

08. 周産期病態研究部

部長： 秦 健一郎

【ミッション・目標】

周産期の異常は、母子双方に対する緊急かつ集学的な医療介入と、多くの医療資源投入を必要とする。また近年、胎児期・新生児期・乳幼児期の環境が長期にわたり児の遺伝子発現等に影響を及ぼし、その結果、成人後の生活習慣病等の発症リスクを上昇させる可能性が指摘されている。一方で周産期異常の分子メカニズムは未解明な点が多く、早期の診断や根治的な治療法が確立された疾患は少ない。当研究部は、胎児と胎児付属物の発生・分化異常とそれに伴う周産期病態を、従来の分子生物学的手法に加えてゲノム解析・エピゲノム解析の観点からも解析し、新たな周産期医療に資する診断治療技術を開発することを目標とする。

上記目標を達成するために、大きくは二つのアプローチに分けて研究に臨んでいる。第一に、実際にヒト生殖・発生異常・妊娠合併症の生体試料を用い、特に分子生物学的・遺伝学的解析に重点を置いた解析を行い、未知の病因病態を解明し、診断治療技術への貢献を目指す。第二に、これらのヒト症例で得られた知見を発展させ、培養細胞や実験動物も利用し、発生異常の分子メカニズム解明、特にエピゲノム異常を生じる機序の解明を行っている。

以上の二つの中核となるプロジェクトに加え、マイクロアレイ技術や次世代型シーケンサーなどを積極的に応用し、先進的なヒト異常妊娠の診断法開発を行う。また、我々が独自に構築したゲノム解析とエピゲノム解析体制を利用し、IRUD 事業成育チームの一員として解析・診断支援、センター内外の研究者の解析・診断支援を行っている。

これらの研究は、我々の研究部が直接の目標とする周産期医療の発展のみならず、出生後の長期的な児の発育発達研究や、がんの発症機序や再生医療における品質評価など、広く成育医療に貢献する知見を提供できると期待される。

【研究プロジェクト】

1. 周産期関連疾患の病因・病態解明

- 1.1 早産・胎児発育遅延のエピゲノム解析
- 1.2 妊娠糖尿病のゲノム・エピゲノム解析
- 1.3 習慣流産のゲノム解析
- 1.4 周産期関連疾患の新たな遺伝学的診断手法開発
- 1.5 周産期関連疾患の網羅的・定量的細菌組成解析

2. 周産期の疾患にかかわるエピゲノム制御機構の解明

- 2.1 ヒトインプリントーム解明
- 2.2 胎盤における転写後修飾の生理的意義の解明
- 2.3 子宮内膜の網羅的エピゲノム解析

3 IRUD（未診断疾患イニシアチブ）等次世代シーケンサーを用いた解析手法の応用と診断支援

[研究体制]

- 部長 : 秦 健一郎
- 室長 : 中林 一彦 (周産期ゲノミクス研究室)
河合 智子 (胎児発育研究室)
併任 山口 晃史 (母体管理研究室)
- 研究員 : 富川順子、田山千春
- 共同研究員 : 久須美真紀 (山王病院産婦人科医員)、右田王介 (聖マリアンナ医科大学小児科講師)、瓜生英尚、大西英理子、緒方広子、春日義史、加藤紀子、佐藤泰輔、谷口公介、松原圭子、漆山大知、鹿島晃平、小出馨子、小島一晃、嘉村浩美、高山有香、川崎範子、石渡啓介
- 大学院生 : 高橋健、堀あすか、伊東紀子、菊池弘輝、木下史織、竹間恒祐、大科恭子、山村倫啓、長谷川慶太、岡崎有香、京戸玲子
- 学部学生 : 加藤友花

[共同研究体制] (外部)

北里大医学部臨床遺伝医学講座	教授	高田史男	エクソーム解析
京都大学医学部疾患ゲノム疫学	教授	松田文彦	エクソーム解析
金沢大学医薬保健研究域 革新ゲノム情報学分野	教授	田島敦	ゲノム関連解析
九州大学生体防御医学研究所	教授	佐々木裕之	国際エピゲノムプロジェクト
九州大学生体防御医学研究所	教授	須山幹太	国際エピゲノムプロジェクト
順天堂大学医学部産婦人科	教授	竹田省	子宮内膜エピゲノム解析
千葉大学理学部	教授	浦聖恵	DNA メチル化制御機構解析
筑波大学生命環境科学研究科	教授	谷本啓司	DNA メチル化制御機構解析
佐賀大学医学部分子生命科学	教授	副島英伸	インプリンティング異常症研究
浜松医科大学小児科	教授	緒方勤	インプリンティング異常症研究
Bellvitge Biomedical Research Institute	PI	David Monk	インプリントーム解析
CNRS (Clermont-Ferrand)	PI	Philippe Arnaud	インプリントーム解析
大阪府立母子保健総合医療センター	部長	柳原格	異常妊娠に関する研究
九州大学医学部産婦人科	教授 准教授	加藤聖子 園田顕三	異常妊娠に関する研究 悪性腫瘍に関する研究
九州大学医学部保健学科	教授	諸隈誠一	異常妊娠に関する研究
慶應義塾大学医学部産婦人科	教授	田中守	異常妊娠に関する研究
慶應義塾大学医学部産婦人科	講師	宮越敬	異常妊娠に関する研究
国立病院機構弘前病院産婦人科	部長	真鍋麻美	異常妊娠に関する研究
東邦大学医学部産婦人科	教授	片桐由紀子	異常妊娠に関する研究
東北大学医学部産婦人科	教授	有馬隆博	異常妊娠に関する研究
藤田医科大学医学部分子遺伝学	教授	倉橋浩樹	異常妊娠に関する研究
浜松医科大学産婦人科	教授	金山尚裕	異常妊娠に関する研究
富山大学医学部産婦人科	教授	齋藤滋	異常妊娠に関する研究
福岡大学医学部産婦人科	教授	宮本新吾	異常妊娠に関する研究
京都大学医学部遺伝子診療科	准教授	山田崇弘	異常妊娠に関する研究

名古屋市立大学医学部産婦人科	教授	杉浦真弓	異常妊娠に関する研究
和歌山県立医科大学産婦人科	教授	井篁一彦	異常妊娠に関する研究

[共同研究体制] (外部・解析支援)

千葉大学医学部産婦人科	教授 講師	生水真紀夫 碓井宏和	ゲノム解析支援
慶応大学医学部皮膚科	講師	久保亮治	エクソーム解析支援
慶応大学医学部臨床遺伝学センター	教授	小崎健次郎	エピゲノム解析支援
群馬大学生体調節研究所	教授	畑田出穂	次世代シーケンサー解析支援
慶応大学医学部生理学教室	教授 助教	岡野栄之 奥野博庸	エピゲノム解析支援
国立環境研究所分子毒性機構研究室	室長	野原恵子	エピゲノム解析支援
滋賀医科大学生理学講座	教授	等誠司	エピゲノム解析支援
首都大学東京都市環境学部	教授	川上浩良	エピゲノム解析支援
東京医科歯科大学 システム発生・再生医学分野	教授	浅原弘嗣	エピゲノム解析支援
東京医科歯科大学 分子内分泌代謝学分野	教授	小川佳宏	エピゲノム解析支援
東京医療センター臨床遺伝センター	医員	山澤一樹	エピゲノム解析支援
東京工科大学応用生物学部	助教	吉田亘	エピゲノム解析支援
東京大学医学部附属病院総合周産期 母子医療センター	教授	高橋尚人	エピゲノム解析支援
京都大学大学院発達小児医学	教授	滝田順子	エピゲノム解析支援
東京農工大学工学生命機能科学部門	教授	池袋一典	エピゲノム解析支援
浜松医科大学医学部神経生理学講座	教授	福田敦夫	エピゲノム解析支援
福岡大学医学部細胞生物学教室	教授 准教授	白澤専二 角田俊之	エピゲノム解析支援 トランスクリプトーム解析支援
国立医薬品食品衛生研究所 薬理部第二室	部長	諫田泰成	トランスクリプトーム解析支援

[共同研究体制] (内部)

システム発生・再生医療研究部	岡村室長	インフォマティクス体制
システム発生・再生医療研究部	高田部長	遺伝子改変マウス作出 (ゲノム編集)
免疫アレルギー研究部	松本部長	発現アレイ解析
成育遺伝研究部	内山室長	シングルセル解析
周産期・母性診療センター	左合センター長 和田臨床部長	異常妊娠に関する研究

[共同研究体制] (センター内共同研究・解析支援)

