

研究種目：若手研究 (S)

研究期間：2007 ~ 2011

課題番号：19679005

研究課題名 (和文) ヒトの発生・老化における癌原遺伝子の新たな役割の解明

研究課題名 (英文) Novel functions of proto-oncogenes in human development

研究代表

青木 洋子 (AOKI YOKO)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：80332500

研究代表者の専門分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：遺伝・先天異常学、癌原遺伝子、発生

1. 研究計画の概要

RAS 癌原遺伝子は歴史上初めてヒトの癌の原因となることが示された遺伝子である。申請者らは 2005 年に HRAS の生殖細胞系列(受精卵に始まり全身に存在)での変異を先天奇形症候群である Costello 症候群で同定した (Aoki et al., *Nature Genetics*, 2005)。それに引き続き 2006 年に carcio-facio-cutaneous (CFC) 症候群の原因が Kirsten-RAS (KRAS), B 型 RAF キナーゼ (BRAF) の生殖細胞系列の変異であることを世界に先駆けて報告した (Niihori, Aoki et al. *Nature Genetics*, 2006)。

これまで細胞の増殖・分化・老化・死における癌原遺伝子の役割に関する研究が行われてきた。申請者らの研究がブレークスルーとなり、RAS/MAPK シグナル伝達経路上の分子がヒトの発生に重要であることが明らかになったが、それを解析するためのモデルマウスはいまだ作製されていない。

この研究の目的は 1) 患者で同定された遺伝子変異を導入したモデルマウスを作製し、個体の発生・老化・発癌・死における癌原遺伝子の新しい役割を明らかにすることである。また遺伝子変異をもつ患者細胞・組織、変異導入を導入した培養細胞を用いることにより、多角的にヒト細胞でも老化・発癌の現象を検証する。2) これらの研究で得られたシグナル伝達情報を元に、未だ遺伝子変異の明らかでない類縁疾患の新規原因遺伝子を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

本研究開始後も、RAS/MAPK シグナル伝達経路の構成分子 (SOS1, RAF1, SHOC2) に

次々と遺伝子異常が同定され、類縁疾患の原因が同じシグナル伝達経路の複数の分子であるという、新規の疾患概念を構築した (次頁図)。研究代表者らは類縁疾患に関する総説論文を執筆し、その中でこれらの疾患を RAS/MAPK 症候群と呼ぶことを提唱した (Aoki et al., *Hum Mutat*. 2008)。

1) これまでに Noonan 類縁疾患 300 人を収集し既知の原因遺伝子 PTPN11, HRAS, KRAS, BRAF, MEK1/2, SOS1, RAF1, SHOC2 の包括的遺伝子解析を行い 180 人 (60%) に遺伝子変異を同定した。

既知の遺伝子における変異陰性の Noonan 症候群 22 家系と CFC 症候群 30 人に対して SOS1 遺伝子解析を行ったところ、3 世代の家系を含むヌーナン症候群 2 家系と CFC 症候群 3 人に遺伝子変異を同定した。本研究にて SOS1 変異が Noonan 症候群から CFC 症候群への広い臨床スペクトラムを持つことが明らかになった (Narumi, Aoki et al., *J Hum Genet*, 2008)。

またその後新たに報告された RAF1 遺伝子をスクリーニングするとともに、RAF1 変異蛋白の活性化メカニズムを検討した。既知の遺伝子における変異陰性の類縁患者 119 人中 18 人に遺伝子変異を同定した。臨床症状の詳細な検討により他の遺伝子変異をもつヌーナン症候群に比べて肥大型心筋症と低身長合併頻度が高いことが明らかになった。変異蛋白の機能解析にて、変異蛋白では抑制性の S259 リン酸化が低下しており、RAF1 活性抑制に重要な 14-3-3 蛋白との結合が低下し、その結果非刺激時にも下流の ERK を活性化していることが明らかになった (Kobayashi, Aoki et al *Human Mutat*,

2010)

2) 患者の約 10%に固形腫瘍を合併するコストロ症候群に比べ、CFC 症候群での腫瘍合併はあまり注目されていなかったが、CFC 症候群における血液腫瘍合併例を研究代表者らが初めて報告した(Niihori, Aoki et al, 2006, Makita, Aoki et al. 2007)。本研究では、さらに CFC 症候群での血液腫瘍合併 3 例目として、生後早期に非ホジキンリンパ腫を発症した症例を報告した(Ohtake, Aoki et al. **J Pediatr Hematol Oncol**, in press)。

3) 癌原遺伝子の遺伝子変異を導入したモデルマウスを 3 系統作製中で、1 系統についてはすでに作製に成功し、解析を行っている。残り 2 系統については、今年度中に解析を開始できる予定である。

4) これまでに既知の原因遺伝子の包括的遺伝子解析を行ってきたが、いまだその 40%は原因が不明である。新規候補遺伝子 36 種の全 536 エクソンを、既知の遺伝子における変異陰性の 48 人に対して網羅的に候補遺伝子検索を開始した。現在はまだ解析途中であるが、SNP データベースにはない遺伝子変化を 13 遺伝子で同定している。遺伝子変化のコントロールでの検索・両親の検体の収集と解析を行っている。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

Noonan 症候群とその類縁疾患の遺伝子検索研究に関しては順調にサンプルも収集でき、SOS1, RAF1 の遺伝子解析研究と機能解析について論文を報告することができた。新規遺伝子を同定するための候補遺伝子検索も、当初の予定より早くほぼシーケンスを完了することができたため、今後は両親の解析や機能解析を行い、原因を確定する予定である。

モデルマウス作製も順調に進んでおり、一系統で作製に成功して解析が進んでいる。従って当初の目標に向けて順調に研究が進展しており、予定どおりの成果が見込まれる。

4. 今後の研究の推進方策

類縁疾患の遺伝子解析をするとともに、候補遺伝子解析にて新たな原因遺伝子探索を継続する。新しい原因探索にはアレイ CGH や次世代シーケンサーなども導入していく予定である。またモデルマウス作製と解析は継続し、癌原遺伝子の発生・発癌に対するメカニズムを明らかにするとともに、治療に向けた基礎的研究を行っていく。

5. 代表的な研究成果

(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 7 件)*corresponding author

(以下の論文はすべて査読有り)

1) Kobayashi T, *Aoki Y, et al. Molecular and clinical analysis of RAF1 in Noonan syndrome and related disorders: dephosphorylation of serine 259 as the essential mechanism for mutant activation. **Hum Mutat**, 31:284-294. 2010

2) *Aoki Y, Niihori T, Narumi Y, Kure S, Matsubara Y. The RAS/MAPK syndromes: novel roles of the RAS pathway in human genetic disorders. **Hum Mutat**. 29:992-1006, 2008 (Review)

3) Narumi Y, *Aoki Y, et al. Clinical manifestations in patients with SOS1 mutations range from Noonan syndrome to CFC syndrome. **J Hum Genet**. 53:834-841, 2008

[学会発表] (計 12 件)

1) Aoki Y. 「HRAS」 08 ヨーロッパ人類遺伝学会 Satellite Workshop 「Rare disorders of MAPK pathway」シンポジスト (スペイン、バルセロナ) 2008 年 5 月 30-31 日

[図書] (計 1 件)

Aoki Y. & Matsubara, Y. HRAS and Costello syndrome. **Inborn Errors of Development** 2nd ed. (eds. Epstein, C., Eickson, R. & Wynshaw-Boris, A.) p632-638 (Oxford University Press, 2008).

[その他]

ホームページ

・The RAS/MAPK syndromes ホームページ
http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/RasMapk_syndromes.html