

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) 臨床ゲノム情報統合データベース整備事業
(英語) Program for an Integrated Database of Clinical and Genomic Information

研究開発課題名：(日本語) 大規模ゲノム医療体制の確立と知識データベースの構築
(英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine and construction of knowledge database

研究開発担当者 (日本語) 東京大学大学院医学系研究科 教授 間野博行
所属 役職 氏名：(英語) Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Hiroyuki Mano

実施期間：平成28年9月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践、知識データベースの構築、VUS のハイスループット機能スクリーニング

開発課題名：(英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine, Construction of knowledge database, High-throughput functional screening of VUS

研究開発分担者 (日本語) 東京大学大学院医学系研究科 教授 間野博行
所属 役職 氏名：(英語) Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Professor, Hiroyuki Mano

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践
開発課題名：(英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine

研究開発分担者 (日本語) 東京大学医科学研究所 教授 村上善則
所属 役職 氏名：(英語) The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Professor, Yoshinori Murakami

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践

開発課題名: (英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine

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

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践

開発課題名: (英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine

研究開発分担者 (日本語) 東京大学情報基盤センター 教授 中村宏

所属 役職 氏名: (英語) Information Technology Center, The University of Tokyo, Professor, Hiroshi Nakamura

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践

開発課題名: (英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine

研究開発分担者 (日本語) 東京大学大学院新領域創成科学研究科 教授 森下真一

所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo, Professor, Shin-ichi Morishita

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践

開発課題名: (英語) Establishment of infrastructure for genomic medicine

研究開発分担者 (日本語) 九州大学別府病院 教授 三森功士

所属 役職 氏名: (英語) Kyushu University Beppu Hospital, Professor, Koshi Mimori

分担研究 (日本語) VUS のハイスループット機能スクリーニング

開発課題名: (英語) High-throughput functional screening of VUS

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部 准教授 佐藤俊朗

所属 役職 氏名: (英語) Graduate School of Medicine, Keio University, Associate Professor, Toshiro Sato

分担研究 (日本語) ゲノム医療の実践、知識データベースの構築

開発課題名： (英 語) Establishment of infrastructure for genomic medicine, Construction of knowledge database
研究開発分担者 (日本語) バイオ産業情報化コンソーシアム 部長 高嶋秀昭
所属 役職 氏名： (英 語) Japan Biological Informatics Consortium, Chief, Hideaki Takashima

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

間野博行教授 (東京大学 大学院医学系研究科) は、村上善則教授 ((東京大学 医科学研究所)、油谷浩幸教授 (東京大学 先端科学技術研究センター)、三森功士教授 (九州大学別府病院)、森下真一教授 (東京大学大学院新領域創成科学研究科)、中村宏教授 (東京大学情報基盤センター)、高嶋秀昭部長 (一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム) らと共に、患者パラフィン包埋 FFPE 試料より DNA/RNA を抽出し、ゲノムの点突然変異 (SNV)、挿入欠失 (indel)、融合を感度・精度良く検出する手法の開発を行った。特に遺伝子融合の検出には、イントロン DNA をキャプチャーするゲノム DNA を用いた方法と、cDNA をキャプチャーする RNA を用いる方法、さらには 5'-RACE を応用する方法など様々な手法があり、それらを次世代シーケンサーで解析した場合どれが精度良く検出できるかは不明である。我々は、ターゲット遺伝子群の融合を上記 3 手法で比べたところ、FFPE 試料であっても RNA-sequence が精度・感度共に良く遺伝子融合を検出することを明らかにした。

次のがん関連遺伝子 468 遺伝子を選定し、そのタンパクコードエクソンおよびスプライスシグナル配列をキャプチャーするプローブをデザインした (Todai OncoPanel: TOP DNA パネル)。また上皮腫瘍および肉腫において融合を起こすことが知られる 475 遺伝子を選び、その cDNA をキャプチャーするプローブもデザインした (TOP RNA パネル)。患者ごとに、腫瘍部 FFPE と末梢血よりゲノム DNA を抽出し、TOP DNA パネルでキャプチャーして次世代シーケンサーで配列解析をすることで、腫瘍部にのみ存在する非同義体細胞変異 (SNV/indel) を検出する手法を確立した。また TOP DNA パネル配列解析から同時に染色体コピー数異常も同定するコンピューターパイプラインを確立した。さらに FFPE より抽出した RNA を用いて TOP RNA パネルによる濃縮後、次世代シーケンサーで配列解析し、融合遺伝子を同定するパイプラインも独自に開発した。