皮膚科	吉田診療部長、新関医長	遺伝子解析支援
小児がんセンター	加藤 (元) 臨床部長	ゲノム解析支援

消化器科	新井臨床部長	エクソーム解析支援
こころの診療部	小枝臨床部長、立花臨床部長	エクソーム解析支援
分子内分泌研究部	深見部長 鏡室長 鳴海室長	次世代シーケンス支援
免疫アレルギー研究部	松本部長 森田室長	エクソーム解析支援 トランスクリプトーム解析支援
成育遺伝研究部	小野寺部長 内山室長	次世代シーケンス支援
高度先進医療研究室	今留室長	エクソーム解析支援
母児感染研究室	中村室長	トランスクリプトーム解析支援
生殖医療研究部	阿久津部長	エピゲノム解析支援・iPS細胞作製
再生医療センター	梅澤センター長	エクソーム解析支援
小児血液・腫瘍研究部	清河部長 大木室長	トランスクリプトーム解析支援
薬剤治療研究部	中村室長	エピゲノム解析支援
ゲノム医療研究部	要部長 黒木室長	エクソーム解析支援
システム発生・再生医療研究部	高田部長	エピゲノム解析支援
RI 管理室	李室長	エクソーム解析支援

【研究の概要】

当研究部は、周産期における様々な疾患を、配偶子形成や胎児・胎盤の発生分化および母体環境の観点から、分子生物学的あるいは分子遺伝学的に解析し、病態解明や診断治療応用に資する研究成果を発信することを目指している。また、センター共通の次世代シーケンサーの運用を行い、IRUDをはじめとするセンター内外の研究者のシーケンサー利用および解析のサポートを行っている。

文中に引用した文献はすべて、当研究部が責任著者として発表あるいは投稿中のものである。

1. 周産期関連疾患の病因・病態解明

DNAメチル化やヒストンタンパク質のメチル化・アセチル化といった化学的な修飾による遺伝子機能変化は、遺伝子配列を介さない遺伝情報の伝達であり、従来の遺伝学（ジェネティクス）に加えて、“エピ”ジェネティクスの観点からの解析が必要となる。エピジェネティクスは特に、胎児や胎盤の発生発育で重要な役割を担っていることが、一部の先天奇形症候群やモデル生物の研究から知られている。しかし、周産期関連疾患のエピゲノム異常は、系統的に検証されるに至っていない。

一方で、胎児発育遅延は様々な母体因子及び胎児胎盤因子によって引き起こされ得ると考えられているが、およそ半数の症例は成因不明で、明らかな基礎疾患や染色体構造異常を認めないとされている。これらの成因不明の異常妊娠症例には、前述のエピゲノム異常に加え、分染法などの従来の染色体検査では同定されなかった未知の微細な染色体異常が含まれていると考えられる。

これらの仮説を基に、分子遺伝学的な観点、特にゲノム解析とエピゲノム解析を中心に、周産期関連疾患の病因・病態の解明を目指す。

1.1 早産・胎児発育遅延症例のゲノム/エピゲノム解析

母子共に明らかな基礎疾患や合併症・形態異常を有しない胎児発育遅延症例を中心に、成育医療研究センター周産期センターをはじめ、冒頭に示した全国の施設のご協力を仰ぎ、胎児胎盤の発育異常を来した症例の胎盤組織片・臍帯血・父末梢血・母末梢血の収集と解析を進めている。

(スライド4参照) 東京大学医学部附属病院総合周産期母子医療センター（高橋尚人教授、鹿島晃平医師）との共同研究により、早産児の臍帯血と同一患児の退院時末梢血、および正常産児の臍帯血を用い、エピゲノム異常の比較解析を行った。エピゲノム解析は、Infinium HumanMethylation450 BeadChipを用い、ゲノム網羅的DNAメチル化解析を施行した。解析にあたり、血球分画や出生週数に依存して変化するDNAメチル化解析値を補正した。その上で、同一患児の出生時と出生後のDNAメチル化値の比較により、出生後の環境に影響され遺残する可能性があるDNAメチル化変化を検出することに成功した。これらのDNAメチル化変化が認められる領域、しかも早産児の異常が退院時も遺残しているゲノム領域には、polycomb修飾を受ける領域が多くを占め、実際に遺伝子発現も変化していたことから、早産時の妊娠週数が若いほど、その後のDNAメチル化獲得が順当に進まず、いわば「見かけはcatch upして退院したが、エピゲノムは未熟な状態」である可能性が示唆された(revise中)。今回確立した解析手法は、後述の妊娠糖尿病罹患の母から出生した児の臍帯血のエピゲノム解析にも応用しており、今後も血液検体を用いたメチル化解析の研究に広く汎用することができる。

(スライド5参照) また、原因不明の胎児発育遅延症例に対して系統的に DNA メチル化異常のスクリーニングを行ったところ、健常児とは明確に異なる DNA メチル化パターンを有する症例が見つかった。同症例の全エクソン解析を行ったところ、NSD2 遺伝子に病的意義不明の多型が同定された。同遺伝子は、4p-欠失症候群(Wolf- Hirschhorn 症候群)の原因遺伝子として知られており、その後収集した 20 症例の WHS 症例 (共同研究 信州大学・福嶋義光先生、埼玉県立小児医療センター・大橋博文先生、清水健司先生、愛知県心身障害者コロニー中央病院・水野誠司先生、大阪府立母子保健総合医療センター・岡本伸彦先生、北里大学・高田史男先生) すべてに、特有の DNA メチル化パターンが存在することを世界で初めて見出した (投稿中)。

1.2 妊娠糖尿病のゲノム・エピゲノム解析

(スライド6参照) 日本人集団における妊娠糖尿病の大規模詳細なゲノム疫学的研究はこれまで報告されていないが、海外からの報告では、妊娠糖尿病と II 型糖尿病の発症メカニズムや感受性遺伝子多型に一部共通性があることが示されている。そこで、既報の II 型糖尿病関連遺伝子 36 遺伝子座位から 45 個の関連 SNP を選択し、日本人妊娠糖尿病 171 症例・コントロール 128 例を対象に SNP 関連解析を実施した。rs266729 ($p = 0.013$, ADIPOQ), rs10811661 ($p = 0.035$, CDKN2A/2B), rs9505118 ($p = 0.046$, SSR1-RREB1) が妊娠糖尿病との関連を示した。これらのリスクアレルを 5 個あるいは 6 個持つ集団の有病率は、リスクアレル保持数 1 個以下の集団と比較して 7.3 倍高かった ($p = 5.6 \times 10^{-5}$, 95% CI: 4.54-11.96)(Kasuga et al., *J Diabetes Investig.* 2019)。

また、妊娠糖尿病母から出生した 128 名の児の生後 1 時間時の血糖値を連続変数とし、臍帯血 DNA メチル化との関連を EWAS (Epigenome Wide Association Study) により検証したところ、有意な関連を呈する 12 カ所のうち 2 カ所は、ZNF696 遺伝子のプロモーター領域に存在した。同遺伝子は、T 細胞分化との関連が知られており、胎児期の高血糖ストレスと関連した血液細胞分化指標となる可能性が示唆される (投稿中)。

1.3 習慣流産のゲノム解析

(スライド6参照) SNP アレイを利用した染色体構造解析は、生細胞が必要でないこと、微細構造異常の診断が可能であること等の特長を有する。流産検体の染色体分析として従来は細胞遺伝学的解析である分染法が主に用いられてきた。新しい解析技術であるアレイでは、DNA そのものを解析に用いることができるため生きた細胞は必要としない。流死産では、子宮内ですでに死亡した胎児検体を用いるため、胎児の生きた細胞を得ることに困難がある。アレイ解析は、この問題を克服しより高解像度に欠失あるいは重複 (CNV) についての情報をえることができる。一方、このような微細な構造異常には、正常 variant も多数あると考えられている。我々は、これまでに周産期異常にかかわらない CNV を収集、報告し、さらに流産胎児および流産を経験した妊婦のアレイ解析を実施し報告した。流産胎児に見られた構造異常についての検討では、欠失部位のなかに既知の遺伝子がなく miRNA のみが欠損した例を観察した。これは流産につながる遺伝因子として、非翻訳でタンパク質として機能しない miRNA 欠失の可能性を示した初めての報告である (Sato et al., *Reprod Biomed Online.* 2019)。

