

令和元年5月27日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15630

研究課題名(和文) 包括的エクソームデータ解析によるMarfan症候群および類縁疾患の責任遺伝子探索

研究課題名(英文) Exome-wide association study for Marfan syndrome and related disorders

研究代表者

水口 剛 (Mizuguchi, Takeshi)

横浜市立大学・医学部・講師

研究者番号：90404996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：マルファン症候群および類縁疾患群(431例)と正常対照群(481例)の全エクソームデータを用いExome-wide相関解析を行った。単純なrare variant頻度の群間比較は検出力が弱い、遺伝子単位で病的意義が高いバリエーションの集積を比較した(Burden test)。Burden testの結果、既知責任遺伝子FBN1に加え、候補遺伝子としてMRF1(仮名)が抽出された。MRF1はバリエーションの頻度データ、遺伝子発現のパターン、遺伝子の機能変化に関する不寛容性から有力な疾患原因遺伝子の候補と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マルファン症候群は1991年にその責任遺伝子の一つであるFBN1が単離され、以来主として欧米がリードする形で疾患遺伝子が解析されてきた。本邦では、小規模研究が散見されるのみで、罹患者の潜在的人口が高いと予想されるにもかかわらずこれまで全国規模の集約的研究がなかった。したがって日本において集約的研究を行うことは、臨床的意義が高く、患者のQOL向上に役立つと考える。つまり、関連遺伝子同定が達成されれば病的バリエーションが同定された家系において適切な診断と高率に合併する大動脈瘤・解離などの予防的措置などの患者管理に極めて有望・有用な情報を提供する事となる。

研究成果の概要(英文)：We performed gene-based burden test using whole exome sequencing data of 431 cases with Marfan syndrome and related disorders, and 481 controls. In addition to known causative gene FBN1, our exome-wide association study identified MRF1 (pseudonym) as a possible candidate gene. MRF1 is a LoF intolerant gene with a higher rate of rare disruptive variants in cases compared to controls and expressed in human aortic tissue, suggesting possible link to Marfan syndrome.

研究分野：遺伝医学

キーワード：Marfan syndrome Exome Burden test

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

申請者らはマルファン症候群様の臨床像を呈する孤発例の染色体構造異常解析を端緒としたボジショナルクローニングにより TGF- II 型受容体の異常 (*TGFBR2* 遺伝子)に起因するマルファン症候群 II 型 (現在ロイス・ディーツ症候群と呼ばれる) の存在を明らかにした。その後 49 名の日本人マルファン症候群患者集団を用いた遺伝子変異解析により 55% (27/49 症例) に *FBN1* 遺伝子変異, 6% (3/49 症例) に TGF- 受容体遺伝子変異 (*TGFBR1* または *TGFBR2*) を同定した。さらに遺伝子型現型関連の検討からマルファン症候群およびロイス・ディーツ症候群の主要な原因遺伝子がそれぞれ *FBN1*、TGF- 受容体遺伝子である事を報告した。しかし 33% (19/49 症例) は未解決で遺伝的異質性が示唆された。実際、マルファン症候群類縁疾患において TGF- シグナルパスウェイに属する新規原因遺伝子が相次いで報告され、マルファン症候群の発症に TGF- シグナル異常が関与することが明らかとなった。しかし現在でもこれらの既知遺伝子変異が未同定の症例が一定数存在する。全エクソーム解析は次世代シーケンサーを用いてゲノムの約 2% にあたるタンパク質コード領域を効率よくシーケンスする解析手法で、現在遺伝子解析の主流となっている。全エクソーム解析を用いることで、古典的遺伝解析によるゲノム上の位置情報に頼ることなく、孤発例からの原因遺伝子単離が可能となっている。申請者が所属する研究室および研究協力者のグループもマルファン症候群および類縁疾患 (既知の責任遺伝子異常を除外した症例) の全エクソーム解析を精力的に実施し、これまでに 431 名の患者全エクソームデータを集積済みであった。

