

## 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、母子双方に対して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、胎児期の環境が胎児期のみならず出生後も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。このように、周産期の異常の病因病態解明と適切な管理法の開発は、成育医療上の重要な課題であるが、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、ポストゲノムシーケンス技術を駆使した、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、ヒト生殖・発生異常、妊娠合併症の症例から得られた生体試料を用い、特に分子生物学的・遺伝学的解析に重点を置いて解析している。流産、胎児発育異常、妊娠高血圧症候群等の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進展させ、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。共通機器として導入された次世代シーケンサーの運用を中心に、ゲノム解析とエピゲノム解析体制を構築し、IRUDをはじめとするセンター内外の研究者の解析支援と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 周産期末診断症例の病因同定及び新たな遺伝学的診断手法開発
  - 1.5 羊水の網羅的・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 DNAメチル化制御機構の解明
  - 2.2 ヒトインプリントーム解明
  - 2.3 胎盤における転写後修飾の生理的意義の解明
  - 2.4 子宮内膜の網羅的エピゲノム解析

## 3 次世代シーケンサー等による解析支援

## [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

## [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<br>革新ゲノム情報学分野               | 教授         | 田島敦             | ゲノム関連解析                  |
| 国立がん研究センター研究所<br>遺伝医学研究分野               | 分野長<br>部門長 | 吉田輝彦<br>市川仁     | トランスクリプトーム解析             |
| 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               |
| 川崎医科大学産婦人科                              | 教授         | 下屋浩一郎           | 異常妊娠に関する研究               |
| 九州大学医学部産婦人科                             | 特任教授       | 和氣徳夫            | 異常妊娠に関する研究               |
| 九州大学医学部産婦人科                             | 教授<br>准教授  | 加藤聖子<br>園田顕三    | 異常妊娠に関する研究<br>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               |
| 京都大学医学部                                 | 名誉教授       | 森崇英             | 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               |
| 総合母子保健センター愛育病院                          | 院長         | 中林正雄            | 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 |
| 北海道大学医学部産婦人科   | 教授  | 水上尚典  | 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<br>講師  | 生水真紀夫<br>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         | エクソーム解析支援                   |
| 群馬大学生体調節研究所                  | 教授        | 畑田出穂          | エピゲノム解析支援                   |
| 慶応大学医学部生理学教室                 | 教授<br>助教  | 岡野栄之<br>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<br>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<br>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<br>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<br>准教授 | 白澤専二<br>角田俊之  | エピゲノム解析支援<br>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<br>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<br>和田臨床部長 | 異常妊娠に関する研究 |

## [共同研究体制] (内部・解析支援)

|                |               |                             |
|----------------|---------------|-----------------------------|
| 皮膚科            | 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<br>森田室長  | エクソーム解析支援<br>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                   |
| 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        | 田ノ上部長 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、センター共通機器として導入された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あるいは外部の成育疾患研究者のシーケンサー利用および解析をサポートすると共に、培った技術を基に下記の我々の独自研究にも積極的に利用している。

### 1. 周産期関連疾患の病因・病態解明

異常妊娠の分子遺伝学的な特徴を解析し、病因・病態の解明を目指す。以下にその背景と仮説、目的の詳細を記す。

DNA やヒストンのメチル化は、DNA の配列変化を伴わずに遺伝子機能を変化させ、その変化は細胞分裂を経て娘細胞に伝達され得る。このような後天的修飾（主に化学的な修飾）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）では説明が困難である為、“エピ”ジェネティクスの概念が必要となる。近年特に、エピジェネティックな遺伝子制御の乱れと、疾患との関連が注目を集めている。我々が焦点を当てて解析を行っている DNA メチル化による遺伝子発現制御は、その生理的機能の理解が比較的進んでいる代表的なエピジェネティックな現象の一つであり、ヒトの発生と生存に必須の機構である。DNA メチル化の異常（エピジェネティックな異常）が起こると、遺伝子発現異常が起こり、疾患が発症することが知られているが、前述のようにこれらの疾患では遺伝子配列に変異が存在しないため、従来の遺伝学的解析では病因病態を解明する事が困難であった。

DNA メチル化による遺伝子発現制御の代表例として、ゲノムインプリンティングが挙げられる。ゲノムインプリンティングとは、二つある対立遺伝子の親の由来が区別され、常に片親由来の遺伝子のみが発現する現象である。このような振る舞いをする遺伝子は、全遺伝子の数パーセント（数百個）存在すると推測されている。インプリンティングの破綻は、発がんを含む様々な疾患と関連する事が知られているが、特に胎児や胎盤の発生発育異常と関連することが示されている。例えば、先天奇形症候群として知られるインプリンティング異常症は、子宮内胎児発育遅延あるいはその逆に胎児の過成長が主症状として観察される。また、ゲノムインプリンティングやその他のエピジェネティックな遺伝子制御機構に異常を来したモデルマウスは、胎仔の発育異常のみならず、胎盤の発生異常により流死産、妊娠高血圧症候群様の症状を呈する。これらの知見は、DNA メチル化を介したゲノムインプリンティング現象が、胎児と胎盤の正常な発生や発育に極めて関連深い生理機構であることを示している。しかし、異常妊娠症例のエピゲノム異常は、ヒトでは系統的に検証されるに至っていない。

一方で、子宮内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。また、流産のおよそ半数は、染色体構造異常が同定されず、核型正常と診断されているが、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、分染法や FISH 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染色体微細構造異常（ゲノム異常）が含まれていると仮説を立て、以下の解析を行っている。

#### 1.1 早産・胎児発育遅延症例のエピゲノム解析

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。

エピゲノム解析においては解析目的・規模に応じて複数の網羅的定量的 DNA メチル化解析技術を使い分けている。具体的には、1) 独自に解析領域を設定した定量的 COBRA (combined bisulfite restriction analysis), 2) 遺伝子プロモーター領域を中心とした約 45 万か所の DNA メチル化状態を定量するアレイ法、上記にさらにエンハンサー領域を加えた約 85 万か所の DNA メチル化状態を定量するアレイ法、3) バイサルファイト変換後のゲノム DNA を次世代シーケンサー解析に供する方法 (RRBS 法、PBAT 法、WGBS 法)、を運用中である。

この 2 年間の進展として、早産あるいは発育遅延症例の検体のエピゲノム解析を、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進めた。DOHaD 学説の視点から出生時のエピゲノムがその後に及ぼす影響を解明する目的で、早産児が妊娠 37~40 週にあたる時点の生後の末梢血のエピゲノムを、出生時の臍帯血のエピゲノム、あるいは、妊娠 37~40 週で出生した正期産児の臍帯血のエピゲノムと比較解析を行った。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、1.臍帯血は妊娠週数の違いにより血球分画が大きく変化すること、2.臍帯血と出生後の末梢血を比較しても優位に存在する血球が異なること、3.DNA メチル化パターンは血球分画ごとに特異的であること、の 3 点から、血球分画 g に特異的なメチル化値を示すプローブ群を同定した reference data を指標に、それぞれの血液検体中の血球の分画の割合をメチル化値より推定した。次に、血球分画のなかで分散拡大要因の高い多重共線性の可能性が疑われる血球分画は除き、早産並びに発育遅延が血球エピゲノムに及ぼす影響を明らかにする回帰モデルにおいて検体間の血球分画の差を補正した。その結果、出生週数に伴って変化する DNA メチル化変化には、メチル化を獲得する領域とメチル化を消失する領域が存在することを明らかにした。個人内の出生時と出生後の血液の DNA メチル化割合の比較により、出生環境に影響され遺残する DNA メチル化変化をそれぞれ検出することに成功した。NIH Roadmap epigenome reference data より、これらのメチル化変化が認められる領域のクロマチン状態を推測したところ、出生週数に伴って DNA メチル化を獲得し出生後も出生週数による DNA メチル化の違いが遺残する、すなわち早産の影響が遺残するゲノム領域に polycomb 修飾を受ける領域が集合していることを認めた。また、出生週数に伴って DNA メチル化を消失する領域にエンハンサー領域が多く含まれ、同じ修正週数サンプルで比較すると、早産症例ほど低 DNA メチル化傾向を示した。すなわち、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ない可能性が示唆された。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。

以上は出生後の変化についての解析であったが、並行して子宮内環境が胎児に与える影響についても他の検体を用いて解析を進めた。具体的には、「妊娠中体重増加量が妊婦の栄養状態や子宮内環境を反映している」と仮定し、妊婦の体重変化と出生児臍帯血のエピゲノム変化との相関を検討した。合併症を伴わない妊娠週数 37 週以降の正期産 60 例の臍帯血を解析した。上記 60 例を、日本産科婦人科学会の示す妊婦推奨体重増加量に基づき、7 kg-12 kg の体重増加を適正群、7kg 未満を不足群、12kg より多い増加を超過群とした。臍帯血 DNA は、Infinium