また間野博行教授と村上善則教授は患者インフォームドコンセントを含め、今回のクリニカルシーケンス用に倫理申請を行い、その研究許可を得た。まず既存のアーカイブ検体を用いて解析を行うと共に新規解析患者のリクルートを始めた。

間野博行教授と高嶋秀昭部長は、がんゲノム医療用知識データベース (T-CanBase) を新たに開発し、上記 TOP パネル解析結果を T-CanBase に照合して患者レポートを作成するプログラムを開発した。

間野博行教授と佐藤俊朗特任准教授 (慶應義塾大学病院) は、VUS を in vitro あるいは in vivo でハイスループットに機能解析する手法の開発に挑んだ。

英文

Professor Hiroyuki Mano (Graduate School of Medicine, The University of Tokyo) together with Professor Yoshinori Murakami (Institute of Medical Science, The University of Tokyo),

Professor Hiroyuki Aburatani (Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo), Professor Koshi Mimori (Beppu Hospital, Kyushu University), Professor Shin-ichi Morishita (Graduate School of Frontier Sciences, The University of Tokyo), Professor Hiroshi Nakamura (Information Technology Center, The University of Tokyo) and Mr. Hideaki Takashima (Japan Biological Informatics Consortium) have developed a technology that captures DNA/RNA from formalin-fixed paraffin embedded tissues (FFPE) and sensitively detects somatic single nucleotide variations (SNVs), insertions/deletions (indels) and gene fusions. For the identification of gene fusions, there are principally three distinct ways to capture such fusions. One is using genomic DNA (capturing intronic DNA), another method is using cDNAs (capturing fused mRNAs) and the other is based on 5'-RACE. We have developed each custom kit to detect kinase fusions from FFPE specimens, and examined if any of them can reliably identify gene fusions. Surprisingly, even from FFPE, RNA-capturing yielded highest number of reads for gene fusions, and well recapitulated known gene fusions.

We then designed capturing probes for the coding exons and splicing signals from human genome for a total of 468 genes (Todai OncoPanel (TOP) DNA panel). We also designed probes for the mRNAs for 475 genes that may form fusions in epithelial tumors or sarcomas (TOP RNA panel). For each patient, genomic DNA is extracted from tumor FFPE as well as paired peripheral blood, and subjected to TOP DNA panel analysis coupled with sequencing with next-generation sequencer, resulting in the identification of somatic, nonsynonymous SNVs/indels for the 468 genes. Also RNA is extracted from tumor FFPE and subjected to TOP RNA panels, leading to the isolation of gene fusions. For these analyses, we have constructed an original computer pipelines.

Professors Hiroyuki Mano and Yoshinori Murakami constructed informed consents for patients, and this project was already approved by the human genome, gene analysis research ethics committee of Graduate School of Medicine, The University of Tokyo. We then started TOP Panel analyses on archival specimens, and have started enrollment of cancer patients.

Professor Hiroyuki Mano and Mr. Hideaki Takashima constructed an original knowledge database for genomic medicine (T-CanBase), and created a computer program that generates patient reports based on genomic data and T-CanBase.

Professor Hiroyuki Mano and Project Associate Professor Toshiro Sato (Keio University Hospital) tried to develop means that can functionally annotate VUS in a high-throughput manner both *in vitro* and *in vivo*.

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 4 件、国際誌 13 件)

1. Soh SX, Siddiqui FJ, Allen JC, Kim GW, Lee JC, Yatabe Y, Soda M, Mano H, Soo RA, Chin TM, Ebi H, Yano S, Matsuo K, Niu X, Lu S, Isobe K, Lee JH, Yang JC, Zhao M, Zhou C, Lee JK, Lee SH, Lee JY, Ahn MJ, Tan TJ, Tan DS, Tan EH, Ong ST, Lim WT. A systematic review and meta-analysis of individual patient data on the

