

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32620

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03624

研究課題名(和文) 遺伝子発現異常を生じるミトコンドリア病原因変異の包括的解析

研究課題名(英文) Comprehensive analysis of aberrant gene expression in mitochondrial disorders

研究代表者

岡崎 康司 (OkazakiYasushi, Yasushi)

順天堂大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：80280733

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：ミトコンドリア病はミトコンドリア機能異常を呈する疾患の総称であるが、現在の国の定める指定難病あるいは小児慢性特定疾患となっている。我々は、これまでに日本国内で最大規模のミトコンドリア病の臨床診断と疾患ゲノム解析に取り組んできた。従来行ってきた全エクソーム解析では解決できない症例が多く残っていたため、本研究ではRNAシーケンシング、全ゲノム解析、プロテオーム解析の多階層オミクス技術を用い、原因解明に取り組んだ。この結果、これまでの解析では同定することができなかった複数の新規変異を見出すことに成功した。WGSとRNA-seq、プロテオームによる包括的解析は遺伝子診断率の向上に繋がった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年ミトコンドリア病の診断システムが向上し、1500人に一人の割合で発症すると報告されている。希少疾患に分類されてきたが、発症頻度の高い疾患という見方をすべきであると考えられる。一方、遺伝子診断による原因遺伝子の確定率は、我々や海外の研究で約30-60%となっており、遺伝的な診断がつかない症例が残っている。一部の遺伝子異常に関しては、食事療法等が有効となることが示されており、適切な診断が予後を左右する場面が多くなってきた。オミクス技術を駆使した遺伝子診断を行うことで、未解決となっていた症例を正しく診断することができた。本研究における診断率の向上が適切な治療選択へとつながっていくと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Mitochondrial disease is a general term for diseases with abnormal mitochondrial function. This disease is designated as either Intractable Disease and Specific Pediatric Chronic Diseases by the Japanese government. We have been engaged in the clinical diagnosis and genome analysis of mitochondrial diseases on the largest scale in Japan. Since there remained many cases that could not be resolved by conventional whole exome sequencing, we here used multi-omics technologies of RNA sequencing, whole genome analysis, and proteome analysis to elucidate the cause of the disease. As a result, we succeeded in finding multiple novel mutations based on WGS, RNA-seq, and proteome analysis. These results led to an improvement in the rate of genetic diagnosis.

研究分野：ゲノム医学

キーワード：ミトコンドリア病 全エクソーム解析 全ゲノム解析 プロテオーム RNAシーケンス マルチオミクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア病はミトコンドリア機能異常に端を発する疾患である。当疾患は、現在国の定める指定難病および小児慢性特定疾病となっている。ミトコンドリア病は、ミトコンドリア遺伝子だけでなく、核遺伝子の異常によっても発症する。小児のミトコンドリア病では、ミトコンドリア遺伝子の変異よりも核遺伝子の変異が原因となるものが多いと考えられている。現在までに、400近い核遺伝子に原因変異が見つかり、研究代表者・岡崎らは、これまでに日本国内で最大規模のミトコンドリア病の臨床診断と疾患ゲノム解析に取り組んできた。この中で *TOP3A*, *C1QBP*, *QRSL1*, *MRPS23*, *IARS*, *SLC25A26*, *GTPBP3*, *COQ4* など数多くの新規原因遺伝子を発見し、論文報告してきた。これまで遺伝子エクソン領域をターゲットとした全エクソーム解析を中心として遺伝子解析を進めてきたが、全エクソーム解析での限界も見えてきた。そこで本研究では、RNA シーケンシング、全ゲノム解析、プロテオーム解析の多階層オミクス技術を用い、この遺伝子解析の基盤を拡張させ、さらなる原因解明に挑んだ。

## 2. 研究の目的

先行研究では、ゲノム解析によって多くのミトコンドリア病原因遺伝子を明らかにした。我々のグループでは、全エクソーム解析とミトコンドリアゲノムシーケンス、SNP アレイを用いた染色体構造異常の解析を行い、原因探索を進めてきた(Ohtake et al, *Biochim Biophys Acta*, 2014; Kohda et al, *PLoS Genet*, 2016)。論文発表当初の診断率は 35%であったが、その後の努力により 42%に診断率を引き上げることができた。しかしながら、現行の解析システムではカバーしきれない原因変異が残っており、本研究では特に、これまで見過ごされてきたエクソン以外の領域にフォーカスしていく。全ゲノム解析と RNA シーケンシング、プロテオーム解析といった多階層オミクス解析の導入によりこれを解決する。

## 3. 研究の方法

### (1)全エクソーム解析後の症例から解析対象を選別

ミトコンドリア病の全国からの患者収集および生化学診断を継続した(埼玉医科大学小児科と千葉県こども病院を中心として)、全エクソーム解析後も原因が特定できなかった症例の中で、線維芽細胞を取得している症例をピックアップした。さらに、線維芽細胞においてミトコンドリア機能異常(ミトコンドリア呼吸鎖複合体の活性異常および酸素消費量の低下)を示す症例を選別した。RNA シーケンシングとプロテオームは線維芽細胞を用いて行うため、線維芽細胞においてもミトコンドリア異常を示している症例では遺伝子発現が異常を来している可能性が高く、原因が特定できる可能性が高まると考えた。