HumanMethylation EPIC BeadChip を用い、約 85 万か所の DNA メチル化状態をゲノム網羅的に解析した。母体体重の増加量を連続変数とし、母体体重増加量と関連して変化する臍帯血 DNA メチル化部位を、回帰モデルを用いて同定した。この際、上記で述べた血球分画の補正も同様に行った。その結果、適正群(n = 29)、不足群(n = 22)、超過群(n = 9)の三群すべてを対象にすると、母体体重と有意に相関する臍帯血 DNA メチル化変化は認められなかったが、適正群と不足群だけを対象に解析すると、5 箇所関連して変化する部位を認めた。一方、適正群と超過群を対象に同様の解析を行っても体重増加の連続変数と関連して変化する部位はなかった。すなわち、妊娠母体のやせと肥満の胎児エピゲノムへの影響は背景メカニズムが異なっていると推測された。前述の NIH Roadmap のクロマチン状態の参照データと照合した結果、これらの部位の中には、エンハンサー領域、かつ、既報で在胎週数と関連してメチル化値が消失すると報告されている部位が含まれていた。すなわち、在胎週数、出生体重は適正であっても妊娠中の母体体重増加が十分でない、幼若なエピゲノムが遺残している（分化が遅延している）可能性が示唆された（投稿中）。

## 1.2 妊娠糖尿病のゲノム・エピゲノム解析

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は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)。

動物実験では、高カロリー食等の母獣への負荷が、出生仔の DNA メチル化変化を介して代謝異常を引き起こすことが多数報告されている。妊娠糖尿病を罹患した母より出生した児は、将来、代謝異常を発症するリスクが高いと疫学研究で示されていることより、胎内環境で高血糖に暴露されると、胎児に何らかの DNA メチル化変化が生じて長期遺残し、成人期の疾患発症に関与している可能性が示唆される。実際に海外の研究グループから報告では、妊娠糖尿病の母から出生した児と罹患していない母から出生した児の臍帯血のメチル化解析を行い、いくつかのゲノム領域で DNA メチル化変化が生じていることが示されている。一方我々は、比較的良好な血糖管理が行われた日本人妊娠糖尿病を対象に、臍帯血 DNA の約 85 万か所のメチル化部位をゲノム網羅的に測定し、血球分画の違いも補正し解析した。その結果、正常コントロール群と比較して有意に異なる DNA メチル化変化は認めなかった。少なくとも本邦で妊娠糖尿病が管理されている場合、胎児期の環境の影響は検出できるほどの差が生じず、むしろ、遺伝的背景が重要であることを示唆する。一方で、厳密に妊娠中の血糖管理を行ったにもかかわらず新生児低血糖を起こした児も散見されたので、生後 1 時間目の血糖値を連続変数とし、DNA メチル化変化の有無を EWAS (Epigenome Wide Association Study) により検証したところ有意な関連が認められ、かつ、Spearman's rank correlation で有意な相関を示した部位が一箇所同定された。この部位は noncoding RNA LOC285593 の遺伝子内に位置し、NIH Roadmap epigenome reference data によると遺伝子内エンハンサー領域に該当する。topological に作用する近傍の遺伝子のエンハンサーとして機能し、この領域の DNA メチル化

変化が遺伝子発現に関与している可能性が示唆される。その遺伝子の一つに、心臓の発生のマスターレギュレーターであるホメオボックス遺伝子 **NKX2-5** が含まれていた。この結果は、母親が高血糖であると、児の先天性心疾患リスクが高まることとの関連を示唆する（投稿中）。

### 1.3 習慣流産のゲノム解析

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。流産では、子宮内ですでに死亡した胎児検体を持ちいるため、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 が流産につながる可能性を示した初めて報告であった。発生の制御は、複数の機構を通じた遺伝子発現調節によって行われていると考えられ今後も miRNA を含めた、さらなる情報蓄積により流産に関わる遺伝的因子の同定とその機序の解明を目指している。

### 1.4 周産期末診断症例の病因同定及び新たな遺伝学的診断手法開発

周産期の異常の一部には遺伝因子が関わっていると考えられているが、そもそも診断や病因の同定に至っていないものが多い。すでに様々な分野でアレイ解析や次世代シーケンサーが新たな臨床的な検査に応用されつつある。我々は未診断の周産期異常の病因同定と新たな診断手法の開発の検討めざし遺伝学的手法による解析を実施し成果を得ている。

周産期異常として特に流産、死産を繰り返す家系あるいは原因不明の胎児異常の遺伝因子について NGS 解析を実施しその病因を検討している。具定例として、反復する流産のある家系では親にもごく軽症の同じ遺伝子型をもつ常染色体優性疾患があり、死亡した胎児はその重症例であったと推定された。この症例解析から、同じ遺伝子型の同一遺伝疾患であっても重症度が変化する場合があります。流産・死産胎児には、遺伝性疾患の最重症例が存在することが示唆される。多くの遺伝性疾患では治療法の開発が不十分である。このような周産期異常の解析により重症となった流産・死産胎児と軽症である親の違いを解明することは、理解、新規治療法の開発あるいは重症化予防への重要な知見となりうる。

あるいは周産期の病態には母体、胎児に加え、胎盤のもつ遺伝的背景が影響している可能性がある。胎盤組織はそもそも母体と胎児に由来する組織が混合して生成されているが、とくに絨毛組織は通常の生体とは生育環境条件が大幅に異なり、様々なゲノム変化が許容されモザイクとして存在していると考えられている。母体血を解析ターゲットとする母体血中遊離核酸を用いた NIPT の手法は、胎盤の遺伝学的状況を検討するものであることが明らかになっている。我々は、母体血中の遊離核酸をつかった検討では染色体異常が疑われたものの、胎児の染色体異常はないと考えられた例を詳細に検討したこうした例では、胎盤のモザイク状態が胎児の成長に影響を与えていた可能性がある。NGS は、対象となる核酸について定量



性をもって解析できる特質をもち、このような混合したゲノムを定量的に検討可能であるため、母体血中遊離核酸を用いた胎児（胎盤）ゲノムに含まれる異常の検出および評価に有用である。これらの原理を応用し、現在、胎児 Rh D 血液型を例にとり遺伝学的解析手法を検討した。Rh D 因子を失う RHD 遺伝子の異常には欠失、点変異、組換えの多様な遺伝子型が知られており、さらに 90%を超える相同性をもつ RHCE 遺伝子が存在するため解析に困難がある。我々は、相同遺伝子や遺伝子変異に伴う変化を遺伝子マーカーとして検出し、その定量性を応用することで、混合した状態のまま遺伝子型を効率よくその遺伝子型を推測する手法を開発した (Takashi, et al. 投稿準備中)。これらの検討手法を応用することで、未診断の周産期異常のさらなる解明が可能となる。

### 1.5 羊水の網羅的・定量的細菌組成解析

従来、正常な子宮内は無菌に近い状態と考えられてきた。しかし近年、必ずしも子宮内は無菌でないことが示されている。羊水も無菌とは限らず、特に早産の羊水中には、一般的な培養検査では検出困難な細菌が存在することが多いことが分かっている。一方、一般臨床では、切迫早産例等で、子宮内の細菌がどのように疾患や予後に関与しているのかは不明であることがほとんどであり、臨床所見を基に治療方針が立てられている。

そこで我々は、子宮内感染例（絨毛膜羊膜炎例）を中心に、ドロップレットデジタル PCR (BioRad) 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。

16S rDNA コピー数（細菌量）と  $\alpha$  多様性指数は、絨毛膜羊膜炎に強固に関連した。また、絨毛膜羊膜炎に有意に関連した 11 菌種の存在によって定義される microbiomic CAM (miCAM) は 40 検体で陽性であり、周産期予後のいくつかのパラメーターと有意な関連が見られた。miCAM による絨毛膜羊膜炎の診断精度は、従来の報告よりも高く、感度約 94%、特異度 79-87%であった。この手法により、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可能性が示された。

また、これらの菌の多くが腔内常在菌であることから、腔内細菌叢解析によって絨毛膜羊膜炎のリスク評価を試みている。未発表であるが、切迫早産例では、特定の菌種の絞り込みによって約 8 割の確率で絨毛膜羊膜炎を予測できることが確認できた。

