

研究報告書  
平成29年度：A課題

平成31年 4月26日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 東京大学医科学研究所

住 所 東京都港区白金台 4-6-1

研究者氏名 山口 貴世志



(研究課題)

大腸がんの遺伝的リスク評価のための APCがん抑制遺伝子の転写調節領域の解明

平成30年1月24日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

## 【研究課題】

### 大腸がんの遺伝的リスク評価のための APC がん抑制遺伝子の転写調節領域の解明

## 【研究の背景および目的】

腫瘍抑制遺伝子 Adenomatous polyposis coli (*APC*)は大腸がんの発生の初期に関わる遺伝子で、この遺伝子の生殖細胞系列の異常は家族性大腸腺腫症 (FAP) の原因であり、大腸腺腫の発生に関与している。散発性の大腸がんの遺伝的リスクについては、全ゲノム相関解析 (GWAS)が行われ、*TCF7L2*や *SMAD7*, *MYC*などの遺伝子内外の遺伝子多型が関与していることが報告されているが、いずれの多型の相対危険率は 1.3 倍以下で、大腸がんの遺伝的要因としては寄与度が低く、高い遺伝的要因は見つかっていない。我々は以前の研究で、FAP患者に *APC* 遺伝子のプロモーター領域を含む約 10 kb の欠失を発見し(図 1)、*APC* 遺伝子の転写に必須な領域であった(Yamaguchi *et al*, *Sci Rep*. 2016; 6: 26011)。この領域は、脳での発現を調節すると考えられていたプロモーター(1B)を含むが、その詳細な調節領域はわかっていない。本研究は散発性大腸がんの遺伝的要因として、*APC* 遺伝子の新たな発現調節領域に存在する稀な遺伝子多型を解析するために、詳細な調節領域を明らかにすることを目的とした。

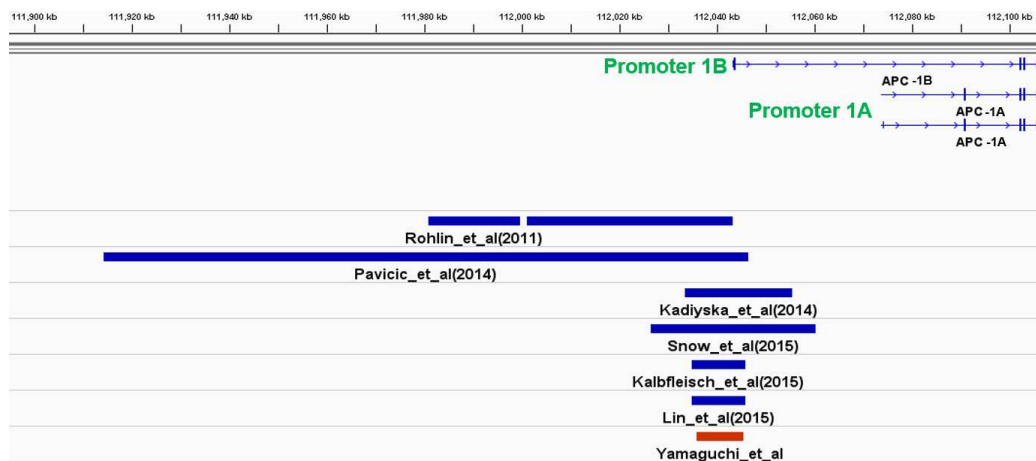


図 1) これまで報告されている *APC* 遺伝子の転写調節領域付近の欠失領域の分布

## 【結果および考察】

*APC-1A* および *APC-1B* の 5'-flanking 領域約 5 kb を含むレポータープラスミドをそれぞれ作製し、数種類の大腸がん細胞株を用いてレポーターアッセイを行った。プロモーター1A

および 1B 活性は試験したほとんどの細胞で有意に増加したものの、プロモーター 1B の活性増加は 1A と比して顕著だった。我々は以前に脳以外の組織では *APC-1B* の発現が優位であることを報告しており、その結果と一致していた。次に、プロモーター 1B の調節に重要な領域を同定するために、5'-flanking 領域の欠失変異型 *APC-1B* レポータープラスミドを 6 種類作製し、それらのレポーター活性を比較することで、*APC-1B* の転写活性に重要な領域の同定を試みた。その結果、*APC-1B* の転写活性に関わる約 100 bp の領域を同定した。

転写因子の結合モチーフ検索プログラム JASPAR (<http://jaspar.genereg.net>) を用いて、この領域に存在する結合モチーフを探索したところ、ある一定のスコアを満たしたモチーフは、8 個予測された。さらにプロモーター 1B に結合する転写因子を Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) の ChIP-seq データを用いて検索し、モチーフ探索データと統合したところ、転写因子 X が候補因子として絞り込まれた。そこでこの転写因子 X の DNA 結合モチーフ配列に Site-Directed Mutagenesis によって変異を導入しレポーター活性を測定したところ、野生型と比較して変異型のレポータープラスミドでは顕著にレポーター活性が減少した。この候補因子 X と *APC* 遺伝子の調節に関する報告はなく、この因子が *APC* の転写を調節することが証明できれば、新たな *APC* の発現調節メカニズムの発見に繋がるものと期待される。今後は、X 遺伝子のノックダウンが *APC* プロモーター活性を減少させるかどうか、さらに X 遺伝子の発現と *APC* の発現に相関があるかどうかを検討したうえで、様々な正常組織や腫瘍における X の発現と、その機能について検討を行う予定である。