### (2)全ゲノム解析および RNA シーケンシング

上記で選別した症例において、全ゲノム解析および RNA シーケンシングを実施する。RNA シーケンスデータから mRNA 発現異常を示す遺伝子を同定した。共同研究者であるドイツ・ヘルムホルツ研究所の Holger Prokisch らが開発した RNA シーケンスデータの解析ツールである OUTRIDER(Brechtman et al, *Am J Hum Genet*, 2018)を用いた。このツールは、遺伝子間の共変動に従って自動カウントし、リードカウント期待値を算出するものである。実測のリードカウントは、負の二項分布に従うと仮定されるが、外れ値となったものが異常な発現を示す遺伝子として、抽出される。さらに、FRAZER(Mertes et al, *Nat Commun*, 2021)を用いてスプライシングの異常を、またエクソームデータ(もしくは全ゲノムデータ)と RNA シーケンスデータの比較から片アリル発現を示す RNA を特定した。

### (3)プロテオーム解析を用いた原因タンパク質の解析

RNA シーケンシングと並行して、患者由来線維芽細胞でプロテオーム解析を行った。Wu が開発した mito-SWATH-MS を用いることで、ミトコンドリア局在タンパク質の変化を明らかにし、病因と考えられるタンパク質を同定した。RNA シーケンシングのデータとセットで、同様の発現異常が生じている遺伝子を特定することができると考えられる。

### (4)原因候補遺伝子の検証実験

上記の解析により、原因の可能性が高いと判断された遺伝子にフォーカスし、検証実験を行う。患者由来の線維芽細胞におけるミトコンドリア機能の変化を検証した。具体的には、ミトコンドリア呼吸鎖や原因タンパク質の機能の変化を解析した。

## 4. 研究成果

### (1)ATAD3 遺伝子重複の同定

先行研究において、小脳異常を呈するミトコンドリア病症例から *ATAD3* 遺伝子における欠失を発見し、2017 年に英科学雑誌 *Brain* 誌に報告していた(Desai et al, *Brain*, 2017)。この *ATAD3* 遺伝子の欠失は多くの場合、両親から遺伝して、父方と母方の両方の染色体上に遺伝子欠損を有し、中枢神経症状を呈することを明らかにしている(図 1)。

本研究では、ミトコンドリア心筋症を呈する患者を対象に、全ゲノム解析および全エクソーム解析を行い、*ATAD3* 遺伝子座における *ATAD3* 遺伝子の重複を同定した(図 1 および 2)。*ATAD3* は ATPase family AAA domain-containing protein 3 の略で、ミトコンドリアにおいてコレステロール代謝やミトコンドリア DNA の維持等に必要であることが明らかになっていた。ヒトにおいては、*ATAD3A*, *ATAD3B*, *ATAD3C* が存在しており、1 番染色体上に並んでクラスターを形成している。今回同定された遺伝子重複は結果的に *ATAD3B* の 1 コピー増加と、*ATAD3A/C* の融合遺伝子を生じていた。家族内の解析を行った結果、両親にはこの重複は観察されず、*de novo* 遺伝子異常として生じていることを明らかにした。また、国際共同研究グループがミトコンドリア心筋症の症例について調査したところ、国内の 4 症例を含め、計 16 家系、17 患者で異常が見つかった。ほとんどの症例で、出生以前の胎児期から症状を呈しており、新生児早期に非常に重篤な心筋症を有することが明らかとなった。

