

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640121

研究課題名(和文)新規ゲノム不安定性としてのコピー数多型部位の変異の解析とその病的意義の解明

研究課題名(英文) Analysis of somatic alteration of copy number variation in cancer as a new instability of cancer

研究代表者

村上 善則 (MURAKAMI, Yoshinori)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：30182108

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：申請者らは新規ゲノム多型であるコピー数多型(Copy Number Variation:CNV)部位での体細胞変異を腫瘍組織で解析し、CNVの実態の解明と意義、起因する遺伝子異常の同定を目的とし、CNV特異的DNAアレイを用いて、乳がん、胆道がん、舌がん、膀胱がん、計52例における腫瘍、非腫瘍部のCNVを網羅的に解析した。この結果、10kb以下の短い断片でのみコピー数増減を示す新たな異常を見出し、CNV不安定性と定義した。CNV不安定性は腫瘍の10-20%、特に悪性例に認められた。また、乳がんでCNV体細胞異常に起因する遺伝子異常を網羅的に解析し、多数の候補遺伝子群を得た。

研究成果の概要(英文)：Somatic alterations of copy number variation (CNV), a new DNA polymorphism, were analyzed in 52 tumors, including breast, tongue and bladder cancer and cholangiocarcinoma, using CNV-specific arrays in order to elucidate their molecular feature, pathological significance and resulted genetic alterations. We demonstrated that somatic alterations of CNV in the fragments of less than 10kb occurred independently of those in the fragments of more than 1Mb and defined as CNV instability. CNV instability was observed in 10-20% of 4 cancers, especially those in advanced stages. Genetic alterations caused by somatic CNV alterations were also examined in breast cancers and a number of candidate genes were identified. Analysis of somatic CNV alteration would provide a novel approach to identify critical genes as well as a new pathway in the development and progression of human cancer.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：コピー数多型 乳がん

1. 研究開始当初の背景

ゲノム安定性は個体維持、種族保存に必須である一方、一定のゲノム不安定性は生物進化、癌化の原動力として働く。Copy Number Variation: CNV は、特定の比較的短い DNA 断片における繰り返し配列のコピー数の差異に基づくゲノム多型であり、全ゲノムシーケンスが解読された後に認識されるようになった比較的新しいゲノム多型である。CNV の個人差に基づく多型としての生理的、病的意義、疾患易罹患性との関連については、いくつかの先駆的報告がある一方で、腫瘍における体細胞変異の好発部位としての CNV の解析については、比較的報告が少ない。

2. 研究の目的

申請者らは新規ゲノム多型であるコピー数多型に注目し、CNV 部位での体細胞変異を腫瘍組織で解析し、このゲノム多型の実態の解明と腫瘍における意義、また関与する遺伝子異常を明らかにすることを研究目的とした。

3. 研究の方法

原発性乳がん20例、胆道がん10例、舌がん12例、膀胱がん10例、計52例における腫瘍、非腫瘍部からゲノムDNA を抽出し、解析に用いた。CNV の網羅的解析は、CNV 特異的 DNA アレイを用いて行った。

4. 研究成果

まず4種類の腫瘍のそれぞれで、CNV 部位の体細胞異常を顕著に示す例を高頻度に見出した。そこで、コピー数異常を示す断片のサイズを検討したところ、1Mb 以上の大規模な染色体コピー数異常を反映する異常と、10kb 以下の短い断片でのみコピー数の増減を示す新たな異常の2種類が混在することを見出し、後者を CNV 不安定性と定義した。CNV 不安定性は、4種の腫瘍の10-20%に認められ、乳がんでは核異型度、胆道がんでは組織型の

進行例の一部に各々認められた。その最も短い DNA 断片は1.3キロ塩基対と想定されたため、これを組み込んでプラスミドを作成し、人工的にそのコピー数の変化を測定できる細胞系の構築を目指した。

