

多因子疾患病態機能解明のための実験動物モデル群を利用した遺伝学的アプローチ

●永瀬浩喜

理化学研究所 リソース基盤開発部実験動物開発室・研究協力員(研究職)

〈研究の目的と進め方〉

本研究は複雑な遺伝子機能解析にマウスの遺伝学アプローチが応用できるかの検討を目的とし、マウス皮膚がんモデルによる単純化した実験系の中で複雑な遺伝子群の機能解析の可能性を検討した。このことによりヒトでの生活習慣病などの複雑な疾病と遺伝的背景因子との関係が遺伝子レベルで解明できることが期待された。

〈研究開始時の研究計画〉

ヒト集団での解析のモデルとなる野生マウスの導入による遺伝子座狭小化の方法論を本年度中に確立する。具体的には野生マウスのコロニーとそのコロニーより作成した近郊系マウスを表現型の異なる近郊系マウスと交配しF2までの交配のみで他にコンジェニックマウス作成等の時間経費を要する交配実験を省略し遺伝子を単離ができる系を開発する。少なくとも一つの生物学的表現型を証明しうる分子遺伝学的データの裏づけによりがん修飾遺伝子を同定し方法論の実証と方法論の更なる向上を獲得目標とする。

〈研究期間の成果〉

当初期待していた統計学的解析は多段階非線形回帰解析法による遺伝子座間の相互作用解析で一定の成果を得た(成果1)、特にこの研究期間に検討してきたマウスでのハプロタイプスタディとヒトがん解析の同時進行による相補的解析は効果的であった。つまりがん耐性雑種マウスおよびその雑種マウスより作成した耐性近交系マウスとがん感受性マウスとの交配により、マウスでの問題点であった転座の頻度が克服され人での複雑性もより簡略化できた。以下研究期間以後となるが、癌感受性遺伝子ががん細胞の体細胞レベルの遺伝子変化と相関することをしました(成果2)。この系の利用により、複数のがん感受性遺伝子座をかなり狭い範囲に狭めることにコンジェニックマウス等を作成することなく成功した。マウスでの狭小化した領域とヒトでのがん関連領域の比較により領域内候補遺伝子の選択が容易となり、実際にマウス感受性遺伝子の一つの同定に成功し、さらにその遺伝子内の一塩基多系が二つの異なるヒト集団を利用したケースコントロールスタディでがん患者集団と非がん集団に相関したことは、これまで困難とされてきた高頻度低浸透性の遺伝因子であるヒトがん感受性がマウス発がんモデルの利用により同定した(成果3)。この成果をもとにヒト乳がん(成果4)卵巣がん(成果5)食道がん(成果6)さらに大規模なケースコントロール(成果7)で高頻度通信統制の癌感受性遺伝子を同定することができた。さらにその感受性を起こす機序を示唆する機能解析結果も報告できた(成果3と成果6)。

〈国内外での成果の位置づけ〉

上記に示すとおり、国際共同研究により高頻度低浸透性の癌感受性遺伝子をマウスモデルを通して発見したことは画期的なことであり、今までヒトでのアプローチが

如何に困難であるかも示すことができた。

これらの成果をもとに国際的共同研究としての複雑遺伝形質国際コンソーティウム(CTC)の設立に関与でき、設立時よりのメンバーとしてマウスの遺伝学的アプローチによる複雑な遺伝形質の責任遺伝子の同定方法を研究し総説として公表している(成果8と成果9)。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

2001年度の途中から、海外の研究機関で研究を進めることとなり、本研究助成を途中で断念せざる終えなくなりました。幸い米国国立衛生研究所、ロズウェルパークがん研究所アライアンスグラントによりこの研究には補助がなされたため引き続き米国で研究を続行しました。研究室の移動に伴い、研究の進行が遅れましたが、本研究で取り組んできた国際挙動研究は2003年にNature Genetics誌に論文として掲載され、その後続報が現在に至るまで続いております。本研究資金が、連続する研究成果の足がかりとなりましたので成果として公表リストに加えておりますが、ほとんどの研究は米国国立衛生研究所の補助でなされたことを明記しておきます。