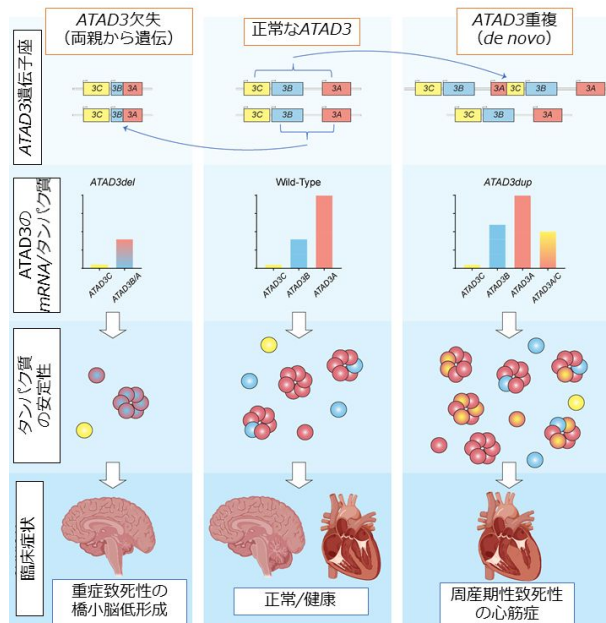


図 1 .*ATAD3* の遺伝子異常で生じるミトコンドリア病の発症メカニズム

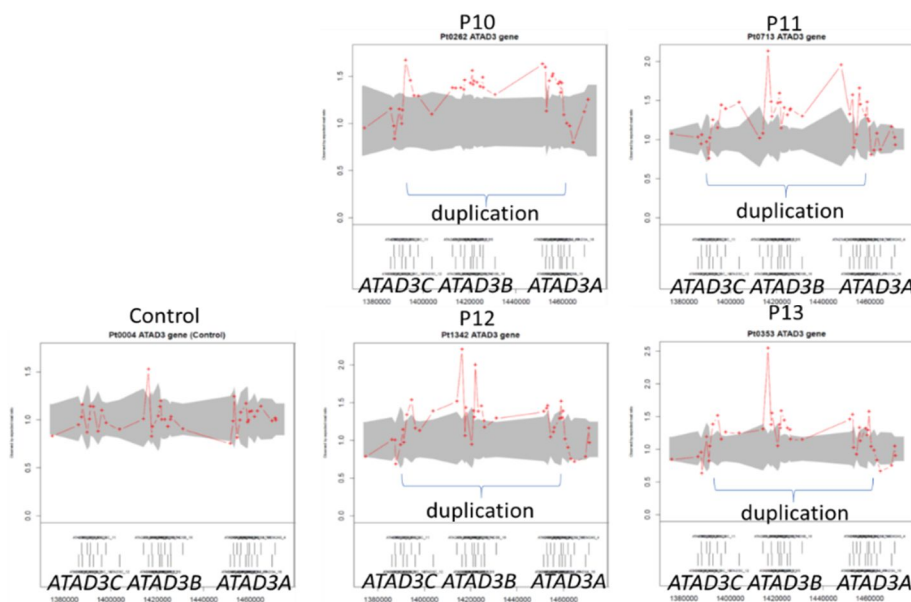


図 2 .*ATAD3* 遺伝子重複の検出

上述の通り、*ATAD3* 遺伝子の重複は *ATAD3A/C* 融合タンパク質を生じる。*ATAD3A/C* の異常タンパク質が実際に生体内で発現していることは、プロテオーム解析やウエスタンブロットなどのタンパク質の発現解析実験で確認した。また、*ATAD3* 遺伝子重複を持つ症例では、正常検体に比べて *ATAD3* 複合体形成が変化していることも明らかとなった。また、同時にミトコンドリア呼吸鎖複合体形成にも異常をきたしており、*ATAD3* 遺伝子の重複は *ATAD3* 複合体の異常を介して、ミトコンドリア機能異常を引き起こしていることが示唆された。

上記の 4 症例は論文報告したが、そのあとに、心筋症の症例を対象にした PCR ベースの *ATAD3* 重複のスクリーニングを行った。その結果、追加で 2 症例が新たに見つかった。これまで *ATAD3* 遺伝子座の構造的複雑さから遺伝子異常の検出が難しかったという点で、遺伝子異常が見過ごされてきた可能性がある。今回の研究で新生児ミトコンドリア心筋症に関わる遺伝子異常の詳細を明らかにしたことで、今後同様の遺伝子異常を持つ症例が新たに見つかる可能性が高く、早期の遺伝子診断や精度向上にも貢献すると考えられる。

## (2) *NDUFV2* 遺伝子異常の同定

ミトコンドリア病の未解決症例を対象として、全ゲノム解析と RNA シーケンスを行った。対象となる症例はミトコンドリア呼吸鎖 I の異常を呈しており、生化学診断によりミトコンドリア病とされていた。従来のゲノム解析方法である全エクソーム解析を用いて原因探索を行い、*NDUFV2* 遺伝子にヘテロ接合の c.580G>A (p.Glu194Lys) の遺伝子異常を有することは明らかにしていた。しかし、ヘテロ接合の状態では病的原因と考えられないため、原因確定には至っていなかった。全ゲノム解析と RNA シーケンスを行うことで、*NDUFV2* に別の遺伝子異常を有することを明らかにした。RNA シーケンスのデータから遺伝子発現の偏りがあることとエクソンスキップが起こっていることを見出した (図 3)。

