

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) 国際連携を基盤とした日本人難治固形がんゲノム統合解析による新たな治療標的の同定と予防戦略への展開研究
(英語) Identification of novel therapeutic targets and development of preventive strategy by integrated genome analysis of intractable solid cancers in Japanese patients and contribution to the International Cancer Genome Consortium.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立がん研究センター 研究所 がんゲノミクス研究分野
分野長 柴田 龍弘
- 所属 役職 氏名： (英語) National Cancer Center Research Institute, Division of Cancer Genomics,
Chief, Tatsuhiro Shibata
- 実施期間： 平成27年4月1日～平成29年3月31日
- 分担研究 (日本語) 国際連携を基盤とした日本人難治固形がんゲノム統合解析による新たな治療標的の同定と予防戦略への展開研究
- 開発課題名： (英語) Identification of novel therapeutic targets and development of preventive strategy by integrated genome analysis of intractable solid cancers in Japanese patients and contribution to the International Cancer Genome Consortium.
- 研究開発分担者 (日本語) 東京大学先端科学技術研究センター 教授 油谷浩幸
- 所属 役職 氏名： (英語) Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo, Professor, Hiroyuki Aburatani

II. 成果の概要（総括研究報告）

1. 肝がんの統合解析・国際連携による比較解析

肝臓がんについてゲノム・トランスクリプトーム・エピゲノム統合解析を遂行し、以下のような研究成果を報告した。また米国・フランス・英国等との国際連携を進めた。

- ① 理化学研究所との共同研究により、日本人肝臓がん 300 例について全ゲノム解読・全トランスクリプトーム解読・メチル化解析を行い、非コード領域における新たなドライバー変異同定、新たな肝臓がん関連ウイルスとして AAV2 の発見、臨床背景と相関する新たな変異シグネチャーの同定、独自に開発した情報解析手法を用いた肝臓がんの分子分類を明らかにした。これらの解析結果を Nature Genetics 誌に発表した(Nat Genet. 48:500-9, 2016)。
- ② 英国・米国他のグループとの共同研究により、肝臓がんを含めた喫煙との関連が報告されている 17 種類のがん 5,243 症例のがんゲノムデータを元に喫煙と突然変異との関連について検討を行い、研究成果を Science 誌に発表 (Science. 354:618-622, 2016)した。
- ③ 米国 TCGA 肝臓がん解析グループと連携し、ゲノム・エピゲノム統合解析を行った（現在投稿中）。
- ④ HBV 陽性肝臓がんにおける全ゲノム並びに全エピゲノムシーケンシス解析データを用いて、突然変異や変異シグネチャーとエピゲノムとの関連等について解析を行った（現在投稿中）。
- ⑤ 肝細胞がんの進展に関わる分子メカニズムを解明するため、既に解析済みの進行がん症例 100 例に加えて早期肝細胞がん 50 例のエクソーム、トランスクリプトーム、DNA メチローム解析を実施し、比較を行った（現在投稿中）。

2. 胆道がん・胃がんにおけるゲノム・エピゲノム解析

260 例の胆道癌臨床検体についてゲノム (DNA) ならびにトランスクリプトーム (RNA) 解読を行い、治療標的候補も含め胆道がんにおけるドライバー遺伝子やドライバー分子経路の全貌の全貌を明らかにした。また胆道がんにおいて免疫チェックポイント療法に反応する可能性が高いグループを同定した。本研究成果は Nature Genetics 誌に掲載され、日経・読売・朝日等の全国紙で報道された (Nat Genet. 47:1003-10, 2015)。十二指腸乳頭部がんについて、日米国際連携による大規模なゲノム解析 (総数で 172 例、そのうち日本人検体 70 例)を行い、新規がん抑制遺伝子 (ELF3) の発見、約半数の症例に治療標的を同定する等の研究成果を挙げ、Cancer Cell 誌に報告した (Cancer Cell, 29:229-40, 2016)。米国 NCI と胆道がんに関する国際共同研究を行った結果、アジアの胆道がんには特徴的なサブタイプが存することを明らかにし、この研究成果を Cancer Cell 誌に発表した (in press)。シンガポールのグループと胆道がんのゲノム解析について国際共同研究を進めた（現在投稿中）。