- impact of the BIM deletion polymorphism on treatment outcomes in epidermal growth factor receptor mutant lung cancer. *Oncotarget* 2017.
2. Ueda M, Iguchi T, Masuda T, Nakahara Y, Hirata H, Uchi R, Niida A, Momose K, Sakimura S, Chiba K, Eguchi H, Ito S, Sugimachi K, Yamasaki M, Suzuki Y, Miyano S, Doki Y, Mori M, Mimori K. Somatic mutations in plasma cell-free DNA are diagnostic markers for esophageal squamous cell carcinoma recurrence. *Oncotarget*. 2016,7(38):62280-62291.
 3. Uchi R, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Hirata H, Sugimachi K, Sawada G, Iwaya T, Kurashige J, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi H, Chiba K, Shiraishi Y, Nagae G, Yoshida K, Nagata Y, Haeno H, Yamamoto H, Ishii H, Doki Y, Inuma H, Sasaki S, Nagayama S, Yamada K, Yachida S, Kato M, Shibata T, Oki E, Saeki H, Shirabe K, Oda Y, Maehara Y, Komune S, Mori M, Suzuki Y, Yamamoto K, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. Integrated Multiregional Analysis Proposing a New Model of Colorectal Cancer Evolution. *PLoS Genet*. 2016,12(2):e1005778.
 4. Sawada G, Niida A, Uchi R, Hirata H, Shimamura T, Suzuki Y, Shiraishi Y, Chiba K, Imoto S, Takahashi Y, Iwaya T, Sudo T, Hayashi T, Takai H, Kawasaki Y, Matsukawa T, Eguchi H, Sugimachi K, Tanaka F, Suzuki H, Yamamoto K, Ishii H, Shimizu M, Yamazaki H, Yamazaki M, Tachimori Y, Kajiyama Y, Natsugoe S, Fujita H, Mafune K, Tanaka Y, Kelsell DP, Scott CA, Tsuji S, Yachida S, Shibata T, Sugano S, Doki Y, Akiyama T, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mori M, Mimori K. Genomic Landscape of Esophageal Squamous Cell Carcinoma in a Japanese Population. *Gastroenterology*. 2016,S0016-5085(16)00134-7.
 5. 大江 和彦. 医療情報データベースの基盤整備 多角的なデータ解析のために,情報管理 (0021-7298)59 巻 5 号,277-283(2016.08).
 6. 大江 和彦,医療ビッグデータとこれからの医療,日本臨床検査自動化学会会誌(0286-1607)41 巻 4 号,371(2016.08)
 7. 高野 良治, 近藤 裕治, 北島 正人, 宮本 青, 安藝 理彦, 石浦 浩之, 辻 省次, 石井 雅通, 大江 和彦, ゲノム情報の臨床活用に向けたゲノム変異とその意味情報の効率的な管理手法の提案,医療情報学連合大会論文集(1347-8508)36 回 2 号,934-935(2016.11)
 8. 河添 悦昌, 香川 璃奈, 山口 亮平, 桜井 亮太, 篠原 恵美子, 大江 和彦, 電子的診療情報からの高次元特徴データを用いた EHR Phenotyping アルゴリズムの開発,医療情報学連合大会論文集 (1347-8508)36 回 1 号,426-430(2016.11)
 9. Loomans CJM, Giuliani NW, Balak J, Ringnalda F, van Gurp L, Huch M, Boj SF, Sato T, Kester L, de Sousa Lopes SMC, Roost MS, Bonner-Weir S, Engelse MA, Rabelink TJ, Heimberg H, Vries RGJ, van Oudenaarden A, Carlotti F, Clevers H, de Koning EJP. Expansion of adult human pancreatic tissue yields organoids harbouring progenitor cells with endocrine differentiation potential. *Science Translational Medicine*. 2017 in press.
 10. Blokzijl F, de Ligt J, Jager M, Sasselli V, Roerink S, Sasaki N, Huch M, Boymans S, Kuijk E, Prins P, Nijman I, Martincorena I, Mokry M, Wiegerinck CL, Middendorp S, Sato T, Schwank G, Nieuwenhuis EES, Verstegen MMA, van der Laan LJW, de Jonge J, IJzermans JNM, Vries RG, van de Wetering M, Stratton MR, Clevers H, Cuppen E, van Boxtel R. Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life. *Nature*. 2016,238,260-264
 11. Fujii M, Shimokawa M, Date S, Takano A, Matano M, Ohta Y, Nanki K, Kawasaki K, Nakazato Y,

