「テーラーメイド医療を目指したゲノム情報活用基盤技術」
平成16年度採択研究代表者

油谷　浩幸

（東京大学先端科学技術研究センター　教授）

「染色体およびRNAの機能変化からの疾患の系統的解析」

1. 研究実施の概要

本研究においては腫瘍および正常組織検体の染色体および RNA の機能変化に着目して疾患の解析を行う。アレル別の染色体変異解析、腫瘍特異的転写産物についての系統的解析を中心に進めると共に、アレル間の遺伝子発現量の多様性についての解析技術開発を進める。ゲノム全体で 50 万箇所のデータポイントを有するゲノタイピングアレイデータを用いてコピー数多型を検討した。前年度までに開発を進めてきたアレル別にコピー数を推定するアルゴリズム GIM を改良し、GEMCAを開発した。国際コンソーシウムに参画してHapMapプロジェクトで用いられた270名の検体を用いて健常人における染色体構造変異(CNV)の分布及び頻度を解析した結果、1447 箇所の CNV が認められ、予想された以上にヒトゲノムにはコピー数の違いが高頻度に認められることを報告した（Nature, 2006）。加えてMALDI-TOF質量分析装置を用いての複数SNPの多検体同時測定系の立ち上げ、定量的ゲノムコピー数測定手法の樹立も行った。一方、96名の不死化細胞株パネルを用いて薬物応答性などの多様性（個体差）の解析に着手した。本研究成果により治療法開発のための新規バイオマーカー、新規治療標的分子の同定及び開発が進み、第2期のゲノム創薬として、オーダーメード医療の実現へ向けての加速化が期待される。

2. 研究実施内容

1.　染色体変異の系統的解析技術開発

ヒトの疾患罹患性、薬剤応答性を規定する遺伝子多型としては SNP が最もよく知られているが、最近になってヒトゲノムには1メガベースを越える領域の染色体コピー数の多型CNV (copy number variation)が存在することがわかってきた。トロント大学、Sanger センター、Harvard 大学、Affymetrix 社らとの国際共同研究により、従来の予想よりも高頻度に CNV が存在することを明らかにした。Sanger センターが BAC アレイによる解析、我々は 50 万箇所のデータポイントを有する高密度タイピングアレイによるコピー数解析を担当し、HapMapプロジェクトで用いられた270名のDNA検体について CNV の頻度および分布を検討した。従来当研究室で開発したアレル別コピー数解析プログラムである Genome Imbalance Map (GIM)を改良し、オリゴアレイデータからコピー数を推定する新規アルゴリズム GEMCA (Genotyping Microarray based CNV Analysis)を開発した（河村ら、

Genome Research 2006)。なお、不死化リンパ球株の中には染色体変化が高度な検体も認められ、培養中に生じた変化と考えられた。ヒトゲノム中に1447箇所のCNVが存在し、CNV領域には3000近い遺伝子が含まれるなど、ヒトゲノムにはコピー数多型が従来の予測以上に高頻度に存在し、その頻度は人種により異なることを報告した（Nature，2006）。これらの研究を進める過程でMALDI-TOF質量分析装置を用いての複数SNPの多検体同時測定系の立ち上げ、定量的ゲノムコピー数測定手法の樹立も行った。現在、130 万箇所のコピー数を検出出来るカスタムアレイを開発しており、染色体変異の迅速な同定を行うことが可能となった。

一方、がん細胞における染色体変異について、肝細胞癌、子宮体癌、グリオーマ、肺癌などのアレル別コピー数解析を進め、肝細胞癌の分化度の低下につれて染色体変異が増加し、Met やHer-2 遺伝子の高度増幅も検出された。染色体コピー数と遺伝子発現量には正の相関が認められ、発現プロファイルにはコピー数の影響があることを報告した（緑川、Oncogene 2006）。神経内分泌肺癌の解析では SCLC（小細胞癌）と LCNEC（細胞神経内分泌癌）の比較を行ったところ、染色体変異の全体パターンは類似しているものの後者において染色体変異が広汎に認められた。それぞれの腫瘍で染色体ホモ欠失領域が同定され、細胞増殖および悪性化への関与についての検討に着手した。

