

## 公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金研究報告書

平成 年 月 日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

| 研究者<br>(職名) | 氏名   |   | 所属施設 |                       |     |                    |    |
|-------------|--|---|------|-----------------------|-----|--------------------|----|
|             | 沼部博直 (准教授)   | ④ | 施設名  | 東京医科大学病院<br>遺伝子診療センター | 所在地 | 東京都新宿区<br>西新宿6-7-1 | 電話 |
| 研究課題        | 悪性腫瘍を合併する小児先天性異常症候群の網羅的解析  |   |      |                       |     |                    |    |
| 研究目的        | 小児の先天異常の25%は染色体異常、10%はコピー数多型により生じることが分かっている。また、先天異常症候群の一部は高率で家族性腫瘍を発生することが知られている。先天異常症候群でがんが発生する機序のひとつとして、原因となる遺伝子が、がん抑制遺伝子の機能も有している場合、当該遺伝子の変異や欠失がfirst hitとなり、がんの発症リスクが高まっている場合、後天的なsecond hitによりがんを生じることが推測される。<br>そこで今回、我々は、次世代シーケンサを用いたエクソーム解析や、マイクロアレイ検査を用いて、先天異常を有する小児の診断的解析を行い、発がんリスクの推定や医学的管理に資することを目的とした。  |   |      |                       |     |                    |    |
| 研究方法        | 染色体G-Band法により染色体の欠失を有する先天異常患児、症状より染色体の微細欠失が疑われる先天異常患児に関しては、染色体欠失領域に含まれている遺伝子群を同定する目的でマイクロアレイ検査を行った。欠失領域に含まれている遺伝子群は、国際的細胞遺伝学データベースであるDECIPHERを用いて検索し、がん抑制遺伝子の有無を中心に確認した。<br>原因不明の発達遅滞や多発奇形を有する先天異常患児に対しては、エクソーム解析を行い、がん抑制遺伝子あるいはがん遺伝子として知られている遺伝子の変異や欠失の有無を確認した。   |   |      |                       |     |                    |    |
| 研究成果        | 7例の先天異常患児のエクソーム解析を行ったが、いずれの症例にもがん関連遺伝子の変異や欠失は認められなかった。<br>12例の染色体欠失、染色体微細欠失が疑われる先天異常患児にマイクロアレイ検査を行ったが、4例には染色体異常を認めなかった。8例には、染色体の欠失もしくは微細欠失を認めたため、DECIPHERを用いて欠失領域にがん抑制遺伝子があるか否かの検索を行った。<br>その結果、1例に21個のタンパクをコードする遺伝子の欠失が認められた。この症例は、染色体検査G-Band法による検査では均衡型転座であると診断されていた症例であるが、切断点近辺にCawden症候群1型の遺伝子が存在することから、詳細な切断点を |   |      |                       |     |                    |    |

|           |   |
|-----------|---|
| 研究 成 果    | <p>同定する目的でマイクロアレイ検査を行ったものであった。しかし、結果として、10番染色体q23.2からq23.31の領域の1.89MBの微細欠失が見つかったため、DECIPHERを用いた詳細な解析を行った。この領域には21種類のタンパク質をコードする遺伝子が存在し、そのうち5遺伝子は常染色体優性遺伝形式を示す疾患の遺伝子であることから、片アリの欠失のある本患児では将来的に発症のリスクがあると判断された。この5つの遺伝子は、心筋症の原因遺伝子のひとつであるLDB3、高インスリン・高アンモニア血症の原因遺伝子であるGLUD1、小児若年性ポリポーシス症候群の原因遺伝子として知られるBMP1A、甲状腺濾胞癌の原因遺伝子のひとつであるMINPP1、そしてCowden症候群1型の原因遺伝子であるPTENであった。なお、患児は新生児期に高インスリン・高アンモニア血症に近い病態を示したが、現在は無治療で安定している。また、1歳10カ月時より多発ポリープを認めており、下部内視鏡的ポリープ切除術を2回受けている。今後はCowden症候群としての腫瘍の発生、ならびに甲状腺濾胞癌の発生に対する定期的なサーベイランスが必要な症例と考えられる。</p> <p>先天異常症候群に対するエクソーム検査やマイクロアレイ検査による解析により、未発症のがん抑制遺伝子の変異・欠損を発見し、早期サーベイランスを開示することが可能であり、今回も19例中1例の未発症Cowden症候群を発見できた。</p> |
| 今 後 の 予 定 | <p>エクソーム解析は、低価格化が進んでいるものの、いまだに10万円程度の費用を要し、また結果解釈も複雑なため、スクリーニング的に施行する段階には至っていない。マイクロアレイ検査も現状では10万円以上の費用を要する検査ではあるが、欧米では既に保険適応の検査となっていることから、本邦においても、近い将来、保険適応となることが期待される。原因不明の発達遅滞や多発奇形患児に対して行ったマイクロアレイ検査では約15%に異常が認められていること、染色体微細欠失はエクソーム解析をはじめとする遺伝子配列検査では検出困難であることなどから、マイクロアレイ検査を先天異常のスクリーニング検査として行うのが欧米では主流となっているが、本邦でも同様の動きがあり、いち早い保険適応が望まれる。</p> <p>マイクロアレイ検査により染色体微細欠失が判明した場合には、常に当該領域にがん抑制遺伝子が含まれているか否か、含まれている場合にはそれが優性遺伝形式を取るか否かが問題となる。優性遺伝形式のがん抑制遺伝子が欠失している場合には、がんの発症リスクを有すると診断されるからであり、BRCA1/2、RET、TP53などのほか、今回の症例で欠失が明らかとなったPTEN遺伝子などが該当する。今回のマイクロアレイ検査では8微細欠失例中1例の頻度でがん抑制遺伝子の欠失が見られたが、今後も症例を増やして頻度を調査して行きたい。</p>                                      |