今後、このようなメタゲノム解析関連の研究により、子宮内感染に対する診断基準や管理方法は劇的に変わる可能性が秘めており、さらなる研究報告が期待される。

## 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、正常なゲノム DNA メチル化パターンが必須である。メチル化パターンの形成機構や維持機構の詳細が明らかになれば、異常妊娠で見出された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、分子診断や遺伝カウンセリングへの直接の貢献が期待できる。また、分子生物学的な解析と知見が乏しい胎盤に着目し、未知の胎盤特異的発生分化制御機構を解明し、周産期異常の新たな診断分子マーカーの開発を目指す。

### 2.1 DNA メチル化制御機構の解明

細胞分化に重要な遺伝子を適時適所で発現する過程に、DNA あるいは DNA を取り巻くタンパク質の化学修飾の変化を介したエピジェネティック制御は、重要な役割を果たしている。この制御の上位機構が解明されれば、様々な疾患の病態解明や幹細胞の特性解明のブレイクスルーとなり、新たな治療法の確立、あるいは周産期領域にとどまらず再生医療やがんの研究にも重要な知見をもたらす。エピジェネティック制御異常との因果関係が証明されている例として、ゲノムインプリンティング異常症とインプリンティング領域の DNA メチル化異常が知られている。このような特殊な DNA メチル化を受ける領域が数十カ所知られているが、これらがどのような機構で系統的に認識されて特異的な DNA メチル化を受ける（あるいは維持される）のかは不明な点が多い。通常確定診断では、各疾患の責任領域しか検査されないが、仮に上位機構に異常があれば、複数の領域（疾患とは直接関係ない領域）にも DNA メチル化異常が生じているはずである。そこで以前より、従来法ですでに診断がついている症例を中心に、責任領域として知られている領域以外の DNA メチル化異常もスクリーニングすることを進めてきた。その中で、狙い通り複数個所で DNA メチル化異常を示す症例が補足され（分子内分泌研究部 鏡室長との共同研究）、これらの症例のエクソーム解析を行った。その結果、エピゲノム関連因子（ヒストン修飾酵素遺伝子）に、これまでに報告のないミスセンス変異を同定しシステム発生・再生医学研究部(高田修治部長)との共同研究でゲノム編集技術により患者と同じ変異を有するモデルマウスを作製した。このマウスは、患者と同様発育不全等の表現型が認められたことより、同変異は病因変異と考えられる。本症例は、ヒストン修飾異常と二次的な DNA メチル化異常が病態の本質であり、現在詳細な分子病態解析を進めている。

## 2.2 ヒトインプリントーム解析

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た。それらの多くのマウス相同領域はインプリント制御を受けておらず、霊長類系譜への進化の過程でインプリント遺伝子座位の出現・消失が頻繁に起きていることが示唆された。異常妊娠胎盤を対象とした今後のエピゲノム解析において、従来から解析されていたインプリント領域に加えてこれらの新規領域に着目することが重要であると考えられる。H29/H30 年に於いては、インプリンティング疾患症例の責任エピ変異同定の有効な手法である EPIC メチル化アレイに収載された 85 万箇所の CpG サイト測定プローブからインプリント制御領域 50 箇所に相当する 792 プローブを同定し、公表した。このプローブ情報により、インプリント制御領域の DNA メチル化変化に着目したエピゲノム診断・研究においてデータ解析を簡便化・迅速化することが可能となり、インプリンティング疾患症例だけでなく、がんや胎児発育遅延症例などを対象とした解析においても有用である。弊研究所内における連携の一環としてこのプローブ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）。

### 2.3 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。周産期疾患の診断に有用なバイオマーカー探索を目的とする。

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時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ている。胎盤初期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 (投稿中)。

LGA (large for gestational age) 児の胎盤で強発現しているFTO (Fat mass and obesity-associated) 遺伝子は、ゲノム疫学研究により肥満との関連が知られておいたが、その機能は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。そこで、ヒト胎盤を対象とした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) によりm6A修飾プロファイルを取得した。その結果、m6A修飾量とmRNA発現量は相関していないことを認めた。さらに、5' UTR (untranslated region) のm6A修飾に、SGA (small for gestational age) 児の胎盤とAGA (adequate for gestational age) 児の胎盤で差が認められた。また、LGA児の胎盤では、m6A修飾が最も多い終始コドン近傍のmRNA m6A修飾がAGA児の胎盤に比べて減少していた。終始コドン近傍にm6A修飾を受けるmRNAは転写関連遺伝子に有意に高頻度に認められ、この結果は胎盤以外の臓器で報告されている結果と一致していた。すなわち、胎盤で発現している遺伝子の一部は、転写後修飾によって発現量を厳密に管理されていることを示唆している。例えばSGA児の胎盤でm6A修飾が多く認められたSMPD1 (Sphingomyelin Phosphodiesterase 1) 遺伝子は、酸化ストレス応答に関連しており、妊娠高血圧症との関連が示唆される。絨毛癌由来細胞をTGF $\beta$ で刺激するとSMPD1タンパク質発現量を上昇させることが知られているが、mRNAレベルは変化せずに5' UTR m6Aが有意に増加することを独自に確認した。これらの結果は、従来のトランスクリプトーム解析では気づかれなかった関連因子を、エピトランスクリプトーム解析で推定できる可能性を示唆しており、胎盤にかかわらず広く病態解析に応用できる知見である (投稿中)。

### 2.4 子宮内膜の網羅的エピゲノム解析

2013年より国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (IHEC: The International Human Epigenome Consortium) に、「生殖発生にかかわる細胞のエピゲノム解析基盤研究」日本チームの一員として参加し、子宮内膜の網羅的エピゲノム解析を開始した。これまでに子宮内膜 (間質細胞・腺上皮細胞) の標準エピゲノムデータ (DNAメチル化、ヒストン修飾6種類、RNAseq) をIHECプロトコールに従って取得し、データベースに供託した。子宮内膜腺上皮細胞は純化培養が困難なため、分子生物学的解析が進んでいなかったが、本プロジェクトで細胞純化プロトコールを改良し、一検体から標準エピゲノム情報を取得するのに十分な細胞数を回収することに成功した。

子宮内膜脱落膜化 (子宮内膜が受精卵を受け入れるための準備) のモデルとして子宮内膜

間質細胞の *in vitro* 分化誘導系を導入し、脱落膜化細胞のエピゲノム解析を実施した。脱落膜化誘導に伴いプロモータ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を抽出したところ、*WNT4*, *ZBTB16*, *PROK1*, *GREB1* などの既知の脱落膜化制御遺伝子が高頻度に含まれることを見出した。上位の 31 個を脱落膜化に特に重要であると予想される遺伝子群として報告した。この成果を 2018 年 9 月にプレスリリースした。

### 3. 次世代シーケンサー等による解析支援

共通機器としてセンターに H23 年に導入された次世代シーケンサーの運用を当研究部が中心となって行い、後述する各種解析について、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維持している。

H29・H30 年は、弊研究部内で合計 555 個の次世代シーケンスライブラリーを作製し、共同研究者が作成したライブラリーも含めて 744 個について内部でシーケンスデータを取得した（48 個については外部委託）。それらには全ゲノムシーケンス、全エクソンシーケンス、mRNA シーケンス、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などを目的としたライブラリーが含まれる。約 7 割のライブラリーについては弊研究部が基本的なデータ解析（データ品質チェック・マッピング・可視化データ用ファイル作出・バリエーション検出・発現値算出・メチル化率算出・ピークコールなど）を担当した。このようにして、センター内部（6 研究部室・3 診療部/科）・外部（10 機関）の共同研究グループを支援した。これらに加えて、IRUD 解析センター業務においては、366 検体のエクソームシーケンスデータの解析を担当した。

## 【平成 29 年研究業績】

下線は研究実施時点において国立成育医療研究センター研究所周産期病態研究部に在籍している研究者を示す。\*は責任著者を示す。

## 1. 論文

[原著論文 (欧文) ]