1.4 周産期関連疾患の新たな遺伝学的診断手法開発

(スライド7参照)我々は世界に先駆けて、非欠失タイプの RhD 陰性アレル頻度が高い東アジア人種にも適応可能な、母体血を用いた無侵襲的胎児 RHD 遺伝子型決定法を開発した (Takahashi K et al. *Clin Chem.* 2019)。この方法は、日本における RhD 不適合妊娠の診断・治療方針を大きく変える可能性が考えられる。本邦では、RhD 陰性の妊婦全例に対し、予防的にヒト血液製剤 (抗 D ヒト免疫グロブリン製剤) を投与しているが、胎児 RHD 遺伝子型を出生前に確定できれば、不要なヒト血液製剤投与を避けることが可能となる。このような観点から、欧州白人妊婦 (99%以上が簡便な定性 PCR で判定可能な欠失タイプ変異) では、妊婦血中遊離核酸を用いた胎児 RHD 遺伝子型出生前検査が広く行われている。一方で、日本を含む東アジア人には、非欠失タイプが比較的高頻度で存在するため、150bp 前後の小さな血中遊離核酸を用いた定性的 PCR では不十分であり、東アジア人種にも適応可能な胎児 RHD 遺伝子型出生前検査法の開発が待たれていた。我々の開発した手法は、次世代シーケンサーを用いて複数個所の一塩基多型を定量的に検出することで、定性的 PCR やサンガー法では困難なタイプの変異もまとめて解析することに成功した。現在本手法を特許出願し (特願 2019-083293)、慈恵会医科大学・昭和大学と共に多施設臨床試験を進めている。このような無侵襲的出生前検査 (NIPT) では、妊婦血中に存在する胎児と妊婦の混在した断片化ゲノム DNA を用いているため、原理的に胎児の遺伝子解析が極めて困難な場合 (例として、両親が保因者の劣性遺伝疾患の診断など) がある。そこで現在我々は、胎児有核赤血球細胞を用いた無侵襲的出生前検査 (NIPT) の開発を進めている。Single cell sorting による候補細胞の単離、細胞溶解液の一部を用いた real-time PCR による胎児由来細胞の選択を経て、個々の細胞について全ゲノム増幅・全ゲノムシーケンスを実施し、複数の細胞のシーケンス情報をまとめて解析することでゲノム全体をカバーする情報を得ることを目指している。これまでに、single cell sorting により単離した細胞の核型を digital PCR を用いて同定することに成功し(スライド7参照 Sato T, et al., *J Mol Diagn.* 2020)、さらに現在、単離した単一細胞個別に全ゲノムシーケンスを行った結果を投稿中である。

1.5 周産期関連疾患の網羅的・定量的細菌組成解析

我々は 2017 年度に、子宮内感染例 (絨毛膜羊膜炎例) を中心に、デジタル PCR で羊水中の 16S rDNA コピー数を絶対定量するとともに、次世代シーケンサー (MiSeq) を用いて V1V2 領域をターゲットとして 16S ribosomal DNA amplicon sequencing を行い、羊水中の細菌組成を網羅的かつ定量的に明らかにし、周産期転帰との関連を調べた。その結果、絨毛膜羊膜炎に有意に関連した 11 菌種の存在の有無により高感度・高特異度で予後不良な絨毛膜羊膜炎を妊娠中に診断できることを示した (Urushiyama D et al., *Sci Rep.* 2017)。これらの菌の多くが腔内常在菌であることから、現在腔内細菌叢解析による絨毛膜羊膜炎のリスク評価を試みており、成育周産期センター、福岡大学産婦人科、三重大学産婦人科との他施設共同研究として、高リスク妊婦の発症前腔分泌収集を進めている。

2. 周産期の疾患にかかわるエピゲノム制御機構の解明

正常な胎児と胎盤の発生分化には、正常なエピゲノム制御が必須であるが、その獲得と維持機構の詳細が明らかになれば、異常妊娠のエピゲノム異常の原因や発症時期 (散発性・親世代の胎児期・親世代の配偶子形成過程・受精後・分化後、等々) を推測する事が可能となる。これらの知見は、診断や遺伝カウンセリングへの還元が期待できる。

2.1 ヒトインプリントーム解析

これまでに、Bellvitge 生物医学研究所（バルセロナ）の David Monk 博士グループと当研究部が中心となって進めた国際共同エピゲノム研究により、ヒトゲノムにおけるインプリント制御領域の網羅的同定に成功し、さらにヒトゲノムに胎盤特異的インプリンティング領域が多数存在することを明らかにしている。弊研究所内における連携の一環としてインプリント制御領域ゲノム位置情報を分子内分泌研究部・鏡雅代室長に提供し、同室長が推進するインプリンティング疾患症例のエピゲノム解析に貢献した。また、インプリント遺伝子 *KLF14* が肥満誘導時の白色脂肪組織リモデリングを制御することを *Klf14* ノックアウトマウスモデルの解析より明らかにした（投稿準備中）。

2.2 胎盤における転写後修飾の生理的意義の解明

マウスをモデルとして用い、初期胚発生における経時的クロマチン修飾プロファイルを取得し、胎盤発生分化におけるエピジェネティック変化の筋道となる重要部位を選出すると共に、周産期疾患の診断に有用なバイオマーカー探索を行った。

（スライド8参照）ES細胞とTS（Trophoblast Stem）細胞を用い、胚体組織と胚体外組織の分化最初期のクロマチン構造を、Chromosome Conformation Capture (3C) 解析法、さらにHi-C解析法（染色体間または同一染色体内における相互作用領域をゲノムワイドに検出する方法）、4C-seq法（Hi-Cライブラリーの一部を特定のゲノム領域配列プライマーとアダプター配列で増幅しサブライブラリー化することで、特定部位（アンカー）と相互作用する領域を網羅的に同定する方法）を用いて解析を進め、胎盤発生分化のマスター制御転写因子のひとつであるTEAD4遺伝子のプロモーター領域を対象とした解析により同一染色体上あるいは異なる染色体上に位置するエンハンサーの同定に成功した(Tomikawa J et al., *Nucleic Acids Res.* 2020)。

（スライド8参照）また、Adenine mRNAの脱メチル化（m6A修飾の脱メチル化）酵素であることが最近報告されたFTO（Fat mass and obesity-associated）遺伝子が、LGA (large for gestational age) 児の胎盤で強発現していることから、LGA/SGA症例のヒト胎盤のエピトランスクリプトーム解析（m6A修飾を受けたmRNAの網羅的定量的同定）を行った。その結果、SGA胎盤で5'UTR mRNAにm6A修飾が多く認められたSMPD1 (Sphingomyelin Phosphodiesterase 1) 遺伝子は、mRNA量の変化を伴わずにタンパク質量が増加しており、m6A修飾による翻訳促進作用が示された(Taniguchi K et al., *FASEB J.* 2020)。これらの結果は、従来のmRNA発現解析アレイ等では原理的に同定不可能な現象であり、エピゲノム解析の視点から新たな概念の病態候補を同定できたと考えている。

2.3 子宮内膜分化とその逸脱に關与するエピゲノム機構の解析

子宮内膜は妊娠の成立・維持に必要な不可欠な組織であり、あるいは異所性に内膜が分化増殖と消退出血を繰り返す子宮内膜症は、月経困難症や不妊症の原因となる。したがって、子宮内膜分化増殖制御の分子機構解明は、不妊・不育症や子宮内膜症の発症機構の解明と治療法開発の基盤情報となる。我々はこれまでに、脱落膜化誘導に伴いプロモーター領域で活性化クロマチン修飾H3K27acレベルの上昇と抑制性クロマチン修飾H3K27me3レベルの低下が同時に観察される遺伝子群に、*WNT4*, *ZBTB16*, *PROK1*, *GREB1*などの既知の脱落膜化制御遺伝子

が含まれることを2018年に報告した(Kato N et al., *Epigenomics*. 2018)。現在この成果を基に、エピゲノム変化のパターンから脱落膜化に特に重要であると予想される機能未知の30遺伝子を選択し、脱落膜化における個々の遺伝子の機能解析として脱落膜化誘導培養系でのsiRNAノックダウン実験を実施した。また、脱落膜化に伴い出現する活性化エンハンサー領域群に対する転写因子結合配列モチーフ解析を行い脱落膜化制御に関与する可能性がある新規転写因子候補群を同定しており、それらについても今後siRNAノックダウンアッセイを実施する予定である。このようにして脱落膜化誘導に必須な新規遺伝子群を決定することで、エピゲノム機構の観点から脱落膜化を制御する方法の開発を目指す。

3. 次世代シーケンサー等網羅的解析手法の応用と診断支援

当センターの共通機器として導入されている次世代シーケンサーは、当研究部とゲノム医療研究部・分子内分泌研究部が中心となって運用を行い、当研究部とシステム医療研究部で解析パイプラインを構築し、ライブラリー作製からデータ解析までを研究所内で実施できる体制を整えている。

(スライド9参照) 当研究部も、松原所長が代表を務めるIRUD(未診断疾患イニシアチブ)事業のチームの一員として参加し、胎児異常を中心に解析を行っている。2019年は336検体(117家系)、2020年は177検体(59家系)のエクソームシーケンスを行った。さらに診断未確定例の全ゲノムシーケンスを2019年は24検体(12家系)、2020年は26検体(8家系)行った。(Narumi-Kishimoto Y et al., *Eur J Med Genet*. 2019, Sato T et al., *Eur J Med Genet*. 2019, Takano T et al., *Eur J Med Genet*. 2020)