次に、乳がんにおいて CNV の異常を示す領域から新規がん遺伝子を同定することを目指して、20例の solid tubular adenocarcinoma DNA の CNV 異常を解析した。この結果、全プローブの40%に相当する合計4162か所の CNV 領域で、コピー数の増減を認め、特に第8染色体上の異常が相対的に多く認められた。異常を示した CNV 断片内の遺伝子に着目して、臨床・病理学的指標との相関を検討したところ、核異型度1または2と、3との差に相関する CNV 異常が、 $p < 0.001$ の基準で合計161遺伝子得られ、他の2郡に区別する指標と比較して、最も多数の遺伝子が同定された。これらの異常の意義を Gene Ontology により解析すると、白血球、B細胞、リンパ球などの細胞活性化や、生殖・発生過程の細胞死に関わる遺伝子群が該当することが明らかになった。これらの遺伝子の中には、がん遺伝子、がん抑制遺伝子として報告されている遺伝子が含まれ、また新規の興味深い性質を示す遺伝子も見出された。

CNV 部位における腫瘍の体細胞異常の解析は、新たな腫瘍の標的遺伝子の同定のみならず、新たな発がん、進展の駆動力に関わる分子経路の解明につながるものと期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計6件)

1. Nakaoka H, Hara T, Yoshino S, Kanamori A, Matsui Y, Shimamura T, Sato H, Murakami Y, Seiki M, Sakamoto T. NECAB3 promotes activation of hypoxia-inducible factor-1 during normoxia and enhances tumorigenicity

- of cancer cells. *Scientific Reports*, 6, 22784, 2016.
2. Takeuchi A, Badr MESG, Miyauchi K, Ishihara C, Onishi R, Guo Z, Sasaki Y, Ike H, Takumi A, Tsuji NM, Murakami Y, Katakai T, Kubo M, Saito T. CRTAM determines the CD4+ cytotoxic T lymphocyte lineage. *J Exp Med*, 213, 123-138., 2016.
 3. Akashi K, Ebihara Y, Omura G, Saito Y, Yoshida M, Ando M, Asakage T, Yamasoba T, Murakami Y. Frequent Copy Gain of the *MET* Gene in Hypopharyngeal and Laryngeal Cancer in the Japanese Population. *J Cancer Therapy*, 6, 1093-1102, 2015.
 4. Fujiyuki T, Yoneda M, Amagai Y, Obayashi K, Ikeda F, Shoji K, Murakami Y, Sato H, Kai C. A measles virus selectively blind to signaling lymphocytic activation molecule shows anti-tumor activity against lung cancer cells. *Oncotarget*, 6, 24895-24903, 2015.
 5. Kogai H, Kikuchi S, Obana T, Tsuboi Y, Maruyama T, Sakurai-Yageta M, Asamura H, Kanai Y, Murakami Y. Promoter methylation of the *CADM1* and *4.1B* genes occurs independently of the *EGFR* or the *KRAS2* mutation in non-small cell lung cancer. *J Cancer Therapy*, 6, 273-285, 2015.
 6. Sakurai-Yageta M, Maruyama T, Suzuki T, Ichikawa K, Murakami Y. Dynamic Regulation of a Cell Adhesion Protein Complex Including *CADM1* by Combinatorial Analysis of FRAP with Exponential Curve-fitting. *PLoS ONE*, 10(3), e0116637, 2015.
 1. Ito T, Sakurai-Yageta M, Tsuchiya T, Kawasaki S, Ohba M, Ichikawa K, Suzuki T, Murakami Y. Mathematical analysis of the dynamics of *CADM1* and its role in the MET-driven resistance against EGFR-TKI in lung adenocarcinoma. The First JSPS Core-to-Core Seminar: Establishing Research Network of Mathematical Oncology. Nara, JAPAN, March 10, 2016.
 2. Ito T, Tsuchiya T, Kumagai Y, Tsuboi Y, Sakurai-Yageta M, Oba M and Murakami Y. Dual roles of a Cell Adhesion Molecule *CADM1* in Oncogenesis. The 10th AACR-JCA Joint Symposium of Cancer Research. Maui, HI, USA, February 19, 2016.
 3. Ito T, Nagata M, Kawai T, Maruyama T, Sakurai-Yageta M, Ito A, Goto A, Matsubara D, Murakami Y. Analysis of the role of *CADM1* in suppression of lung cancer using *Cadm1*-deficient mice. AACR Annual Meeting 2015. Philadelphia, PA, USA, April 20, 2015.
 4. 栗野 睦美、藤幸 知子、雨貝 陽介、庄司 紘一郎、村上 善則、古川 洋一、米田 美佐子、甲斐 知恵子. PVRL4 発現すい臓がん細胞株に対する腫瘍溶解性組み換え麻疹ウイルスの抗腫瘍効果解析. 第 74 回日本癌学会学術総会、名古屋、2015/10/9
 5. 熊谷 友紀、伊東 剛、永田 政義、川合 剛人、丸山 智子、櫻井 (八下田) 美佳、後藤 明輝、松原 大祐、村上 善則. 肺腺がん細胞の実験的転移系を用いた転移関連分子の同定と機能解析. 第 74 回日本癌学会学術総会、名古屋、2015/10/9
 6. 平田 真、鎌谷 洋一郎、玉腰 暁子、山縣 然太郎、清原 裕、村上 善則、