2. 研究の目的

近年、全エクソーム解析によるマルファン症候群類縁疾患の原因遺伝子単離が報告されている。しかしマルファン症候群類縁疾患において遺伝的寄与度の高い原因遺伝子は過去の遺伝解析により単離されており、寄与度の低い (頻度の低い) 関連遺伝子をどのように抽出するかが課題となっている。本研究では Exome-wide 相関解析を単一遺伝子病であるマルファン症候群および類縁疾患の疾患遺伝子単離に応用し、従来の家系をベースとした解析では同定できなかった遺伝的要因を探索する。具体的にはマルファン症候群および類縁疾患群と正常対照群の全エクソームシーケンスデータを用い、患者群において病的意義の推定される variant が有意に集積する遺伝子を特定することを目指す。

3. 研究の方法

(1) 全エクソーム解析では、1 検体あたり 15,000-20,000 個の参照配列と異なるバリエーションが同定される。一般集団でのアレル頻度やバリエーションの種類、タンパク機能変化の予測プログラムの活用を通して候補バリエーションの絞り込みを行うことは可能であるが、病的バリエーションを同定するには追加の解析戦略が必要となる。本研究ではマルファン症候群および類縁疾患群 (431 例) と正常対照群 (481 例) の全エクソームデータを用い Exome-wide 相関解析を行うことで関連遺伝子の探索を行う。単純な rare バリエーション頻度の 2 群間比較は検出力が弱い場合、遺伝子ごとに病的意義が高いバリエーションの集積を患者群 (431 名) と正常対照群 (481 名) で比較する (Burden test)。患者群、正常対照群はともに日本人である。同じ民族背景であるため集団階層化による偽陽性を低減することが可能である。また患者群 431 名は原因遺伝子として頻度の高い *FBN1*/*TGFBR1*/*TGFBR2* 変異を除外した集団である。MFS は少なくとも 10,000 出生に 1 例の率で発症し、そのうち既知遺伝子で説明可能な症例は 70% 程度である。したがって年間出生数 100 万人から推定される変異の未同定例は約 30 例 (100 例の 30%) で、本研究の患者エクソームデータ 431 例は実に 14 年分の変異未同定症例が集積している極めて意義の高いコホート検体である。この患者群の中に新規責任遺伝子異常に起因する症例が存在する可能性は極めて高い。

(2) 候補遺伝子が同定された場合は両親検体の協力が得られた家系についてサンガー法による変異確認と、家系内でのバリエーションと疾患の分離、*de novo* の可能性等を検索し病的意義の妥当性を評価する。

(3) 候補遺伝子が同定された場合は、2 次コホート検体で候補遺伝子に的を絞った変異スクリーニングを行う。申請時、マルファン症候群疑い 112 例、非症候性胸部大動脈瘤・解離 137 例を集積していたが継続して症例集積を行い 2 次解析コホートとする。

(4) 患者群 431 例についてコピー数異常に関する検討が未実施である。全エクソームデータを用いたゲノムコピー数解析を行う。コピー数異常領域に存在する遺伝子について Burden test の候補遺伝子群との比較を行い新規候補遺伝子評価の参考とする。

4. 研究成果

(1) 患者群全エクソームデータは他施設のデータも含まれるため、解析プロセスの違いによるアーチファクトが予想される。マッピング、PCR 重複リードの除去、ジェノタイピング、クオリティスコアの再較正、アノテーション情報の付与などを含めたエクソームデータ処理を申請者の所属する研究室の解析フローで再解析し、正常対照群と均質化して解析アーチファクトの

排除に努めた。

(2) サンガー法による既知遺伝子異常の除外症例であっても、既知遺伝子異常の見落としがあることはよく知られた事実である。加えて、近年同定された新規責任遺伝子群の変異による症例が一定数混在していることは明らかである。Burden test においては頻度の低い稀なバリエーションを検定するため、遺伝的異質性の存在が検出力を大きく下げる。再解析 431 例の全エクソームデータから、これらの既知異常を正確に除外することが、本研究の効率化に不可欠なステップと考え既知原因遺伝子変異の検討を行った。患者群全体で 395,962 個のバリエーションが検出された (common SNP は除外)。28 個のマルファン症候群および類縁疾患の既知関連遺伝子について Human Gene Mutation Database (HGMD®) に病的変異として登録のあるバリエーションを検索した。9 個の病的バリエーションが 4 個の既知遺伝子 (*FBN1*, *MYH11*, *TGFBR1*, *COL1A1*, *COL3A1*) に同定された。既知遺伝子変異保有率は 2% (9/431 例) で新規責任遺伝子単離研究に最適の研究対象であることが確認できた。

