

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：13802

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21054

研究課題名(和文) 網羅的染色体コピー数解析による家族性・若年性胃がんの新規原因遺伝子の探索

研究課題名(英文) Search for novel causative genes of familial and early onset gastric cancer using comprehensive copy number analysis

研究代表者

山田 英孝 (Yamada, Hidetaka)

浜松医科大学・医学部・特任研究員

研究者番号：30397400

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝性びまん性胃がんの原因遺伝子であるCDH1遺伝子の生殖細胞系列変異及びコピー数異常が認められなかった家族性・若年性胃がんの患者及び血縁者について網羅的コピー数解析を行った。胃がん発症に關与する可能性のある10～60のコピー数変化を各家系で検出した。これらの領域のうちがんとの関わりがある遺伝子のコピー数変化を健常者について調べ、複数のアポトーシス関連遺伝子のコピー数変化が家族性・若年性胃がん患者のみにおきていることがわかった。本研究によって、CDH1遺伝子以外にも胃がん発症に關与している遺伝子があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Comprehensive copy number analysis was performed for familial and early onset gastric cancer patients and relatives who were negative for germline mutations and copy number alterations in the CDH1 gene. In each family, 10 to 60 regions were detected as copy number variation (CNV) that may be involved in gastric carcinogenesis. CNVs of cancer-related gene were selected and investigated in healthy volunteers. CNVs of several apoptosis-related genes were revealed to cause in familial and early onset gastric cancer patients. This study was suggested that genes other than CDH1 gene were also involved in gastric carcinogenesis.

研究分野：実験病理

キーワード：家族性胃がん 若年性胃がん 網羅的染色体コピー数解析 生殖細胞系列コピー数変化 CDH1

1. 研究開始当初の背景

がんの中で死亡率が高い疾患の1つである胃がんでは、さまざまながん遺伝子、がん抑制遺伝子の遺伝子変異やプロモータ領域のメチル化などの異常が腫瘍組織(体細胞)で報告されている。しかしながら、このような遺伝子異常は、がん化の随伴現象によるものなのか、がん化の原因となるものなのかの判断が難しい。胃がん発症に関与する候補遺伝子として、様々な遺伝子が報告されており、胃がん発症の機序について解明されつつあるが、完全に明らかにされたとは言い難い。

一般的に胃がんは50歳以上で発症し、患者の多くは孤発例である。しかしながら、若い年齢で発症する若年性の胃がんや複数の血縁者で同じがんを発症する家族性の胃がんも少なからず存在する。このような家族性・若年性の胃がん患者には生殖細胞における遺伝子変異があることが考えられている。

近年、様々な解析法が開発され、従来の方法では不可能であった変異を同定することが可能となってきている。Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA)法によって、欧米や日本の研究グループからサンガーシークエンシング法では検出できなかった CDH1 遺伝子の生殖細胞系列コピー数異常が遺伝性びまん性胃がんでは報告された。このようなことから、生殖細胞における染色体コピー数異常が、日本人の家族性・若年性胃がんの発症における遺伝的要因の1つであることが考えられる。

遺伝性びまん性胃がんの原因遺伝子である CDH1 遺伝子は胃がんの孤発例でも遺伝子変異やタンパク質の発現低下が報告されていることから、家族性・若年性胃がんの遺伝的要因となる生殖細胞の新規染色体コピー数異常を同定することは、胃が

ん発症の遺伝的要因を明らかにすることにつながる。しかしながら、日本人の家族性・若年性胃がんの生殖細胞における染色体コピー数変異の網羅的探索についての報告はない。

2. 研究の目的

日本人の家族性・若年性胃がんにおける生殖細胞系列のコピー数異常を網羅的解析によって同定することにより日本人の胃がん発症における遺伝的要因を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 家族性・若年性胃がんにおける CDH1 遺伝子の生殖細胞系列変異およびコピー数異常の探索:日本人の家族性・若年性胃がんにおける CDH1 遺伝子の生殖細胞系列変異およびエクソン単位でのコピー数異常をシークエンシング法、MLPA 法により探索した。

