

課題番号	LS004
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	RAS/MAPKシグナル伝達異常症の原因・病態の解明とその治療戦略
研究機関・ 部局・職名	東北大学・大学院医学系研究科・准教授
氏名	青木 洋子

1. 当該年度の研究目的

RAS/MAPK シグナル伝達異常症は、心臓疾患・発達の遅れなどを示し、少数に癌を合併する先天性疾患である。2001年に初めの原因遺伝子が同定されて以来、これまでにその原因遺伝子が10種類以上明らかになってきたが、患者の約40%では未だに原因が不明である。またどのようなメカニズムでその症状がおこるのかについては、未だに明らかではない。本研究では本疾患の新規原因遺伝子解明と、その病態メカニズムの解明を目的としている。本年度の目標は次世代シーケンサーを用いた新規原因遺伝子検索のための解析プラットフォームの確立と、病態のメカニズムを解明するための細胞実験やモデル生物作製・解析を行う。

2. 研究の実施状況

これまでに500例以上のRAS/MAPKシグナル伝達症疑い例について遺伝子解析研究を行ってきた。東日本大震災の影響で4、5月には新規検体の受け入れを中断せざるを得なかったが、平成23年度全体で遺伝子診断希望の約110人の検体を受領し解析を行っている。臨床的にコストロ症候群が疑われた32例中21例に4種類のHRAS遺伝子変異を同定した。HRAS変異体9種類を培養細胞に導入し、RAF binding assayやRASシグナル下流の転写活性を調べたところ、L117R、A146V変異ではG12S等と比べ転写活性の上昇は軽度であった。これらの結果から、L117RおよびA146Vを持つコストロ症候群患者の臨床症状が典型例に比べやや軽度であるのは、変異体のシグナル伝達経路下流への影響が弱いためである可能性が示唆された。また、ヒト線維芽細胞にコストロ症候群で同定された変異を導入し細胞老化が起こるかを検証したところ、9種類の変異すべてで細胞老化が引き起こされた。細胞老化が、コストロ症候群の一部の臨床症状の病因に関与している可能性が示唆された。更なる病態の解明のために疾患モデル生物の作製と解析を行っている。

RAS/MAPKシグナル伝達症の新規原因遺伝子を調べるために、高速シーケンサーを用いた解析を開始した。初めに新規原因遺伝子探索に適した解析プラットフォームの検討とその確立を行い、既知の変異が同定できるかどうかを検証した。いまだに変異が同定されていない患者の解析を開始した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 9 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 8 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Niihori T, <u>Aoki Y</u>, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Kawame H, Inazawa J, Ohura T, Arai H, Nabatame S, Kikuchi K, Kuroki Y, Miura M, Tanaka T, Ohtake A, Omori I, Ihara K, Mabe H, Watanabe K, Nijima S, Okano E, Numabe H, Matsubara Y. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients can induce cellular senescence: possible implications for the pathogenesis of Costello syndrome. J Hum Genet. Oct;56(10):707-15, 2011. 2. Abe Y, <u>Aoki Y</u>, Kuriyama S, Kawame H, Okamoto N, Kurosawa K, Ohashi H, Mizuno S, Ogata T, Kure S, Niihori T, Matsubara Y, Costello and CFC syndrome study group in Japan. Prevalence and clinical features of Costello syndrome and cardio-facio-cutaneous syndrome in Japan: Findings from a nationwide epidemiological survey. Am J Med Genet Part A. Online 3. Adachi M, Abe Y, <u>Aoki Y</u>, Matsubara Y. Epilepsy in RAS/MAPK syndrome: Two cases of cardio-facio-cutaneous syndrome with epileptic encephalopathy and a literature review. Seizure. Jan;21(1):55-60, 2012 4. Ohtake A, <u>Aoki Y</u>, 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. Dec;33(8):e342-6, 2011 5. Watanabe Y, Yano S, Niihori T, <u>Aoki Y</u>, Matsubara Y, Yoshino M, Matsuishi T. A familial case of LEOPARD syndrome associated with a high-functioning autism spectrum disorder. Brain Dev. 33(7):576-9, 2011 6. Lin AE, Alexander ME, Colan SD, Kerr B, Rauen KA, Noonan J, Baffa J, Hopkins E, Sol-Church K, Limongelli G, Digilio MC, Marino B, Innes AM, <u>Aoki Y</u>, Silberbach M, Delrue MA, White SM, Hamilton RM, O'Connor W, Grossfeld PD, Smoot LB, Padera RF, Gripp KW. Clinical, Pathological and Molecular Analyses of Cardiovascular Abnormalities in Costello Syndrome: A Ras/MAPK Pathway Syndrome. Am J Med Genet A 155A(3):486-507, 2011. 7. Wakabayashi Y, Yamazaki K, Narumi Y, Fuseya S, Horigome M, Wakui K, Fukushima Y, Matsubara Y, <u>Aoki Y</u>, Kosho T. Implantable cardioverter defibrillator for progressive hypertrophic cardiomyopathy in a patient with LEOPARD syndrome and a novel PTPN11 mutation Gln510His. Am J Med Genet A. 155(10):2529-33, 2011 8. Aizaki K, Sugai K, Saito Y, Nakagawa E, Sasaki M, <u>Aoki Y</u>, Matsubara Y. Cardio-facio-cutaneous syndrome with infantile spasms and delayed myelination. Brain Dev. 33(2):166-9, 2011 <p>(掲載済み一査読無し) 計1件</p> <p>Allanson JE, Annerén G, <u>Aoki Y</u>, Armour CM, Bondeson ML, Cave H, Gripp KW, Kerr B, Nystrom AM, Sol-Church K, Verloes A, Zenker M. Cardio-facio-cutaneous syndrome: does genotype predict phenotype? Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2011 May 15;157(2):129-35.</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 6 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. <u>Aoki Y</u> and Matsubara Y. Epidemiological Features of Costello and CFC Syndromes 2011年7月29-31日 International meeting on genetic syndromes of the Ras/MAPK pathway "Finding our way back to the bedside (シカゴ、アメリカ) 2. <u>Aoki Y</u>. Genetic syndromes associated with the Ras/MAPK pathway 2011年11月9-12日 The 11th East Asian Union of Human Genetics (EAUHGS) Annual Meeting (幕張、千葉) 3. Y. Abe, <u>Y. Aoki</u>, S. Kuriyama, H. Kawame, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kure, T. Niihori, Y. Matsubara. Epidemiological features of Costello Syndrome and Cardio-facio-cutaneous Syndrome: findings from the first nationwide survey. 2011年10月11-15日 12th International Congress of Human Genetics (カナダ、モントリオール) 4. Y. Saito, <u>Y. Aoki</u>, T. Niihori, Y. Abe, S. Kure, H. Ohashi, K. Kurosawa, N. Okamoto, H. Kawame, S. Mizuno, T. Ogata, S. Kuriyama, Y. Matsubara. Genetic testing of Ras/MAPK pathway syndromes at Tohoku University