(スライド9参照) 上記のIRUD事業に加え、当研究部が特に焦点を当てて研究を進めているエピゲノム解析でも次世代シーケンサー解析を応用し、112検体の網羅的DNAメチル化解析を筆頭に、smallRNAシーケンス、メチローム、ChIPseq、オープンクロマチン解析、クロマチン高次構造解析等を行い、FGR症例の一部に未知のエピゲノム異常があることを報告した(Yamaguchi Y et al., *Clin Epigenetics*. 2019)。

これらの解析体制は、センター内部(6研究部室・3診療部/科)・外部(10機関)の研究者らにも提供し、解析を支援した。

また、人材育成を目的に、個人情報の保護に留意した上で、オープンな形でエクソーム解析結果の検討会を毎週火曜日行い、病院若手医師や他研究部の研究者が参加している。また、複数の研究部・診療科との合同エクソーム検討会を各年4回開催した。

【平成31年研究業績】

1. 誌上発表

(1) 英文原著

1. Bogutz AB, Brind'Amour J, Kobayashi H, Jensen KN, Nakabayashi K, Imai H, Lorincz MC, Lefebvre L : Evolution of imprinting via lineage-specific insertion of retroviral promoters. *Nat Commun.* 2019;10:5674.
2. Nakamura Y, Okuno Y, Muramatsu H, Kawai T, Satou K, Ieda D, Hori I, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Takahashi Y, Kojima S, Saitoh S : A novel CUL4B splice site variant in a young male exhibiting less pronounced features. *Hum Genome Var.* 2019;6:43.
3. Takahashi K, Migita O, Sasaki A, Nasu M, Kawashima A, Sekizawa A, Sato T, Ito Y, Sago H, Okamoto A, Nakabayashi K, Hata K : Amplicon Sequencing-Based Noninvasive Fetal Genotyping for RHD-Positive D Antigen-Negative Alleles. *Clin Chem.* 2019 Sep 5. pii: clinchem. 2019;65:1307-1316.
4. Usui H, Nakabayashi K, Maehara K, Hata K, Shozu M : Genome-wide single nucleotide polymorphism array analysis unveils the origin of heterozygous androgenetic complete moles. *Sci Rep.* 2019;9:12542.
5. Kubota Y, Uryu K, Ito T, Seki M, Kawai T, Isobe T, Kumagai T, Toki T, Yoshida K, Suzuki H, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Ohki K, Kiyokawa N, Kagawa J, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J : Integrated genetic and epigenetic analysis revealed heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. *Cancer Sci.* 2019;110:3358-3367.
6. Yamaguchi Y, Tayama C, Tomikawa J, Akaishi R, Kamura H, Matsuoka K, Wake N, Minakami H, Kato K, Yamada T, Nakabayashi K, Hata K : Placenta-specific epimutation at H19-DMR among common pregnancy complications: its frequency and effect on the expression patterns of H19 and IGF2. *Clin Epigenetics.* 2019;11:113.
7. Osumi T, Watanabe A, Okamura K, Nakabayashi K, Yoshida M, Tsujimoto SI, Uchiyama M, Takahashi H, Tomizawa D, Hata K, Kiyokawa N, Kato M : Acute promyelocytic leukemia with a cryptic insertion of RARA into TBL1XR1. *Genes Chromosomes Cancer.* 2019;58:820-823.
8. Oda Y, Uchiyama Y, Motomura A, Fujita A, Azuma Y, Harita Y, Mizuguchi T, Yanagi K, Ogata H, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Wakui K, Matsumoto N : Entire FGF12 duplication by complex chromosomal rearrangements associated with West syndrome. *J Hum Genet.* 2019;64:1005-1014.
9. Okamura K, Nakabayashi K, Kawai T, Suzuki T, Sano T, Hata K, Nohara K : DNA methylation changes involved in the tumor increase in F2 males born to gestationally arsenite exposed F1 male mice. *Cancer Sci.* 2019;110:2629-2642.
10. Kubo A, Sasaki T, Suzuki H, Shiohama A, Aoki S, Sato S, Fujita H, Ono N, Umegaki-Arao N, Kawai T, Nakabayashi K, Hata K, Yamada D, Matsubara Y, Kosaki K, Amagai M : Clonal expansion of second-hit cells with somatic recombinations or C>T transitions form porokeratosis in MVD or MVK mutant heterozygotes. *J Invest Dermatol.* 2019;139:2458-2466.
11. Yoshida M, Nakabayashi K, Ogata-Kawata H, Osumi T, Tsujimoto SI, Shirai R, Yoshida K, Okamura K, Matsumoto K, Kiyokawa N, Tomizawa D, Hata K, Kato M : A novel KMT2A-ACTN2 fusion in

- infant B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2019:e27821.
12. Miyado M, Fukami M, Takada S, Terao M, Nakabayashi K, Hata K, Matsubara Y, Tanaka Y, Sasaki G, Nagasaki K, Shiina M, Ogata K, Masunaga Y, Saitu H, Ogata T : Germline-Derived Gain-of-Function Variants of Gs α -Coding GNAS Gene Identified in Nephrogenic Syndrome of Inappropriate Antidiuresis. *J Am Soc Nephrol*. 2019;30:877-889.
 13. Lewis JD, Caldara AL, Zimmer SE, Stahley SN, Seybold A, Strong NL, Frangakis AS, Levental I, Wahl JK 3rd, Mattheyses AL, Sasaki T, Nakabayashi K, Hata K, Matsubara Y, Ishida-Yamamoto A, Amagai M, Kubo A, Kowalczyk AP : The desmosome is a mesoscale lipid raft-like membrane domain. *Mol Biol Cell*. 2019;30:1390-1405.
 14. Sato T, Migita O, Hata H, Okamoto A, Hata K : Analysis of Chromosome Microstructures in Products of Conception Associated with Recurrent Miscarriage. *Reprod Biomed Online*. 2019;38:787-795.
 15. Nakashima M, Tohyama J, Nakagawa E, Watanabe Y, Siew CG, Kwong CS, Yamoto K, Hiraide T, Fukuda T, Kaname T, Nakabayashi K, Hata K, Ogata T, Saitu H, Matsumoto N : Identification of de novo CSNK2A1 and CSNK2B variants in cases of global developmental delay with seizures. *J Hum Genet*. 2019;64:313-322.
 16. Inoue T, Yagasaki H, Nishioka J, Nakamura A, Matsubara K, Narumi S, Nakabayashi K, Yamazawa K, Fuke T, Oka A, Ogata T, Fukami M, Kagami M : Molecular and clinical analyses of two patients with UPD(16)mat detected by screening 94 patients with Silver-Russell syndrome phenotype of unknown aetiology. *J Med Genet*. 2019;56:413-418.
 17. Kasuga Y, Miyakoshi K, Tajima A, Saisho Y, Ikenoue S, Ochiai D, Matsumoto T, Arata N, Hata K, Tanaka M : Clinical and Genetic Characteristics of Abnormal Glucose Tolerance in Japanese Women in the First Year after Gestational Diabetes Mellitus. *J Diabetes Investig*. 2019;10:817-826.
 18. Ikeda J, Shiba N, Tsujimoto SI, Yoshida M, Nakabayashi K, Ogata-Kawata H, Okamura K, Takeuchi M, Osumi T, Tomizawa D, Hata K, Kiyokawa N, Ito S, Kato M : Whole transcriptome sequencing reveals a KMT2A-USP2 fusion in infant acute myeloid leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019;58:669-672.
 19. Kagami M, Yanagisawa A, Ota M, Matsuoka K, Nakamura A, Matsubara K, Nakabayashi K, Takada S, Fukami M, Ogata T : Temple syndrome in a patient with variably methylated CpGs at the primary MEG3/DLK1:IG-DMR and severely hypomethylated CpGs at the secondary MEG3:TSS-DMR. *Clin Epigenetics*. 2019;11:42.
 20. Matsubara K, Itoh M, Shimizu K, Saito S, Enomoto K, Nakabayashi K, Hata K, Kurosawa K, Ogata T, Fukami M, Kagami M : Exploring the unique function of imprinting control centers in the PWS/AS-responsible region: finding from array-based methylation analysis in cases with variously sized microdeletions. *Clin Epigenetics*. 2019;11:36.
 21. Kurokami T, Koeda T, Migita O, Hata K : Reading disability due to an ocular motor disorder: A case of an adolescent girl with a previous diagnosis of dyslexia. *Brain Dev*. 2019;41:187-190.
 22. Ohki K, Kiyokawa N, Saito Y, Hirabayashi S, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fukushima K, Hasegawa D, Fukushima H, Imai M, Kajiwara R, Koike T, Komori I, Matsui A, Mori M, Moriwaki K, Noguchi Y, Park MJ, Ueda T, Yamamoto S, Matsuda K, Yoshida T, Matsumoto K, Hata K, Kubo M, Matsubara Y, Takahashi H, Fukushima T, Hayashi Y, Koh K, Manabe A, Ohara A : Clinical and molecular characteristics of