当初解析予定症例数を大きく上回る大規模な日本人胃がん症例を収集し、全ゲノム・全エクソン解読を進めた。胃がんにおける特徴的な組織亜型である粘液胃がんにおける包括的なゲノム解析を行い、その成果を J Pathol 誌に報告した (J Pathol. 240:137-48, 2016)。早期胃癌のゲノム解析について研究を進めた。

3. 情報解析による新規治療標的・バイオマーカー探索

- ① ホルマリン固定標本を用いた RNA シーケンシスによる融合遺伝子分子診断法を開発し、それを用いて切除不能進行症例生検標本から新たな FGFR2 融合遺伝子を同定し、薬剤感受性などの機能解析を行った（投稿準備中）。

1. Integrated genome analysis of liver cancer and international collaboration

We performed genome, transcriptome and methylome sequencing and integrated analysis on liver cancer, and reported results as follows. We also promoted international collaboration with US, UK, France and other countries.

- a. Whole genome, transcriptome sequencing and epigenetic analysis were performed on 300 Japanese liver cancer cases in collaboration with RIKEN group. This identified novel driver mutations in non-coding areas, AAV2 as a novel liver cancer-associated virus, novel mutational signatures associated with clinical features, and molecular classification (**Nat Genet. 48:500-9, 2016**).
- b. By international collaboration with groups in UK, US and other countries, associations between mutational signatures and smoking have been explored in 5243 cancer genomes of 17 smoking-associated cancers including liver cancer (**Science. 354:618-622, 2016**).
- c. In collaboration with US TCGA liver cancer group, integrated genome and epigenome analysis of liver cancer samples were conducted (manuscript submitted).
- d. Whole genome and methylome sequencing of HBV-positive HCC revealed association between mutational signature and epigenetic contexts, methylation status of integrated HBV genomes and epigenetic features of HBV integrated sites (manuscript submitted).
- e. To understand molecular mechanisms in hepatocarcinogenesis, integrated analysis of whole exome/transcriptome sequencing and methylation analysis of early HCC was conducted (manuscript submitted).

2. Integrated genome analysis of biliary tract and gastric cancers, and international collaboration

Genome and transcriptome sequencing of a large-scale biliary tract cancer samples (260 Japanese patients) identified FGFR2 and PRKACA fusions and other therapeutic targetable driver genes, novel immuno-subtypes, and elucidated comprehensive molecular signatures (**Nat Genet. 47:1003-10, 2015**). We performed whole-exome sequencing and DNA copy number analysis on 172 ampullary carcinomas resected from Japanese and American patients. The prevalence of driver gene mutations in carcinomas with the intestinal phenotype is different from those with the pancreatobiliary phenotype (**Cancer Cell, 29:229-40, 2016**). By collaborating with NCI, trans-ethnic comparison of molecular signatures in biliary tract cancer was conducted (**Cancer Cell 2017, in press**).

Integrated analysis of the largest Japanese gastric cancer samples have been conducted. Whole exome and target sequencing of mucinous gastric cancer, a rare subtype, has been reported (**J Pathol, 2016**). Genomic analysis of early gastric cancers has been performed.

3. Exploration of novel therapeutic targets and biomarkers by data analysis

- a. Molecular diagnosis of FGFR2 fusions in formalin-fixed paraffin embedded biopsy sample was developed. Novel FGFR2 fusion genes were identified in unresectable advanced biliary tract cancers, and functional analysis of these fusions was conducted (manuscript in preparation).

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 16 件)