1. Urushiyama D, Suda W, Ohnishi E, Araki R, Kiyoshima C, Kurakazu M, Sanui A, Yotsumoto F, Murata M, Nabeshima K, Yasunaga S, Saito S, Nomiyama M, Hattori M, Miyamoto S, Hata K\* : Microbiome profile of the amniotic fluid as a predictive biomarker of perinatal outcome. *Sci Rep.* 2017;7:12171.
2. Hori I, Kawamura R, Nakabayashi K, Watanabe H, Higashimoto K, Tomikawa J, Ieda D, Ohashi K, Negishi Y, Hattori A, Sugio Y, Wakui K, Hata K, Soejima H, Kurosawa K, Saitoh S\* : CTCF deletion syndrome: clinical features and epigenetic delineation. *J Med Genet.* 2017;54:836-842
3. Hattori A, Katoh-Fukui Y, Nakamura A, Matsubara K, Kamimaki T, Tanaka H, Dateki S, Adachi M, Muroya K, Yoshida S, Ida S, Mitani M, Nagasaki K, Ogata T, Suzuki E, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Narumi S, Tanaka T, Fukami M\* : Next generation sequencing-based mutation screening of 86 patients with idiopathic short stature. *Endocr J.* 2017;64:947-954
4. Murakami M, Yoshimoto T\*, Nakabayashi K, Nakano Y, Fukaishi T, Tsuchiya K, Minami I, Bouchi R, Okamura K, Fujii Y, Hashimoto K, Hata K, Kihara K, Ogawa Y : Molecular characteristics of the KCNJ5 mutated aldosterone-producing adenomas. *Endocr Relat Cancer.* 2017;24:531-541.
5. Nishi K, Luo H, Nakabayashi K, Doi K, Ishikura S, Iwaihara Y, Yoshida Y, Tanisawa K, Arai T, Mori S, Sawabe M, Muramatsu M, Tanaka M, Sakata T, Shirasawa S, Tsunoda T\* : An Alpha-kinase 2 Gene Variant Disrupts Filamentous Actin Localization in the Surface Cells of Colorectal Cancer Spheroids. *Anticancer Res.* 2017;37:3855-3862.
6. Sasaki K, Abe K, Mori T, Hashimoto K, Nakabayashi K\* : Salvage of fetal karyotype information from SNP array data obtained from products of conception with maternal cell contamination. *Prenat Diagn.* 2017 ;37:781-787
7. Takauji Y, Kudo I, En A, Matsuo R, Hossain MN, Nakabayashi K, Miki K, Fujii M\*, Ayusawa D : GNG11 (G-protein subunit  $\gamma$  11) suppresses cell growth with induction of reactive oxygen species and abnormal nuclear morphology in human SUSM-1 cells. *Biochem Cell Biol.* 2017;95:517-523.
8. Fukami M\*, Suzuki E, Izumi Y, Torii T, Narumi S, Igarashi M, Miyado M, Katsumi M, Fujisawa Y, Nakabayashi K, Hata K, Umezawa A, Matsubara Y, Yamauchi J, Ogata T : Paradoxical gain-of-function mutant of the G-protein-coupled receptor PROKR2 promotes early puberty. *J Cell Mol Med.* 2017;21:2623-2626
9. Komiya C, Tanaka M, Tsuchiya K\*, Shimazu N, Mori K, Furuke S, Miyachi Y, Shiba K, Yamaguchi S, Ikeda K, Ochi K, Nakabayashi K, Hata K, Itoh M, Suganami T, Ogawa Y\* : Antifibrotic effect of pirfenidone in a mouse model of human nonalcoholic steatohepatitis. *Sci Rep.* 2017;7:44754.
10. Honda A, Umegaki-Arao N, Sasaki T, Nakabayashi K, Hata K, Matsubara Y, Tanikawa A, Amagai M, Kubo A\* : Somatic HRAS p.G12S mosaic mutation causes unilaterally distributed epidermal nevi, woolly hair and palmoplantar keratosis. *J Dermatol.* 2017;44:e109-e110
11. Kasuga Y, Hata K\*, Tajima A, Ochiai D, Saisho Y, Matsumoto T, Arata N, Miyakoshi K\*, Tanaka M : Association of common polymorphisms with gestational diabetes mellitus in Japanese women: A

- case-control study. *Endocr J*. 2017;64:463-475
12. Tanese K, Niizeki H\*, Seki A, Nakabayashi K, Nakazawa S, Tokura Y, Kawashima Y, Kubo A, Ishiko A : Infiltration of mast cells in pachydermia of pachydermoperiostosis. *J Dermatol*. 2017;44:1320-1321
  13. Sakaki M, Ebihara Y, Okamura K, Nakabayashi K, Igarashi A, Matsumoto K, Hata K, Kobayashi Y, Maehara K\* : Potential roles of DNA methylation in the initiation and establishment of replicative senescence revealed by array-based methylome and transcriptome analyses. *PLoS One*. 2017;12:e0171431
  14. Nakazawa S\*, Mori T, Niizeki H, Nakabayashi K, Tokura Y : Complete type of pachydermoperiostosis with a novel mutation c.510G>A of the *SLCO2A1* gene. *J Dermatol*. 2017;44:1411-1412
  15. Lee J, Yoshida W, Abe K, Nakabayashi K, Wakeda H, Hata K, Marquette CA, Blum LJ, Sode K, Ikebukuro K\* : Development of an electrochemical detection system for measuring DNA methylation levels using methyl CpG-binding protein and glucose dehydrogenase-fused zinc finger protein. *Biosens Bioelectron*. 2017;93:118-123
  16. Hirabayashi S, Ohki K\*, Nakabayashi K, Ichikawa H, Momozawa Y, Okamura K, Yaguchi A, Terada K, Saito Y, Yoshimi A, Ogata-Kawata H, Sakamoto H, Kato M, Fujimura J, Hino M, Kinoshita A, Kakuda H, Kurosawa H, Kato K, Kajiwara R, Moriwaki K, Morimoto T, Nakamura K, Noguchi Y, Osumi T, Sakashita K, Takita J, Yuza Y, Matsuda K, Yoshida T, Matsumoto K, Hata K, Kubo M, Matsubara Y, Fukushima T, Koh K, Manabe A, Ohara A, Kiyokawa N\* : ZNF384-related fusion genes consist of a subgroup with a characteristic immunophenotype in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*. 2017;102:118-129
  17. Igarashi M, Takasawa K, Hakoda A, Kanno J, Takada S, Miyado M, Baba T, Morohashi KI, Tajima T, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Sekido R, Ogata T, Kashimada K, Fukami M\* : Identical NR5A1 Missense Mutations in Two Unrelated 46,XX Individuals with Testicular Tissues. *Hum Mutat*. 2017;38:39-42
  18. Liao H, Sato H, Chiba R, Kawai T, Nakabayashi K, Hata K, Akutsu H, Fujiwara S, Nakamura H\* : Human cytomegalovirus downregulates SLITRK6 expression through IE2. *J Neurovirol*. 2017;23:79-86
  19. Okuno H, Nakabayashi K, Abe K, Ando T, Sanosaka T, Kohyama J, Akamatsu W, Ohyama M, Takahashi T, Kosaki K, Okano H\* : Changeability of the fully methylated status of the 15q11.2 region in induced pluripotent stem cells derived from a patient with Prader-Willi syndrome. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2017;57:96-103
  20. Okuno M, Kasahara Y, Onodera M, Takubo N, Okajima M, Suga S, Watanabe N, Suzuki J, Ayabe T, Urakami T, Kawamura T, Kikuchi N, Yokota I, Kikuchi T, Amemiya S, Nakabayashi K, Hayashi K, Hata K, Matsubara Y, Ogata T, Fukami M\*, Sugihara S : Nucleotide substitutions in CD101, the human homolog of a diabetes susceptibility gene in non-obese diabetic mouse, in patients with type 1 diabetes. *J Diabetes Investig*. 2017;8:286-294
  21. Kagami M\*, Matsubara K, Nakabayashi K, Nakamura A, Sano S, Okamura K, Hata K, Fukami M, Ogata T\* : Genome-wide multilocus imprinting disturbance analysis in Temple syndrome and Kagami-Ogata syndrome. *Genet Med*. 2017;19:476-482
  22. Sasaki A, Kuroda K, Hisano M, Ozawa N, Sago H, Yamaguchi K\* : Successful treatment for a

- recurrent second-trimester pregnancy loss woman with high Th1/Th2 ratio using median-dose corticosteroids. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2017;37:685-687.
23. Nakagawa K\*, Kwak-Kim J, Kuroda K, Sugiyama R, Yamaguchi K.: Immunosuppressive treatment using tacrolimus promotes pregnancy outcome in infertile women with repeated implantation failures. *Am J Reprod Immunol*. Sep;78(3). doi: 10.1111/aji.12682. Epub 2017 May 3.
  24. Ozawa N\*, Yamaguchi K., Shibata M, Sugibayashi R, Yagi H, Sago H, Matsuoka K.: Chronic histiocytic intervillitis in three consecutive pregnancies in a single patient: Differing clinical results and pathology according to treatment used. *J Obstet Gynaecol Res*. 2017;43:1504-1508.
  25. Nakagawa K\*, Kuroda K, Sugiyama R, Yamaguchi K.: After 12 consecutive miscarriages, a patient received immunosuppressive treatment and delivered an intact baby. *Reprod Med Biol*. 2017;16:297-301.
  26. Hanaoka M, Hisano M, Tsukamoto K, Ito R, Ito Y, Sago H, Matsui A and Yamaguchi K.\*: Infants born to HBV genotype A-carrier mothers have begun to appear in Japan. *Journal of Clinical Obstetrics, Gynecology & Infertility*. 2017; vol1: Article 1021 (on line).