(2) 網羅的コピー数解析による家族性・若年性胃がん発症に関与する新規生殖細胞系列コピー数異常の探索:CDH1 遺伝子の生殖細胞系列変異およびコピー数異常がみとめられなかった家族性・若年性胃がん患者および血縁者について網羅的コピー数解析を行った。胃がん患者で検出されたコピー数変化から、「常染色体優性遺伝形式・劣性遺伝形式に当てはまる」、「遺伝子のエクソンが含まれる」、「構造多型データベース(DGV)に登録されている領域との一致率が70%以下である」という条件を全て満たす領域を家族性・若年性胃がんの発症に関与するコピー数変化の候補として絞り込みを行った。絞り込まれた領域の中からがんに関わりのある遺伝子のコピー数変化を選び、健康診断受診者について TaqMan Copy Number Assay を行い胃がん患者特異的なコピー数変化であるか調べた。

4. 研究成果

(1) 家族性・若年性胃がんにおける CDH1 遺伝子の生殖細胞系列変異およびコピー数異常の探索：シーケンシング法によって、2 家系でアミノ酸置換を伴うバリエーション c.1679C>G (p.Thr560Arg) と c.2246G>A (p.Arg749Gln) が、1 家系でフレームシフトを引き起こすバリエーション c.1009_1010delAG (p.Ser337Phefs) がみとめられた。MLPA 法では CDH1 遺伝子のコピー数異常はみとめられなかった。

(2) 網羅的コピー数解析による家族性・若年性胃がん発症に関する新規生殖細胞系列コピー数異常の探索：網羅的コピー数解析を行った結果、家族性・若年性胃がんの発症に関するコピー数変化の候補として各家系で 10~60 のコピー数変化が検出された。検出されたコピー数変化のうちがんとの関連がある遺伝子のコピー数変化を健康診断受診者について調べた結果、FAF1 遺伝子と CASP10 遺伝子が胃がん患者のみで起きていたコピー数変化であることがわかった。CASP10 遺伝子および FAF1 遺伝子はアポトーシス関連遺伝子であることからこれらのコピー数変化は胃発がんに関するコピー数異常であることが示唆された。

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)

Shinmura K, Kato H, Goto M, Yamada H, Tao H, Nakamura S, Sugimura H. Functional Evaluation of Nine Missense-Type Variants of the Human DNA Glycosylase Enzyme MUTYH in the Japanese Population. Hum Mutat. 37: 350-3, 2016. 査読有
Nakamura S, Kahyo T, Tao H, Shibata K, Kurabe N, Yamada H, Shinmura K,

Ohnishi K, Sugimura H. Novel roles for LIX1L in promoting cancer cell proliferation through ROS1-mediated LIX1L phosphorylation. Sci Rep. 5: 13474, 2015. 査読有

Nishizawa D, Kasai S, Hasegawa J, Sato N, Yamada H, Tanioka F, Nagashima M, Katoh R, Satoh Y, Tagami M, Ujike H, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Sora I, Iyo M, Yamada M, Kondo N, Won MJ, Naruse N, Uehara-Aoyama K, Itokawa M, Ohi K, Hashimoto R, Tanisawa K, Arai T, Mori S, Sawabe M, Naka-Mieno M, Yamada Y, Yamada M, Sato N, Muramatsu M, Tanaka M, Irukayama-Tomobe Y, Saito YC, Sakurai T, Hayashida M, Sugimura H, Ikeda K. Associations between the orexin (hypocretin) receptor 2 gene polymorphism Val308Ile and nicotine dependence in genome-wide and subsequent association studies. Mol Brain. 8: 50, 2015. 査読有

Du C, Kurabe N, Matsushima Y, Suzuki M, Kahyo T, Ohnishi I, Tanioka F, Tajima S, Goto M, Yamada H, Tao H, Shinmura K, Konno H, Sugimura H. Robust quantitative assessments of cytosine modifications and changes in the expressions of related enzymes in gastric cancer. Gastric Cancer. 18: 516-25, 2015. 査読有

Iwaizumi M, Tao H, Yamaguchi K, Yamada H, Shinmura K, Kahyo T, Yamanaka Y, Kurachi K, Sugimoto K, Furukawa Y, Sugimura H. A novel APC mosaicism in a patient with familial adenomatous polyposis. Hum Genome Var. 2: 15057, 2015. 査読有

[学会発表](計 1 件)

Hidetaka Yamada, Tomoaki Kahyo,
Haruhiko Sugimura: Germline mutations
of hereditary gastric cancer in
Japanese 第 21 回静岡健康・長寿学術
フォーラム 2016 年 11 月 25-26 日 静
岡県コンベンションセンター（静岡県静
岡市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 英孝 (Yamada Hidetaka)
浜松医科大学・医学部・特任研究員
研究者番号：30397400

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

なし