様式19 別紙1

	<p>2011年10月11-15日 12th International Congress of Huma Genetics (カナダ、モントリオール) 5. T. Niihori, Y. Aoki, N. Okamoto, K. Kurosawa, H. Ohashi, S. Mizuno, H. Kawame, J. Inazawa, T. Ohura, H. Arai, S. Nabatame, K. Kikuchi, Y. Kuroki, M. Miura, T. Tanaka, A. Ohtake, I. Omori, K. Ihara, H.Mabe, K. Watanabe, S. Nijima, E. Okano, H. Numabe, Y. Matsubara. HRAS mutants identified in Costello syndrome patients have the ability to induce cellular senescence: possible association with the pathogenesis of Costello syndrome.</p> <p>2011年10月11-15日 12th International Congress of Huma Genetics (カナダ、モントリオール) 6. 新堀哲也、青木洋子、岡本伸彦、黒澤健司、大橋博文、水野誠司、川目裕、松原洋一 コストロ症候群の遺伝子解析および HRAS 変異体の機能解析 2011年11月9-12日 日本人類遺伝学会第56回大会 千葉</p> <p>一般向け 計1件 平成23年9月19日(月) コステロ症候群・CFC症候群シンポジウム 青木洋子「RAS/MAPK 症候群の研究最前線」</p>
図書 計0件	
産業財産権 出願・取得状況 計0件	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
Webページ (URL)	<p>http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/ (研究室 homepage)</p> <p>http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/rasmapk_j/index.html (RAS/MAPK 症候群日本語ホームページ)</p>
国民との科学・技術対話の実施状況	<p>平成23年9月19日(月)にコストロ症候群・CFC症候群シンポジウムを開催。患者さんとその御家族83人、その他(医療関係者も含め)約20人に御参加頂きました。</p> <p>「RAS/MAPK 症候群の研究最前線」の講演と、質問コーナーの司会などを務めた。</p>
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	
その他	

4. その他特記事項

該当なし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	126,000,000	43,850,000	0	82,150,000	0
間接経費	37,800,000	13,155,000	0	24,645,000	0
合計	163,800,000	57,005,000	0	106,795,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	43,450,000	0	0	43,450,000	43,450,000	0	0
間接経費	13,041,620	0	0	13,041,620	13,041,620	0	0
合計	56,491,620	0	0	56,491,620	56,491,620	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	23,627,114	シークエンサー、実験試薬等
旅費	1,402,890	研究成果発表(シカゴ)等
謝金・人件費等	10,994,770	博士研究員、技術補佐員人件費等
その他	7,425,226	シークエンス外注 等
直接経費計	43,450,000	
間接経費計	13,041,620	
合計	56,491,620	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
MiSeqシークエンシングシステム	MS-J-001-Y1	1	14,794,500	14,794,500	2012/3/16	東北大学
実体顕微鏡	M165C	1	1,639,890	1,639,890	2012/2/17	東北大学
回転式マイクローム	RM2235	1	1,851,150	1,851,150	2011/9/28	東北大学
超低温フリーザー	MDF-C8V1	1	575,925	575,925	2011/4/28	東北大学
シュアセレクトヒューマンオールエキソソル2	10反応ABソリッド	1	1,191,382	1,191,382	2011/4/20	東北大学