## [総説 (和文) ]

1. 河合智子, 秦健一郎(2017) 環境因子のヒト発生への影響 エピゲノムの「乱れ」の観点から. *Medical Science Digest* 43; 592-596
2. 右田王介, 秦健一郎(2017) 【難病研究 up-to-date 臨床病態解析と新たな診断・治療法開発をめざして】(第1章)難病の診断と病態解析. エピゲノム遺伝子医学 MOOK 32:42-48
3. 漆山大知, 秦健一郎, 宮本新吾(2017) 【産婦人科領域と炎症】 マイクロバイオーム研究を通して見た絨毛膜羊膜炎. 別冊 *Bio Clinica: 慢性炎症と疾患* 6:56-61
4. 中林一彦(2017) 特集摂食障害 摂食障害と遺伝性要因. *日本医師会雑誌* 146:1562
5. 右田王介, 秦健一郎(2017) 新生児医療 最新トピック NEXT(no.7) 周産期医療におけるエピジェネティクスの展望. *Neonatal Care* 30:953
6. 河合智子, 秦健一郎(2017) 特集「次世代への予防医療 DOHaD を活かす」8.母体体重増加と胎児・胎盤のDNAメチル化の変化. *産科と産婦人科* 84:1191-1196
7. 河合智子, 秦健一郎(2017) 女性の将来の健康のために—疾患・病態相互の関連における新しい知見 2.Developmental Origins of Health and Disease (DOHaD). *産科と婦人科* 84:906-911
8. 右田王介, 秦健一郎(2017) 【産科領域における遺伝診療の最前線】周産期疾患と遺伝子解析・診断 *産科と婦人科* 84:43-48
9. 河合智子, 秦健一郎(2017) 【エピジェネティクスとアンチエイジング】 DOHaD とエピジェネティクス. *アンチ・エイジング医学* 12:758-763

## [著書]

1. Kazuhiko Nakabayashi(2017) "Illumina HumanMethylation Beadchip for genome-wide DNA methylation profiling: advantages and limitations" in *Handbook of Nutrition, Diet, and Epigenetics* Editors: Patel, Vinood, Preedy, Victor R. (Eds.). イルミナ社 DNAメチル化アレイ解析の実験原理・データ解析方法などを解説した総説
2. 秦健一郎(2017) 8染色体異常の検査法. D 染色体DNA マイクロアレイ検査, E 次世代シーケンサー (next generation sequencer : NGS). 関沢明彦, 佐村修, 四元淳子 (編) 周産

期遺伝カウンセリングマニュアル 改訂2版, 中外医学社, 101-108

## 2. 学会・研究会発表

[招待講演・教育講演・シンポジウム]

1. 秦健一郎: JST 未来社会創造事業(探索加速型)「持続可能な社会の実現」領域 平成30年度新規重点公募テーマ検討会 「健康長寿社会に向けた健康破綻リスクを予測する技術の開発」～生涯を通じた新しい健康リスクマネジメント～「環境による変化は遺伝する -エピゲノムとヒトの健康-」, 2017.12.2
2. 中林一彦: 「エピゲノム研究: 最近の進歩と人類進化・多様性研究への応用」第71回日本人類学会大会, 東京, 2017.11.4
3. 秦健一郎: DOHaD theory in human cases: Inheritable epigenetic changes caused by environmental factors. 第60回日本神経化学学会, 仙台, 2017.9.7
4. 中林一彦: 「霊長類エピゲノム多様性と進化 (インプリンティング制御領域を中心に)」日本進化学会第19回大会, 京都, 2017.8.24
5. 秦健一郎: 『『ART と DOHaD の相互理解と将来への展望』-生命誕生とエピジェネティクス』第35回日本受精着床学会総会・学術講演会, 米子, 2017.7.21
6. 河合智子: 「子宮内環境とエピゲノム状態の変化」第17回赤ちゃん学会学術集会, 久留米, 2017.7.9

[海外一般演題発表]

1. Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J: Integrated genetic/epigenetic analysis revealed high heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. American Society of Hematology. Atlanta, GA, 2017.12.11
2. Yamato G, Kawai T, Shiba N, Ohki K, Hara Y, Kiyokawa N, Tomizawa D, Shimada A, Okubo J, Park M, Sotomatsu M, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Horibe K, Hata K, Hayashi Y: Comprehensive Methylation Analysis in Pediatric Patients with Acute Myeloid Leukemia –the JCCG study, JPLSG AML-05-. American Society of Hematology. Atlanta, GA, 2017.12.11
3. Migita O, Mizuno M, Aso K, Yamamoto H, Hata K: A novel deletion in ABCC9 gene identified through whole-exome sequencing of patient with clinical spectrum of Cantú syndrome. American Society of Human Genetics, Orlando, FL, USA, 2017.10.20
4. Takano K, Kosho T, Wakui K, Nishi E, Unzaki A, Ishikawa M, Kise E, Yamaguchi T, Kawamura R, Motobayashi M, Fukuyama T, Fueki N, Hirabayashi S, Inaba Y, Kaname T, Hata K, Matsubara Y, Fukushima Y: Genetic evaluation of patients with intellectual disability (ID) using chromosomal microarray and next-generation sequencing at the “ID clinic”. American Society of Human Genetics, Orlando, FL, USA, 2017.10.19
5. Kashima K, Kawai T, Nishimura R, Shiwa Y, Kamura H, Takeda K, Aoto S, Matsubara K, Matsumoto K, Shimizu A, Oka A, Mizuguchi M, Nakabayashi K, Hata K, Takahashi N: Epigenetic and transcriptomic changes in preterm or SGA infants during perinatal period. 10th DOHaD world congress, Rotterdam, 2017.10.16
6. Kimura S, Seki M, Kawai T, Yoshida K, Isobe T, Ueno H, Suzuki H, Ohki K, Imamura T, Kiyokawa N,



- Kobayashi M, Koh K, Manabe A, Ohara A, Sanada M, Hayashi Y, Hata K, Miyano S, Ogawa S, Takita J : Integrated genetic and epigenetic analysis in pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL). The 49th Congress of the International Society of Paediatric Oncology, Washington DC (USA), 2017.10.13
7. Nakabayashi K, Tomikawa J, Sato T, Kato N, Toh H, Okae H, Shirane K, Saitou D, Kabayama Y, Masuda A, Kitade M, Arima T, Suyama M, Takeda S, Sasaki H, Hata K : Integrative analysis of reference epigenomes for endometrium. IHEC Annual Meeting 2017, Berlin, 2017.10.12-14
  8. Tomikawa J, Takada S, Okamura K, Hayashi K, Terao M, Akutsu H, Tanaka S, Hata K, Nakabayashi K : Tead4 interactome organized for mouse extraembryonic cell lineage specification. The 72nd Fujihara Seminar, International Symposium on Molecular Mechanism of Molding and Disruption of the Epigenomes Underlying Cellular Community, Tomakomai, 2017.9.13
  9. Sato T, Samura O, Kajiwara K, Takahashi K, Aoki H, Kato N, Taniguchi K, Yoshida M, Migita O, Okamoto A, Hata K : Molecular Analyses Reveal Atypical Confined Placental Mosaicism with a Small Supernumerary Marker Chromosome Derived from Chromosome 18: A Case Report of Discordant Results of Three Prenatal Tests. International Federation of Placenta Associations 2017, Manchester, United Kingdom, 2017.9.1
  10. Taniguchi K, Kawai T, Nakabayashi K, Okamura K, Kitawaki J, Sago H, Hata K : The placental epi-transcriptome : post-transcriptional m6A modifications at 5' UTR may relate fetal growth. International Federation of Placenta Associations 2017, Manchester, United Kingdom, 2017.8.31
  11. Wang T, Saran Sinha A, Yanagawa Y, Kawai T, Hata K, Fukuda A : Prenatal stress on Gad1-heterozygotes selectively perturbs parvalbumin (PV)-positive GABAergic neurogenesis, GABA synapses and social interaction behavior. International Behavioral Neuroscience Society, Hiroshima, 2017.6.29
  12. Fujita H, Sasaki T, Miyamoto T, Mori T, Nakabayashi K, Hata K, Matsuura S, Matsubara Y, Amagai M, Kubo A : Genetic characterization of a patient with a progeroid phenotype and mosaic variegated aneuploidy. KEYSTONE SYMPOSIA MEETING Aging and Mechanism of Aging-Related Disease. Yokohama, 2017.5.19
  13. Kashima K, Kawai T, Nishimura R, Kamura H, Oka A, Mizuguchi M, Nakabayashi K, Hata K, Takahashi N : Epigenetic Changes in Preterm or SGA Infants Using Longitudinal Genome-Wide Methylation Analysis. the 1st Taiwan-Korea-Japan Joint Congress on Neonatology, Taipei, 2017.3.11