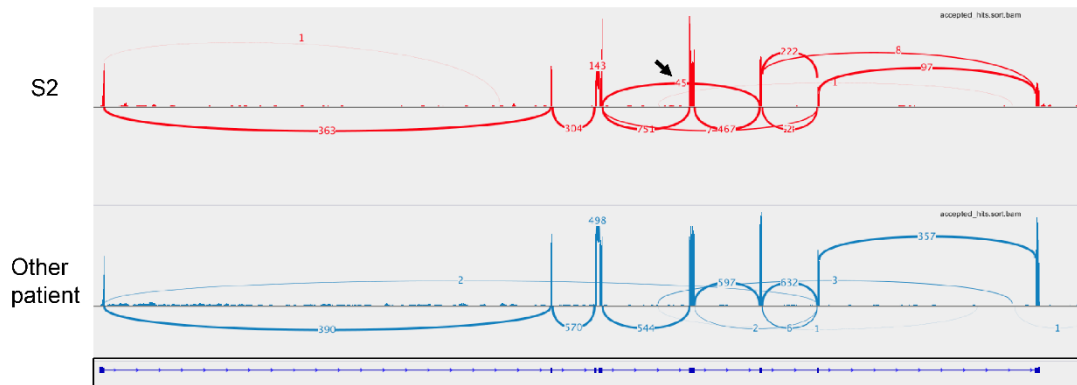


図 3. *NDUFV2* 遺伝子におけるエクソンスキップ

全ゲノム解析を行った結果では、*NDUFV2* 遺伝子のイントロン 4-エクソン 5-イントロン 5 にまたがる遺伝子欠失が存在することを明らかにした (図 4)。エクソンスキップが確認されていたエクソン 5 を巻き込んだ欠失であったことから、これが疾患の原因と考えられた。

PCR とサンガーシーケンスにより欠失の詳細を確認した。その結果、この欠失は Alu 因子を介した欠失であることが明らかとなった。Alu 因子はゲノム上を移動するトランスポゾンであり、今回の場合は Alu 因子がゲノム上を移動した結果、周辺の領域を巻き込んだ欠失を起こしていたことが示唆された (図 5)。このような現象は

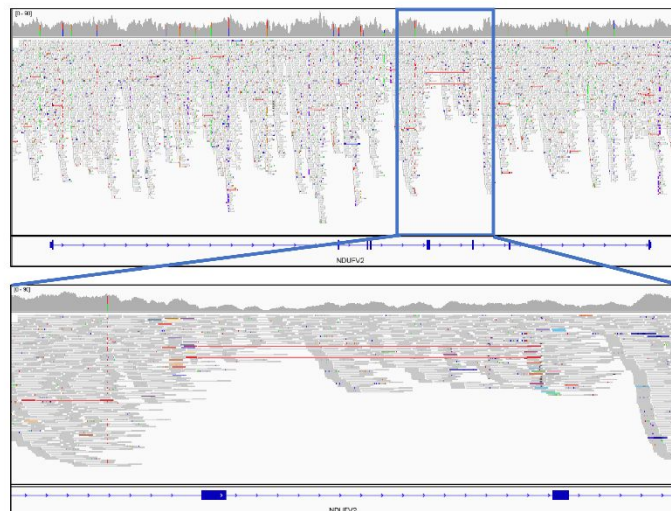


図 4. 全ゲノム解析による *NDUFV2* 遺伝子欠失の同定

稀であり、典型的なミトコンドリア病としては初めて示された症例である。タンパク質の発現量の解析では、*NDUFV2* タンパク質が顕著に発現低下していることを確認した。

以上より、ミトコンドリア病の未解決症例においてマルチオミクス解析により疾患原因となる *NDUFV2* 遺伝子異常を特定することができた。

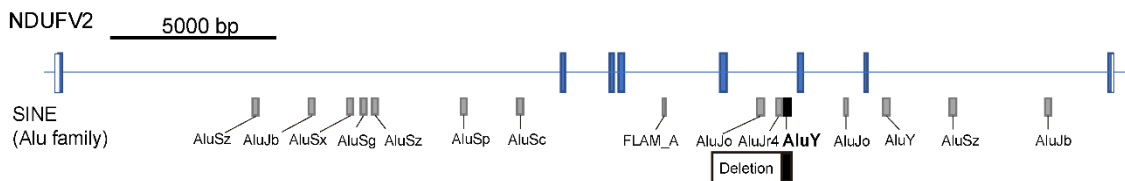


図 5. Alu 因子を介した *NDUFV2* 遺伝子の欠失

## (3) *NFU1* 遺伝子異常の同定

ミトコンドリア病の未解決症例を対象として、全ゲノム解析と RNA シーケンス、プロテオーム解析を行った。対象となる症例はミトコンドリア呼吸鎖 I の異常を呈しており、Leigh 脳症と診断されていた。従来のゲノム解析方法である全エクソーム解析を用いて原因探索を行い、*NFU1* 遺伝子にヘテロ接合の c.362T>C (p.Val191Ala) の遺伝子異常を有することは明らかになっていた。

しかし、ヘテロ接合の状態では病的原因と考えられないため、原因確定には至っていなかった。RNA シーケンスとプロテオーム解析を行うことで、*NFU1* の明らかな遺伝子発現異常を呈していることが明らかにした(図6)。また、RNA シーケンスのデータからモノアレル性の発現を示していることも見出した。