研究期間内に、国内で研究が続けられない状況が生じたので残念ながら研究成果を本研究補助に帰属する形で論文発表できませんでした。

〈今後の課題〉

本年より国内で再度研究できる機会をいただきました。癌感受性に関わる遺伝子は、多数存在し複雑に絡み合っており病態に関与しています。われわれの研究はその糸口を明らかにしたにすぎず今後、さらに多くの癌感受性遺伝子とその感受性を促す機序を解明していかねばなりません。今後の課題は、研究の進行に併せ、癌の予防、治療に貢献できる研究に結び付けて行くことです。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

- 1) 論文/プロシーディング(査読付きのものに限る)
 1. Nagase, H., Mao, J.H., de Koning, J.P., Minami, T., and Balmain A. Epistatic interactions between skin tumor modifier loci in interspecific (spretus/musculus) backcross mice. *Cancer Research* 61: 1305-1308, (2001)
 2. Nagase, H., Mao, J.H., and Balmain, A. Allele-specific Hras Mutations and Genetic Alterations at Tumor Susceptibility Loci in Skin Carcinomas from Interspecific Hybrid Mice. *Cancer Res.* 63, 4849-4853, (2003).
 3. Ewart-Toland, A., Briassouli, P., de Koning, J.P., Mao, J.H., Yuan, J., Chan, F., MacCarthy-Morrogh, L., Ponder, B.A., Nagase, H., Burn, J., Ball, S., Almeida, M., Linardopoulos, S., and Balmain, A. Identification of Stk6/STK15 as a candidate low-penetrance tumor-susceptibility gene in mouse and human. *Nat. Genet.* 34, 403-412, (2003).
 4. Egan, M.K., Newcomb, P.A., Ambrosone, C.B.,

Trentham-Dietz, A., Titus-Ernstoff, L., Hampton, J.M., Kimura, M.T. Nagase, H. STK15 Polymorphism and Breast Cancer Risk in a Population-Based Study. *Carcinogenesis* 25, 1-5, (2004)

5. DiCioccio, R.A., Song, H., Waterfall, C., Kimura, M.T., Nagase, H., McGuire, V., Hogdall, E., Shah, M.N., Luben, R.N., Easton, D.F., Jacobs, I.J., Ponder, B.A.J., Whittemore, A.S., Gayther, S.A., Pharoah, P.D.P. and Kruger-Kjaer, S. STK15 Polymorphisms and Association with Risk of Invasive Ovarian Cancer. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention* 13(10) 1589-94, (2004)

6. Makoto T. Kimura, Takahiro Mori, Jeffrey Conroy, Norma J. Nowak, Susumu Satomi, Katsuyuki Tamai, and Hiroki Nagase Two functional coding single nucleotide polymorphisms in STK15 (Aurora-A) co-ordinately increase esophageal cancer risk. *Cancer Research* 65(9):3548-54 (2005).

7. Amanda Ewart-Toland, Qi Dai, Yu-Tang Gao, Hiroki Nagase, Malcolm G. Dunlop, Susan M. Farrington, Rebecca A. Barnetson, Hoda Anton-Culver, David Peel, Argyrios Ziogas, Dongxin Lin, Xiaoping Miao, Tong Sun, Elaine A. Ostrander, Janet L. Stanford, Mariela Langlois, June M. Chan, Jinwei Yuan, Curtis Harris, Elise Bowman, Gary L. Clayman, Scott M. Lippman, J. Jack Lee, Wei Zheng & Allan Balmain. Aurora-A/STK15 T+91A is a general low penetrance cancer susceptibility gene: a meta-analysis of multiple cancer types. *Carcinogenesis* 26(8):1368-73 (2005).