【公的研究費】（配分額は平成 29 年度単年度分を示す）

1. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 挑戦的研究（萌芽） エピゲノム脆弱性とゲノム脆弱性の観点から見た生殖・発生異常未知因子の探索：（代表）秦健一郎、250 万円
2. 成育医療研究開発費 原因不明先天異常・産科異常の総合診断体系の構築：（代表）秦健一郎、261 万円
3. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 戦略的創造研究推進事業 生殖発生にかかわる細胞のエピゲノム解析基盤研究：（分担）秦健一郎、900 万円
4. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業 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：（分担）秦健一郎、553 万円
5. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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：(分担) 秦健一郎、500万円
6. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業 成育難病のオーダーメイド医療実現を目指したゲノム解析研究：(分担)秦健一郎、372万円
  7. 厚生労働科学研究費補助金 発達期における統合的な遅発性神経毒性試験法の開発：(分担) 秦健一郎、140万円
  8. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 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：(分担)秦健一郎、130万円
  9. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 不育症の原因解明、予防治療に関する研究：(分担)秦健一郎、100万円
  10. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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：(分担)秦健一郎、90万円
  11. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 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：(分担) 秦健一郎、80万円
  12. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 生殖補助医療の技術の標準化と出生児の安全性に関する研究：(分担)秦健一郎、76万円
  13. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(分担) 秦健一郎、20万円
  14. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 未診断疾患に対する診断プログラムの開発に関する研究：(分担)秦健一郎、主任一括
  15. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業 希少・難病分野の臨床ゲノム情報統合データベース整備：(分担)秦健一郎、主任一括
  16. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(代表) 中林一彦、210万円
  17. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 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：(分担) 中林一彦、140万円
  18. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 原発性免疫不全症に対する ex vivo 遺伝子・細胞治療の治験実施体制の構築と人材育成に関する研究：(分担) 中林一彦、100万円
  19. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 A 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：(分担) 中林一彦、100万円
  20. 成育医療研究開発費 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：(分担) 中林一彦、100万円
  21. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 神経幹細胞の運命決定の分子機構解明：(分担) 中林一彦、30万円
  22. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(分担) 中林一彦、20万円
  23. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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：(代表) 河合智子、600万円
  24. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 胎盤期栄養環境がエピゲノム制御に及ぼす影響の解明：(代表) 河合智子、70万円
  25. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(代表) 富川順子、130万円

## 【その他（教育・広報など）】

## [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  
 秦健一郎 東京農工大学 客員講師  
 秦健一郎 東京医科歯科大学大学院 連携教授  
 秦健一郎 聖マリアンナ医科大学 客員教授  
 秦健一郎 東京大学 客員講師  
 秦健一郎 筑波大学 客員講師  
 秦健一郎 北里大学 客員講師  
 秦健一郎 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）  
 中林一彦 東京大学 客員講師

## [審査等]

秦健一郎 国際学術誌 査読 10 編  
 秦健一郎 北里大学 プロジェクト研究外部評価委員  
 秦健一郎 CITI Japan プロジェクト 外部協力教員  
 秦健一郎 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  
 秦健一郎 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 2 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  
 秦健一郎 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  
 中林一彦 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  
 秦健一郎 日本 DOHaD 研究会 幹事  
 河合智子 第 6 回日本 DOHaD 学会学術集会 実行委員

## 【平成 30 年研究業績】

## 1. 論文

## [原著論文（欧文）]

1. Kabata R\*, Okuda H, Noguchi A, Kondo D, Fujiwara M, Hata K, Kato Y, Ishikawa K, Tanaka M, Sekine Y, Hishikawa N, Mizukami T, Ito J, Akasaka M, Sakurai K, Yoshida T, Minoura H, Hayashi T,

- Inoshita K, Matsuyama M, Kinjo N, Cao Y, Inoue S, Kobayashi H, Harada KH, Youssefian S, Takahashi T, Koizumi A : Familial episodic limb pain in kindreds with novel Nav1.9 mutations. *PLoS One*. 2018;13:e0208516
2. 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*. 2018 doi: 10.1016. [Epub ahead of print]
  3. 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*. 2018 doi: 10.1016. [Epub ahead of print]
  4. 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*. 2018 doi: 10.1136. [Epub ahead of print]
  5. 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*. 2018 doi: 10.1111. [Epub ahead of print]
  6. Katoh N, Kuroda K, Tomikawa J, Ogata-Kawata H, Ozaki R, Ochiai A, Kitade M, Takeda S, Nakabayashi K\*, Hata K\* : Reciprocal changes of H3K27ac and H3K27me3 at the promoter regions of the critical genes for endometrial decidualization. *Epigenomics*. 2018;10:1243-1257
  7. 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*. 2018 doi: 10.1016. [Epub ahead of print]
  8. 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, Kajiwarra 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-HNRNPH1 gene fusion. *Haematologica*. 2018 doi: 10.3324. [Epub ahead of print]
  9. Nakazawa S\*, Niizeki H, Nakabayashi K, Tanese K, Tokura Y : Congenital nail clubbing. *J Dermatol*. 2018 doi: 10.1111. [Epub ahead of print]
  10. Hernandez Mora JR, Tayama C, Sánchez-Delgado M, Monteagudo-Sánchez A, Hata K, Ogata T, Medrano J, Poo-Llanillo ME, Simón C, Moran S, Esteller M, Tenorio J, Lapunzina P, Kagami M, Monk D\*, Nakabayashi K\* : Characterization of parent-of-origin methylation using the Illumina Infinium MethylationEPIC array platform. *Epigenomics*. 2018;10:941-954
  11. Okumura A\*, Maruyama K, Shibata M, Kurahashi H, Ishii A, Numoto S, Hirose S, Kawai T, Iso M, Kataoka S, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S : A patient with a GNAO1 mutation with decreased spontaneous movements, hypotonia, and dystonic features. *Brain Dev*. 2018;40:926-930

12. Osumi T, Tsujimoto SI, Tamura M, Uchiyama M, Nakabayashi K, Okamura K, Yoshida M, Tomizawa D, Watanabe A, Takahashi H, Hori T, Yamamoto S, Hamamoto K, Migita M, Ogata-Kawata H, Uchiyama T, Kizawa H, Ueno-Yokohata H, Shirai R, Seki M, Ohki K, Takita J, Inukai T, Ogawa S, Kitamura T, Matsumoto K, Hata K, Kiyokawa N, Goyama S, Kato M\* : Recurrent RARB Translocations in Acute Promyelocytic Leukemia lacking RARA Translocation. *Cancer Res.* 2018;78:4452-4458
13. Okano S, Miyamoto A, Fukuda I, Tanaka H, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, Makita Y\* : Genitopatellar syndrome: the first reported case in Japan. *Hum Genome Var.* 2018;5:8
14. Sato T, Samura O, Kato N, Taniguchi K, Takahashi K, Ito Y, Aoki H, Kobayashi M, Migita O, Okamoto A, Hata K\* : Novel TFAP2A mutation in a Japanese family with Branchio-oculo-facial syndrome. *Hum Genome Var.* 2018;5:5
15. Usui H\*, Nakabayashi K, Kaku H, Maehara K, Hata K, Shozu M : Elucidation of the developmental mechanism of ovarian mature cystic teratomas using B allele-frequency plots of single nucleotide polymorphism array data. *Genes Chromosomes Cancer.* 2018;57:409-419
16. Matsushita J, Okamura K, Nakabayashi K, Suzuki T, Horibe Y, Kawai T, Sakurai T, Yamashita S, Higami Y, Ichihara G, Hata K, Nohara K\* : The DNA methylation profile of liver tumors in C3H mice and identification of differentially methylated regions involved in the regulation of tumorigenic genes. *BMC Cancer.* 2018;18:317
17. Nakamura A\*, Muroya K, Ogata-Kawata H, Nakabayashi K, Matsubara K, Ogata T, Kurosawa K, Fukami M, Kagami M\* : A case of paternal uniparental isodisomy for chromosome 7 associated with overgrowth. *J Med Genet.* 2018;55:567-570
18. Yoshida W\*, Saikyo H, Nakabayashi K, Yoshioka H, Bay DH, Iida K, Kawai T, Hata K, Ikebukuro K, Nagasawa K, Karube I : Identification of G-quadruplex clusters by high-throughput sequencing of whole-genome amplified products with a G-quadruplex ligand. *Sci Rep.* 2018;8:3116
19. 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.* 2018;27:1421-1433
20. Ono H, Saitsu H, Horikawa R, Nakashima S, Ohkubo Y, Yanagi K, Nakabayashi K, Fukami M, Fujisawa Y, Ogata T\* : Partial androgen insensitivity syndrome caused by a deep intronic mutation creating an alternative splice acceptor site of the AR gene. *Sci Rep.* 2018;8:2287
21. Miyashita N, Onozawa M\*, Hayasaka K, Yamada T, Migita O, Hata K, Okada K, Goto H, Nakagawa M, Hashimoto D, KaHata K, Kondo T, Kunishima S, Teshima T : A novel heterozygous ITGB3 p.T720del inducing spontaneous activation of integrin  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 in autosomal dominant macrothrombocytopenia with aggregation dysfunction. *Ann Hematol.* 2018;97:629-640
22. Osumi T, Tsujimoto SI, Nakabayashi K, Taniguchi M, Shirai R, Yoshida M, Uchiyama T, Nagasawa J, Goyama S, Yoshioka T, Tomizawa D, Kurokawa M, Matsubara Y, Kiyokawa N, Matsumoto K, Hata K, Kato M\* : Somatic MECOM mosaicism in a patient with congenital bone marrow failure without a radial abnormality. *Pediatr Blood Cancer.* 2018;65:e26959
23. Hiraide T, Nakashima M, Yamoto K, Fukuda T, Kato M, Ikeda H, Sugie Y, Aoto K, Kaname T, Nakabayashi K, Ogata T, Matsumoto N\*, Saitsu H\* : De novo variants in SETD1B are associated with