1. Chaisaingmongkol J, Budhu A, Dang H, Rabibhadana S, Pupacdi B, Kwon SM, Forgues M, Pomyen Y, Bhudhisawasdi V, Lertprasertsuke N, Chotirosniramit A, Pairojkul C, Auewarakul CU, Sricharunrat T, Phornphutkul K, Sangrajrang S, Cam M, He P, Hewitt SM, Ylaya K, Wu X, Andersen JB, Thorgeirsson S, Waterfall J, Zhu YJ, Walling J, Stevenson H, Edelman D, Meltzer P, Loffredo C, Hama N, **Shibata T**, Wiltout R, Harris CC, Mahidol C, Ruchirawat M, Wang XW. Common Molecular Subtypes among Asian Hepatocellular and Cholangiocarcinoma. **Cancer Cell**, 2017, in press.
2. Alexandrov, LB, Ju YS, Haase K, Loo PV, Martincorena I, Nik-Zainal S, Totoki Y, Fujimoto A, Nakagawa H, **Shibata T**, Campbell PJ, Vineis P, Phillips DH, Stratton MR. Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. **Science**, 2016, 354:618-622.
3. Ojima H, Yamagishi S, Shimada K, **Shibata T**. Establishment of various biliary tract carcinoma cell lines and xenograft models for appropriate preclinical studies. **World Journal of Gastroenterology**, 2016, 22:9035-9038.
4. Rokutan H, Hosoda F, Hama N, Nakamura H, Totoki Y, Furukawa E, Arakawa E, Ohashi S, Urushidate T, Satoh H, Shimizu H, Igarashi K, Yachida S, Katai H, Taniguchi H, Fukayama M, **Shibata T**. Comprehensive mutation profiling of mucinous gastric carcinoma. **J Pathol**. 2016 240:137-48.
5. Mimaki S, Totsuka Y, Suzuki Y, Nakai C, Goto M, Kojima M, Arakawa H, Takemura S, Sakata C, Marubashi S, **Shibata T**, Nakagama H, Ochiai A, Esumi H, Kubo S, Nakamori S, Matsuda T, Tsuchihara K. Hypermutation and unique mutational signatures of occupational cholangiocarcinoma in printing workers exposed to haloalkanes. **Carcinogenesis**, 2016, 37:817-26.
6. Kataoka K, Shiraishi Y, Takeda Y, Sakata S, Matsumoto M, Nagano S, Maeda T, Nagata Y, Kitanaka A, Mizuno S, Tanaka H, Chiba K, Ito S, Watatani Y, Kakiuchi N, Suzuki H, Yoshizato T, Yoshida K, Sanada M, Itonaga H, Imaizumi Y, Totoki Y, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kameda T, Masuda K, Minato N, Kashiwase K, Izutsu K, Takaori-Kondo A, Miyazaki Y, Takahashi S, **Shibata T**, Kawamoto H, Akatsuka Y, Shimoda K, Takeuchi K, Seya T, Miyano S, Ogawa S. Aberrant PD-L1 expression via 3'-UTR disruption in multiple cancers. **Nature**, 2016, 534:402-6.
7. Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, Tsunoda T, Kato M, Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi SI, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata H, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Ohsawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Ohashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusaka T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, **Shibata T**, Nakagawa H. Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. **Nat Genet**, 2016, 48:500-9.