(3) 検出に最適な疾患モデル (遺伝形式、浸透率、遺伝的異質性、変異の効果など) は未知のため、複数のタイプの相関解析が可能な公開ソフトウェア RVTESTS を使用して統計解析を進めた (<https://github.com/zhanxw/rvtests>)。当初遺伝的異質性の影響を最小にするため研究成果 (2) の既知遺伝子変異を除外する予定であったが、頻度が少ないこと、検出に最適な疾患モデルが不明なことから、これらの既知遺伝子変異が検出される条件を指標に解析を進めた。バリエーションの種類は LoF (Stop-gained, Splice site disrupting, Frameshift variants) と missense バリエーションを、アレル頻度は singleton のバリエーションを評価した。

順位	遺伝子	P値	PLI	misZ
1	Gene A	0.00004	0	≥ 1
2	<i>FBN1</i>	0.00026	≥ 0.9	≥ 5
3	Gene B	0.00042	≤ 0.9	≥ 3
4	Gene C	0.0005	N.A	N.A
5	Gene D	0.00113	≤ 0.2	≥ 2
6	Gene E	0.00113	≤ 0.2	≥ 2
7	Gene F	0.0015	≥ 0.9	≥ 1
8	Gene G	0.00181	≤ 0.1	≥ 0
9	Gene H	0.0024	N.A	N.A
10	<i>MRF1</i>	0.00513	≥ 0.9	≥ 5

解析の結果、*FBN1* が上位に検出され Burden test が遺伝要因の探索に有用であることを確認した。Burden test の結果の一部を提示する (表 1)。

(4) 本研究のコホートサイズ (患者、対照それぞれ 450 名程度) では、遺伝子に集積したバリエーションが 12 個以下のものに関して exome-wide な統計学的有意差を得ることは理論上不可能である。実際表 1 に示すように上位 10 位までの候補遺伝子であっても統計的優位差を得られた遺伝子はなかった。従って、統計学的有意差を厳密に得られなくても、患者群のみにバリエーションが集積している遺伝子については候補として検討を行った。候補遺伝子の組織発現パターン、当該遺伝子の機能的変異に関する不寛容性 (PLI スコア) 等も考慮した (表 1)。候補遺伝子 *MRF1* (仮名) はマウス胚発生期に神経系、心臓に特異的発現する。またその KO マウスは神経細胞移動障害と心臓発生に異常をきたし、胎生致死であることが報告されている。興味深いことにヒトの成体 (The Genotype-Tissue Expression (GTEx) データベース) において *MRF1* は大動脈特異的に発現を示した。また *MRF1* は PLI スコア、misZ スコア (公開 WES データベース ExAC のデータを用いて各遺伝子の variant 観察頻度の予測頻度からの偏向を指標化したスコア) により、Loss-of-function (LoF) 変異やミスセンス変異に対して不寛容 (負の選択圧により集団中の variant 観察頻度が予測されるよりも低頻度) であることが示唆されており、有力な候補遺伝子と考えている。

(5) 451 例の患者群データについてはゲノムコピー数解析が未実施であったため、全エクソームデータデータを用いたコピー数変化解析を行った。Exome Hidden Markov Model (XHMM) 法により全ゲノムの俯瞰的な解析を行い、2 症例で *FBN1* 欠失、1 例で *MYH11* 重複を同定した。更に、少なくとも 200 kb 以上のサイズの欠失を 11 症例 12 か所 (range: 221kb-4.8Mb) で検出した。今後病的意義について検討を行う必要がある。

(6) 新たに 15 検体のマルファン症候群および類縁疾患の症例を集積し全エクソーム解析を実施した。7 症例において既知遺伝子の病的バリエーションを同定した。変異未同定の 8 症例については Burden test の患者群としてエントリーした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 36 件)