- MEF2D fusion-positive precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia in childhood, including a novel translocation resulting in MEF2D-HNRNP1 gene fusion. *Haematologica*. 2019;104:128-137.
23. Nakazawa S, Niizeki H, Nakabayashi K, Tanese K, Tokura Y : Congenital nail clubbing. *J Dermatol*. 2019;46:e101-e102.
 24. Narumi-Kishimoto Y, Araki N, Migita O, Kawai T, Okamura K, Nakabayashi K, Kaname T, Ozawa Y, Ozawa H, Takada F, Hata K : Novel SIN3A mutation identified in a Japanese patient with Witteveen-Kolk syndrome. *Eur J Med Genet*. 2019;62:103547.
 25. Sato T, Samura O, Matsuoka T, Yoshida M, Aoki H, Migita O, Okamoto A, Hata K : Molecular genetic analysis reveals atypical confined placental mosaicism with a small supernumerary marker chromosome derived from chromosome 18: A clinical report of discordant results from three prenatal tests. *Eur J Med Genet*. 2019;62:103533.

(2) 英文総説・著書

1. Hata K Genetic Analysis of Spontaneous Preterm Birth. Chapter24. PartVII.Research Frontier, Preterm Labor and Delivery, Ed.Hiroshi Sameshima, Springer, 2019;247-252.

(3) 和文原著
該当無し

(4) 和文総説

1. 秦健一郎 【最新遺伝医学研究と遺伝カウンセリング シリーズ4 最新小児・周産期遺伝医学研究と遺伝カウンセリング】(第2章)小児・周産期遺伝医学研究・診療各論 周産期編 周産期におけるエピジェネティクス 環境による変化の遺伝. 別冊最新小児・周産期遺伝医学研究と遺伝カウンセリング 2019;159-163.
2. 谷口公介, 秦健一郎 III章 7.胎盤をより詳しく知るために エピゲノム進化 —胎盤の発生に必要とされる遺伝子群とそのエピジェネティックな制御、. 基礎と臨床の両側面からみた胎盤学 2019;352-355.
3. 谷口公介, 秦健一郎 【胎盤学と胎児学の新たな国際展開】胎盤エピゲノム その特徴と妊娠合併症との関連. 医学のあゆみ 2019;269:779-782.
4. 秦健一郎 エピゲノミクス研究. 遺伝医学 2019;9:116-120.
5. 岸本洋子, 秦健一郎 【周産期の遺伝医学】 流死産や胎児異常を繰り返す家系の病因同定に向けた遺伝学的アプローチ. 遺伝医学 2019;9:31-36.

2. 学会発表

(1) 国際学会講演・シンポジウム

1. Hata K. Epigenetic Changes in the Offspring Affected by the Fetal and Neonatal Adverse Environment, Abcam Epigenetics Conference and 14th Asia Epigenome Meeting (AEM) / 3rd Taipei Epigenetics and Chromatin Meeting (TECM), Taipei, 2019.10.17

(2) 国際学会等一般演題発表

1. Yamato G, Kawai T, Shiba N, Hara Y, Ohki K, Kaburagi T, Yoshida K, Shiraishi Y, Miyano S, Kiyokawa N, Tomizawa D, Shimada K, Sotomatsu M, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Horibe K, Ogawa S, Hata K, Hayashi Y : Significant features of DNA methylation at bivalent promoter and

- repressed polycomb regions in pediatric AML—the JCCG study, JPLSG AML-05-. 61st ASH Annual Meeting & Exposition, Orlando, USA, 2019.12.8
2. Kasuga Y, Kawai T, Miyakoshi K, Hata K, Tanaka M : The correlation between epigenetic change and neonatal plasma glucose level in maternal gestational diabetes offspring. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists World Congress 2019, London, 2019.6.17
 3. Takano T, Nakabayashi K, Ota H, Arai Y, Kamura H, Hata K : Tetrasomy 21 pter→q21.3 due to an extra +dic(21;21) in a severe psychomotor retarded female without Down syndrome phenotype. European Human Genetics, Gothenburg Sweden, 2019.6.16
 4. Nakabayashi K, Tomikawa J, Katoh N, Sato T, Toh H, Okae H, Arima T, Suyama M, Takeda S, Sasaki H, Hata K : Reciprocal changes of H3K27ac and H3K27me3 at the promoter regions of the critical genes for endometrial decidualization. International Symposium on Epigenome 2019. Tokyo, 2019.2.3
- (3) 国内講演・シンポジウム等
1. 秦健一郎「環境による変化の遺伝 - 「氏より育ち」の分子メカニズム-」第13回 DOHaD 疫学セミナー〜DOHaD とエピジェネティクス〜, 東京, 2019.6.29
 2. 秦健一郎「バイオバンクを活用した成育疾患の近未来医療」第4回研究倫理を語る会, 名古屋, 2019.2.9
- (4) 国内学会一般演題
31題 (省略)

【研究費】

公的研究費 (研究代表者)

1. 成育医療研究開発費、主任研究者 秦健一郎(総額 13,680 千円を主任研究者一括経理)2019A-4 「周産期精密医療のための体系的症例収集体制構築とクリニカルシーケンス・クリニカルメタゲノミクス基盤整備に関する研究」
2. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 (C)、代表研究者 中林一彦 (直接経費 500 千円、間接経費 150 千円)「網羅的かつ簡便なインプリントーム解析エピゲノム技術の確立・普及・診断応用」
3. 日本医療開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究代表者 河合智子 (直接経費 5,500 千円、間接経費 1,650 千円)「胎児発育不全で新規同定した遺伝子変異機能解析: エピゲノム脆弱性を背景とする新たな疾患概念の提唱と世界初のエピゲノム編集技術による治療法開発」
4. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 (C)、代表研究者 河合智子 (直接経費 2,100 千円、間接経費 630 千円)「出生体重とは独立した子宮内栄養環境の胎児の健康への影響の解明」
5. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 (C)、代表研究者 富川順子 (直接経費 1,300 千円、間接経費 390 千円)「クロマチン高次構造から捉えるゲノムインプリンティング機構」
6. 日本学術振興会 科学研究助成事業 若手研究、代表研究者 谷口公介 (直接経費 1,600 千円、間接経費 480 千円)「胎盤細胞における m6A 修飾の機能及び、妊娠合併症の機能解明」

公的研究費 (研究分担者)

1. 日本医療研究開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直

- 接経費 5,000 千円、間接経費 1,500 千円)「IRUD-P で発見された希少疾患原因遺伝子のゲノム編集技術を用いた分子病態解明と治療・予防法の探索」
2. 日本医療開発機構 (AMED) (臨床ゲノム情報統合データベース整備事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 4,000 千円、間接経費 1,200 千円)「ゲノム医療の実装に資する臨床ゲノム情報統合データベースの整備と我が国の継続的なゲノム医療実施体制の構築」
 3. 日本医療開発機構 (AMED) (成育疾患克服等総合研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 1,600 千円、間接経費 480 千円)「周産期メンタルヘルスの改善に向けた予防的治療介入法の開発 - 産婦自殺・母子心中をゼロにする地域母子保健システムの確立-」
 4. 日本医療開発機構 (AMED) (医薬品等規制調和・評価研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 900 千円、間接経費 270 千円)「次世代シーケンサーを用いた次世代体外診断用医薬品等の評価手法の在り方に関する研究」
 5. 日本医療開発機構 (AMED) (成育疾患克服等総合研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 760 千円、間接経費 228 千円)「生殖補助医療の出生児の長期予後と技術の安全性に関する研究」
 6. 日本医療開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 600 千円、間接経費 180 千円)「先天性血小板減少症の診断体制・レジストリ・生体試料収集体制の確立」
 7. 日本医療開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 500 千円、間接経費 150 千円)「小児・周産期領域における難治性疾患の統合オミックス解析拠点形成」
 8. 日本医療開発機構 (AMED) (ゲノム研究プラットフォーム利活用システム事業)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 200 千円、間接経費 60 千円)「倫理的・法的・社会的側面からみたバイオバンク資源利活用促進戦略」
 9. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(B)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 500 千円、間接経費 150 千円)「環境化学物質曝露の影響を次世代に伝える精子 small RNA の解明」
 10. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(C)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 150 千円、間接経費 45 千円)「子宮平滑筋肉腫の早期診断と効果的治療法の確立を目指した OMICS 解析」
 11. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(C)、研究分担者 秦健一郎 (直接経費 100 千円、間接経費 30 千円)「日本人妊娠糖尿病における母児糖代謝異常に関わるゲノム・エピゲノム解析」
 12. 日本医療開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 2,000 千円、間接経費 600 千円)「X 連鎖高 IgM 症候群に対する改良型 Cas9 を用いたゲノム編集技術による T 細胞遺伝子治療法の開発」
 13. 日本医療開発機構 (AMED) (成育疾患克服等総合研究事業)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円)「ヒト受精卵の包括的視点を通じた基礎的研究基盤を構築する研究」
 14. 成育医療研究開発費、研究分担者 中林一彦 (配分額 1,000 千円) 2020B-1「ゲノム編集による疾患の原因遺伝子同定や病態解明のための基盤技術開発」
 15. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(A)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 500 千円、間接経費 150 千円)「生命発動と器官発生・制御に関わる卵子刷込み型 X 染色体不活化分子機序の解明」
 16. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(B)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円)「非典型小児白血病を対象とした体細胞変異と生殖細胞系列変異の統合解析」

17. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(B)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円)「凍結細胞の運命：バイオインフォマティクスに基づく医療用細胞の品質評価技術の構築」
18. 日本学術振興会 科学研究助成事業 挑戦的研究(萌芽)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 1,300 千円、間接経費 390 千円)「受精時の初期化を乗り越えて次世代胚に伝わる精子の環境因子由来 DNA メチル化変化」
19. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(C)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 200 千円、間接経費 60 千円)「子宮平滑筋肉腫の早期診断と効果的治療法の確立を目指した OMICS 解析」
20. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(C)、研究分担者 河合智子 (直接経費 100 千円、間接経費 30 千円)「日本人妊娠糖尿病における母児糖代謝異常に関わるゲノム・エピゲノム解析」

民間財団

1. 武田科学振興財団 (2019 年度医学系研究助成)、代表研究者 富川順子 (2,000 千円)「ヒト子宮内膜脱落膜化に係る 4D ヌクレオーム解析」

【その他】

[講演等]

秦健一郎

1. 東京農業大学大学院 動物生命学特論Ⅱ, 東京農業大学大学院, 東京, 2019.12.13
2. 北里大学理学部特別講義 環境による変化は遺伝する?-明日から役立つかもしれない遺伝子だけでは説明できない遺伝現象のしくみ-, 北里大学, 相模原, 2019.11.28

中林一彦

1. 「ゲノムインプリンティング制御機構とその破綻による疾患病態の解明」第一回日本医学会連合 Rising Star リトリート, 木更津, 2019.3.5
2. 「基礎生体機能学」埼玉大学理学部, さいたま, 2019.6.12, 26, 2019.7.3, 10, 17, 24, 31, 2019.8.7, 14
3. 「組織細胞生物学総論・遺伝学・発生学」福岡大学, 福岡, 2019.6.3

[教育活動]

秦健一郎

東京農業大学バイオサイエンス学科 客員教授
 東京農工大学 客員講師
 東京医科歯科大学大学院 連携教授
 聖マリアンナ医科大学 客員教授
 東京大学 客員講師
 筑波大学 客員講師
 北里大学 客員講師
 浜松医科大学 客員講師

中林一彦

福岡大学医学部講義 (分子遺伝学)

東京大学 客員講師

[審査等]

秦健一郎

国際学術誌 査読 10 編

北里大学 プロジェクト研究外部評価委員

CITI Japan プロジェクト 外部協力教員

未来価値創造実践人材育成コンソーシアム 第一次選考書類審査

環境情報科学センター エコチル調査支援

中林一彦

国際学術誌 査読 6 編

河合智子

国際学術誌 査読 3 編

[研究所運営への貢献]

秦健一郎

倫理予備審査委員会 基礎医学研究部会委員

研究所予算委員会 委員

中林一彦

遺伝子組換え実験安全委員会 委員

セミナー庶務係

河合智子

麻薬・劇毒物管理委員会 委員

[学会活動]

秦健一郎

日本人類遺伝学会 評議員、庶務幹事

日本 DOHaD 研究会 幹事

[特許]

特許出願済：出願番号：特願 2019-083293，出願日：平成 31 年 4 月 24 日，発明の名称：胎児 RhD 血液型検出用のキット及びその利用，出願者：1.秦健一郎 2.高橋健 3.中林一彦 4.右田王介

[プレスリリース]

「胎児の血液型を判定する新しい出生前検査法を開発」（朝日新聞、毎日新聞、読売新聞 等）、2019.9.9

[報告書]

日本医療研究開発機構委託事業 医薬品等規制調和・評価研究事業「次世代シーケンサーを用いた次世代体外診断用医薬品等の評価手法の在り方に関する研究（研究代表者 小崎健次郎）」次世代シーケンサーによるバリエーション解析のレコメンデーション 平成 31 年 3 月 分担研究 秦健一郎
日本医療研究開発機構委託事業 成育疾患克服等総合研究事業「不育症の原因解明、予防治療に関する

る研究(研究代表者 齋藤滋)」不育症管理に関する提言 2019 平成 31 年 3 月 分担研究 秦健一郎

【令和 2 年研究業績】

1. 誌上発表

(1) 英文原著

1. Ishizuka T, Fujioka K, Mori I, Takeda T, Fuwa M, Ikeda T, Taguchi K, Morita H, Nakabayashi K, Niizeki H : Primary hypertrophic osteoarthropathy with severe arthralgia identified by gene mutation of SLCO2A1. *Mod Rheumatol Case Rep.* 2020;14:1-9.
2. Nohara K, Nakabayashi K, Okamura K, Suzuki T, Suzuki S, Hata K : Gestational arsenic exposure induces site-specific DNA hypomethylation in active retrotransposon subfamilies in offspring sperm in mice. *Epigenetics Chromatin.* 2020;13:53.
3. Yoshida MA, Imoto J, Kawai Y, Funahashi S, Minei R, Akizuki Y, Ogura A, Nakabayashi K, Yura K, Ikee K : Genomic and Transcriptomic Analyses of Bioluminescence Genes in the Enope Squid *Watasenia scintillans*. *Mar Biotechnol (NY).* 2020;22:760-771.
4. Ishikura S, Nakabayashi K, Nagai M, Tsunoda T, Shirasawa S : ZFAT binds to centromeres to control noncoding RNA transcription through the KAT2B-H4K8ac-BRD4 axis. *Nucleic Acids Res.* 2020;48:10848-10866.
5. Fujita H, Sasaki T, Miyamoto T, Akutsu SN, Sato S, Mori T, Nakabayashi K, Hata K, Suzuki H, Kosaki K, Matsuura S, Matsubara Y, Amagai M, Kubo A : Premature aging syndrome showing random chromosome number instabilities with CDC20 mutation. *Aging Cell.* 2020;19:e13251.
6. Hara-Isono K, Matsubara K, Fuke T, Yamazawa K, Satou K, Murakami N, Saitoh S, Nakabayashi K, Hata K, Ogata T, Fukami M, Kagami M : Genome-wide methylation analysis in Silver-Russell syndrome, Temple syndrome, and Prader-Willi syndrome. *Clin Epigenetics.* 2020;12:159.
7. Kubota Y, Seki M, Kawai T, Isobe T, Yoshida M, Sekiguchi M, Kimura S, Watanabe K, Sato-Otsubo A, Yoshida K, Suzuki H, Kataoka K, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Hiwatari M, Oka A, Hayashi Y, Miyano S, Ogawa S, Hata K, Tanaka Y, Takita J : Comprehensive genetic analysis of pediatric germ cell tumors identifies potential drug targets. *Commun Biol.* 2020;3:544
8. Hayakawa M, Tahara U, Ono N, Aoki S, Kawai T, Nakabayashi K, Hata K, Amagai M, Kubo A : Nagashima-type palmoplantar keratosis caused by biallelic maternal mutation of SERPINB7 with segmental uniparental disomy of chromosome 18q. *J Dermatol.* 2020;47:e453-e454.
9. Tahara U, Ono N, Aoki S, Kawai T, Nakabayashi K, Hata K, Amagai M, Kubo A : Case of autosomal recessive woolly hair/hypotrichosis with a homozygous c.736T>A mutation of LIPH caused by maternal uniparental disomy of chromosome 3. *J Dermatol.* 2020;47:e393-e394.
10. Takahashi K, Sato T, Nishiyama M, Sasaki A, Taniguchi K, Migita O, Wada S, Hata K, Sago H : Monozygotic Diamniotic Twins of Discordant External Genitalia With 45,X/46,XY Mosaicism. *Mol Genet Genomic Med.* 2020;e1382.
11. Oiso N, Kubo A, Shimizu A, Suzuki H, Kosaki K, Chikugo T, Nakabayashi K, Hata K, Yanagihara S, Ishikawa O, Matsubara Y, Amagai M, Kawada A : Epidermodysplasia verruciformis without

