

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 20 日現在

機関番号：27102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：23790807

研究課題名(和文) 癌化する新規家族性胃底腺ポリポージスと新たな癌抑制機構の探索

研究課題名(英文) Search of cancer-ized new familial gastric fundic glandular polyposis and new cancer restraint system

研究代表者

藤澤 律子 (Fujisawa, Ritsuko)

九州歯科大学・歯学部・助教

研究者番号：50419587

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：常染色体優性遺伝疾患と思われる家族性胃底腺ポリポージスの原因遺伝子の同定のため、同一家系の発症者6名と非発症者3名のDNA検体を用いて、SNPアレイでタイピングし、リンケージ解析を行った。発症者1名のDNA検体を用い次世代シーケンサーでエクソーム解析を行い、SNPとして登録されていない稀な遺伝子変異が318ヶ所同定された。この中にリンケージ解析で同定された候補領域に含まれるものが4ヶ所存在したが、家系解析では原因変異としては否定的で、原因遺伝子の同定には至らなかった。今後更に症例数を蓄積し、詳細な解析を行う予定である。

研究成果の概要(英文)：For distinction of a cause gene of the familial fundic gland polyposis with gastric carcinoma, which seems an autosomal dominant syndrome, typing was done by a SNP array and a linkage analysis was performed using a DNA sample of 6 development persons of an identical family and 3 non-development persons. 7 peaks of LOD score about 1.8 were judged from a linkage analysis. 318 points of rare genetic mutation which isn't registered as SNP did a exome analysis by the next generation sequencer using a DNA sample of 1 development person, and was identified. 4 points of something included in the candidate territory identified by a linkage analysis during this existed, but it was negative as cause mutation by a family analysis, and I didn't come to distinction of a cause gene. I'll plan to accumulate more number of cases and analyze in detail from now on.

研究分野：消化器

キーワード：胃底腺ポリポージス 家族性 SNP リンケージ解析

1. 研究開始当初の背景

胃底腺ポリープとは胃体部・底部に発生する過誤腫性ポリープで、FAPの38%、FAP以外の症例でも特発性胃底腺ポリープとして健常人の0.085%に認められる良性ポリープである (Iida M, et al. Gastroenterology, 89, 1021-25, 1985)。

家族性大腸腺腫症 (FAP) は100個以上の大腸腺腫を有し、効率に大腸癌を発症する常染色体優性遺伝疾患として知られる。その原因遺伝子がAPC遺伝子であることが報告され (Nishisyo et al. 253(5020), 665-9, 1991)、以後大腸癌発症のモデルとして*Min*マウスを用いた研究や様々な臨床的検討がなされてきた。また、臨床的にFAPと診断される症例のうち約20-30%でAPC遺伝子変異が陰性であることが広く知られ、その原因についても様々な検討がなされている。

我々は、これまでの研究から胃底腺ポリープは癌化しない病変と報告したが (Iida M, et al. Gastroenterology, 89, 1021-25, 1985)、近年では胃癌や異形成の報告がなされるようになってきた (Wu TT, Am S Surg Path, 1998)。胃底腺ポリープにおいては、FAP症例ではAPC遺伝子変異が認められ、特発性胃底腺ポリープの癌化部位では β -cateninの遺伝子変異が報告されており、過誤腫としてだけでなく発癌のリスクを持つ腫瘍性病変として報告されるようになった。我々もFAP症例の中で異形成を認めた症例を1例経験している。更に最近、我々は密在する胃底腺ポリープを有し、大腸腺腫が存在しない2家系を経験した (2008年日本消化器病学会総会にて発表)。いずれの家系も、APC遺伝子変異は陰性で大腸腺腫瘍がほとんど認められず、FAPは否定されたが胃底腺を発生母地として胃癌を発症した。すなわち、胃底腺ポリープを発生母地として胃癌を発症する新規遺伝性疾患の可能性があり、その遺伝的背景には新たな発癌機構の存在が予想さ

れる。

2. 研究の目的

本研究では我々が報告したAPC遺伝子変異陰性でFAPが否定された症例において、胃癌を発症した家族性胃底腺ポリポーシスの2家系とFAPが遺伝性である事に注目し、ポリープと癌化部位の網羅的発現解析と比較検討から新たな癌抑制遺伝子の探索をめざす。

3. 研究の方法

胃癌発生母地としての家族性胃底腺ポリポーシスに着目し、胃底腺ポリープおよび胃癌組織 (癌化部位) における遺伝子の発現を網羅的に解析し、本疾患の発症に関与する遺伝子を検討することとした。特発性胃底腺ポリープあるいはFAPの胃底腺ポリープと比較して異なる遺伝子の発現変化が推測され、新たな発癌機構が見出される可能性がある。さらに、我々の胃底腺ポリポーシス症例およびFAPの胃病変におけるRUNX3の発現を調べることで、胃底腺ポリープの発生と発癌に対するRUNX3の関与を検討することができる。胃癌発症家族性胃底腺ポリポーシスでは、APC遺伝子変異と β -catenin遺伝子変異は認めておらず、新たな家族性疾患である可能性が示唆される。

家族性胃底腺ポリポーシス家系およびFAP患者から採取した胃底腺ポリープ組織を用いて免疫染色法によりRUNX3の発現を比較検討する。RUNX3^{-/-}のマウスにおいては胃粘膜の過形成が認められることが報告されているが、通常の胃癌組織ではRUNX3の発現が低下していることが報告されている。自験家族性胃底腺ポリポーシス家系においては胃底腺領域の肥厚が病理組織で確認されており、RUNX3の発現低下が見られる可能性がある。今回は一方、FAPの胃底腺ポリープはAPC遺伝子変異によって発症しているためRUNX3の発現低下は認められないことが予想される。

