

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

Novel functions of proto-oncogenes in human development

青木洋子 (AOKI YOKO)

東北大学・大学院医学系研究科・准教授



研究の概要

癌原遺伝子 RAS の生殖細胞系列での変異が先天奇形症候群の原因であることを研究代表者らが報告して以来、RAS/MAPK シグナル伝達経路の分子の異常が類似した先天奇形症候群の原因となっていることが明らかになった。研究代表者らはこれらの類縁疾患を、新しい疾患概念として RAS/MAPK 症候群と呼ぶことを提唱した。本研究では類縁疾患 300 人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。さらに遺伝子変異陽性患者の臨床症状や変異蛋白の活性化メカニズムを明らかにし、新規原因遺伝子同定を目指した候補遺伝子検索を行った。また癌原遺伝子の発生での役割を明らかにするためのモデルマウス作製を行った。

研究分野：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

1. 研究開始当初の背景

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 KRAS, 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。

2. 研究の目的

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。

3. 研究の方法

1) 疾患モデルマウス、患者細胞/組織、培養細胞を用いた発生・老化・発癌のメカニズム解明

Costello 症候群・CFC 症候群のモデルマウスを作製し、癌原遺伝子変異が発生期にどのような影響を及ぼすかを調べる。また変異を発現するヒト線維芽細胞における、Ras の下流シグナル・遺伝子の変動を網羅的に検索し、遺伝子・遺伝子変異ごとの差異の有無を検索する。

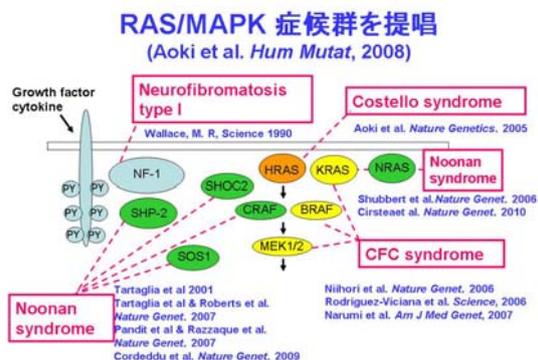
2) 既知の遺伝子の変異陰性患者での新規遺伝子の同定

収集した類縁患者の遺伝子診断を行うとともに、遺伝子変異が同定されない患者において網羅的候補遺伝子検索を施行し、新たな原因遺伝子を同定する。

4. これまでの成果

本研究開始後も、RAS/MAPK シグナル伝達経路の構成分子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, 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との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。

5. 今後の計画

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。

6. これまでの発表論文等

[雑誌論文] (計 7 件) *corresponding author

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) Ohtake A, *Aoki Y, Saito Y, Niihori T, Shibuya A, Kure S, Matsubara Y. Non-Hodgkin lymphoma in a patient with cardio-facio-cutaneous syndrome. **J Pediatr Hematol Oncol**, in press

3) Aizaki K, Sugai K, Saito Y, Nakagawa E, Sasaki, M, Aoki Y, Matsubara Y. Cardio-facio-cutaneous syndrome with infantile spasms and delayed myelination. **Brain & Development**, in press

4) *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)

5) 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

[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).

ホームページ等

http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/RasMapk_syndromes.html