1. **Mizuguchi T**, Nakashima M, Moey LH, Ch'ng GS, Khoo TB, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Saito H, Matsumoto N. A novel homozygous truncating variant of *NECAP1* in early infantile epileptic encephalopathy: the second case report of EIEE21. *J Hum Genet*. 査読有 2019;64(4):347-50 10.1038/s10038-018-0556-2.
2. **Mizuguchi T**, Suzuki T, Abe C, Umemura A, Tokunaga K, Kawai Y, Nakamura M, Nagasaki M, Kinoshita K, Okamura Y, Miyatake S, Miyake N, Matsumoto N. A 12-kb structural variation in progressive myoclonic epilepsy was newly identified by

- long-read whole-genome sequencing. *J Hum Genet*. 査読有 2019;64(5):359-68 10.1038/s10038-019-0569-5.
3. **Mizuguchi T**, Toyota T, Adachi H, Miyake N, Matsumoto N, Miyatake S. Detecting a long insertion variant in SAMD12 by SMRT sequencing: implications of long-read whole-genome sequencing for repeat expansion diseases. *J Hum Genet*. 査読有 2019;64(3):191-7 10.1038/s10038-018-0551-7.
 4. **Mizuguchi T**, Nakashima M, Kato M, Okamoto N, Kurahashi H, Ekhilevitch N, Shiina M, Nishimura G, Shibata T, Matsuo M, Ikeda T, Ogata K, Tsuchida N, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Saitsu H, Matsumoto N. Loss-of-function and gain-of-function mutations in PPP3CA cause two distinct disorders. *Hum Mol Genet*. 査読有 2018;27(8):1421-33 10.1093/hmg/ddy052.
 5. Aoi H, Lei M, **Mizuguchi T**, Nishioka N, Goto T, Miyama S, Suzuki T, Iwama K, Uchiyama Y, Mitsuhashi S, Itakura A, Takeda S, Matsumoto N. Nonsense variants in STAG2 result in distinct sex-dependent phenotypes. *J Hum Genet*. 査読有 2019;64(5):487-92 10.1038/s10038-019-0571-y.
 6. Hamanaka K, Takata A, Uchiyama Y, Miyatake S, Miyake N, Mitsuhashi S, Iwama K, Fujita A, Imagawa E, Alkanaq AN, Koshimizu E, Azuma Y, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Saitsu H, Wada Y, Minami S, Katoh-Fukui Y, Masunaga Y, Fukami M, Hasegawa T, Ogata T, Matsumoto N. MYRF haploinsufficiency causes 46,XY and 46,XX disorders of sex development: bioinformatics consideration. *Hum Mol Genet*. 査読有 2019 10.1093/hmg/ddz066.
 7. Iwama K, **Mizuguchi T**, Takeshita E, Nakagawa E, Okazaki T, Nomura Y, Iijima Y, Kajiura I, Sugai K, Saito T, Sasaki M, Yuge K, Saikusa T, Okamoto N, Takahashi S, Amamoto M, Tomita I, Kumada S, Anzai Y, Hoshino K, Fattal-Valevski A, Shiroma N, Ohfu M, Moroto M, Tanda K, Nakagawa T, Sakakibara T, Nabatame S, Matsuo M, Yamamoto A, Yukishita S, Inoue K, Waga C, Nakamura Y, Watanabe S, Ohba C, Sengoku T, Fujita A, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Ogata K, Ito S, Saitsu H, Matsuishi T, Goto YI, Matsumoto N. Genetic landscape of Rett syndrome-like phenotypes revealed by whole exome sequencing. *J Med Genet*. 査読有 2019 10.1136/jmedgenet-2018-105775.