- progression to squamous cell carcinomas in an elderly man: α -human papillomavirus infection in the evolving verruca. *Int J Dermatol.* 2020;59:e334-e336.
12. Sekiguchi M, Seki M, Kawai T, Yoshida K, Yoshida M, Isobe T, Hoshino N, Shirai R, Tanaka M, Souzaki R, Watanabe K, Arakawa Y, Nannya Y, Suzuki H, Fujii Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Shimamura T, Sato Y, Sato-Otsubo A, Kimura S, Kubota Y, Hiwatari M, Koh K, Hayashi Y, Kanamori Y, Kasahara M, Kohashi K, Kato M, Yoshioka T, Matsumoto K, Oka A, Taguchi T, Sanada M, Tanaka Y, Miyano S, Hata K, Ogawa S, Takita J : Integrated multiomics analysis of hepatoblastoma unravels its heterogeneity and provides novel druggable targets. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:20.
 13. Yagi M, Kabata M, Tanaka A, Ukai T, Ohta S, Nakabayashi K, Shimizu M, Hata K, Meissner A, Yamamoto T, Yamada Y : Identification of distinct loci for de novo DNA methylation by DNMT3A and DNMT3B during mammalian development. *Nat Commun.* 2020;11:3199.
 14. Kinjo K, Nagasaki K, Muroya K, Suzuki E, Ishiwata K, Nakabayashi K, Hattori A, Nagao K, Nozawa RS, Obuse C, Miyado K, Ogata T, Fukami M, Miyado M : Rare variant of the epigenetic regulator SMCHD1 in a patient with pituitary hormone deficiency. *Sci Rep.* 2020;10:10985.
 15. Sato T, Ito Y, Samura O, Aoki H, Uchiyama T, Okamoto A, Hata K : Direct Assessment of Single-Cell DNA Using Crudely Purified Live Cells: A Proof of Concept for Noninvasive Prenatal Definitive Diagnosis. *J Mol Diagn.* 2020;22:132-140
 16. Taniguchi K, Kawai T, Kitawaki J, Tomikawa J, Nakabayashi K, Okamura K, Sago H, Hata K : Epitranscriptomic profiling in human placenta: N6-methyladenosine modification at the 5'-untranslated region is related to fetal growth and preeclampsia. *FASEB J.* 2020;34:494-512
 17. Sato T, Kojima T, Samura O, Kawaguchi S, Nakamura A, Nakajima M, Tanuma-Takahashi A, Nakabayashi K, Hata K, Ikegawa S, Nishimura G, Okamoto A, Yamada T : Two unrelated pedigrees with achondrogenesis type 1b carrying a Japan-specific pathogenic variant in SLC26A2. *Am J Med Genet A.* 2020;182:735-739
 18. Takano T, Nakabayashi K, Ota H, Arai Y, Kamura H, Hata K : Tetrasomy 21 pter→q21.3 due to an extra +dic(21;21)mat in a severely psychomotor-retarded female patient without Down syndrome phenotype. *Eur J Med Genet.* 2020;63:103824
 19. Tomikawa J, Takada S, Okamura K, Terao M, Ogata-Kawata H, Akutsu H, Tanaka S, Hata K, Nakabayashi K : Exploring trophoblast-specific Tead4 enhancers through chromatin conformation capture assays followed by functional screening. *Nucleic Acids Res.* 2020;48:278-289
 20. Yamazawa K, Inoue T, Sakemi Y, Nakashima T, Yamashita H, Khono K, Fujita H, Enomoto K, Nakabayashi K, Hata K, Nakashima M, Matsunaga T, Nakamura A, Matsubara K, Ogata T, Kagami M : Loss of imprinting of the human-specific imprinted gene ZNF597 causes prenatal growth retardation and dysmorphic features: implications for phenotypic overlap with Silver-Russell syndrome. *J Med Genet.* 2020 Jun 23;jmedgenet-2020-107019. doi: 10.1136/jmedgenet-2020-107019. Online ahead of print.
 21. Kimura S, Seki M, Kawai T, Goto H, Yoshida K, Isobe T, Sekiguchi M, Watanabe K, Kubota Y, Nannya Y, Ueno H, Shiozawa Y, Suzuki H, Shiraishi Y, Ohki K, Kato M, Koh K, Kobayashi R, Deguchi T, Hashii Y, Imamura T, Sato A, Kiyokawa N, Manabe A, Sanada M, Mansour MR, Ohara A, Horibe K, Kobayashi M, Oka A, Hayashi Y, Miyano S, Hata K, Ogawa S, Takita J : DNA

- methylation-based classification reveals difference between pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia and normal thymocytes. *Leukemia*. 2020;34:1163-1168
22. Tanaka K, Nakabayashi K, Kawai T, Tanigaki S, Matsumoto K, Hata K, Kobayashi Y : Correction to: Gene expression and DNA methylation changes in BeWo cells dependent on tumor necrosis factor- α and insulin-like growth factor-I. *Hum Cell*. 2020;33:294
 23. Inoue T, Nakamura A, Iwahashi-Odano M, Tanase-Nakao K, Matsubara K, Nishioka J, Maruo Y, Hasegawa Y, Suzumura H, Sato S, Kobayashi Y, Murakami N, Nakabayashi K, Yamazawa K, Fuke T, Narumi S, Oka A, Ogata T, Fukami M, Kagami M : Contribution of Gene Mutations to Silver-Russell Syndrome Phenotype: Multigene Sequencing Analysis in 92 Etiology-Unknown Patients. *Clin Epigenetics*. 2020;12:86.
 24. Tanaka K, Nakabayashi K, Kawai T, Tanigaki S, Matsumoto K, Hata K, Kobayashi Y : Gene expression and DNA methylation changes in BeWo cells dependent on tumor necrosis factor- α and insulin-like growth factor-I. *Hum Cell*. 2020;33:37-46.
 25. Takeuchi I, Kawai T, Nambu M, Migita O, Yoshimura S, Nishimura K, Yoshioka T, Ogura M, Kyodo R, Shimizu H, Ito S, Kato M, Onodera M, Hata K, Matsubara Y, Arai K : X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein Deficiency Complicated With Crohn's Disease-Like Enterocolitis and Takayasu Arteritis: A Case Report. *Clin Immunol*. 2020;217:108495.
 26. Fukuda T, Hiraide T, Yamoto K, Nakashima M, Kawai T, Yanagi K, Ogata T, Saitsu H : Exome reports A de novo GNB2 variant associated with global developmental delay, intellectual disability, and dysmorphic features. *Eur J Med Genet*. 2020;63:103804
 27. Narumi-Kishimoto Y, Ozawa H, Yanagi K, Kawai T, Okamura K, Hata K, Kaname T, Matsubara Y : A Novel EFTUD2 Mutation Identified an Adult Male With Mandibulofacial Dysostosis Guion-Almeida Type. *Clin Dysmorphol*. 2020;29:186-188.
- (2) 英文総説・著書
1. Nakabayashi K “Chapter 7: The Illumina Infinium Methylation Assay for Genome-wide Methylation Analyses” in *Epigenetics Methods* (Volume 19 in Translational Epigenetics) Editor: Trygve Tollefsbol (Springer), 2020
- (3) 和文原著
該当無し
- (4) 和文総説・著書
1. 中林一彦 Cell-free DNA 妊娠母体血中 cell-free DNA を用いた出生前遺伝学的検査法開発の経緯と動向. *遺伝子医学* 2020;10:121-127
 2. 中林一彦, 高橋健, 右田王介, 秦健一郎 C-A-T-C-H THE NOW 周産期の最新情報 胎児 RhD 血液型の出生前検査法 RhD 不適合妊娠の診断・管理の新たな可能性. *ペリネイタルケア* 2020;39:858-862
 3. 松原洋一, 要匡, 秦健一郎 【未診断疾患イニシアチブ(IRUD)の成果】 IRUD Beyond(Beyond Diagnosis) 治療に向けて. *医学のあゆみ* 2020;7:575-577
 4. 秦健一郎 【DOHaD-われわれの健康と疾患リスクは胎生期・発達期の環境でどこまで決まるのか?】 生殖・発生・周産期における正常と異常のエピジェネティクス. *実験医学* 2020;38:927-931

5. 秦健一郎 【エピゲノム医療】生殖医療とエピゲノム. 遺伝子医学 2020;54-60
6. 秦健一郎 【成育医療の新たな展開】周産期のエピジェネティクス 疾患との関連、そして胎児期環境の出生児への影響. アニムス 2020;12-16

