

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24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。平成24年度の目的は①RAS/MAPK 症候群でいまだ原因が同定されていない患者のエクソーム解析や高密度マイクロアレイを行い、新規原因遺伝子を同定する、②平成23年度に本研究費で購入したデスクトップ型次世代シーケンサーを用いて、RAS/MAPK 症候群の迅速な診断ツールを開発する、③疾患モデル生物や培養細胞での解析を進め、RAS/RAF の遺伝子変異が発生・成長・発がんなどに及ぼす影響を調べることである。

**2. 研究の実施状況**

①RAS/MAPK 症候群における新規遺伝子変異同定  
これまでに600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。RAS/MAPK 症候群の原因遺伝子は10個以上(PTPTN11, HRAS, KRAS, NRAS, BRAF, RAF1, MEK1/2, SHOC2, CBL)にのぼるが、まだその約30%は原因が不明である。本研究では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。平成22-23年度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てきた。今年度は、いまだに変異が同定されていない患者の全エクソーム解析を行い、新規の遺伝子変異と考えられるバリエーションを同定した。この新規原因遺伝子について、現在他の患者の解析と生化学的解析を継続している。

②デスクトップシーケンサーを用いた診断ツールの開発  
RAS/MAPK 症候群の原因遺伝子と、臨床症状が類似している他の先天異常症の原因遺伝子の全23遺伝子のエクソン部分を解析する系の検討を行った。この方法の利点は、解析に用いるDNA量が少ないこと、全エクソーム解析よりコストが安い点あげられる。今年度は陽性コントロールにおいて検討を行った。今後実際に診断への応用に向けて更なる検討を行う予定である。

様式19 別紙1

③疾患モデル生物や培養細胞での解析

①で同定した新規原因遺伝子のシグナル伝達に対する影響を調べ、変異を持ったモデル生物を作成しその発生における機能を解析中である。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 3 件 *corresponding author
計 4 件	<p>1. Saito Y, *Aoki Y, Muramatsu H, Makishima H, Maciejewski JP, Imaizumi M, Rikiishi T, Sasahara Y, Kure S, Niihori T, Tsuchiya S, Kojima S, Matsubara Y. Casitas B-cell lymphoma mutation in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia. <i>Leuk Res.</i> 2012;36:1009-15</p> <p>2. Moriya K, Suzuki M, Watanabe Y, Takahashi T, Aoki Y, Uchiyama T, Kumaki S, Sasahara Y, Minegishi M, Kure S, Tsuchiya S, Sugamura K, Ishii N. Development of a Multi-Step Leukemogenesis Model of MLL-Rearranged Leukemia Using Humanized Mice. <i>PLoS One.</i> 2012;7(6):e37892. Epub 2012 Jun 20.</p> <p>3. Asano M, Fujimura T, Wakusawa C, Aoki Y, Matsubara Y, Aiba S. A Case of Almost Unilateral Focal Dermal Hypoplasia Resulting From a Novel Mutation in the Gene. <i>Acta Derm Venereol.</i> 2013 Jan;93(1):120-1.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件</p> <p>4. *Aoki Y, Matsubara Y. Ras/MAPK syndromes and childhood hemato-oncological diseases. <i>Int J Hematol.</i> 2013 Jan;97(1):30-6. doi: 10.1007/s12185-012-1239-y. Epub 2012 Dec 19.</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
会議発表	<p>専門家向け 計 4 件</p> <p>1. 4th International Meeting on Rare Disorders of the RAS-MAPK Pathway 2012年7月22-23日 (ニュルンベルク、ドイツ) Aoki Y. Update on RASopathy Mutation Analysis and Epidemiology in Japan</p> <p>2. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 久留米 齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一 Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析</p> <p>3. 第115回日本小児科学会学術集会 2012年4月20-22日 久留米 阿部裕、青木洋子、新堀哲也、呉繁夫、松原洋一 コストロ症候群・CFC 症候群の全国実態調査とその病態の解明に関する研究</p> <p>4. 日本人類遺伝学会第57回大会 2012年10月24-27日 東京 齋藤由佳、青木洋子、村松秀樹、今泉益栄、力石健、笹原洋二、呉繁夫、新堀哲也、小島勢二、松原洋一 Noonan 症候群類縁疾患と小児血液腫瘍における CBL の分子遺伝学的解析</p> <p>一般向け 計 1 件</p> <p>5. ノーナン症候群シンポジウム 平成24年8月18日(土) 東京 青木洋子 ノーナン症候群と遺伝子</p>
図書	
計 0 件	
産業財産権 出願・取得状 況	(取得済み) 計 0 件  (出願中) 計 0 件
計 0 件	
Webページ (URL)	<p><a href="http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/">http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/</a> (研究室 homepage)</p> <p><a href="http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/rasmapk_j/index.html">http://www.medgen.med.tohoku.ac.jp/rasmapk_j/index.html</a> (RAS/MAPK 症候群日本語ホームページ)</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>平成24年8月18日(土)に東京フォーラムにてヌーナン症候群シンポジウムを開催。患者さんとその御家族、医療関係者の方々に御参加頂きました(約60人)。 「ヌーナン症候群と遺伝子」の講演と、家族会の紹介ビデオ上映と朗読などを務めました。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

特に該当なし

## 実施状況報告書(平成24年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されません

## 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	40,800,000	41,350,000	0
間接経費	37,800,000	13,155,000	12,240,000	12,405,000	0
合計	163,800,000	57,005,000	53,040,000	53,755,000	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	0	40,800,000	0	40,800,000	40,800,000	0	0
間接経費	0	12,240,000	0	12,240,000	12,240,000	0	0
合計	0	53,040,000	0	53,040,000	53,040,000	0	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,999,222	サーマルサイクラー、実験試薬等
旅費	1,120,920	研究成果発表(ニュルンベルグ)等
謝金・人件費等	11,343,501	博士研究員、技術補佐員人件費等
その他	14,336,357	マウス試験外注 等
直接経費計	40,800,000	
間接経費計	12,240,000	
合計	53,040,000	

## 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
96-well GeneAmp PCRシステム9700	Life technologies Japan	2	821,100	1,642,200	2012/6/14	東北大学
Bigdye Terminator v1.1 cycle	Life technologies Japan	1	887,040	887,040	2012/6/26	東北大学
自動精製装置 MAXwell 16 instrument	Promega	1	1,890,000	1,890,000	2012/10/18	東北大学
ImageQuant LAS5000	GEヘルスケア	1	2,362,500	2,362,500	2012/11/29	東北大学