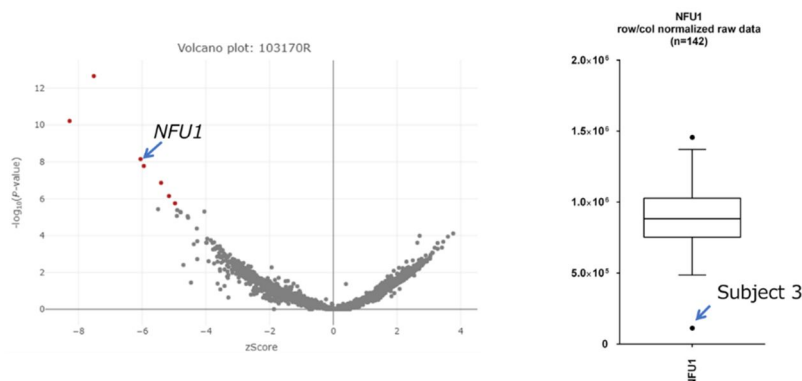


図6. RNA シーケンス(左図)とプロテオーム解析(右図)から明らかとなった *NFU1* の発現低下

全ゲノム解析を行った結果では、*NFU1* 遺伝子のイントロン3-エクソン4-イントロン4にまたがる遺伝子欠失が存在することを明らかにした(図7)。また、PCR とサンガーシーケンスにより欠失の詳細を確認した結果、この欠失は Alu 因子を介した欠失であることが明らかとなった。