様式第3号

公益財団法人 東京医科大学がん研究事業団 がん研究助成金収支決算報告書

平成 年 月 日

公益財団法人

がん研究事業団理事長 殿

研究者所属施設名

東京医科大学病院

氏 名

沼部 博直 印

### 収 支 決 算 書

(単位 円)

| 交付を受けた助成金額 |         | 金 2,968,000 円  |         |         |
|------------|---------|--|---------|---------|
| 費 目        | 明 細     | 単 価 及 金 額  | 計 額     |         |
| 支 出 内 訳    | 設備、備品費  |  |         |         |
|            | 消 耗 品 費 | ABI A27192 Ion AmpliSeq Exsome RDY Kit 1x8                 | 518,700 | 911,498 |
|            |         | ABI A27198 Ion PI Hi-Q Chef Kit 8reaction                  | 325,280 |         |
|            |         | 消費税  | 67,518  |         |
|            |         | 振込手数料  | 216     | 216     |
|            |         | 小児科領域<br>RevealSNP マイクロアレイ 6件分                             | 151,200 | 907,200 |
|            |         | 振込手数料  | 432     | 432     |
|            |         | シーケンス SSCP-8<br>2件分  | 48,000  | 103,680 |
|            |         | 消費税  | 7,680   |         |
|            |         | 振込手数料  | 432     |         |
|            |         | 小児科領域<br>RevealSNP マイクロアレイ 6件分                             | 151,200 | 907,200 |
|            |         | 振込手数料  | 432     | 432     |
|            |         | ABI 4440038 1x5mL TaqMan Universal Master Mix II, with UNG | 67,355  |         |
|            |         | ABI 402837 3mL POP-6 Polymer for the 310 Genetic Analyz    | 31,350  |         |

|         |         |  |        |           |
|---------|---------|--|--------|-----------|
|         |         | ABI 402824 310 and<br>31xx Running<br>Buffer, 10x 25mL         | 14,060 | 136252    |
|         |         | Roche 4738284001<br>FASTSTART HIFI PCR<br>SYSTEM DNTPACK, 125U | 13,395 |           |
|         |         | 消費税  | 10,092 |           |
|         |         | 振込手数料  | 216    | 216       |
|         | 計       |  |        | 2,967,558 |
| 過 △ 不足額 |         |  |        | 442       |
| 備 考     | 442円残あり |  |        |           |
|         |         |  |        |           |
|         |         |  |        |           |
|         |         |  |        |           |
|         |         |  |        |           |

## 支 出 費 内 訳

| 区 分     | 金 額       | 根 拠    |
|---------|-----------|--------|
| 設備、備品費  |           |        |
| 消 耗 品 費 | 911,498 円 | 研究用として |
|         |           |        |
|         | 907,200 円 | 研究用として |
|         |           |        |
|         | 103,680 円 | 研究用として |
|         |           |        |
|         | 907,200 円 | 研究用として |
|         |           |        |
|         | 136,252 円 | 研究用として |
|         |           |        |
|         |           |        |
|         |           |        |
|         |           |        |
|         |           |        |