- intellectual disability, epilepsy and autism. *Hum Genet.* 2018;137:95-104
24. Isobe T, Seki M, Yoshida K, Sekiguchi M, Shiozawa Y, Shiraiishi Y, Kimura S, Yoshida M, Inoue Y, Yokoyama A, Kakiuchi N, Suzuki H, Kataoka K, Sato Y, Kawai T, Chiba K, Tanaka H, Shimamura T, Kato M, Iguchi A, Hama A, Taguchi T, Akiyama M, Fujimura J, Inoue A, Ito T, Deguchi T, Kiyotani C, Iehara T, Hosoi H, Oka A, Sanada M, Tanaka Y, Hata K, Miyano S, Ogawa S, Takita J\* : Integrated molecular characterization of the lethal pediatric cancer pancreatoblastoma. *Cancer Res.* 2018;78:865-876
  25. Nakamura Y, Togawa Y, Okuno Y, Muramatsu H, Nakabayashi K, Kuroki Y, Ieda D, Hori I, Negishi Y, Togawa T, Hattori A, Kojima S, Saitoh S\* : Biallelic mutations in SZT2 cause a discernible clinical entity with epilepsy, developmental delay, macrocephaly and a dysmorphic corpus callosum. *Brain Dev.* 2018;40:134-139
  26. Ushijima K, Fukami M\*, Ayabe T, Narumi S, Okuno M, Nakamura A, Takahashi T, Ihara K, Ohkubo K, Tachikawa E, Nakayama S, Arai J, Kikuchi N, Kikuchi T, Kawamura T, Urakami T, Hata K, Nakabayashi K, Matsubara Y, Amemiya S, Ogata T, Yokota I, Sugihara S; Japanese Study Group of Insulin Therapy for Childhood and Adolescent Diabetes. : Comprehensive screening for monogenic diabetes in 89 Japanese children with insulin-requiring antibody-negative type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2018;19:243-250
  27. Okada N, Sasaki A\*, Saito J, Mitani Y, Yachie A, Takahashi H, Matsubara S, Tenkumo C, Tanaka H, Hata T, Motomura K, Nagasawa J, Wada Y, Sako M, Yamaguchi K, Matsumoto K, Nakamura H, Sago H, Mizuta K. The Japanese experience and pharmacokinetics of antenatal maternal high-dose immunoglobulin treatment as a prophylaxis for neonatal hemochromatosis in siblings. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2018 Jul 22:1-7. doi: 10.1080/14767058.2018.1487940. [Epub ahead of print]
  28. Will Cuningham, Nicholas Geard, James E. Fielding, Sabine Braat, Shabir A. Madhi, Marta C. Nunes, Lisa M. Christian, Shin-Yu Lin, Chien-Nan Lee, Koushi Yamaguchi, Hans Bisgaard, Bo Chawes, An-Shine Chao, Geraldine Blanchard-Rohner, Elizabeth P. Schlaudecker, Barbra M. Fisher, Jodie McVernon, Robert Moss. Optimal Timing of Influenza Vaccine during Pregnancy: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2018.

## [総説 (英文) ]

1. Taniguchi K, Kawai T, Hata K(2018) Placental Development and Nutritional Environment. *Adv Exp Med Biol.* 1012:63-73

## [総説 (和文) ]

1. 中林一彦(2018) ヒト以外の遺伝子に関連する研究 哺乳類エピゲノムの多様性と進化. *遺伝子医学* 8:185-191
2. 河合智子, 秦健一郎(2018) 特集生活習慣病と子ども—DOHaD と健康のカギ I.DOHaD の基礎 エピジェネティクス. *小児科診療* 81:1261-1266
3. 右田王介, 秦健一郎(2018) 【最新遺伝医学研究と遺伝カウンセリング(シリーズ3) 最新 多因子遺伝性疾患研究と遺伝カウンセリング】 (第2章)主に新生児～小児期にみられる多因子疾患の遺伝医学研究・診療各論 二分脊椎・神経管閉鎖不全(解説/特集) *遺伝子医学 MOOK 別冊最新多因子遺伝性疾患研究と遺伝カウンセリング* 44-48

4. 秦健一郎(2018) 【早産予防 2018】早産の遺伝学的解析. 周産期医学 48:453-455
5. 秦健一郎(2018) 【子宮筋腫のすべて】子宮筋腫発生の分子遺伝学的メカニズム. HORMONE FRONTIER IN GYNECOLOGY 25:99-103
6. 中林一彦(2018) 【遺伝子治療の新局面】 遺伝子導入・改変法・解析法 特徴と作製法、最近の話題 遺伝子治療を支える次世代シーケンス技術 遺伝子導入部位解析とゲノム編集オフターゲット評価. 医学の歩み 265:379-383

## 2. 学会・研究会発表

[招待講演・教育講演・シンポジウム]

1. 秦健一郎:「胎児期の環境ストレスと出生児で実際に観察されるエピゲノム変化」第41回日本分子生物学会年会, 横浜, 2018.11.30
2. 中林一彦:「マウス胚発生におけるエピジェネティクスの関与とその解析法」国立研究開発法人国立環境研究所セミナー, つくば, 2017.11.9
3. 秦健一郎:「エピジェネティックな修飾状態からみたヒト発生異常の再検証」日本人類遺伝学会第63回大会, 横浜, 2018.10.12
4. 秦健一郎:「発達期に着目したライフコース医学と先端科学技術の融合」, AMED 戦略検討ワークショップ, 東京, 2018.9.28
5. 秦健一郎:「NCBNの事例紹介」, AMED 第5回バイオバンク連絡会, 東京, 2018.9.22
6. 秦健一郎:「Genetic and epigenetic analysis of the placenta」, IFPA 第24回国際胎盤学会, 東京, 2018.9.22
7. 中林一彦:「表現型可塑性におけるエピゲノムの役割」第20回大会日本進化学会, 東京, 2018.8.24
8. 中林一彦:「転写制御ゲノム領域の網羅的同定と機能解明:エピゲノム基盤技術と最近の動向」滋賀医科大学 医学総合特論パイオニアセミナー・第126回実験実習支援センターセミナー, 大津, 2018.7.9
9. 中林一彦:「Epigenomics for child health and development: genomic imprinting and beyond」, 30th Anniversary of Andrew Sass-Kortsak Award, Toronto, 2018.6.19
10. 秦健一郎:「早産の遺伝子解析」第1回福岡大学周産期研究会~新たな早産予防と治療戦略の確立に向けて~, 福岡大学医学部, 福岡, 2018.6.12
11. 秦健一郎:「小児科・産科領域の異常とゲノム・エピゲノム・マイクロビーム解析」第14回日本小児消化管感染症研究会, 東京, 2018.2.3
12. 河合智子:「栄養とエピジェネティクス」DOHaD 疫学セミナー第6回例会, 東京, 2018.1.20