8. Members of the Complex Trait Consortium (CTC) Flaherty, L., Abiola, O., Angel, J.M., Avner, P., Bachmanov, A.A., Belknap, J.K., Bennett, B., Blankenhorn, E.P., Blizard, D.A., Bolivar, V., Brockmann, G.A., Buck, K.J., Bureau, J-F., Casley, W.L., Chesler, E.J., Cheverud, J.M., Churchill, G.A., Cook, M., Crabbe, J.C., Crusio, W.E., Darvasi, A., de Haan, G., Demant, P., Doerge, R.W., Elliott, R.W., Farber, C.R., Flint, J., Gershenfeld, H., Gibson, J.P., Gu, W., Himmelbauer, H., Hitzemann, R Hsu, H., Hunter, K., Iraqi, F., Jansen R.C., Johnson, T.E., Jones, B.C., Kempermann, G., Lammert, F., Lu, L., Manly, K.F., Matthews, D.B., Medrano, J.F., Mehrabian, M., Mittleman, G., Mock, B.A., Mogil, J.S., Montagutelli, X., Morahan, G., Mountz, J.D., Nagase, H., Nowakowski, R.S., O'Hara, B.F., Osadchuk, A.V., Palmer, A.A., Peirce, J.L., Pomp, D., Rosemann, M., Rosen, G.D., Schalkwyk, P.B., Leonard C., Seltzer, Z., Settle, S., Shimomura, K., Shou, S., Sikela, J.M., Siracusa, L.D., Spearow, J.L., Teuscher, C., Threadgill, D.W., Toth, L.A., Toyé, A.A., Vadasz, C., Van Zant, G., Wakeland, E., Williams, R.W., Zhang, H-G., and Zou, F. The nature and identification of quantitative trait loci: a community's view. *Nature Genetics Review*. 4, 911-916, (2003).

9. The Complex Trait Consortium: Gary A Churchill, David C Airey, Hooman Allayee, Joe M Angel, Alan D Attie, Jackson Beatty, William D Beavis, John K Belknap, Beth Bennett, Wade Berrettini, Andre Bleich, Molly Bogue, Karl W Broman, Kari J Buck, Ed Buckler, Margit Burmeister,

Elissa J Chesler, James M Cheverud, Steven Clapcote, Melloni N Cook, Roger D Cox, John C Crabbe, Wim E Crusio, Ariel Darvasi, Christian F Deschepper, R W Doerge, Charles R Farber, Jiri Forejt, Daniel Gaile, Steven J Garlow, Hartmut Geiger, Howard Gershenfeld, Terry Gordon, Jing Gu, Weikuan Gu, Gerald de Haan, Nancy L Hayes, Craig Heller, Heinz Himmelbauer, Robert Hitzemann, Kent Hunter, Hui-Chen Hsu, Fuad A Iraqi, Boris Ivandic, Howard J Jacob, Ritsert C Jansen, Karl J Jepsen, Dabney K Johnson, Thomas E Johnson, Gerd Kempermann, Christina Kendzierski, Malak Kotb, R Frank Kooy, Bastien Llamas, Frank Lammert, Jean-Michel Lassalle, Pedro R Lowenstein, Lu Lu, Aldons Lulis, Kenneth F Manly, Ralph Marcucio, Doug Matthews, Juan F Medrano, Darla R Miller, Guy Mittleman, Beverly A Mock, Jeffrey S Mogil, Xavier Montagutelli, Grant Morahan, David G Morris, Richard Mott, Joseph H Nadeau, Hiroki Nagase, Richard S Nowakowski, Bruce F O'Hara, Alexander V Osadchuk, Grier P Page, Beverly Paigen, Kenneth Paigen, Abraham A Palmer, Huei-Ju Pan, Leena Peltonen-Palotie, Jeremy Peirce, Daniel Pomp, Michal Pravenec, Daniel R Prows, Zhonghua Qi, Roger H Reeves, John Roder, Glenn D Rosen, Eric E Schadt, Leonard C Schalkwyk, Ze'ev Seltzer, Kazuhiro Shimomura, Siming Shou, Mikko J. Sillanpää, Linda D Siracusa, Hans-Willem Snoeck, Jimmy L Spearow, Karen Svenson, Lisa M Tarantino, David Threadgill, Linda A Toth, William Valdar, Fernando Pardo-Manuel de Villena, Craig Warden, Steve Whatley, Robert W Williams, Tim Wiltshire, Nengjun Yi, Dabao Zhang, Min Zhang & Fei Zou The Collaborative Cross: A Community Resource for the Genetic Analysis of Complex Traits. *Nature Genetics* 36 1133-37, (2004)

- 2) データベース/ソフトウェア なし
- 3) 特許など なし
- 4) その他顕著なもの 特になし