 8. Matsumoto A, Nagashima M, Iwama K, **Mizuguchi T**, Makino S, Ikeda T, Muramatsu K, Matsumoto N, Yamagata T, Osaka H. Rapid progression of a walking disability in a 5-year-old boy with a CLN6 mutation. *Brain Dev*. 2019 10.1016/j.braindev.2019.04.009.
 9. Mitsuhashi S, Frith MC, **Mizuguchi T**, Miyatake S, Toyota T, Adachi H, Oma Y, Kino Y, Mitsuhashi H, Matsumoto N. Tandem-genotypes: robust detection of tandem repeat expansions from long DNA reads. *Genome Biol*. 査読有 2019;20(1):58 10.1186/s13059-019-1667-6.
 10. Okamoto N, Arai H, Onishi T, **Mizuguchi T**, Matsumoto N. Intellectual disability and dysmorphic features in male siblings arising from a novel TAF1 mutation. *Congenit Anom (Kyoto)*. 査読有 2019 10.1111/cga.12330.
 11. Saida K, Silva S, Solar B, Fujita A, Hamanaka K, Mitsuhashi S, Koshimizu E, **Mizuguchi T**, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Matsumoto N. SOFT syndrome in a patient from Chile. *Am J Med Genet A*. 査読有 2019;179(3):338-40 10.1002/ajmg.a.61015.
 12. Hamanaka K, Sugawara Y, Shimoji T, Nordtveit TI, Kato M, Nakashima M, Saitsu H, Suzuki T, Yamakawa K, Aukrust I, Houge G, Mitsuhashi S, Takata A, Iwama K, Alkanaq A, Fujita A, Imagawa E, **Mizuguchi T**, Miyake N, Miyatake S, Matsumoto N. De novo truncating variants in PHF21A cause intellectual disability and craniofacial anomalies. *Eur J Hum Genet*. 査読有 2019;27(3):378-83 10.1038/s41431-018-0289-x.
 13. Belal H, Nakashima M, Matsumoto H, Yokochi K, Taniguchi-Ikeda M, Aoto K, Amin MB, Maruyama A, Nagase H, **Mizuguchi T**, Miyatake S, Miyake N, Iijima K, Nonoyama S, Matsumoto N, Saitsu H. De novo variants in RHOBTB2, an atypical Rho GTPase gene, cause epileptic encephalopathy. *Hum Mutat*. 査読有 2018;39(8):1070-5 10.1002/humu.23550.
 14. Fukuda H, Imagawa E, Hamanaka K, Fujita A, Mitsuhashi S, Miyatake S, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Kramer U, Matsumoto N, Fattal-Valevski A. A novel missense SNAP25b mutation in two affected siblings from an Israeli family showing seizures and cerebellar ataxia. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(5):673-6 10.1038/s10038-018-0421-3.
 15. Hamanaka K, Miyatake S, Koshimizu E, Tsurusaki Y, Mitsuhashi S, Iwama K, Alkanaq AN, Fujita A, Imagawa E, Uchiyama Y, Tawara N, Ando Y, Misumi Y, Okubo M, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Saitsu H, Iida A, Nishino I, Matsumoto N. RNA sequencing solved the most common but unrecognized NEB