さらに、常染色体優性遺伝疾患と思われる家族性胃底腺ポリポーシスの原因遺伝子の同定のため、同一家系の発症者6名と非発症者3名のDNA検体を用いて、SNPアレイでタイピングし、リンケージ解析を行った。

続いて発症者1名のDNA検体を用いて、アジレント社のSureSelectを用いてエクソン領域を抽出・濃縮した後、イルミナ社のHiSeq2500システムを用いてシーケンスを行った。

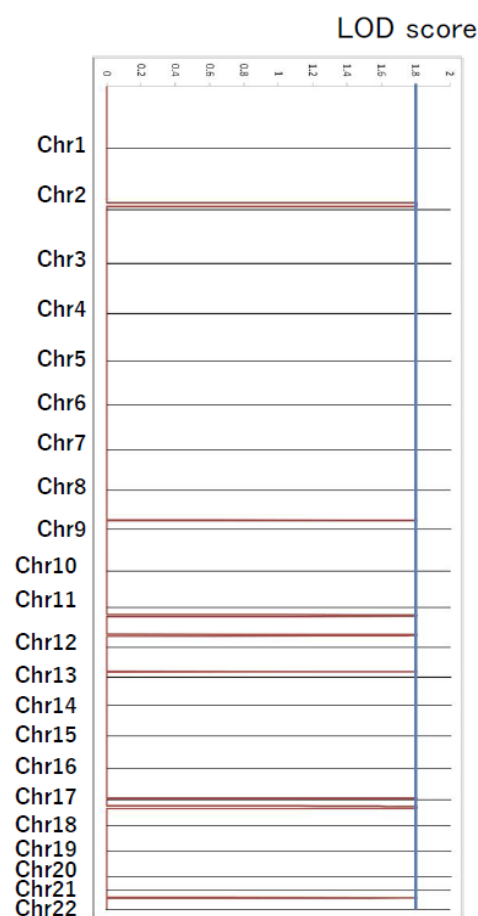
4. 研究成果

家族性胃底腺ポリポーシスの患者における胃粘膜組織を用いて免疫染色の基礎実験を行った。これまでの報告では、凍結標本を用いて染色がなされていたが、今回、我々はホルマリン固定標本を用いて実験を行った。予備実験を繰り返したが、染色の設定が非常に困難であり、明らかな評価は困難と判断した。

家族性胃底腺ポリポーシスの同一家計の発症者6名と非発症者3名のDNAを用いて、原因遺伝子の解析を行った。リンケージ解析では、LODスコア1.8程度のピークが7ヶ所みられた。(表・図)

続いて発症者1名のDNA検体を用いた、エクソーム解析を行った。発症者はデータベースにSNPとして登録されていない稀な遺伝子変異をヘテロでもっていることが想定されるため、そのような遺伝子変異を検索したところ318ヶ所同定された。この遺伝子変異のうち、リンケージ解析で同定された候補領域に含まれるものが4ヶ所存在したが、家系解析を行ったところいずれも原因変異としては否定的であり、原因遺伝子の同定には至らなかった。

Chr	Chr_position
Chr2	209,875,890-222,410,331
Chr9	115,678,033-116,411,753
Chr12	7,953,089-12,016,183
Chr12	92,177,908-95,969,395
Chr13	95,043,288-98,314,332
Chr17	78,431,533-81,025,393
Chr18	10,087,528-21,622,632
Chr22	24,178,279-26,422,980



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Takata Y, Ansai T, Soh I, Awano S, Yoshitake Y, Kimura Y, Nakamichi I, Goto K, Fujisawa R, Sonoki K, Yoshida A, Toyoshima K, Nishihara T. Physical

fitness and 6.5-year mortality in an 85-year-old community-dwelling population. Arch. Gerontol. Geriatr. 54(1): 28-33, 2012. (査読あり)

② Takata Y, Ansai T, Soh I, Awano S, Nakamichi I, Akifusa S, Goto K, Yoshida A, Fujii H, Fujisawa R, Sonoki K. Body mass index and disease-specific mortality in an 80-year-old population at the 12-year follow-up. Arch. Gerontol. Geriatr. 57(1): 46-53, 2013. (査読あり)

③ Takata Y, Ansai T, Soh I, Awano S, Nakamichi I, Akifusa S, Goto K, Yoshida A, Fujii H, Fujisawa R, Sonoki K. High-level activities of daily living and disease-specific mortality during a 12-year follow-up of an octogenarian population. Clin. Interv. Aging. 8: 721-728, 2013. (査読あり)

④ Takata Y, Ansai T, Soh I, Awano S, Nakamichi I, Akifusa S, Goto K, Yoshida A, Fujii H, Fujisawa R, Sonoki K. Serum total cholesterol concentration and 10-year mortality in an 85-year-old population. Clin Interv Aging 9: 293-300, 2014. (査読あり)

⑤ Takata Y, Ansai T, Soh I, Awano S, Nakamichi I, Akifusa S, Goto K, Yoshida A, Fujii H, Fujisawa R, Sonoki K. Cognitive function and 10 year mortality in an 85 year-old community-dwelling population. Clin Interv. Aging. 9: 1691-1699, 2014. (査読あり)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年月日 :

国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年月日 :

国内外の別 :

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤澤律子 (FUJISAWA, Ritsuko)

九州歯科大学 歯学部 助教

研究者番号 : 50419587