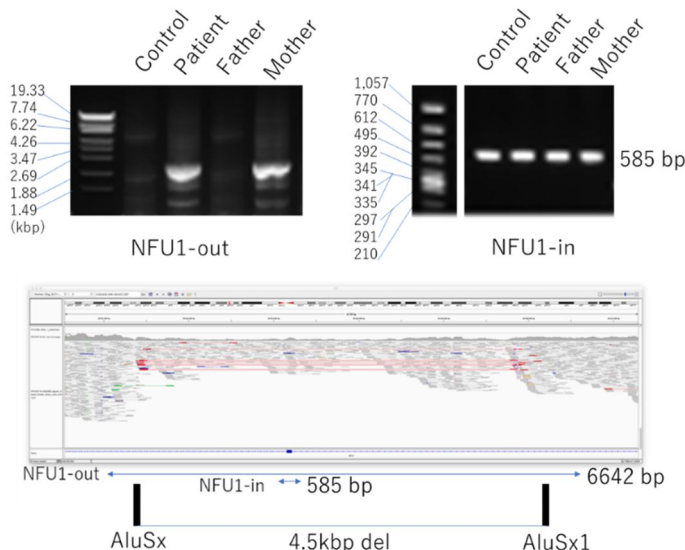


図7. 全ゲノム解析および PCR による *NFU1* の欠失の解析

#### 参考文献

- 1 .Ohtake A et al. Diagnosis and molecular basis of mitochondrial respiratory chain disorders: exome sequencing for disease gene identification. *Biochim Biophys Acta*. 2014. 1840(4):1355-9. doi: 10.1016/j.bbagen.2014.01.025.
- 2 .Kohda M et al. A Comprehensive Genomic Analysis Reveals the Genetic Landscape of Mitochondrial Respiratory Chain Complex Deficiencies. *PLoS Genet*. 2016. 12(1):e1005679. doi: 10.1371/journal.pgen.1005679.
- 3 .Brechtmann F et al. OUTRIDER: A Statistical Method for Detecting Aberrantly Expressed Genes in RNA Sequencing Data. *Am J Hum Genet*. 2018. 103(6):907-917. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.10.025.
- 4 .Mertes C et al. Detection of aberrant splicing events in RNA-seq data using FRASER. *Nat Commun*. 2021. 12(1):529. doi: 10.1038/s41467-020-20573-7.
- 5 .Desai R et al. ATAD3 gene cluster deletions cause cerebellar dysfunction associated with altered mitochondrial DNA and cholesterol metabolism. *Brain*. 2017. 140(6):1595-1610. doi: 10.1093/brain/awx094.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Frazier AE, Compton AG, Kishita Y, Hock DH, Welch AE, Amarasekera SSC, Rius R, Formosa LE, Imai-Okazaki A, Francis D, Wang M, Lake NJ, Tregoning S, Jabbari JS, Lucattini A, Nitta KR, Ohtake A, Murayama K, et al	4. 巻 2
2. 論文標題 Fatal Perinatal Mitochondrial Cardiac Failure Caused by Recurrent De Novo Duplications in the ATAD3 Locus	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Med	6. 最初と最後の頁 49 ~ 73.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.medj.2020.06.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kishita Y, Shimura M, Kohda M, Akita M, Imai-Okazaki A, Yatsuka Y, Nakajima Y, Ito T, Ohtake A, Murayama K, Okazaki Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 A novel homozygous variant in MICOS13/QIL1 causes hepato encephalopathy with mitochondrial DNA depletion syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Genetics & Genomic Medicine	6. 最初と最後の頁 e1427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mgg3.1427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yatsuka Y, Kishita Y, Formosa LE, Shimura M, Nozaki F, Fujii T, Nitta KR, Ohtake A, Murayama K, Ryan MT, Okazaki Y.	4. 巻 98
2. 論文標題 A homozygous variant in NDUF8 is associated with developmental delay, microcephaly, and epilepsy due to mitochondrial complex I deficiency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Genetics	6. 最初と最後の頁 155 ~ 165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cge.13773	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Kori A, Hori I, Tanaka T, Aoyama K, Ito K, Hattori A, Ban K, Okazaki Y, Murayama K, Saitoh S.	4. 巻 41
2. 論文標題 Transition from Leigh syndrome to MELAS syndrome in a patient with heteroplasmic MT-ND3 m.10158T>C	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 803 ~ 807
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2019.05.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimura M, Nozawa N, Ogawa-Tominaga M, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Kishita Y, Ishii T, Takahashi K, Tanaka T, Nakajima M, Okazaki Y, Ohtake A, Murayama K.	4. 巻 9
2. 論文標題 Effects of 5-aminolevulinic acid and sodium ferrous citrate on fibroblasts from individuals with mitochondrial diseases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10549
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-46772-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kadoya T, Sakakibara A, Kitayama K, Yamada Y, Higuchi S, Kawakita R, Kawasaki Y, Fujino M, Murakami Y, Shimura M, Murayama K, Ohtake A, Okazaki Y, Koga Y, Yorifuji T.	4. 巻 32
2. 論文標題 Successful treatment of infantile-onset ACAD9-related cardiomyopathy with a combination of sodium pyruvate, beta-blocker, and coenzyme Q10	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 1181 ~ 1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/jpem-2019-0205	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takada R, Tozawa T, Kondo H, Kizaki Z, Kishita Y, Okazaki Y, Murayama K, Ohtake A, Chiyonobu T.	4. 巻 42
2. 論文標題 Early infantile-onset Leigh syndrome complicated with infantile spasms associated with the m.9185T>C variant in the MT-ATP6 gene: Expanding the clinical spectrum	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 69 ~ 72
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2019.08.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Moutaoufik MT, Maly R, Amin S, Zhang Q, Phanse S, Gagarinova A, Zilocchi M, Hoell L, Minic Z, Gagarinova M, Aoki H, Stockwell J, Jessulat M, Goebels F, Broderick K, Scott NE, Vlasblom J, Musso G, Prasad B, Lamantea E, Garavaglia B, Rajput A, Murayama K, Okazaki Y, Foster LJ, Bader GD, Cayabyab FS, Babu M.	4. 巻 19
2. 論文標題 Rewiring of the Human Mitochondrial Interactome during Neuronal Reprogramming Reveals Regulators of the Respirasome and Neurogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 1114 ~ 1132
