

「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。ゲノムコピー数多型 (CNV) について全ゲノムにわたり 130 万箇所 of 測定領域をデザインしたアレイにより、HapMap 検体の解析を進めた。高密度アレイを用いて微小染色体変異を有する症例に生じた配列変異を迅速に診断可能であることを示した。一方、CNV と疾患との関連を解明するためには定量的な測定が必要であることから、高精度なアレルコピー数測定法のハイスループット化について検討を進めた。アレル別遺伝子発現解析については、薬剤処理によりアレル別の転写応答が異なる遺伝子スクリーニング法を開発し、薬物応答性などの多様性 (個体差) の解析への応用について検討を進めた。次世代シーケンサーによるゲノム多様性の解析に着手し、転写因子の結合にアレル間で頻度差があることが認められた。さらに全エクソンアレイを用いた解析により癌細胞における染色体転座を検出するとともに、機能解析を進めた。

2. 研究実施内容

① 研究目的

本研究においては染色体および 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。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、オーダーメイド医療の実現へ向けての加速化が期待される。

② 研究成果

1. 染色体変異の系統的解析技術開発

ヒト CNV と疾患の関連を解明するためには、CNV の有無のみではなく、正確なゲノムコピー数を網羅的に測定可能なプラットフォームの開発が必要とされる。そのためにヒトゲノム中に存在する CNV のカタログ化をさらに進めるべく、より網羅的なマイクロアレイを作成した。昨年度の報告で用いた 500K マッピングアレイは SNP タイピングを目的としてデザインされたアレイであるため CNV 領域にはプローブが乏しいことが判明したことから、あらためて 130 万箇所のゲノム領域に非多型プローブのみを用いたプローブセットをデザインしたコピー数解析アレイ (CN アレイ) を用いて HapMap 検体を解析した。CNV の正確なサイズ、近傍 SNP との連鎖不平衡等に関して検討中である。

同アレイを用いて微小染色体変異を有する症例に生じた配列変異を迅速に診断可能であることを示した。Gorlin 症候群は *patched* 遺伝子の変異により発症することが知られているが、通常の染色体解析や遺伝子変異解析では異常が認められなかった 3 症例について CN アレイ解析を行ったところ、最短 185kb の微小欠失が検出され、その境界領域の配列解析から Alu リpeat配列を介してリアレンジメントを生じた可能性が示唆された。

ゲノムコピー数の新規測定法としては質量分析装置 (MassArray) を用いた測定法の確立に取り組んだ。アレル間のコピー数比はほぼ正確な評価が可能であったが、細胞あたりの絶対コピー数の測定には対照となるオリゴヌクレオチドをスパイクする必要がある、現在引き続き進行中である。

2. アレル間の遺伝子発現量の多様性解析法

薬剤応答性の個人差は薬剤の効果や副作用を解明する上で重要である。PPAR・受容体のリガンドであるチアゾリジン誘導体ピオグリタゾン投与下にアレル別遺伝子発現を測定し、投与前には発現量に差が認められないにもかかわらず、投与後には片側アレルのみの発現が認められる遺伝子が数多く検出された。

転写因子は遺伝子発現制御に主たる役割を果たしているが、ゲノム DNA への結合にアレル間の違いがあるか否かについて予備的検討を開始した。クロマチン免疫沈降により転写因子に結合した DNA を回収し、次世代シーケンサーを用いて配列を決定した。結合領域のアレルの出現頻度が有意に異なる SNP が数多く認められ、結合モチーフの強い配列を有するアレルの出現頻度が高い傾向が認められた。転写産物のアレル別発現量の変動との関連を検討中である。

3. RNA 変異の系統的解析技術開発

全エクソンアレイを用いた転写産物の多様性の解析を正常組織、細胞株、腫瘍組織あわ

せて 300 あまりの RNA 検体について行い、データベース化を行っている。癌細胞において検出された染色体転座について機能解析を進めた。

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)

② 研究項目

1. 染色体変異の系統的解析技術開発
2. アレル間の遺伝子発現量の多様性解析法
3. 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)

