

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月10日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590815

研究課題名（和文） 大腸癌スクリーニングへの応用をめざした大腸腺腫症疾患修飾遺伝子の解析

研究課題名（英文） Analysis of disease-modifying gene in adenomatous polyposis for possible application to colorectal cancer screening

研究代表者

松本 主之（MATSUMOTO TAKAYUKI）

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：10278955

研究成果の概要（和文）：大腸腺腫症と遺伝性胃底腺ポリポーシスの *APC* 遺伝子型および細胞質ホスホリパーゼ $A_2\alpha$ (*cPLA_2\alpha*) 遺伝子多型を解析した。大腸腺腫症では *APC* 3' 側変異群で肝細胞芽腫とデスマイドがみられ、*cPLA_2\alpha* 多型と胃底腺ポリポーシスおよび小腸腺腫に関連がみられた。遺伝性胃底腺ポリポーシスは *APC* 遺伝子変異陰性で、*cPLA_2\alpha* 遺伝子多型が認められた。*cPLA_2\alpha* が消化管癌の危険因子となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We examined *APC* gene and cytosolic phospholipase *A2a* (*cPLA2a*) in adenomatous polyposis and hereditary fundic gland polyposis. In adenomatous polyposis, hepatoblastoma and lethal desmoids were found in subjects with 3' mutation of *APC*. Polymorphisms in *cPLA2a* were associated with the occurrence of fundic gland polyposis and small bowel adenomas. Hereditary fundic gland polyposis, was associated with *cPLA2a*, but not with *APC* mutation. These findings suggested that *cPLA2a* is one of the candidate genes associated with gastrointestinal cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|---------|-----------|
| 2009年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2010年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 2011年度 | 700,000 | 210,000 | 910,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,300,000 | 990,000 | 4,290,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：下部消化管学（小腸、大腸）

1. 研究開始当初の背景

本邦における大腸癌の有病率と死亡率は上昇の一途を示しており、大腸癌高危険群の抽出、および高危険群に対する適切なサーベイ

ランスは予防医学における重要な課題である。大腸癌の危険群として、遺伝性を示す大腸腺腫症があり、その原因遺伝子として *APC* が確立されている。*APC* 遺伝子の発見は FAP

の診断に貢献し、その後の腫瘍抑制遺伝子の機能解析に大きな進歩をもたらした。しかし他の疾患修飾遺伝子については十分に検討されていないのが現状であった。

2. 研究の目的

今回の研究では、未だ同定されていない大腸癌の感受性遺伝子の同定を目的として、大腸腺腫症の疾患修飾遺伝子を解析し、大腸の形質発現に影響を及ぼす遺伝子を抽出すること、および非大腸腺腫症患者における疾患修飾遺伝子の役割を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) FAP 患者の臨床像を検討し、遺伝子解析を開始した。対象は自験 FAP125 例中、遺伝子解析が可能であった 91 例である。診断時消化管徴候、および長期経過観察中における消化管病変の推移と悪性腫瘍を遡及的に検討し、APC 遺伝子型、および細胞質ホスホリパーゼ A₂ α (cPLA₂ α) 遺伝子多型との関係を検討した。APC 遺伝子型は protein truncation test (PTT) およびダイレクトシーケンスで解析した。cPLA₂ α については、HapMap データベースに基づいて 7 カ所のタグ SNP を選択し (図 1)、ダイレクトシーケンス法を用い遺伝子型を決定した (表 1)。