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2019.08.057	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yao Y, Nishimura M, Murayama K, Kuranobu N, Tojo S, Beppu M, Ishige T, Itoga S, Tsuchida S, Mori M, Takayanagi M, Yokoyama M, Yamagata K, Kishita Y, Okazaki Y, Nomura F, Matsushita K, Tanaka T.	4. 巻 9
2. 論文標題 A simple method for sequencing the whole human mitochondrial genome directly from samples and its application to genetic testing	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17411
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-53449-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ogawa E, Fushimi T, Ogawa-Tominaga M, Shimura M, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Ishige M, Fuchigami T, Yamazaki T, Kishita Y, Kohda M, Imai-Okazaki A, Okazaki Y, Morioka I, Ohtake A, Murayama K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Mortality of Japanese patients with Leigh syndrome: Effects of age at onset and genetic diagnosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Inherited Metabolic Disease	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jimd.12218	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yepez VA, Gusic M, Kopajtich R, Mertes C, Smith NH, Alston CL, Ban R, Beblo S, Berutti R, Blessing H, Ciara E, Distelmaier F, Freisinger P, Haberle J, Hayflick SJ, Hempel M, Itkis YS, Kishita Y, Okazaki Y et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical implementation of RNA sequencing for Mendelian disease diagnostics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genome Medicine	6. 最初と最後の頁 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13073-022-01019-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimura M, Onuki T, Sugiyama Y, Matsunaga T, Ebihara T, Fushimi T, Tajika M, Ichimoto K, Matsunaga A, Tsuruoka T, Nitta KR, Imai-Okazaki A, Yatsuka Y, Kishita Y, Ohtake A, Okazaki Y, Murayama K.	4. 巻 63
2. 論文標題 Development of Leigh syndrome with a high probability of cardiac manifestations in infantile-onset patients with m.14453G>A	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Mitochondrion	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.mito.2021.12.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 Ku wajima M, Kojima K, Osaka H, Hamada Y, Jimbo E, Watanabe M, Aoki S, Sato-Shirai I, Ichimoto K, Fushimi T, Murayama K, Ohtake A, Kohda M, Kishita Y, Yatsuka Y, Uchino S, Mimaki M, Miyake N, Matsumoto N, Okazaki Y, Ogata T, Yamagata T, Muramatsu K.	4. 巻 29
2. 論文標題 Valine metabolites analysis in ECHS1 deficiency	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular Genetics and Metabolism Reports	6. 最初と最後の頁 100809 ~ 100809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ymgmr.2021.100809	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ebihara T, Nagatomo T, Sugiyama Y, Tsuruoka T, Osone Y, Shimura M, Tajika M, Matsuhashi T, Ichimoto K, Matsunaga A, Akiyama N, Ogawa-Tominaga M, Yatsuka Y, Nitta KR, Kishita Y, Fushimi T, Imai-Okazaki A, Ohtake A, Okazaki Y, Murayama K.	4. 巻 107
2. 論文標題 Neonatal-onset mitochondrial disease: clinical features, molecular diagnosis and prognosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition	6. 最初と最後の頁 329 ~ 334
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1136/archdischild-2021-321633	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishita Y, Shimura M, Kohda M, Fushimi T, Nitta KR, Yatsuka Y, Hirose S, Ideguchi H, Ohtake A, Murayama K, Okazaki Y.	4. 巻 42
2. 論文標題 Genome sequencing and RNA seq analyses of mitochondrial complex I deficiency revealed Alu insertion mediated deletion in NDUFV2	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Human Mutation	6. 最初と最後の頁 1422 ~ 1428
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/humu.24274	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imai-Okazaki A, Matsunaga A, Yatsuka Y, Nitta KR, Kishita Y, Sugiura A, Sugiyama Y, Fushimi T, Shimura M, Ichimoto K, Tajika M, Ogawa-Tominaga M, Ebihara T, Matsuhashi T, Tsuruoka T, Kohda M, Hirata T, Harashima H, Nojiri S, Takeda A, Nakaya A, Kogaki S, Sakata Y, Ohtake A, Murayama K, Okazaki Y.	4. 巻 341
2. 論文標題 Long-term prognosis and genetic background of cardiomyopathy in 223 pediatric mitochondrial disease patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 48 ~ 55
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2021.06.042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kishita Y, Ishikawa K, Nakada K, Hayashi JI, Fushimi T, Shimura M, Kohda M, Ohtake A, Murayama K, Okazaki Y.	4. 巻 11
2. 論文標題 A high mutation load of m.14597A>G in MT-ND6 causes Leigh syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11123
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-90196-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計21件(うち招待講演 10件/うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Okazaki Y
2. 発表標題 Overcoming The Challenges In WGS For Undiagnosed Diseases
3. 学会等名 12th Annual Next Generation Sequencing & Clinical Diagnostics (招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡崎康司