2. 学会発表

(1) 国際学会講演・シンポジウム

該当無し

(2) 国際学会等一般演題発表

該当無し

(3) 国内講演・シンポジウム等

1. 秦健一郎 「周産期領域におけるゲノム解析とエピゲノム解析の臨床応用」第 56 回日本周産期・新生児医学会学術集会, Web 開催, 2020.11.28-2020.12.11
2. 中林一彦 「先天性疾患ゲノム診断率向上のためのエピゲノムアプローチ」日本人類遺伝学会第 65 回大会, Web 開催, 2020.11.18-2020.12.2
3. 秦健一郎 「胎内環境は次世代に『遺伝』するのか?~エピゲノムによる情報伝達の仕組み~」第 8 回新胎児研究会, Web 開催, 2020.11.14
4. 秦健一郎 「エピジェネティクス」第 30 回遺伝医学セミナー, Web 開催, 2020.9.18-2020.9.30
5. 秦健一郎 「胎児期・新生児期環境によるエピゲノム変化とその遺残」第 47 回日本毒性学会学術年会, Web 開催, 2020.7.1

(4) 国内学会一般演題

7 題 (省略)

【研究費】

公的研究費 (研究代表者)

1. 日本医療開発機構 (AMED) (難治性疾患実用化研究事業)、研究代表者 秦健一郎 (総額 91,000 千円、このうち直接経費 41,000 千円、間接経費 12,300 千円を主任研究者一括経理) 「精緻エピゲノム解析技術開発と IRUD 未解明症例への応用」
2. 成育医療研究開発費、主任研究者 秦健一郎 (総額 11,520 千円を主任研究者一括経理) 2019A-4 「周産期精密医療のための体系的症例収集体制構築とクリニカルシーケンス・クリニカルメタゲノミクス基盤整備に関する研究」
3. 成育医療研究開発費、主任研究者 中林一彦 (総額 3,360 千円、このうち 1,360 千円を主任研究者一括経理) 2020B-9 「無侵襲的胎児 RHD ジェノタイピング技術を遺伝学的検査として確立するための精度評価」
4. 成育医療研究開発費、主任研究者 河合智子 (総額 2,660 千円を主任研究者一括経理) 2020B-21 「正常胎児発育に寄与する胎盤エピトランスクリプトーム制御機構の解明」
5. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 (C)、研究代表者 河合智子 (直接経費 1,100 千円、間接経費 330 千円) 「出生体重とは独立した子宮内栄養環境の胎児の健康への影響の解明」
6. 日本学術振興会 科学研究助成事業 若手研究、研究代表者 谷口公介 (直接経費 1,600 千円、間接経費 480 千円) 「TGF β -SMAD を介した胎盤 m6A 修飾解析による妊娠合併症の病態解明」

公的研究費（研究分担者）

1. 日本医療開発機構（AMED）（臨床ゲノム情報統合データベース整備事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 5,000 千円、間接経費 1,500 千円）「真に個別患者の診療に役立ち領域横断的に高い拡張性を有する変異・多型情報データベースの創成」
2. 日本医療開発機構（AMED）（臨床ゲノム情報統合データベース整備事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 4,000 千円、間接経費 1,200 千円）「ゲノム医療の実装に資する臨床ゲノム情報統合データベースの整備と我が国の継続的なゲノム医療実施体制の構築」
3. 日本医療開発機構（AMED）（成育疾患克服等総合研究事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 1,600 千円、間接経費 480 千円）「周産期メンタルヘルスの改善に向けた予防的治療介入法の開発 — 産婦自殺・母子心中をゼロにする地域母子保健システムの確立—」
4. 日本医療開発機構（AMED）（成育疾患克服等総合研究事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 760 千円、間接経費 228 千円）「生殖補助医療の出生児の長期予後と技術の安全性に関する研究」
5. 日本医療開発機構（AMED）（難治性疾患実用化研究事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 500 千円、間接経費 150 千円）「先天性血小板減少症の診断体制・レジストリ・生体試料収集体制の確立」
6. 日本医療開発機構（AMED）（ゲノム研究プラットフォーム利活用システム事業）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 100 千円、間接経費 30 千円）「倫理的・法的・社会的側面からみたバイオバンク資源利活用促進戦略」
7. 成育医療研究開発費、研究分担者 秦健一郎（配分額 120 千円）2020B-16「アトピー性皮膚炎発症因子解明のための皮膚バリア及び遺伝情報解析」
8. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究（B）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 400 千円、間接経費 120 千円）「羊水塞栓症の遺伝的リスク背景ならびに発症機序の解明：新たな治療戦略を目指して」
9. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究（C）、研究分担者 秦健一郎（直接経費 150 千円、間接経費 45 千円）「日本人妊娠糖尿病における母児糖代謝異常に関わるゲノム・エピゲノム解析」
10. 日本医療開発機構（AMED）（難治性疾患実用化研究事業）、研究分担者 中林一彦（直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円）「X 連鎖高 IgM 症候群に対する改良型 Cas9 を用いたゲノム編集技術による T 細胞遺伝子治療法の開発」
11. 日本医療開発機構（AMED）（成育疾患克服等総合研究事業）、研究分担者 中林一彦（直接経費 1,000 千円、間接経費 300 千円）「成育期疾患 iPS 細胞樹立と新規病態モデルの開発」
12. 日本医療開発機構（AMED）（成育疾患克服等総合研究事業）、研究分担者 中林一彦（直接経費 800 千円、間接経費 240 千円）「ヒト受精胚の包括的視点を通じた基礎的研究基盤を構築する研究」
13. 成育医療研究開発費、研究分担者 中林一彦（配分額 800 千円）2020B-1「ゲノム編集による疾患の原因遺伝子同定や病態解明のための基盤技術開発」
14. 成育医療研究開発費、研究分担者 中林一彦（配分額 900 千円）2020B-2 「小児の難治性疾患に対する遺伝子治療における安全性の管理基準の創出を目的とした高精度の遺伝毒性モニタリング法の開発」
15. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究（A）、研究分担者 中林一彦（直接経費 550 千円、間接経費 165 千円）「生命発動と器官発生・制御に関わるヒト受精胚分子機序の解明」
16. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究（B）、研究分担者 中林一彦（直接経費 500 千円、間接経費 150 千円）「凍結細胞の運命：パイオインフォマティクスに基づく医療用細胞の品質評価技術の構築」

17. 日本学術振興会 科学研究助成事業 挑戦的研究(萌芽)、研究分担者 中林一彦 (直接経費 300 千円、間接経費 90 千円)「受精時の初期化を乗り越えて次世代胚に伝わる精子の環境因子由来 DNA メチル化変化」
18. 日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究(C)、研究分担者 河合智子 (直接経費 150 千円、間接経費 45 千円)「日本人妊娠糖尿病における母児糖代謝異常に関わるゲノム・エピゲノム解析」

民間財団

1. 内藤記念科学振興財団 (2020 年度 内藤記念科学奨励金・研究助成)、研究代表者 秦健一郎 (3,000 千円)「正常子宮内膜分化と子宮内膜症のエピゲノム制御機構解明と数理モデル化」
2. テルモ生命科学振興財団 (2020 年度 III 研究助成金)、研究代表者 中林一彦 (2,000 千円)「非侵襲的胎児 RHD 遺伝子型決定：医療実装に向けての技術改良」

【その他】

[講演等]

中林一彦

1. 「ゲノム・エピゲノム解析による産科・小児科領域疾患の病因解明と診断法開発」東北メディカル・メガバンク, 第 26 回ゲノム・オミックス連携推進セミナー, 仙台, 2020.7.28
2. 「基礎生体機能学」埼玉大学理学部, さいたま, 2020.6.24, 2020.7.1, 8, 15, 22, 29, 2020.8.5

[教育活動]

秦健一郎

東京農業大学バイオサイエンス学科 客員教授
 東京農工大学 客員講師
 東京医科歯科大学大学院 連携教授
 聖マリアンナ医科大学 客員教授
 東京大学 客員講師
 筑波大学 客員講師
 北里大学 客員講師
 浜松医科大学 客員講師

中林一彦

福岡大学医学部講義 (分子遺伝学)
 埼玉大学 客員講師

[審査等]

秦健一郎

国際学術誌 査読 11 編
 北里大学 プロジェクト研究外部評価委員
 CITI Japan プロジェクト 外部協力教員
 未来価値創造実践人材育成コンソーシアム 第一次選考書類審査
 環境情報科学センター エコチル調査支援

中林一彦

国際学術誌 査読 12 編

河合智子

国際学術誌 査読 5 編

[研究所運営への貢献]

秦健一郎

倫理予備審査委員会 基礎医学研究部会委員

研究所予算委員会 委員

中林一彦

遺伝子組換え実験安全委員会 委員

セミナー庶務係

河合智子

麻薬・劇毒物管理委員会 委員

[学会活動]

秦健一郎

日本人類遺伝学会 理事

日本 DOHaD 学会 幹事