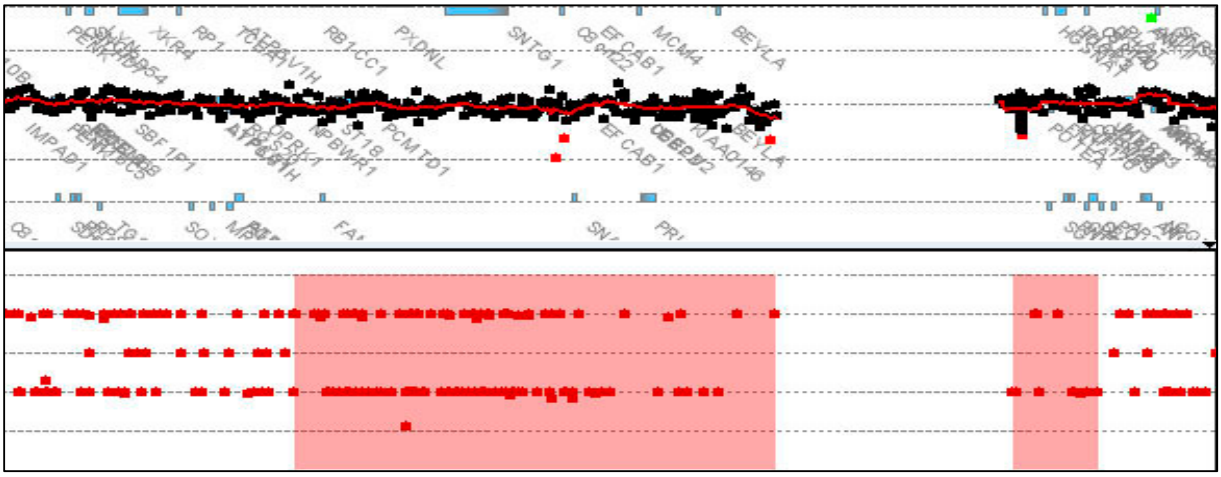
71　小児難治性肝疾患の発症機序の解明	笠原　群生

【目的】 本研究の目的は、原因不明の希少難治性疾患である胆道閉鎖症と肝芽腫を有する患者の遺伝学的解析によって、これらの疾患の発症機序を解明することである。本研究では、国立成育医療研究センターで集積された患者の腫瘍組織および血液の解析を行った。

【方法】 下記の 3 項目について研究を実施した。

1. 肝芽腫のエピゲノム解析：肝芽腫 11 例について、摘出腫瘍組織および周辺の正常肝組織から抽出したゲノム DNA のメチル化解析を行った。既知インプリンティング疾患関連 6 座位のメチル化可変領域のメチル化率を算出し、異常メチル化を示す座位を同定した。2. 肝芽腫のゲノム解析：上記の肝芽腫織由来ゲノム DNA を用いてアレイ comparative genomic hybridization（CGH）を行い、ゲノムコピー数異常について検討した。3. 胆道閉鎖症のゲノム解析：胆道閉鎖症 18 例のゲノム DNA を対象に、既知疾患関連遺伝子および候補遺伝子の網羅的シークエンスおよびアレイ CGH 解析を行った。

【結果】 1. 肝芽腫のエピゲノム解析：9 サンプルにおいて、明らかな DNA メチル化異常が同定された。とくに、11 番染色体 H19-DMR の高メチル化と Kv-DMR の低メチル化が多数の患者で認められた。これは、肝芽腫の発症にエピゲノム異常が重要な役割を果たすことを明確とするものである。インプリンティング遺伝子の多くが細胞増殖の制御に関与することから、これらの遺伝子の発現異常が腫瘍の形成に寄与している可能性がある。2. 肝芽腫のゲノム解析：7 サンプルにおいて、染色体の一部もしくは全体を包含するコピー数変化が同定された。コピー数異常は 1 番および 2 番染色体にとくに多く同定された。11 番染色体や 7 番染色体にコピー数異常を呈する症例はなく、上記の DNA メチル化変化を染色体構造異常によって説明することは不可能であった。したがって、肝芽腫腫瘍組織においては何らかの未知の機序でエピジェネティック制御の破綻が生じていることが示唆される。また、今回同定されたゲノムコピー数異常領域には、腫瘍の発生や進展に関与する遺伝子が含まれる可能性がある。現在、これらの点について研究を進めている。3. 胆道閉鎖症のゲノム解析：胆道閉鎖症 18 例のゲノム DNA を対象に、既知疾患関連遺伝子および候補遺伝子の網羅的シークエンスおよびアレイ CGH 解析を行った。18 例中 3 例においてヘテロ接合性もしくは複合ヘテロ接合性 *ARHGEF10* 非同義塩基置換を同定した。また 1 例で 7 番染色体微小欠失と 8 番染色体 loss-of-heterogeneity を同定した（図）。現在これらの疾患との関連について検討している。

胆道閉鎖症で同定された loss-of-heterogeneity