- 古川 洋一、中村 裕輔、久保 充明、松田 浩一. バイオバンクジャパン コホートプロファイル：47 疾患 20 万人の大規模コホートデータ. 第 74 回日本癌学会学術総会、名古屋、2015/10/9
7. 醍醐 佳代、高野 淳、フナーマンタン、吉武 義泰、篠原 正徳、藤内 祝、前川 二郎、村上 善則、醍醐 弥太郎. 口腔癌の新規バイオマーカー及び治療標的分子であるUROC4の機能解析. 第74回日本癌学会学術総会、名古屋、2015/10/9
8. Matsubara D, Ito T, Tanaka I, Ishikawa S, Goto Y, Nakano T, Dobashi Y, Nakajima J, Endo S, Fukayama M, Sekido Y, Niki T, and Murakami Y. Loss of YAP1 defines neuroendocrine differentiation of lung tumor. The 74th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Nagoya, October 9, 2015.
9. Murakami Y, Ito T, Kogai H, Sakurai-Yageta M, Kumagai Y, Matsubara D. Roles of a cell adhesion molecule CADM1 in apoptosis induction, invasion and metastasis. The 74th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Symposium, Nagoya, October 8, 2015.
10. Phung TM, Takano A, Yoshitake Y, Murakami Y, Shinohara M, Daigo Y. Characterization of UROC2 protein as a prognostic biomarker and a therapeutic target for oral cancer. The 74th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Symposium, Nagoya, October 8, 2015.
11. Murakami Y, Matsuda K, Kubo M. Roles of a cell adhesion molecule CADM1 in apoptosis induction, invasion and metastasis. 東京大学ゲノム医科学研究機構キックオフ・シンポジウム 東京都 2015年8月29日
12. 村上 善則 細胞接着分子 CDAM1 のダイ

ナミクス。実験数理細胞シミュレーション・シンポジウム 東京都 2015年8月6日。

13. Tsuboi Y, Oyama M, Kozuka-Hata H, Ito A, Murakami Y. Roles of cell adhesion molecule 1 (CADM1) in Cbp-dependent inactivation of c-Src pathway. BMB2015 Biochemistry and Molecular Biology, Kobe, December 1, 2015
14. Saitoh A, Sakurai-Yageta M, Ichikawa K, Murakami Y. FRAP Analysis of cell adhesion protein complex including CADM1. The 74th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Nagoya, October 9, 2015.
15. Shiu S-J, Matsubara D, Morikawa T, Nakajima J, Fukayama M, Niki T, Murakami M. The role of RAPGEF2 in CADM1-positive high-grade lung adenocarcinoma. The 74th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Nagoya, October 9, 2015.

〔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

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/hitogan/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村上善則 (MURAKAMI, Yoshinori)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：30182108