- pathogenic variant in Japanese nemaline myopathy. *Genet Med*. 査読有 2018;10.1038/s41436-018-0360-6.
16. Hamanaka K, Miyatake S, Zerem A, Lev D, Blumkin L, Yokochi K, Fujita A, Imagawa E, Iwama K, Nakashima M, Mitsuhashi S, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Saitsu H, van der Knaap MS, Lerman-Sagie T, Matsumoto N. Expanding the phenotype of IBA57 mutations: related leukodystrophy can remain asymptomatic. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(12):1223-9 10.1038/s10038-018-0516-x.
 17. Hamanaka K, Takahashi K, Miyatake S, Mitsuhashi S, Hamanoue H, Miyaji Y, Fukai R, Doi H, Fujita A, Imagawa E, Iwama K, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Takeuchi H, Tanaka F, Matsumoto N. Confirmation of SLC5A7-related distal hereditary motor neuropathy 7 in a family outside Wales. *Clin Genet*. 査読有 2018;94(2):274-5 10.1111/cge.13369.
 18. Imagawa E, Albuquerque EVA, Isidor B, Mitsuhashi S, **Mizuguchi T**, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Boguszewski MCS, Boguszewski CL, Lerario AM, Funari MA, Jorge AAL, Matsumoto N. Novel SUZ12 mutations in Weaver-like syndrome. *Clin Genet*. 査読有 2018;94(5):461-6 10.1111/cge.13415.
 19. Imagawa E, Yamamoto Y, Mitsuhashi S, Isidor B, Fukuyama T, Kato M, Sasaki M, Tanabe S, Miyatake S, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Matsumoto N. PRUNE1-related disorder: Expanding the clinical spectrum. *Clin Genet*. 査読有 2018;94(3-4):362-7 10.1111/cge.13385.
 20. Iwama K, Iwata A, Shiina M, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Ogata K, Ito S, **Mizuguchi T**, Matsumoto N. A novel mutation in SLC1A3 causes episodic ataxia. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(2):207-11 10.1038/s10038-017-0365-z.
 21. Iwama K, Osaka H, Ikeda T, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Ito S, **Mizuguchi T**, Matsumoto N. A novel SLC9A1 mutation causes cerebellar ataxia. 査読有 *J Hum Genet*. 2018;63(10):1049-54 10.1038/s10038-018-0488-x.
 22. Iwama K, Takaori T, Fukushima A, Tohyama J, Ishiyama A, Ohba C, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Ito S, Saitsu H, **Mizuguchi T**, Matsumoto N. Novel recessive mutations in MSTO1 cause cerebellar atrophy with pigmentary retinopathy. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(3):263-70 10.1038/s10038-017-0405-8.
 23. Miyake N, Ozasa S, Mabe H, Kimura S, Shiina M, Imagawa E, Miyatake S, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Takata A, Ogata K, Matsumoto N. A novel missense mutation affecting the same amino acid as the recurrent PACS1 mutation in Schuurs-Hoeijmakers syndrome. *Clin Genet*. 査読有 2018;93(4):929-30 10.1111/cge.13105.
 24. Miyatake S, Kato M, Sawaishi Y, Saito T, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Mitsuhashi S, Takata A, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. Recurrent SCN3A p.Ile875Thr variant in patients with polymicrogyria. *Ann Neurol*. 2018;84(1):159-61 10.1002/ana.25256.
 25. Miyatake S, Koshimizu E, Shirai I, Kumada S, Nakata Y, Kamemaru A, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Miyake N, Saitsu H, Matsumoto N. A familial case of PDE10A-associated childhood-onset chorea with bilateral striatal lesions. *Mov Disord*. 査読有 2018;33(1):177-9 10.1002/mds.27219.
 26. Miyatake S, Schneeberger S, Koyama N, Yokochi K, Ohmura K, Shiina M, Mori H, Koshimizu E, Imagawa E, Uchiyama Y, Mitsuhashi S, Frith MC, Fujita A, Satoh M, Taguri M, Tomono Y, Takahashi K, Doi H, Takeuchi H, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Saitsu H, Tanaka F, Ogata K, Hennet T, Matsumoto N. Biallelic COLGALT1 variants are associated with cerebral small vessel disease. *Ann Neurol*. 査読有 2018;84(6):843-53 10.1002/ana.25367.
 27. Nakashima M, Kato M, Aoto K, Shiina M, Belal H, Mukaida S, Kumada S, Sato A, Zerem A, Lerman-Sagie T, Lev D, Leong HY, Tsurusaki Y, **Mizuguchi T**, Miyatake S, Miyake N, Ogata K, Saitsu H, Matsumoto N. De novo hotspot variants in CYFIP2 cause early-onset epileptic encephalopathy. *Ann Neurol*. 査読有 2018;83(4):794-806 10.1002/ana.25208.
 28. Sekiguchi F, Nasiri J, Sedghi M, Salehi M, Hosseinzadeh M, Okamoto N, **Mizuguchi T**, Nakashima M, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Matsumoto N. A novel homozygous DPH1 mutation causes intellectual disability and unique craniofacial features. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(4):487-91 10.1038/s10038-017-0404-9.
 29. Suzuki T, Behnam M, Ronasian F, Salehi M, Shiina M, Koshimizu E, Fujita A, Sekiguchi F, Miyatake S, **Mizuguchi T**, Nakashima M, Ogata K, Takeda S, Matsumoto N, Miyake N. A homozygous NOP14 variant is likely to cause recurrent pregnancy loss. *J Hum Genet*. 査読有 2018;63(4):425-30 10.1038/s10038-018-0410-6.
 30. Takata A, Miyake N, Tsurusaki Y, Fukai R, Miyatake S, Koshimizu E, Kushima I, Okada T, Morikawa M, Uno Y, Ishizuka K, Nakamura K, Tsujii M, Yoshikawa T,