- 1) Sekiguchi N, Kawauchi S, Furuya T, Inaba N, Matsuda K, Ando S, Ogasawara M, Aburatani H, Kameda H, Amano K, Abe T, Ito S, Takeuchi T. Messenger ribonucleic acid expression profile in peripheral blood cells from RA patients following treatment with an anti-TNF- α monoclonal antibody, infliximab. **Rheumatology** (Oxford). 2008 in press
- 2) Taguchi A, Emoto M, Okuya S, Fukuda N, Nakamori Y, Miyazaki M, Miyamoto S, Tanabe K, Aburatani H, Oka Y, Tanizawa Y. Identification of Glypican3 as a novel GLUT4-binding protein. **Biochem Biophys Res Commun**. 2008 May 16;369(4):1204-8.
- 3) Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C, Katagiri H, Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, Oka Y. ATF4-Mediated Induction of 4E-BP1 Contributes to Pancreatic beta Cell Survival under Endoplasmic Reticulum Stress. **Cell Metab**. 7(3):269-76. 2008
- 4) Wendt KS, Yoshida K, Itoh T, Bando M, Koch B, Schirghuber E, Tsutsumi S, Nagae G, Ishihara K, Mishiro T, Yahata K, Imamoto F, Aburatani H, Nakao M, Imamoto N, Maeshima K, Shirahige K, Peters JM. Cohesin mediates transcriptional insulation by CCCTC-binding factor. **Nature**. 451(7180):796-801. 2008
- 5) Kamei Y, Miura S, Suganami T, Akaike F, Kanai S, Sugita S, Katsumata A, Aburatani H, Unterman TG, Ezaki O, Ogawa Y. Regulation of SREBP1c gene expression in skeletal muscle: role of RXR/LXR and FOXO1. **Endocrinology**. 2008 Jan 17; [Epub ahead of print]
- 6) Yan HT, Shinka T, Sato Y, Yang XJ, Chen G, Sakamoto K, Kinoshita K, Aburatani H, Nakahori

- Y. Overexpression of SOX15 Inhibits Proliferation of NT2/D1 Cells Derived from a Testicular Embryonal Cell Carcinoma. **Mol Cells**. 24(3):323-8. 2007
- 7) Yamamoto Y, Uehara A, Miura K, Watanabe A, Aburatani H, Komiyama M. Development of Artificial Restriction DNA Cutter Composed of Ce(IV)/EDTA and PNA. **Nucleosides Nucleotides Nucleic Acid**. 26(10):1265-8. 2007
 - 8) Nakamura Y, Matsubara D, Goto A, Ota S, Sachiko O, Ishikawa S, Aburatani H, Miyazawa K, Fukayama M, Niki T. Constitutive activation of c-Met is correlated with c-Met overexpression and dependent on cell-matrix adhesion in lung adenocarcinoma cell lines. **Cancer Sci**. 99(1):14-22. 2008.
 - 9) Hayashi M, Maeda S, Aburatani H, Kitamura K, Miyoshi H, Miyazono K, Imamura T. Pitx2 prevents osteoblastic trans-differentiation of myoblasts by bone morphogenetic proteins. **J Biol Chem**. 283(1):565-71. 2008.
 - 10) Ehata S, Hanyu A, Hayashi M, Aburatani H, Kato Y, Fujime M, Saitoh M, Miyazawa K, Imamura T, Miyazono K. Transforming Growth Factor- β Promotes Survival of Mammary Carcinoma Cells through Induction of Antiapoptotic Transcription Factor DEC1. **Cancer Res**. 67(20):9694-703. 2007
 - 11) Yoneda M, Endo H, Nozaki Y, Tomimoto A, Fujisawa T, Fujita K, Yoneda K, Takahashi H, Saito S, Iwasaki T, Yamamoto S, Tsutsumi S, Aburatani H, Wada K, Hotta K, Nakajima A. Life Style-Related Diseases of the Digestive System: Gene Expression in Nonalcoholic Steatohepatitis Patients and Treatment Strategies. **J Pharmacol Sci**. 105(2):151-6. 2007.
 - 12) Morikawa T, Sugiyama A, Kume H, Ota S, Kashima T, Tomita K, Kitamura T, Kodama T, Fukayama M, Aburatani H. Identification of toll-like receptor 3 as a potential therapeutic target in clear cell renal cell carcinoma. **Clin Cancer Res**. 13(19):5703-9. 2007
 - 13) Kimura M, Yamamoto T, Zhang J, Itoh K, Kyo M, Kamiya T, Aburatani H, Katsuoka F, Kurokawa H, Tanaka T, Motohashi H, Yamamoto M. Molecular basis distinguishing the DNA binding profile of NRF2-MAF heterodimer from that of MAF homodimer. **J Biol Chem**. 282(46):33681-90. 2007
 - 14) Inaki M, Yoshikawa S, Thomas JB, Aburatani H, Nose A. Wnt4 Is a Local Repulsive Cue that Determines Synaptic Target Specificity. **Curr Biol**. 17(18):1574-9. 2007
 - 15) Fujii K, Ishikawa S, Uchikawa H, Komura D, Shapero MH, Shen F, Hung J, Arai H, Tanaka Y, Sasaki K, Kohno Y, Yamada M, Jones KW, Aburatani H, Miyashita T. High-density oligonucleotide array with sub-kilobase resolution reveals breakpoint information of submicroscopic deletions in nevoid basal cell carcinoma syndrome. **Hum Genet**. 122(5):459-66. 2007
 - 16) Lu Y, Kitaura J, Oki T, Komeno Y, Ozaki K, Kiyono M, Kumagai H, Nakajima H, Nosaka T, Aburatani H, Kitamura T. Identification of TSC-22 as a potential tumor suppressor that is