8. Yachida S, Wood LD, Suzuki M, Takai E, Totoki Y, Kato M, Luchini C, Arai Y, Nakamura H, Hama N, Elzawahry A, Hosoda F, Shirota T, Morimoto N, Hori K, Funazaki J, Tanaka H, Morizane C, Okusaka T, Nara S, Shimada K, Hiraoka N, Taniguchi H, Higuchi R, Oshima M, Okano K, Hirono S, Mizuma M, Arihiro K, Yamamoto M, Unno M, Yamaue H, Weiss MJ, Wolfgang CL, Furukawa T, Nakagama H, Vogelstein B, Kiyono T, Hruban RH, **Shibata T**. Genomic sequencing identifies ELF3 as a driver of ampullary carcinoma. **Cancer Cell**, 2016, 29:229-40.
9. Komura D, Isagawa T, Kishi K, Suzuki R, Sato R, Tanaka M, Katoh H, Yamamoto S, Tatsuno K, Fukayama M, **Aburatani H**, Ishikawa S. CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome. **BMC Genomics**. 2016, 17:899.
10. Matsusaka K, Ushiku T, Urabe M, Fukuyo M, Abe H, Ishikawa S, Seto Y, **Aburatani H**, Hamakubo T, Kaneda A, Fukayama M. Coupling CDH17 and CLDN18 markers for comprehensive membrane-targeted detection of human gastric cancer. **Oncotarget**. 2016, 7:64168-64181.
11. Matsusaka K, Ishikawa S, Nakayama A, Ushiku T, Nishimoto A, Urabe M, Kaneko N, Kunita A, Kaneda A, **Aburatani H**, Fujishiro M, Seto Y, Fukayama M. Tumor Content Chart-Assisted HER2/CEP17 Digital PCR Analysis of Gastric Cancer Biopsy Specimens. **PLoS One**. 2016, 11:e0154430.
12. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, Shirota T, Elzawahry A, Kato M, Hama N, Hosoda F, Urushidate T, Ohashi S, Hiraoka N, Ojima H, Shimada K, Okusaka T, Kosuge T, Miyagawa S, **Shibata T**. Genomic spectra of biliary tract cancer. **Nat Genet**, 2015, 47:1003-10.
13. **Shibata T**. Current and future molecular profiling of cancer by next-generation sequencing. **Jpn J Clin Oncol**. 2015, 45:895-9.
14. Shirota T, Ojima H, Hiraoka N, Shimada K, Rokutan H, Arai Y, Kanai Y, Miyagawa S, **Shibata T**. Heat shock protein 90 is a potential therapeutic target in cholangiocarcinoma. **Mol Cancer Ther**, 2015, 14:1985-93.
15. Creixell P, Reimand J, Haider S, Wu G, **Shibata T**, Vazquez M, Mustonen V, Gonzalez-Perez A, Pearson J, Sander C, Raphael BJ, Marks DS, Ouellette BF, Valencia A, Bader GD, Boutros PC, Stuart JM, Linding R, Lopez-Bigas N, Stein LD. Pathway and network analysis of cancer genomes. **Nat Methods**, 2015 12:615-21.
16. Fujimoto A, Furuta M, Shiraiishi Y, Nguyen H, Shigemizu D, Gotoh K, Kawakami Y, Nakamura T, Ueno M, Ariizumi S, **Shibata T**, Abe T, Boroevich K, Nakano K, Sasaki A, Kitada R, Maejima K, Tanaka H, Shibuya T, Ojima H, Shimada K, Hayami S, Shigekawa Y, Aikata H, Arihiro K, Ohdan H, Marubashi S, TYamada T, Ishikawa O, Kubo M, Hirano S, Yamamoto M, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Tsunoda T, Nakagawa H. Whole-genome mutational landscape of liver cancers displaying biliary phenotype reveals hepatitis impact and molecular diversity. **Nat Commun**. 2015, 6:6120.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

口頭発表

1. Integrated genomic analysis of liver cancer progression. **Hiroyuki Aburatani**, The 13th International Congress of Human Genetics, 4/4/2016 Kyoto (国内)

2. Early hepatocellular carcinoma, Hiroyuki Aburatani, The 102nd General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology, 4/22/2016 Tokyo (国内)
3. Methylation profiling of hepatocellular carcinoma. Hiroyuki Aburatani, The 35th Sapporo International Cancer Symposium 2016, 6/24/2016 Sapporo (国内)
4. Progression of hepatocellular carcinoma: interplay of genome and epigenome, Hiroyuki Aburatani, The 41st Naito Conference on Tumor Heterogeneity and Plasticity, 7/6/2016 Sapporo, Japan (国内)
5. Interplay of genome and epigenome in progression of hepatocellular carcinoma, Hiroyuki Aburatani, 12th Scientific Workshop, International Cancer Genome Consortium, Boston 9/21/2016 (国外)
6. Progression of hepatocellular carcinoma: Interplay of genome and epigenome. Hiroyuki Aburatani, 75th Annual Meeting of Japanese Cancer Association, 10/08/2016 Yokohama, Japan (国内)
7. Genomics spectra of biliary tract cancer. Tatsuhiko Shibata, EMBL Conference: Cancer Genomics, 11/1/2015 (国外)
8. Trans-ethnic Landscape of Hepatocellular Carcinoma Genome. Tatsuhiko Shibata, AACR-JCA Joint Symposium, 4/20/2015 (国外)
9. 国際共同研究による大規模肝細胞がんゲノム解読、Tatsuhiko Shibata, 第51回 日本肝臓学会総会、5/21/2015 (国内)
10. Genomic and transcriptomic analyses of biliary tract cancer, Tatsuhiko Shibata, 第74回 日本癌学会総会, 10/10/2015 (国内)

ポスター

11. Genomic classification of gastric cancer for treatment selection. Hiroyuki Aburatani, AGBT Precision Health, 9/22~24 Scottsdale, AZ USA (国外)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control

研究開発課題名： (日本語) 「国際連携を基盤とした日本人難治固形がんゲノム統合解析による新たな治療標的の同定と予防戦略への展開研究」
(英語)