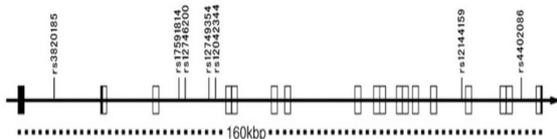


図 1. cPLA₂ α の 7 カ所の SNP 部位 (HapMap データベースによる)。白四角はエクソンを、黒塗りは 5' と 3' 末端を示す。

| SNP | Position (NCBI B35) | Alleles ^a | MAF ^b | MAF in JPT ^c | Primers (forward, reverse) | Product size (bp) |
|------------|---------------------|----------------------|------------------|-------------------------|---|-------------------|
| rs3820185 | 18354000 | A/C | 0.603 | 0.455 | 5' TCAAATATCTTTTCAACGACCAA 3' 5' GACATGTCTCCGGGAGGTAG 3' | 347 |
| rs17591814 | 18357825 | C/T | 0.123 | 0.133 | 5' CTCCTGTCTCTGCCTTCCAC 3' 5' GGGAGCACAGGGAGTGAAT 3' | 389 |
| rs12746200 | 18358083 | A/G | 0.192 | 0.070 | 5' GCCCTGTGAAGAAGCTTTGGTT 3' 5' AAATGCAACCCCTACCCATT 3' | 285 |
| rs12749354 | 18358795 | T/C | 0.151 | 0.183 | 5' GCCCTGTCTTCAAATGTC 3' 5' TGCCTATTCCCTTCATCA 3' | 362 |
| rs12042344 | 18358792 | T/C | 0.342 | 0.333 | 5' ATCCACGTTGGTTTGTCT 3' 5' TGGCCAAAGAAGAAGAGAA 3' | 349 |
| rs12144159 | 18366544 | T/C | 0.178 | 0.159 | 5' GGCTGGATGATTCCTTGA 3' 5' CAACGCATGGAAGCACTTA 3' | 310 |
| rs4402086 | 18368406 | A/G | 0.356 | 0.300 | 5' ACCAGGGAGGTGGAGCTT 3' 5' CCTAAGCCACAGTGGTCACA 3' | 398 |

表 1. cPLA₂ α 遺伝子多型と解析用プライマー

(2) 近年その存在が全世界的に報告され、胃癌の高危険群と考えられる遺伝性胃腺癌ポ

リポーシスの臨床像を解析し、同一家系内の非罹患例を含めた遺伝子解析を行った。本疾患の診断基準は確立されていないが、今回の研究では、胃底腺ポリープが多発し、胃以外の消化管に局在性病変を認めず、常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる家族歴を有し、家系内のいずれかに胃癌が認められるものとした。これらの家系の罹患例と非罹患例について、APC 遺伝子変異の有無と cPLA₂ α 遺伝子多型を上記の方法で解析した。

4. 研究成果

(1) 自験大腸腺腫症患者 125 例中診断時大腸癌を伴っていた例は 42%であった。図 2 に

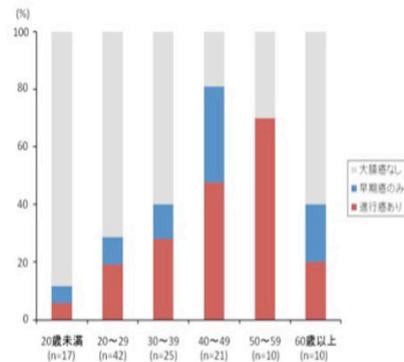


図 2. 大腸腺腫症における診断時年齢と大腸癌陽性率の関係

診断時年齢と大腸癌陽性率の関係を示す。また、経過観察中に診断された病変を含めて胃癌が 8%、十二指腸癌が 2%、小腸癌が 2% の発生頻度であった。遺伝子解析の同意を得た 91 例における APC 遺伝子変異陽性率 62% であった。APC 遺伝子型と臨床徴候の関係を検討すると、密生型大腸腺腫症、十二指腸非乳頭部腺腫が 3' 側変異群に高率に発生しており、遺伝子型と臨床徴候の関係が示唆された。一方、3' 側変異群で胃腺腫と残存直腸腺腫の進行例が多かった。また、大腸癌以外の悪性腫瘍として、3' 側変異群で肝細胞芽腫と致死性デスモイドがみられたが、その他の悪性腫瘍は 3 群で有意差なくほぼ均等に発生していた。cPLA₂ α 遺伝子の単 SNP 解析では、rs3820185 の C アレル (オッズ比 (OR) 2.5; 95% 信頼区間 (CI) 1.2-4.9) および rs127446200 の GG 遺伝子型 (OR 10.9; 95%CI 1.6-69.8) は、胃底腺ポリープ陽性の大腸腺腫症患者において高頻度に見られた。また rs12749354 の C アレルは、小腸腺腫と有意な関連を認め (OR 7.0; 95%CI 1.5-30.4; p = 0.008), 年齢, 性別, APC 遺伝子変異を調整したロジスティック回帰分析においても有意であった (OR 7.4; 95%CI 1.2-64.2; p = 0.027)。