2． アレル間の遺伝子発現量の多様性解析法

前年度に引き続き、ヒト不死化リンパ球および脂肪組織、肝臓、胎盤においてアレル間の遺伝子発現多様性を検討した。ゲノムワイドな検出により、X 染色体の片側アレルの不活化やインプリンティング遺伝子が確認されたほか、多くの遺伝子においてアレル間の発現量が異なっていることが明らかにされた。今後これらのアレル間発現多様性の遺伝性をCEPH家系検体で検証するとともに、制御SNPの同定、さらには疾病との関連解析を進めるべく、DNAの収集を行っている。

3． RNA変異の系統的解析技術開発

全エクソンアレイによる転写産物の多様性の解析に着手した。正常組織、細胞株、腫瘍組織あわせて 100 あまりの RNA 検体についてデータを取得し、データベース化を行っている。慢性骨髄性白血病由来のK562細胞でBcr-Abl転座やEwing肉腫におけるEWS転座が検出された。未知の変異転写産物の同定を行うべくアルゴリズム開発を検討している。

3. 研究実施体制

(1)「油谷」グループ

①研究者名

油谷 浩幸（東京大学 教授）

②研究項目

・染色体変異の系統的解析技術開発

・アレル間の遺伝子発現量の多様性解析法

・RNA 変異の系統的解析技術開発

4. 研究成果の発表等

(1) 論文発表(原著論文)

○ Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, Fiegler H, Shapero MH, Carson AR, Chen W, Cho EK, Dallaire S, Freeman JL, Gonzalez JR, Gratacos M, Huang J, Kalaitzopoulos D, Komura D, Macdonald JR, Marshall CR, Mei R, Montgomery L, Nishimura K, Okamura K, Shen F, Somerville MJ, Tchinda J, Valsesia A, Woodwark C, Yang F, Zhang J, Zerjal T, Zhang J, Armengol L, Conrad DF, Estivill X, Tyler-Smith C, Carter NP, Aburatani H, Lee C, Jones KW, Scherer SW, Hurles ME. Global variation in copy number in the human genome. Nature. 444(7118):444-454. 2006

○ Komura D, Shen F, Ishikawa S, Fitch KR, Chen W, Zhang J, Liu G, Ihara S, Nakamura H, Hurles ME, Lee C, Scherer SW, Jones KW, Shapero MH, Huang J, Aburatani H. Genome-wide detection of human copy number variations using high-density DNA oligonucleotide arrays. Genome Res. 16(12):1575-1584, 2006

○ Khaja R, Zhang J, Macdonald JR, He Y, Joseph-George AM, Wei J, Rafiq MA, Qian C, Shago M, Pantano L, Aburatani H, Jones K, Redon R, Hurles M, Armengol L, Estivill X, Mural RJ, Lee C, Scherer SW, Feuk L. Genome assembly comparison identifies structural variants in the human genome. Nat Genet. 38(12):1413-8, 2006

○ Omori-Inoue M, Fukata H, Komiyama M, Todaka E, Osada H, Aburatani H, Mori C. The contamination levels of organochlorines and the pattern of gene expressions in human umbilical cords from intra-pairs of twins at delivery. Reprod Toxicol. 2006 Nov 12; [Epub ahead of print]

○ Hiratsuka S, Watanabe A, Aburatani H, Maru Y. Tumour-mediated upregulation of chemoattractants and recruitment of myeloid cells predetermines lung metastasis. Nat Cell Biol. 8(12):1369-75, 2006

○ Sakamoto M, Minamino T, Toko H, Kayama Y, Zou Y, Sano M, Takaki E, Aoyagi T, Tojo K, Tajima N, Nakai A, Aburatani H, Komuro I. Upregulation of Heat Shock Transcription Factor 1 Plays a Critical Role in Adaptive Cardiac Hypertrophy. Circ Res. 99(12):1411-8. 2006

○ Horiuchi K, Umetani M, Minami T, Okayama H, Takada S, Yamamoto M, Aburatani H, Reid PC, Housman DE, Hamakubo T, Kodama T. Wilms' tumor 1-associating protein regulates G2/M transition through stabilization of cyclin A2 mRNA. Proc Natl Acad Sci U S A. 103(46):17278-83, 2006