- upregulated by Flt3-D835V but not Flt3-ITD. **Leukemia**. 21(11):2246-57. 2007
- 17) Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, Fujiwara SI, Watanabe H, Kurashina K, Hatanaka H, Bando M, Ohno S, Ishikawa Y, Aburatani H, Niki T, Sohara Y, Sugiyama Y, Mano H. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. **Nature**. 448(7153):561-6. 2007
 - 18) Futagami Y, Sugita S, Vega J, Ishida K, Takase H, Maruyama K, Aburatani H, Mochizuki M. Role of thrombospondin-1 in T cell response to ocular pigment epithelial cells. **J Immunol**. 178(11):6994-7005. 2007
 - 19) Narumiya H, Hidaka K, Shirai M, Terami H, Aburatani H, Morisaki T. Endocardiogenesis in embryoid bodies: Novel markers identified by gene expression profiling. **Biochem Biophys Res Commun**. 357(4):896-902. 2007
 - 20) Wang T, Niki T, Goto A, Ota S, Morikawa T, Nakamura Y, Ohara E, Ishikawa S, Aburatani H, Nakajima J, Fukayama M. Hypoxia increases the motility of lung adenocarcinoma cell line A549 via activation of the epidermal growth factor receptor pathway. **Cancer Sci**. 98(4):506-11. 2007
 - 21) Osaka N, Takahashi T, Murakami S, Matsuzawa A, Noguchi T, Fujiwara T, Aburatani H, Moriyama K, Takeda K, Ichijo H. ASK1-dependent recruitment and activation of macrophages induce hair growth in skin wounds. **J Cell Biol**. 176(7):903-909. 2007
 - 22) Takayama K, Kaneshiro K, Tsutsumi S, Horie-Inoue K, Ikeda K, Urano T, Ijichi N, Ouchi Y, Shirahige K, Aburatani H, Inoue S. Identification of novel androgen response genes in prostate cancer cells by coupling chromatin immunoprecipitation and genomic microarray analysis. **Oncogene**. 26(30):4453-63, 2007
 - 23) Yoshizumi S, Suzuki S, Hirai M, Hinokio Y, Yamada T, Yamada T, Tsunoda U, Aburatani H, Yamaguchi K, Miyagi T, Oka Y. Increased hepatic expression of ganglioside-specific sialidase, NEU3, improves insulin sensitivity and glucose tolerance in mice. **Metabolism**. 56(3):420-9. 2007
 - 24) Terami H, Hidaka K, Shirai M, Narumiya H, Kuroyanagi T, Arai Y, Aburatani H, Morisaki T. Efficient capture of cardiogenesis-associated genes expressed in ES cells. **Biochem Biophys Res Commun**. 355(1):47-53. 2007
 - 25) Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, Yamahashi Y, Saito Y, Higashi H, Aburatani H, Akiyama T, Peek RM Jr, Azuma T, Hatakeyama M. Helicobacter pylori CagA interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. **Oncogene**. 26(32):4617-26, 2007
 - 26) Sugita S, Futagami Y, Horie S, Aburatani H, Mochizuki M. [Murine ciliary body pigment epithelial cells inhibit activation of T cells] 日本眼科学会雑誌 111(8):598-605. 2007

(2) 特許出願

平成 19 年度 国内特許出願件数：0 件（CREST 研究期間累積件数：2 件）