| | Genotype (frequency) | | | Additive p value | Dominant p value | Recessive p value |
|------------------------------|----------------------|-----------|-----------|------------------|------------------|-------------------|
| | AA | AC | CC | | | |
| rs3820185 | | | | | | |
| FGP (+) | 4 (0.11) | 14 (0.38) | 19 (0.51) | 0.049 | 0.030 | 0.041 |
| FGP (-) | 11 (0.31) | 14 (0.40) | 10 (0.29) | | | |
| rs12746200 | | | | | | |
| FGP (+) | 26 (0.71) | 2 (0.05) | 9 (0.24) | 0.020 | NS | 0.009 |
| FGP (-) | 29 (0.83) | 5 (0.14) | 1 (0.03) | | | |
| rs12749354 | | | | | | |
| Small intestinal adenoma (+) | 7 (0.39) | 10 (0.55) | 1 (0.06) | 0.019 | 0.006 | NS |
| Small intestinal adenoma (-) | 13 (0.87) | 2 (0.13) | 0 (0.00) | | | |

表2. 大腸腺腫症の臨床徴候とcPLA₂α遺伝子多型の関係 (FGP; 胃底腺ポリポーシス)

以上より、cPLA₂α遺伝子が胃底腺腫症における腸管腫瘍の疾患修飾遺伝子の一つである可能性が示唆された (表1)。

(2) 自験遺伝性胃底腺ポリポーシス家系が2家系12例存在した。図3に一家系の家系図と上部内視鏡所見を示す。これら2家系は、本邦で初めて発見された遺伝性胃底腺ポリポーシス家系であった。

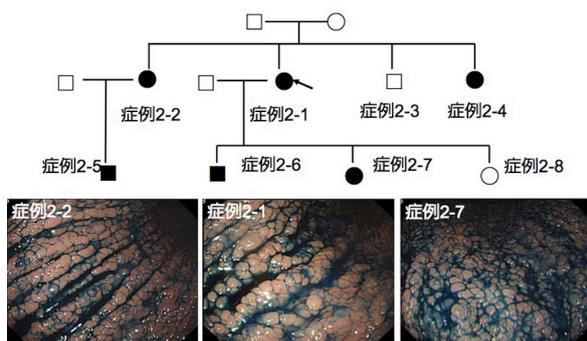


図3. 遺伝性胃底腺ポリポーシスの家族歴と胃内視鏡所見

まず APC 遺伝子解析を行ったが変異陰性であった。なお、一見類似した病態を呈する若年性ポリポーシスの原因遺伝子である SMAD4 の変異も陰性であった。一方、遺伝性胃底腺ポリポーシス2家系でも cPLA₂α 遺伝子 rs3820185 の C および rs127446200 の GG 遺伝子型が認められた。これに対し、家族性大腸腺腫症の小腸病変のリスクとなった rs12749354 の C アレルは遺伝性胃底腺ポリポーシス家系では認められなかった。以上より、cPLA₂α 多型が一般人の胃癌のリスクとなる可能性が示唆された。

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13件)

- ① Matsumoto T, Esaki M, et al, Chromoendoscopy, narrow-band imaging colonoscopy and autofluorescence colonoscopy for detection of diminutive colorectal neoplasia in familial adenomatous polyposis. Diseases of the Colon & rectum、査読