研究開発担当者 (日本語) 東京大学先端科学技術研究センター 教授 油谷浩幸
所属 役職 氏名： (英語) Research Center for Advanced Science and Technology,
The University of Tokyo, Professor, Hiroyuki Aburatani

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

分担研究 (日本語) 「国際連携を基盤とした日本人難治固形がんゲノム統合解析による新たな治療標的の同定と予防戦略への展開研究」
開発課題名： (英語)

研究開発分担者 (日本語) 東京大学先端科学技術研究センター 教授 油谷浩幸
所属 役職 氏名： (英語) Research Center for Advanced Science and Technology,
The University of Tokyo, Professor, Hiroyuki Aburatani

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者： 柴田龍弘（国立研究開発法人国立がん研究センター がんゲノミクス研究分野） 総括研究報告を参照。

肝細胞がんの進展に関わる分子メカニズムを解明するため、既に解析済みの進行がん症例 100 例に加えて早期肝細胞がん 50 例のエクソーム、トランスクリプトーム、DNA メチローム解析を実施し、比較を行った。TERT 遺伝子の活性化は早期肝がんで進行がんと同様の頻度で生じており、もっとも早期に生じるドライバー変異と考えられた。ARID2 変異などクロマチン修飾因子の変異は専ら進行がんにおいて観察された。

東京大学人体病理で収集した胃がんのエクソーム、トランスクリプトーム解析を実施し、体細胞及び生殖細胞系列変異の同定を行った。ハイパーミューテータ-症例には PD-L1 高発現例が多いことを認められた。変異頻度が中等度に増加するサブ集団では特異的な変異シグネチャーを認めた。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 件、国際誌 件）

1. Komura D, Isagawa T, Kishi K, Suzuki R, Sato R, Tanaka M, Katoh H, Yamamoto S, Tatsuno K, Fukayama M, Aburatani H, Ishikawa S. CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome. **BMC Genomics**. 2016 17(1):899.
2. Matsusaka K, Ushiku T, Urabe M, Fukuyo M, Abe H, Ishikawa S, Seto Y, Aburatani H, Hamakubo T, Kaneda A, Fukayama M. Coupling CDH17 and CLDN18 markers for comprehensive membrane-targeted detection of human gastric cancer. **Oncotarget**. 2016 7(39):64168-64181.
3. Matsusaka K, Ishikawa S, Nakayama A, Ushiku T, Nishimoto A, Urabe M, Kaneko N, Kunita A, Kaneda A, Aburatani H, Fujishiro M, Seto Y, Fukayama M. Tumor Content Chart-Assisted HER2/CEP17 Digital PCR Analysis of Gastric Cancer Biopsy Specimens. **PLoS One**. 2016 11(4):e0154430.
4. Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, Tsunoda T, Kato M, Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi SI, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata H, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Ohsawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Ohashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusaka T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamaue H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, Nakagawa H. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. **Nat Genet**. 2016, 48(5):500-9.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

口頭発表

1. Integrated genomic analysis of liver cancer progression. Hiroyuki Aburatani, The 13th International Congress of Human Genetics, 4/4/2016 Kyoto(国内)
2. Early hepatocellular carcinoma, Hiroyuki Aburatani, The 102nd General Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology, 4/22/2016 Tokyo(国内)
3. Methylation profiling of hepatocellular carcinoma. Hiroyuki Aburatani, The 35th Sapporo International Cancer Symposium 2016, 6/24/2016 Sapporo(国内)
4. Progression of hepatocellular carcinoma: interplay of genome and epigenome, Hiroyuki Aburatani, The 41st Naito Conference on Tumor Heterogeneity and Plasticity, 7/6/2016 Sapporo, Japan(国内)
5. Interplay of genome and epigenome in progression of hepatocellular carcinoma, Hiroyuki Aburatani, 12th Scientific Workshop, International Cancer Genome Consortium, Boston 9/21/2016(国外)
6. Progression of hepatocellular carcinoma: Interplay of genome and epigenome. Hiroyuki Aburatani, 75th Annual Meeting of Japanese Cancer Association, 10/08/2016 Yokohama, Japan(国内)

ポスター

7. Genomic classification of gastric cancer for treatment selection. Hiroyuki Aburatani, AGBT Precision Health, 9/22~24 Scottsdale, AZ USA(国外)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

なし