

平 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)

研究開発課題名： (日本語) Liquid Biopsy のゲノムシーケンス解析による癌の変異プロファイル  
(英語) Cancer genome sequencing by liquid Biopsy

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人 京都大学大学院医学研究科 創薬医学講座  
特定准教授 藤本 明洋

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University Graduate School of Medicine  
Department of Drug Discovery Medicine  
Associate Professor Akihiro Fujimoto

実施期間： 平成26年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) cfDNA のシーケンスとデータ解析  
開発課題名： (英語) sequence of cfDNA and data analysis

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 京都大学大学院医学研究科 創薬医学講座  
特定准教授 藤本 明洋

所属 役職 氏名： (英語) Kyoto University Graduate School of Medicine  
Department of Drug Discovery Medicine  
Associate Professor Akihiro Fujimoto

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター  
チームリーダー 中川 英刀

所属 役職 氏名： (英語) Laboratory for Genome Sequencing Analysis, RIKEN Center for  
Integrative Medical Sciences  
Team Leader, Hidewaki Nakagawa

分担研究 (日本語) サンプル採取  
開発課題名: (英語) Sample collection

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人広島大学病院臨床研究部  
講師 川上 由育

所属 役職 氏名: (英語) Department of Medicine and Molecular Science, Hiroshima University  
School of Medicine  
Assistant Professor, Yoshiiku Kawakami

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### サンプル収集 (川上)

肝臓がん患者の様々な治療開始前の cfDNA 抽出用の血漿の収集を行い、その治療の反応性について情報収集を行う。TACE に関して、TACE 後に血中に放出され腫瘍由来の cfDNA が豊富に含まれる血漿および TACE 後に外科切除標本の凍結サンプルを複数個、採取および保管を行う。28 年度、cfDNA 抽出用の血漿を 12 例、TACE 後の血漿および外科切除標本については、13 例を郵送した。また、それぞれの臨床情報についても郵送した。

### cfDNA のシーケンスとデータ解析 (中川、藤本)

肝臓がんについて 75 個の driver 変異遺伝子のパネル化を行い、HBV の配列(3kb)および TERT 遺伝子上流領域(10 k b)、そして、我々の肝臓がん 300 例の全ゲノムシーケンス解析 (Fujimoto, Furuta et al. Nat Genet 2016) にて発見された非コード領域の変異や ncRNA の領域 4 カ所を加えて、target capture probe (390kb) のデザインと合成を行った。広島大学において、肝臓患者で合計 42 例について、TACE 後の血漿が採取され、これらより cell-free DNA の抽出を行った。

2つの方法、KAPA hyperPrep kit および molecular barcode が付加された NGS のライブラリー作成 (Rubion ThruPlex Tag-seq kit を用いて、cfDNA より NGS のライブラリー作成を行い、シーケンス解析を行った。

## 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. Furuta M, Ueno M, Fujimoto A, Hayami S, Yasukawa S, Kojima F, Arihiro K, Kawakami Y, Wardell CP, Shiraishi Y, Tanaka H, Nakano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Tokunaga N, Boroevich KA, Abe T, Aikata H, Ohdan H, Goto K, Kubo M, Tsunoda T, Miyano S, Chayama K, Yamaue H, Nakagawa H. (2017) Whole genome sequencing discriminate hepatocellular carcinoma with intrahepatic metastasis from multicentric tumors. **J Hepatic**. 66:363-373

2. Alexandrov LB, Ju YS, Haase K, Van Loo P, Martincorena I, Nik-Zainal S, Totoki Y, Fujimoto A, Nakagawa H, Shibata T, Campbell PJ, Vineis P, Phillips DH, Stratton MR. (2016) Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. **Science** 354:618-622
3. Fujimoto A, Okada Y, Boroevich KA, Tsunoda T and Taniguchi H, and Nakagawa H. (2016) Systematic analysis of mutation distribution in three dimensional protein structures identifies cancer driver genes. **Sci Rep** 6, Article number: 26483
4. Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, Tsunoda T, Kato M, Shiraishi Y, Tanaka H, Taniguchi H, Kawakami Y, Ueno M, Gotoh K, Ariizumi S, Wardell CP, Hayami S, Nakamura T, Aikata, Arihiro K, Boroevich KA, Abe T, Nagano K, Maejima K, Sasaki-Oku A, Oshawa A, Shibuya T, Nakamura H, Hama N, Hosoda F, Arai Y, Shashi S, Urushidate T, Nagae G, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Ojima H, Hiraoka N, Okusakan T, Kubo M, Marubashi S, Yamada T, Hirano S, Yamamoto M, Ohdan H, Shimada K, Ishikawa O, Yamane H, Chayama K, Miyano S, Aburatani H, Shibata T, and Nakagawa H. (2016) Whole genome mutational landscape and characterization of non-coding and structural mutations in liver cancer. **Nat Genet** 48: 500-509

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 第 39 回日本分子生物学会, 2016.11.30-12.2 国内
2. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, National Cheng Kung University Taiwan International Conference 2016.11.12
3. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 群馬大学 第三回未来先端研究機構国際シンポジウム, 2016.10.25,国内
4. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, Fujimoto A et al. 66th Annual ASHG Meeting, 2016.11.18-22, 国外
5. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer, 口頭発表, 藤本明洋, 第 75 回日本癌学, 2016.10.6-8, 国内
6. Development of analysis method for whole genome sequencing and comprehensive analysis of liver cancer genomes 口頭発表 (受賞講演), 藤本明洋, 第 75 回日本癌学, 2016.10.6-8, 国内

(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