2. 発表標題 ミトコンドリア病の包括的ゲノム解析からひも解く病態解明
3. 学会等名 第126回日本解剖学会総会・全国学術集会・第98回日本生理学会大会 合同大会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kishita Y, Imai-Okazaki A, Nitta KR, Ohtake A, Murayama K, Okazaki Y
2. 発表標題 De novo duplications in the ATAD3 locus cause neonatal mitochondrial cardiomyopathy
3. 学会等名 日本人類遺伝学会 第65回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木下善仁、岡崎敦子、新田和広、大竹明、村山圭、岡崎康司
2. 発表標題 新生児ミトコンドリア心筋症を引き起こすATAD3遺伝子重複の解析
3. 学会等名 日本ミトコンドリア学会主催J-mit 特別 オンラインシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 康司, 木下 善仁, 村山 圭, 大竹 明
2. 発表標題 ミトコンドリア関連ゲノム解析と生化学解析から捉える小児代謝性疾患の病態
3. 学会等名 第 92回日本生化学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasushi Okazaki
2. 発表標題 Delivering Genomic Based Medicine In Japan
3. 学会等名 11th Annual NGS and Clinical Diagnostics Congress (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 次世代シーケンス技術を用いたミトコンドリア呼吸鎖異常症の病態機構の解明
3. 学会等名 Mitochondria symposium (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 ミトコンドリア病の網羅的遺伝子解析
3. 学会等名 138回特別集談会、北海道大学大学院医学研究院 生殖・発達医学分野 小児科学教室（招待講演）（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 敦子、松永 綾子、八塚 由紀子、新田 和広、木下 善仁、杉浦 歩、杉山 洋平、伏見 拓矢、志村 優、市本 景子、田鹿 牧子、海老原 知博、松橋 徹郎、鶴岡 智子、原嶋 宏子、野尻 宗子、中谷 明弘、大竹 明、村山 圭、岡崎 康司
2. 発表標題 小児ミトコンドリア病223症例における長期予後および遺伝学的背景に関する検討
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 第28回日本遺伝子診療学会大会 合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 海老原 知博、長友 太郎、鶴岡 智子、成毛 有紀、Lim Sze Chern、八塚 由紀子、木下 善仁、伏見 拓矢、大竹 明、岡崎 康司、村山 圭
2. 発表標題 新規のATAD3A複合ヘテロ接合性欠損による重度の脊髄低形成症
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 第28回日本遺伝子診療学会大会 合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木下 善仁、志村 優、神田 将和、伏見 拓矢、新田 和広、八塚 由紀子、大竹 明、村山 圭、岡崎 康司
2. 発表標題 ミトコンドリア呼吸鎖 I欠損患者症のマルチオミクス解析から明らかになったA1uを介したNDUFV2遺伝子の欠損
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 第28回日本遺伝子診療学会大会 合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 八塚 由紀子、木下 善仁、 Luke E. Formosa、志村 優、野崎 章仁、藤井 達哉、新田 和広、大竹 明、村山 圭、 Michael T. Ryan、岡崎 康司
2. 発表標題 NDUFA8のホモ接合型バリエーションは発達遅滞、小頭症、てんかんを合併するミトコンドリア病を引き起こす
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会 第28回日本遺伝子診療学会大会 合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayumu Sugiura, Yoshihito Kishita, Tetsuro Matsushashi, Masaru Shimura, Takanori Onuki, Tomohiro Ebihara, Kazuhiro Nitta, Atsuko Imai-Okazaki, Yukiko Yatsuka, Noriko Ichino, Takuya Fushimi, Kokoro Ozaki, Yuma Yamada, Hideyoshi Harashima, Akira Ohtake, Kei Murayama, Yasushi Okazaki
2. 発表標題 Comprehensive functional annotation of Japanese specific VUS in mitochondrial disease
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会、第28回日本遺伝子診療学会大会 合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 Research and Diagnosis of mitochondrial cardiomyopathy in Japan Mitochondrial Medicine
3. 学会等名 Workshop Beijing 2021, Web meeting, Beijing Children ' s hospital, Capital Medical University ( 招待講演 ) ( 国際学会 )
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉浦 歩、木下 善仁、松橋 徹郎、志村 優、小貫 孝則、海老原 知博、新田 和広、岡崎 敦子、八塚 由紀子、市野 紀子、伏見 拓矢、尾崎 心、山田 勇磨、原島 秀吉、大竹 明、村山 圭、岡崎康司
2. 発表標題 ミトコンドリア機能関連遺伝子のVUSに対する網羅的な機能的アノテーション
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉浦 歩、木下 善仁、松橋 徹郎、志村 優、小貫 孝則、海老原 知博、新田 和広、岡崎 敦子、八塚 由紀子、市野 紀子、伏見 拓矢、尾崎 心、山田 勇磨、原島 秀吉、大竹 明、村山 圭、岡崎 康司
2. 発表標題 ミトコンドリア機能関連遺伝子のVUSに対する網羅的な機能的アノテーション
3. 学会等名 日本ミトコンドリア学会年会第20回
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長滝谷 芳恵、新田 和広、大竹 明、村山 圭、岡崎 康司、木下 善仁
2. 発表標題 発現解析を基にしたミトコンドリア疾患原因同定
3. 学会等名 第20回日本ミトコンドリア学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木下 善仁、新田 和広、大竹 明、村山 圭、岡崎 康司
2. 発表標題 マルチオミクス解析から明らかにしたミトコンドリア病の原因
3. 学会等名 第20回日本ミトコンドリア学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 ミトコンドリア病の遺伝子解析と治療への展開
3. 学会等名 日本ミトコンドリア学会年会第20回（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 ミトコンドリア病のゲノム解析と治療への展開
3. 学会等名 ゲノム創薬・創発フォーラム 第9回シンポジウム「ミトコンドリアの機能と疾患から創薬を探る（招待講演）」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 康司
2. 発表標題 Genetic diagnosis of mitochondrial cardiomyopathy and therapeutic approach to mtiochondrial disease
3. 学会等名 第86回日本循環器学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>ミトコンドリア病の新たな原因遺伝子を発見  <a href="https://www.juntendo.ac.jp/news/20200706-01.html">https://www.juntendo.ac.jp/news/20200706-01.html</a>          新生児ミトコンドリア心筋症の原因遺伝子を国際連携による大規模研究で同定  <a href="https://www.juntendo.ac.jp/news/20200710-03.html">https://www.juntendo.ac.jp/news/20200710-03.html</a>          小児ミトコンドリア心筋症の遺伝的基盤と長期予後に関する大規模調査報告  <a href="https://www.juntendo.ac.jp/news/20211005-01.html">https://www.juntendo.ac.jp/news/20211005-01.html</a>          マルチオミクス解析によりミトコンドリア病未解決症例の原因を特定  <a href="https://www.juntendo.ac.jp/news/20210903-02.html">https://www.juntendo.ac.jp/news/20210903-02.html</a></p>
---

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	木下 善仁  (Kishita Yoshihito)  (20634398)	近畿大学・理工学部・講師    (34419)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	W u Y i b o  (Wu Yibo)  (50811618)	国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター・ 上級研究員    (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関