[海外一般演題発表]

1. Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Oki K, Kiyokawa N, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J: Integrated genetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in down syndrome. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, 2018.11.19
2. Yamato G, Kawai T, Shiba N, Ohki K, Hara Y, Kiyokawa N, Tomizawa D, Shimada A, Sotomatsu M, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Horibe K, Hata K, Hayashi Y: Prognosis of pediatric AML patient

- with FLT3-ITD is predicted by DNA methylation pattern –the JCCG study, JPLSG AML–05–. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, 2018.11.18
3. Yoshida M, Nakabayashi K, Tsujimoto S, Osumi T, Shirai R, Kawai T, Yuza Y, Takagi M, Koh K, Takahashi H, Kinoshita A, Hino M, Manabe A, Imamura T, Ohara A, Tomizawa D, Kiyokawa N, Hata K, Kato M : Germline genetic predispositions to secondary malignant neoplasms in children. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, 2018.11.18
  4. Watanabe K, Kimura S, Seki M, Isobe T, Kawai T, Hiwatarai M, Yoshida K, Kataoka K, Sato Y, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Oka A, Koh K, Hata K, Miyano S, Ogawa S, Takita J : Molecular basis underlying targeting metabolism for cancer therapy in neuroblastoma. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, 2018.11.17
  5. Sekiguchi M, Seki M, Kawai T, Isobe T, Yoshida K, Yoshida M, Shirai R, Souzaki R, Shiraishi Y, Hoshino N, Watanabe K, Arakawa Y, Koh K, Taguchi T, Kato M, Tanaka Y, Miyano S, Hata K, Ogawa S, Takita J : High expression of *NQO1* with promoter hypomethylation in high-risk hepatoblastoma is related to increased cell proliferation and drug resistance. 50th Congress of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP), Kyoto, 2018.11.17
  6. Meza J, Nishio M, Tsukakoshi K, Yanagihara I, Hata K, Nakahashi K, Ikebukuro K : Screening of DNA aptamers against synthetic lipopeptide UPM-1 for Ureaplasma detection. The 45th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry 2018 The 2nd Annual Meeting of Japan Society of Nucleic Acids Chemistry, Kyoto, 2018.11.7
  7. Nakamura Y, Togawa Y, Okuno Y, Muramatsu H, Nakabayashi K, Kuroki Y, Ieda D, Hori I, Negishi Y, Togawa T, Hattori A, Kojima S, Saitoh S : Novel biallelic mutations in SZT2 cause mild intellectual disability and epilepsy: Expanding the phenotypic spectrum. ASHG2018, San Diego, 2018.10.19
  8. Uryu H, Hata K : Accurate prediction of chromatin conformation status using deep neural network model. ASHG2018, San Diego, 2018.10.18
  9. Sato T, Kawai T, Kashima K, Omori I, Shimizu M, Nishimura R, Hyodo H, Kugu K, Nagamatsu T, Fujii T, Takahashi N, Okamoto A, Hata K : The possibility of using placenta-specific interindividual differences in genome-wide DNA methylation profiles to assess intrauterine environments. International Federation of Placenta Associations, Tokyo, 2018.9.21
  10. Nakamura Y, Togawa Y, Okuno Y, Muramatsu H, Nakabayashi K, Kuroki Y, Ieda D, Hori I, Negishi Y, Togawa T, Hattori A, Kojima S, Saitoh S : Novel biallelic mutations in SZT2 cause mild intellectual disability and epilepsy: expanding the phenotypic spectrum. American Society of Human Genetics, San Diego, CA, USA, 2018.10.19
  11. Kimura S, Seki M, Kawai T, Yoshida K, Isobe T, Ueno H, Shiozawa Y, Suzuki H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Ohki K, Kato M, Koh K, Hanada R, Moritake H, Kobayashi R, Deguchi T, Hashii Y, Imamura T, Sato A, Kiyokawa N, Manabe A, Horibe K, Ohara A, Sanada M, Kobayashi M, Oka A, Hayashi Y, Miyano S, Ogawa S, Hata K, Takita J : Characterization of pediatric T-cell acute lymphoblastic leukemia with DNA methylation status. European Hematology Association, Stockholm, Sweden, 2018.6.16
  12. Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J :



- Integrated genetic and epigenetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in down syndrome. European Hematology Association, Stockholm, Sweden, 2018.6.15
13. Watanabe K, Kimura S, Seki M, Isobe T, Kawai T, Hiwatarai M, Yoshida K, Kataoka K, Sato Y, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Oka A, Koh K, Hata K, Miyano S, Ogawa S, Takita J : Inhibition of phosphoglycerate dehydrogenase inhibits neuroblastoma growth and arginine deiminase reinforces the effect by altering tumor metabolism. Advances in Neuroblastoma Research, San Francisco, USA, 2018.5.12
  14. Urushiyama D, Yasunaga S, Nomiya M, Hattori M, Miyamoto S, Hata K : Prediction of chorioamnionitis using next-generation sequencing in amniotic fluid samples. 2018 ACOG Annual Clinical and Scientific Meeting. Austin, Texas, 2018.4.28
  15. Uryu H and Hata K : Accurate prediction of chromatin conformation status using deep neural network model.(poster) Human Genome Meeting 2018, Yokohama, 2018.3.12-14

【公的研究費】(配分額は平成30年度単年度分を示す)

1. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 挑戦的研究(萌芽) エピゲノム脆弱性とゲノム脆弱性の観点から見た生殖・発生異常未知因子の探索:(代表)秦健一郎、250万円
2. 成育医療研究開発費 原因不明先天異常・産科異常の総合診断体系の構築:(代表)秦健一郎、186万円
3. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業 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:(分担)秦健一郎、400万円
4. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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:(分担)秦健一郎、300万円
5. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 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-:(分担)秦健一郎、260万円
6. 厚生労働科学研究費補助金 発達期における統合的な遅発性神経毒性試験法の開発:(分担)秦健一郎、200万円
7. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 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:(分担)秦健一郎、110万円
8. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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:(分担)秦健一郎、80万円
9. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 不育症の原因解明、予防治療に関する研究:(分担)秦健一郎、80万円
10. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 成育疾患克服等総合研究事業 生殖補助医療の技術の標準化と出生児の安全性に関する研究:(分担)秦健一郎、76万円
11. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 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:(分担)秦健一郎、60万円
12. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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:(分担)秦健一郎、20万円
13. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 ゲノム研究プラットフォーム利活用システム事業

- 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：(分担)秦健一郎、20万円
14. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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：(分担)秦健一郎、40万円
  15. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業 希少・難病分野の臨床ゲノム情報統合データベース整備：(分担)秦健一郎、主任一括
  16. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(代表)中林一彦、100万円
  17. 成育医療研究開発費 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：(分担)中林一彦、110万円
  18. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 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：(分担)中林一彦、130万円
  19. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 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：(分担)中林一彦、100万円
  20. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 A 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：(分担)中林一彦、50万円
  21. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 挑戦的萌芽 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：(分担)中林一彦、30万円
  22. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 B 神経幹細胞の運命決定の分子機構解明：(分担)中林一彦、20万円
  23. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(分担)中林一彦、20万円
  24. 国立研究開発法人日本医療研究開発機構 難治性疾患実用化研究事業 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：(代表)河合智子、600万円
  25. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 胎盤期栄養環境がエピゲノム制御に及ぼす影響の解明：(代表)河合智子、50万円
  26. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 基盤研究 C 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：(代表)富川順子、140万円
  27. 独立行政法人日本学術振興会 科学研究助成事業 若手研究 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：(代表)谷口公介、160万円

## 【その他（教育・広報など）】

### 〔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
- 秦健一郎 東京農工大学 客員講師
- 秦健一郎 東京医科歯科大学大学院 連携教授
- 秦健一郎 聖マリアンナ医科大学 客員教授
- 秦健一郎 東京大学 客員講師
- 秦健一郎 筑波大学 客員講師
- 秦健一郎 北里大学 客員講師
- 秦健一郎 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）
- 中林一彦 埼玉大学 客員講師

[審査等]

- 秦健一郎 国際学術誌 査読 11 編
- 秦健一郎 北里大学 プロジェクト研究外部評価委員
- 秦健一郎 CITI Japan プロジェクト 外部協力教員
- 秦健一郎 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
- 秦健一郎 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 2 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
- 秦健一郎 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
- 中林一彦 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
- 秦健一郎 日本 DOHaD 学会 幹事
- 河合智子 第7回日本 DOHaD 学会学術集会 実行委員