- Uraoka T, Watanabe T, Kanai T, Sato T. A colorectal tumor organoid library demonstrates progressive loss of niche factor requirements. *Cell Stem Cell*. 2016,18,827-38. 1-9.
12. Aihara K, Mukasa A, Nagae G, Nomura M, Yamamoto S, Ueda H, Tatsuno K, Shibahara J, Takahashi M, Momose T, Tanaka S, Takayanagi S, Yanagisawa S, Nejo T, Takahashi S, Omata M, Otani R, Saito K, Narita Y, Nagane M, Nishikawa R, Ueki K, Aburatani H, Saito N. Genetic and epigenetic stability of oligodendrogliomas at recurrence. *Acta Neuropathol Commun*. 5(1):18. 2017
 13. Tsuji S, Midorikawa Y, Seki M, Takayama T, Sugiyama Y, Aburatani H. Network-based analysis for identification of candidate genes for colorectal cancer progression. *Biochem Biophys Res Commun*. 476(4):534-40. 2016
 14. 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*. 48(5):500-9. 2016
 15. Hayashi A, Misumi K, Shibahara J, Arita J, Sakamoto Y, Hasegawa K, Kokudo N, Fukayama M. Distinct Clinicopathologic and Genetic Features of 2 Histologic Subtypes of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2016, 40, 1021-30.
 16. Shinozaki-Ushiku A, Ushiku T, Morita S, Anraku M, Nakajima J, Fukayama M. Diagnostic Utility of BAP1 and EZH2 Expression in Malignant Mesothelioma. *Histopathology*. 2016, 70, 722-33.
 17. Urabe M, Ushiku T, Seto Y, Fukayama M. Pathologic Response of HER2-positive Gastric Cancer to Trastuzumab-based Chemotherapy. *Am J Surg Pathol*. 2016, 40, 1326-33.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新しいRNA-seq 法により広がる FFPE の活用法, 口頭, 高阪真路, 間野博行, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
2. 病理組織学的アプローチによる Non-TRU タイプ肺腺癌の NKX2-1 遺伝子変異の同定, 口頭, 松原大祐, 曾田学, 吉本多一郎, 天野雄介, 上野敏秀, 小島進也, 間野博行, 仁木利郎, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
3. 本質的発がん原因遺伝子の解析がもたらす個別化医療, 口頭, 間野博行, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/7, 国内.
4. 思春期・若年成人急性リンパ性白血病における新規融合型がん遺伝子 DUX4-IGH の発見, 口頭, 安田貴彦, 都築忍, 河津正人, 早川文彦, 小島進也, 上野敏秀, 清井仁, 直江知樹, 間野博行, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
5. AYA 世代急性リンパ性白血病における網羅的融合遺伝子解析, 口頭, 安田貴彦, 都築忍, 河津

正人, 早川文彦, 小島進也, 上野敏秀, 清井仁, 直江知樹, 間野博行, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.

6. 本質的発がん原因分子解明がもたらす分子標的療法, 口頭, 間野博行, 第56回国際治療談話会総会, 2016/11/10, 国内.
7. 本質的発がん原因解明がもたらすゲノム医療, 口頭, 間野博行, 第36回医療情報学連合大会, 2016/11/22, 国内.
8. Targeting oncogenic fusion genes in cancer therapy, 口頭, 間野博行, 第21回がん研究会-国際がん化学療法シンポジウム, 2016/12/15, 国内.
9. 形態学的アプローチに基づく Non-TRU type 肺腺癌の解析: TTF-1 と TTF-1 の相互排他的な関係性について, ポスター, 松原大祐, 曾田学, 吉本多一郎, 天野雄介, 上野敏秀, 小島進也, 間野博行, 仁木利郎, 第57回日本肺癌学会学術集会, 2016/12/21, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. ゲノム医療を元にした個別化医療, 口頭, 間野博行, 第54回日本癌治療学会学術集会 PAL セミナー1, 2016/10/20, 国内.
2. 本質的発がん原因の解明がもたらすゲノム医療, 口頭, 間野博行, Science Harmony vol.3, 2016/10/28, 国内.
3. がん研究が導くゲノム医療, 口頭, 間野博行, JBIC プロジェクト研究成果報告会, 2016/12/9, 国内.
4. 戦略事業がもたらしたがん医療革新, 間野博行, JST20周年記念戦略的創造研究推進事業シンポジウム「未来共創イノベーション～ネットワーク型研究所の挑戦」, 2017/1/27, 国内.

(4) 特許出願