奇形症候群診断用アレイ(GD700)の開発
第114回日本小児科学会学術集会
2010/4/23-25 盛岡

⑰ 林 深、岡本奈那、本田尚三、井本逸勢、蒔田芳男、羽田 明、稲澤讓二
複数のゲノムアレイによる先天異常疾患におけるゲノム構造異常
第55回日本人類遺伝学会 2010/10/27-30
埼玉

⑱ 岡本伸彦、林 深、稲澤讓二、蒔田芳男、羽田 明
Xp11.2微細重複症候群の一例
第55回日本人類遺伝学会 2010/10/27-30
埼玉

⑲ 岡本奈那、林 深、本田尚三、小栗 泉、長谷川知子、小崎里華、井本逸勢、蒔田芳男、羽田 明、森山啓司、稲澤讓二
新規症候群の可能性のある10p12.1-p11.23欠失の2症例
第55回日本人類遺伝学会 2010/10/27-30
埼玉

〔図書〕(計3件)

① 稲澤讓治、蒔田芳男、羽田 明 編集
アレイCGH診断活用ガイドブック-知って置きたい染色体微細構造異常症 医薬ジャーナル社、2008

② 蒔田芳男
29.アレイCGH診断法の進歩 5章 診断・検査医学の進歩
ここまでできた注目の小児科臨床ガイド 小児科専門医のための生涯教育ナビゲータ
日本小児科学会教育委員会 五十嵐 隆 編 中山書店 pp189-193, 2009年

③ 蒔田芳男
L 染色体異常・奇形症候群、Part 2 小児医療の実践
小児・新生児診療ゴールドハンドブック
藤枝憲二、梶野浩樹 編
南江堂 pp327-332, 2009年

〔産業財産権〕
○出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
蒔田 芳男 (MAKITA YOSHIO)
旭川医科大学 教育センター 教授
研究者番号：20271778
(2) 研究分担者
岡本 伸彦 (OKAMOTO NOBUHIKO)
大阪府立母子保健総合医療センター(研究所)・研究員
研究者番号：30416242

水野 誠司(MIZUNO SELJI)
愛知県心身障害者コロニー発達障害研究
所・小児内科・研究員
研究者番号：20393150

(3)連携研究者

羽田 明(HATA AKIRA)
千葉大学・医学部・教授
研究者番号：00244541

稲澤 譲治(INAZAWA JOHJI)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授
研究者番号：30193551