有、52、2009、1160-1165

- ② Umeno J, Matsumoto T, et al, Impact of group IVA cytosolic phospholipase A2 gene polymorphism on phenotypic features of patients with familial adenomatous polyposis. International Journal of Colorectal Disease、査読有、25、2010、293-301
- ③ 飯田三雄. 家族性大腸腺腫症の臨床研究: 現状と課題. 福岡医学雑誌、査読無、100、2009、349-359
- ④ 松本主之、他. 消化管ポリポーシスの癌化、胃と腸、査読無、45、2010、665-670
- ⑤ 前島裕司、松本主之、他. 家族性大腸腺腫症の長期経過. 胃と腸、査読有、45、2010、2026-2037
- ⑥ 前島裕司、松本主之、他. 家族性大腸腺腫症に伴う小腸腫瘍. Intestine、査読有、15、2011、528-534
- ⑦ Shikata K, Matsumoto T, Kiyohara Y, et al, Optimal cutoff value of the serum pepsinogen level for prediction of gastric cancer incidence: the Hisayama study. Scandinavian Journal of Gastroenterology、査読有、47、2012、669-675
- ⑧ Okada Y, Matsumoto T, Kubo M, et al, HLA-Cw*1202-B*5201-DRB1*1502 haplotype increases risk for ulcerative colitis but reduces risk for Crohn's disease. Gastroenterology、査読有、141、2011、864-871
- ⑨ Umeno J, Asano K, Matsushita T, Matsumoto T, Kiyohara Y, et al, Meta-analysis of published studies identified eight additional common susceptibility loci for Crohn's disease and ulcerative colitis. Inflammatory Bowel disease、査読有、17、2011、2407-2415
- ⑩ Miyazaki M, Matsumoto T, Kiyohara Y, et al, Dietary Vitamine A intake and incidence of gastric cancer in a general Japanese population. The Hisayama study. Gastric Cancer、査読有、15、2012、162-169
- ⑪ Iida M, Matsumoto T, Kiyohara Y, et al, White blood cell count and the risk of gastric cancer incidence in a general Japanese population: the Hisayama study. American Journal of Epidemiology、査読有、175、2012、504-510
- ⑫ Yanaru-Fujisawa R, Nakamura S, Matsumoto T, et al, Familial fundic gland polyposis with gastric cancer. Gut、査読有、2012、E-pub
- ⑬ Matsumoto T, Kubokura N, Matsui T et al,

Chronic nonspecific multiple ulcers of the small intestine segregates in offsprings from consanguinity. Journal of Crohn's and Colitis、査読有、5、2011、559-565

〔学会発表〕（計2件）

- ① 松本主之、全身性疾患と消化管病変. 第19回日本消化器内視鏡学会四国セミナー、2010.1.30、徳島
- ② 松本主之、消化管ポリポーシスの臨床：Up-to-date、第7回日本消化管学会、2011年2月11日、京都

〔図書〕（計2件）

- ① 松本主之、医学書院、新臨床内科学、2009
- ② 松本主之、松井敏幸、青柳邦彦、医学書院、小腸内視鏡所見からみた診断の進め方、2011、180

〔産業財産権〕

- 出願状況（計0件）
- 取得状況（計0件）

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松本 主之 (MATSUMOTO TAKAYUKI)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：10278955

(2) 研究分担者

古賀 秀樹 (KOGA HIDEKI)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：00309551

江崎 幹宏 (ESAKI MOTOHIRO)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：50335957

森山 智彦 (MORIYAMA TOMOHIKO)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：20452758

中村 昌太郎 (NAKAMURA SHOTARO)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：10243932

清原 裕 (KIYOHARA YUTAKA)

九州大学・医学研究科・教授

研究者番号：80161602

飯田 三雄 (IIDA MITSUO)

九州大学・医学研究科・教授

研究者番号：00127961

(3) 連携研究者

なし