○ Kaneshiro K, Tsutsumi S, Tsuji S, Shirahige K, Aburatani H. An Integrated Map of p53-Binding Sites and Histone Modification in the Human ENCODE Regions. Genomics 89(2):178-88, 2007 [Epub 2006 Nov 3]

○ Takahara Y, Takahashi M, Wagatsuma H, Yokoya F, Zhang QW, Yamaguchi M, Aburatani H, Kawada N. Gene expression profiles of hepatic cell-type specific marker genes in progression of liver fibrosis. World J Gastroenterol. 12(40):6473-99. 2006

○ Hayashi H, Nagae G, Tsutsumi S, Kaneshiro K, Kozaki T, Kaneda A, Sugisaki H, Aburatani H. High-resolution mapping of DNA methylation in human genome using oligonucleotide tiling array. Hum Genet. 120(5):701-11, 2007 [Sep 26, 2006; Epub ahead of print]

○ Guo Y, Chen Y, Ito H, Watanabe A, Ge X, Kodama T, Aburatani H. Identification and characterization of lin-28 homolog B (LIN28B) in human hepatocellular carcinoma. Gene. 384:51-61, 2006. Epub 2006 Jul 28.

○ Choi YL, Tsukasaki K, O'neill MC, Yamada Y, Onimaru Y, Matsumoto K, Ohashi J, Yamashita Y, Tsutsumi S, Kaneda R, Takada S, Aburatani H, Kamihira S, Nakamura T, Tomonaga M, Mano H. A genomic analysis of adult T-cell leukemia. Oncogene. 26(8):1245-55. 2007 [Epub 2006 Aug 14.]

○ Freeman JL, Perry GH, Feuk L, Redon R, McCarroll SA, Altshuler DM, Aburatani H, Jones KW, Tyler-Smith C, Hurles ME, Carter NP, Scherer SW, Lee C. Copy number variation: New insights in genome diversity. Genome Res. 16(8):949-61, 2006.

○ Komura D, Nishimura K, Ishikawa S, Panda B, Huang J, Nakamura H, Ihara S, Hirose M, Jones KW, Aburatani H. Noise Reduction from genotyping microarrays using probe level information. In Silico Biol. 11;6(1-2):79-92, 2006

○ Midorikawa Y, Yamamoto S, Ishikawa S, Kamimura N, Igarashi H, Sugimura H, Makuuchi M, Aburatani H. Molecular karyotyping of human hepatocellular carcinoma using single-nucleotide polymorphism arrays. Oncogene. 25(40):5581-90.2006

○ Ito H, Funahashi S, Yamauchi N, Shibahara J, Midorikawa Y, Kawai S, Kinoshita Y, Watanabe A, Hippo Y, Ohtomo T, Iwanari H, Nakajima A, Makuuchi M, Fukayama M, Hirata Y, Hamakubo T, Kodama T, Tsuchiya M, Aburatani H. Identification of ROBO1 as a Novel Hepatocellular Carcinoma Antigen and a Potential Therapeutic and Diagnostic Target. Clin Cancer Res. 12(11):3257-64. 2006

○ Kawamura-Saito M, Yamazaki Y, Kaneko K, Kawaguchi N, Kanda H, Mukai H, Gotoh T, Motoi T, Fukayama M, Aburatani H, Takizawa T, Nakamura T. Fusion between CIC and DUX4 up-regulates PEA3 family genes in Ewing-like sarcomas with t(4;19)(q35;q13) translocation. Hum Mol Genet. 15(13):2125-37.2006.

○ Sheth SS, Bodnar JS, Ghazalpour A, Thipphavong CK, Tsutsumi S, Tward AD, Demant P, Kodama T, Aburatani H, Lusis AJ. Hepatocellular carcinoma in Txnip-deficient mice. Oncogene. 25(25):3528-36. 2006

○ Yamada T, Ishihara H, Tamura A, Takahashi R, Yamaguchi S, Takei D, Tokita A, Satake C, Tashiro F, Katagiri H, Aburatani H, Miyazaki JI, Oka Y. WFS1-deficiency increases

endoplasmic reticulum stress, impairs cell cycle progression and triggers the apoptotic pathway specifically in pancreatic {beta}-cells. Hum Mol Genet. 15(10):1600-9. 2006

(2) 特許出願

平成 18年度特許出願:0 件(CREST 研究期間累積件数:2 件)