Toyota T, Okamoto N, Hiraki Y, Hashimoto R, Yasuda Y, Saitoh S, Ohashi K, Sakai Y, Ohga S, Hara T, Kato M, Nakamura K, Ito A, Seiwa C, Shirahata E, Osaka H, Matsumoto A, Takeshita S, Tohyama J, Saikusa T, Matsuishi T, Nakamura T, Tsuboi T, Kato T, Suzuki T, Saito H, Nakashima M, **Mizuguchi T**, Tanaka F, Mori N, Ozaki N, Matsumoto N. Integrative Analyses of De Novo Mutations Provide Deeper Biological Insights into Autism Spectrum Disorder. Cell Rep. 査読有 2018;22(3):734-47 10.1016/j.celrep.2017.12.074.

31. Tsuchida N, Hamada K, Shiina M, Kato M, Kobayashi Y, Tohyama J, Kimura K, Hoshino K, Ganesan V, Teik KW, Nakashima M, Mitsuhashi S, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Saito H, Ogata K, Miyatake S, Matsumoto N. GRIN2D variants in three cases of developmental and epileptic encephalopathy. Clin Genet. 査読有 2018;94(6):538-47 10.1111/cge.13454.
32. Tsuchida N, Nakashima M, Kato M, Heyman E, Inui T, Haginoya K, Watanabe S, Chiyonobu T, Morimoto M, Ohta M, Kumakura A, Kubota M, Kumagai Y, Hamano SI, Lourenco CM, Yahaya NA, Ch'ng GS, Ngu LH, Fattal-Valevski A, Weisz Hubshman M, Orenstein N, Marom D, Cohen L, Goldberg-Stern H, Uchiyama Y, Imagawa E, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Nakajima H, Saito H, Miyatake S, Matsumoto N. Detection of copy number variations in epilepsy using exome data. Clin Genet. 査読有 2018;93(3):577-87 10.1111/cge.13144.
33. Tsuchida N, Nakashima M, Miyauchi A, Yoshitomi S, Kimizu T, Ganesan V, Teik KW, Ch'ng GS, Kato M, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyatake S, Miyake N, Osaka H, Yamagata T, Nakajima H, Saito H, Matsumoto N. Novel biallelic SZT2 mutations in 3 cases of early-onset epileptic encephalopathy. Clin Genet. 2018;93(2):266-74 10.1111/cge.13061.
34. Uchiyama Y, Ogawa Y, Kunishima S, Shiina M, Nakashima M, Yanagisawa K, Yokohama A, Imagawa E, Miyatake S, **Mizuguchi T**, Takata A, Miyake N, Ogata K, Handa H, Matsumoto N. A novel GFI1B mutation at the first zinc finger domain causes congenital macrothrombocytopenia. Br J Haematol. 査読有 2018;181(6):843-7 10.1111/bjh.14710.
35. Uchiyama Y, Yanagisawa K, Kunishima S, Shiina M, Ogawa Y, Nakashima M, Hirato J, Imagawa E, Fujita A, Hamanaka K, Miyatake S, Mitsuhashi S, Takata A, Miyake N, Ogata K, Handa H, Matsumoto N, **Mizuguchi T**. A novel CYCS mutation in the alpha-helix of the CYCS C-terminal domain causes non-syndromic thrombocytopenia. Clin Genet. 査読有 2018;94(6):548-53 10.1111/cge.13423.
36. Yuge K, Iwama K, Yonee C, Matsufuji M, Sano N, Saikusa T, Yae Y, Yamashita Y, **Mizuguchi T**, Matsumoto N, Matsuishi T. A novel STXBP1 mutation causes typical Rett syndrome in a Japanese girl. Brain Dev. 査読有 2018;40(6):493-7 10.1016/j.braindev.2018.02.002.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. Takeshi Mizuguchi. Identifying Pathogenic Structural Variant in Unresolved Case of Epilepsy from PacBio Long-read WGS. Human Genome Meeting 2019 (招待講演) (国際学会) 24-26 April 2019. Ewha Womans University, Seoul, South Korea.
2. 水口 剛 Loss-of-function and gain-of-function mutations in PPP3CA cause two distinct disorders. 日本人類遺伝学会第 63 回大会 2018 年 10 月 10 日～13 日. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)口演
3. 水口 剛 PARS2 and NARS2 mutations in patients with infantile-onset developmental delay/regression and epilepsy. 日本人類遺伝学会第 62 回大会 2017 年 11 月 15 日～18 日. 神戸国際会議場(兵庫県神戸市)ポスター

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし