

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) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
(英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発担当者 (日本語) 研究所分子病理分野
分野長 金井 弥栄

所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Chief, Division of Molecular Pathology,

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) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析
開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system

研究開発分担者 (日本語) 学校法人慶應義塾 慶應義塾大学医学部病理学教室 教授 金井 弥栄
所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Professor, Department of Pathology, Keio University School of Medicine

分担研究 (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 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) Tatsuhiko Shibata, Chief, Division of Cancer Genomics,

分担研究 (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 九州大学大学院医学研究院生体制御学講座
教授 伊藤 隆司

所属 役職 氏名 : (英 語) Takashi Ito, Professor, Department of Basic Medicine, Kyushu
University Graduate School of Medical Sciences

分担研究 (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

開発課題名 : (英 語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human
digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命
専攻 教授 鈴木 穰

所属 役職 氏名 : (英 語) Yutaka Suzuki, Professor, Department of Computational Biology and
Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences,
The University of Tokyo

II. 成果の概要（総括研究報告）

【目的】本研究は、“1000 epigenomes”を目標に掲げ組織・細胞系列ごとのあるいは人種や環境要因に基づくエピゲノムの多様性の解明を目指す**国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (International Human Epigenome Consortium [IHEC])**に、我が国の代表研究チームとして参加して国際貢献を果たし、加えて**エピゲノム解析技術の開発**を行うことを目的とした。具体的には、高い品質の日本人の純化した正常消化器上皮細胞等を得て、標準エピゲノムプロファイルデータ (全ゲノムバイサルファイトシーケンシング [WGBS]・クロマチン免疫沈降-シーケンシング [ChIP-seq]・RNA-seq の結果)を取得し、ナショナルバイオサイエンスデータベースセンター (NBDC)ならびに IHEC データポータルを介して広く公開し、世界共通の研究基盤となる IHEC データベース構築に貢献することを目指した。開発・改良した技術の国内外への提供、HEC の運営への貢献、得られた標準エピゲノムデータの利用促進を通して、遺伝子転写制御、発生・分化、がん・神経疾患・代謝疾患・免疫疾患等に関わるエピゲノム研究の基盤構築に貢献した。

【方法】

エピゲノムデータの取得と公開:

・国立がん研究センター金井グループ、慶應義塾大学金井グループ、国立がん研究センター柴田グループ、九州大学伊藤グループ、東京大学鈴木グループがそれぞれの専門領域を活かし、試料と情報を各グループ間で往復・巡回させてすべてのデータを協力して取得した。

・国立がん研究センター中央病院の手術検体から、金井は、**正常肝細胞・肝炎ウイルス感染陽性肝細胞・大腸吸収上皮細胞・胃上皮細胞・腎上皮細胞**を 94-99%の純化率で採取した。

・WGBS については、伊藤が独自に開発した **post-bisulfite adaptor-tagging (PBAT)法**を用いてライブラリ作成し、柴田がシーケンシングを行い、伊藤が独自のパイプラインでマッピングした。一部の検体で柴田が全ゲノム解析 (WGS)を行った。ChIP-seq については、金井が免疫沈降までを行い、鈴木がシーケンスを行った。RNA-seq は柴田らが担当した。金井は、エピゲノムデータの生物学的な意義の解釈ならびにゲノム-エピゲノムデータの相関の解析等を行った。データの成形と NBDC ならびに IHEC データポータルへの登録を鈴木が担当した。

エピゲノム解析技術開発・改良: **PBAT 法・ターゲットメチローム解析・5-ヒドロキシメチルシトシン (5-hmC)解析・クロマチンアクセシビリティ解析**を伊藤が、第 3 世代シーケンサーを用いた修飾塩基直接検出・1 細胞 RNA-seq を柴田が担当した。

IHEC 対応: 金井は IHEC のバイオエクスワークグループ、伊藤はアッセイスタンダードワークグループ、鈴木はデータエコシステムワークグループに参画し、またチーム内の 6-8 名程度の研究者が IHEC 年次総会に毎年参会した。金井は、**第 6 回 IHEC 年次総会**を日本医療研究開発機構と共同開催した。

エピゲノムデータ利用促進: 鈴木は、NBDC での 1 次データ公開・IHEC データポータルでの wiggle tracks 等 2 次データ公開に加え、エピゲノム情報の機能的可視化を可能にする独自のデータベースを構築し (3 次データ)、共同研究者らに提供した。金井らは、CREST タイプ B 共通 web ページの運営やアウトリーチ活動に当たった。

【結果】

・平成 29 年 5 月までに、正常肝細胞・肝炎ウイルス感染陽性肝細胞合計 **8 細胞**・大腸吸収上皮細胞 **12 細胞**のエピゲノムデータを、NBDC・IHEC データポータルから公開した。胃上皮細胞 **16 細胞のデータ**を NBDC・IHEC データポータルに登録して、最終の QC を行っており、間も無く公開の見込みである (**合計 36 epigenomes**)。さらに、純化腎近位尿管上皮細胞とバルクの腎皮質組織・髄質組織計 15 検体の標準エピゲノムデータ取得を進めている (**合計 51 epigenomes**)。

- ・正常肝細胞のエピゲノムデータを用い、ゲノム多型がエピゲノムの個体差を誘導し、遺伝子発現の差異を介して正常細胞の表現型の個体差を創成する可能性を実データをもって示した。肝炎ウイルス感染によるエピゲノムプロファイル異常の特徴を示した。CpG アイランドメチル化形質 (CIMP) 陽性がん発生の素地となる可能性がある、右半・左半結腸上皮細胞のエピゲノムプロファイルの差異を示した。
- ・PBAT 法の原理に基づくキット類が複数発売された。改良 PBAT 法ならびに派生したターゲットメチローム解析の優位性は、国内外の IHEC チーム等エピゲノム研究者に広く認知され多用されるに至った。5-hmC 解析・クロマチンアクセシビリティ解析法についても、今後普及してエピゲノム研究に貢献できると期待される。
- ・第 6 回 IHEC 年次総会は、海外の IHEC メンバー 78 人を含むそれまでで最多となる 244 人の参加を得て、盛会のうちに終了した。IHEC ワークグループへの継続的な参画・IHEC データポータルからのデータ公開等により、当チームの研究者は IHEC の運営に十分に貢献し、我が国のプレゼンスを示し得たと考えられる。
- ・IHEC 年次総会 Science Day プログラムの公開・データベース公開・学術論文の刊行のみならず、web ページの運営・一般書籍の発行・アウトリーチ活動などを介し、我が国の研究者に IHEC の活動の成果を還元し、国民の間のエピゲノム研究の認知も拡大できたと考える。**今後の、がん・神経疾患・代謝疾患・免疫疾患等の、予防・診断・治療のブレイクスルーとなる、エピゲノム研究の展開につながると期待する。**

The aim of this study was to contribute to the International Human Epigenome Consortium (IHEC) which will comprehensively characterize the standard epigenome profiles of multiple normal cell lineages (1000 epigenomes) from different human populations (<http://www.ihec-epigenomes.org/>). We also intended to develop original techniques to analyze epigenome profiles. In particular, we obtained reference epigenome data consisting of the results of whole-genome bisulfite sequencing (WGBS), chromatin immunoprecipitation-sequencing (ChIP-seq) and RNA-seq of quality normal epithelial cells of the digestive organs purified from multiple Japanese people and disclosed such data in National Bioscience Database Center (NBDC) and the IHEC Data Portal which are international research bases. We distributed our original epigenome analysis techniques both within and outside Japan and encouraged the use of the IHEC data for basic and clinical epigenome researches.

Many researchers in Kanai group in National Cancer Center and Keio University, Shibata group in National Cancer Center, Ito group in Kyushu University and Suzuki group in the University of Tokyo shared samples and data and promoted this study in collaboration with each other. Kanai purified normal hepatocytes, hepatitis virus-positive hepatocytes, digestive epithelial cells of the large intestine, epithelial cells in the stomach and renal tubules from surgically resected materials in National Cancer Center Hospital (purity rate: 94-99%). Shibata sequenced the libraries generated by Ito using post-bisulfite adaptor-tagging (PBAT) method which had been originally developed by Ito et al. Ito mapped the results of WGBS using his original mapping pipeline, Bmap. Shibata also performed whole genome sequencing in a part of samples. ChIP-seq was collaboratively performed by Kanai and Suzuki. Shibata performed RNA-seq. Kanai interpreted the biological significance of epigenome data and analyzed correlation between genome-epigenome data. Suzuki not only deposited all data in NBDC and the IHEC Data Portal but also constructed original database, DBJHEC, for promoting epigenome researches.

With respect to development of original techniques, Ito optimized PBAT method and newly developed analysis methods of targeted methylome, 5-hydroxymethylcytosine and chromatin accessibility, and Shibata tried analyses using the third generation sequencer and single cell RNA-seq. Several kits based on the concept of PBAT have been commercialized and advantages of PBAT and target methylome methods are now internationally recognized. Kanai et al. participated in working groups of IHEC and many researchers in this them annually attended meetings of IHEC.

Kanai jointly hosted the sixth annual meeting IHEC with AMED: IHEC 2015 Tokyo was a great success with 244 participants. In addition, Kanai managed CREST B team web page and made efforts for outreach activities.

At the end of May 2017, reference epigenome data sets of 20 purified cells (20 epigenomes) have been disclosed in NBDC and the IHEC Data Portal and those of 16 cells (16 epigenomes) are waiting for the final QC before disclosure. Additional 15 epigenomes are now being obtained (51 epigenomes in total). Personal differentially methylated regions (pDMRs) were frequently observed in the vicinity of single-nucleotide polymorphisms, insertions/deletions and copy number variations in purified normal hepatocytes, suggesting the possibility that genome-epigenome crosstalk may participate in personal variations of the phenotype of normal hepatocytes via gene expression variations. Comparison of epigenome profiles between purified normal and diseased cells deposited in the IHEC Data Portal will facilitate understanding of molecular background of human diseases, such as cancers and neuronal, metabolic and immune disorders.

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 5 件、国際誌 9 件）

本研究によるもの

1. Ohara K, Arai E, Takahashi Y, Ito N, Shibuya A, Tsuta K, Kushima R, Tsuda H, Ojima H, Fujimoto H, Watanabe SI, Katai H, Kinoshita T, Shibata T, Kohno T, Kanai Y. Genes involved in development and differentiation are commonly methylated in cancers derived from multiple organs: A single-institutional methylome analysis using 1007 tissue specimens. *Carcinogenesis* 38: 241–251, 2017.
2. Kuramoto J, Arai E, Tian Y, Funahashi N, Hiramoto M, Nammo T, Nozaki Y, Takahashi Y, Ito N, Shibuya A, Ojima H, Sukeda A, Seki Y, Kasama K, Yasuda K, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation analysis during non-alcoholic steatohepatitis-related multistage hepatocarcinogenesis: comparison with hepatitis virus-related carcinogenesis. *Carcinogenesis* 38: 261–270, 2017.
3. Koike T, Wakai T, Jincho Y, Sakashita A, Kobayashi H, Mizutani E, Wakayama S, Miura F, Ito T, Kono T. DNA Methylation errors in cloned mouse sperm by germ line barrier evasion. *Biol Reprod* 94: 128. 2016.
4. Miura F, Ito T. PBAT: Post-bisulfite adaptor tagging for highly sensitive whole-genome bisulfite sequencing. *Methods Mol Biol*, in press.
5. Miura F, Ito T. Post-bisulfite adaptor tagging for PCR-free whole-genome bisulfite sequencing. *Methods Mol Biol*, in press.
6. 金井弥栄. ヒト正常細胞におけるエピゲノムの個体差: ゲノム多型との関連を中心に. 実験医学増刊号「エピゲノム研究 修飾の全体像の理解から先制・個別化医療へ (金井弥栄 編)」羊土社 44–50, 2016.
7. 金井弥栄. エピゲノムの多様性把握を目指す国際連携: NIH Roadmap/BLEPRINT/国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (IHEC). *病理と臨床* 文光堂 34: 696–701, 2016.
8. 金井弥栄, 與谷卓也, 新井恵吏. 高速液体クロマトグラフィーに基づく DNA メチル化診断専用機器等を用いた肝発がんリスク診断. *肝胆膵* 73: 725–731, 2016.

9. 三浦史仁、伊藤隆司. エピゲノム解析手技の標準化：全ゲノムバイサルファイトシークエンシング. 実験医学増刊号「エピゲノム研究 修飾の全体像の理解から先制・個別化医療へ（金井弥栄 編）」羊土社 25-31, 2016.
10. 荒木啓充、伊藤隆司. エピゲノムのビッグデータ解析. 実験医学増刊「ビッグデータ 変革する生命科学・医療（永井良三、宮野悟、大江和彦 編）」羊土社 58-64, 2016.

本研究に関連したもの

11. Koike T, Wakai T, Jincho Y, Sakashita A, Kobayashi H, Mizutani E, Wakayama S, Miura F, Ito T, Kono T. DNA methylation errors in cloned mouse sperm by germ line barrier evasion. Biol Reprod 94: 128, 2016.
12. 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 48:500-509, 2016.
13. 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 534:402-406, 2016.
14. 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, 354: 618-622, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 肝発がん過程におけるエピゲノム解析, 口頭, 金井弥栄, Liver 2016 第12回 肝免疫・ウイルス・フロンティア, 2016/4/9, 国内.
2. 肝発がんのエピゲノム機構, 口頭, 金井弥栄, 第57回 日本臨床細胞学会総会 (春期大会), 2016/5/29, 国内.
3. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, 口頭, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 中村浩実, 濱奈津子, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第105回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
4. NASH由来肝発がん過程におけるゲノム網羅的DNAメチル化解析, 口頭, 藏本純子, 新井恵吏, 田迎, 平本正樹, 南茂隆生, 高橋順子, 尾島英知, 安田和基, 金井弥栄, 第75回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.

5. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, 口頭, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
6. がん細胞の形態異常とゲノム・エピゲノム変化, 口頭, 金井弥栄, 第 106 回日本病理学会総会, 2017/4/28, 国内.
7. 病理組織検体に見出される DNA メチル化異常, 口頭, 金井弥栄, 第 106 回日本病理学会総会, 2017/4/29, 国内.
8. 非アルコール性脂肪性肝炎由来肝発がん過程におけるゲノム網羅的 DNA メチル化解析ーウイルス性肝炎由来肝発がんとの比較, 口頭, 藏本純子, 新井恵吏, 田迎, 舟橋伸昭, 平本正樹, 南茂隆生, 高橋順子, 尾島英知, 安田和基, 金井弥栄, 2017/4/27, 国内.
9. Reduced expression of microRNA-200 family associated with aggressiveness and poorer patient outcome of clear cell renal cell carcinomas, ポスター, Masahiro Gotoh, Eri Arai, Akio Matsuda, Hiroyuki Fujimoto, Kenji Matsumoto, Yae Kanai. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016, 2016/4/18, 国外.
10. マイクロ RNA-200 ファミリーの発現低下は腎臓明細胞がんの悪性進展に関与する, ポスター, 後藤政広, 新井恵吏, 松田明生, 藤元博行, 松本健治, 金井弥栄, 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
11. 発がんのエピゲノム異常に関する臓器横断的解析, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄. 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/14, 国内.
12. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, ポスター, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
13. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
14. 新しい 1 本鎖 DNA の連結反応を用いた PBAT 法, ポスター, 三浦史仁 伊藤隆司, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
15. DMS-Seq : ゲノムワイドな蛋白質-DNA 相互作用解析の新技术, ポスター, 梅山大地, 伊藤隆司, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 大阪, 2016. 5. 19 ポスター
16. 荒滲出型加齢黄斑変性に対する自家 iPS 細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究」における第一症例の網膜色素上皮シートの一塩基解像度メチローム解析, ポスター, 木啓充, 三浦史仁, 渡辺亮, 森永千佳子, 北岡文美代, 北野優子, 酒井徳子, 柴田由美子, 寺田基剛, 山中伸弥, 高橋政代, 伊藤隆司, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
17. An efficient method for single-stranded DNA ligation - An alternative approach for shotgun bisulfite sequencing with PBAT, ポスター, Fumihito Miura, Takashi Ito, IHEC Annual Meeting 2016, 2016/9/7, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 医学生・初期研修医に対する講義とラボツアー, 金井弥栄, 慶應義塾大学医学部東校舎, 2016/6/22, 国内.
2. 高校生物学教員に対する講義とラボツアー, 伊藤隆司, 九州大学医学部基礎 A 棟, 2016/10/16, 国内.
3. 基礎腫瘍学・トランスレーショナル研究コース講義とラボツアー, 金井弥栄, 慶應義塾大学医学部総合医科学研究棟・東校舎, 2017/1/14, 国内.

(4) 特許出願

登録番号: 特許 6054750 号 (国際公開番号: WO/2012/102377A1)

登録日: 2016/12/09 (出願日: 2012/01/27)

題目: 肝細胞癌のリスク評価方法

発明人: 金井弥栄・新井恵吏・長塩亮

内容: 登録

登録番号: US 9,447,472 B2 (国際公開番号: WO/2012/102377)

登録日: 2016/09/20 (出願日: 2013/09/23)

題目: Method for assessing risk of hepatocellular carcinoma

発明人: Yae Kanai, Eri Arai, Ryo Nagashio

内容: 登録

登録番号: 特許 5897228 号 (国際公開番号: WO/2015/129916)

登録日: 2016/03/11 (出願日: 2015/03/02)

題目: 腎細胞癌の予後判定方法

発明人: 金井弥栄・新井恵吏・根本有理子・與谷卓也

内容: 登録

出願番号: PCT/JP2016/075842 (国際公開番号: WO/2017/038983A1)

出願日: 2016/09/02

題目: 腎細胞癌の予後判定方法

発明人: 金井弥栄・新井恵吏・根本有理子・與谷卓也

内容: PCT 出願 (2017 年 3 月 9 日公開)

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) 革新的先端研究開発支援事業

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名: (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

(英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発担当者 (日本語) 研究所分子病理分野

分野長 金井 弥栄

所属 役職 氏名: (英語) Yae Kanai, Chief, Division of Molecular Pathology,

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) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

開発課題名: (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 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) Tatsuhiko Shibata, Chief, Division of Cancer Genomics,

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者: 国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野 分野長 金井 弥栄
総括研究報告を参照。

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（国際誌 3 件）

本研究に関連したもの

1. 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* 48:500-509, 2016.
2. 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* 534:402-406, 2016.
3. 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*, 354: 618-622, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, 口頭, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 中村浩実, 濱奈津子, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
2. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, 口頭, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
3. 発がんのエピゲノム異常に関する臓器横断的解析, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄. 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/14, 国内.
4. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, ポスター, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
5. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

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) 革新的先端研究開発支援事業
(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
(英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発担当者 (日本語) 研究所分子病理分野
分野長 金井 弥栄

所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Chief, Division of Molecular Pathology,

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) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発
開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人 東京大学大学院新領域創成科学研究科メディカル情報生命
専攻 教授 鈴木 穰

所属 役職 氏名： (英語) Yutaka Suzuki, Professor, Department of Computational Biology and
Medical Sciences, Graduate School of Frontier Sciences,
The University of Tokyo

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野 分野長 金井 弥栄
総括研究報告を参照。

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
該当なし

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, 口頭, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 中村浩実, 濱奈津子, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第105回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
2. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, ポスター, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第10回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

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) 革新的先端研究開発支援事業

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

(英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野
分野長 金井 弥栄

所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Chief, Division of Molecular Pathology, National
Cancer Center Research Institute

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) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human
digestive system and development of analysis technology

研究開発分担者 (日本語) 大学院医学研究院生体制御学講座
教授 伊藤 隆司

所属 役職 氏名： (英語) Takashi Ito, Professor, Department of Basic Medicine,
Graduate School of Medical Sciences

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野 分野長 金井 弥栄
総括研究報告を参照。

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2件、国際誌4件）

本研究によるもの

1. Koike T, Wakai T, Jincho Y, Sakashita A, Kobayashi H, Mizutani E, Wakayama S, Miura F, Ito T, Kono T. DNA Methylation errors in cloned mouse sperm by germ line barrier evasion. *Biol Reprod* 94: 128. 2016.
2. Toh H, Shirane K, Miura F, Kubo N, Ichiyangi K, Hayashi K, Saitou M, Suyama M, Ito T, Sasaki H. Software updates in the Illumina HiSeq platform affect whole-genome bisulfite sequencing. *BMC Genomics* 18: 31. 2017.
3. Miura F, Ito T. PBAT: Post-bisulfite adaptor tagging for highly sensitive whole-genome bisulfite sequencing. *Methods Mol Biol*, in press.
4. Miura F, Ito T. Post-bisulfite adaptor tagging for PCR-free whole-genome bisulfite sequencing. *Methods Mol Biol*, in press.
5. 三浦史仁、伊藤隆司. エピゲノム解析手技の標準化：全ゲノムバイサルファイトシーケンシング. 実験医学増刊号「エピゲノム研究 修飾の全体像の理解から先制・個別化医療へ（金井弥栄 編）」羊土社 25-31, 2016.
6. 荒木啓充、伊藤隆司. エピゲノムのビッグデータ解析. 実験医学増刊「ビッグデータ 変革する生命科学・医療（永井良三、宮野悟、大江和彦 編）」羊土社 58-64, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, 口頭, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 中村浩実, 濱奈津子, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第105回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
2. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, ポスター, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第10回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
3. 新しい1本鎖DNAの連結反応を用いたPBAT法, ポスター, 三浦史仁 伊藤隆司, 第10回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
4. DMS-Seq: ゲノムワイドな蛋白質-DNA相互作用解析の新技术, ポスター, 梅山大地、伊藤隆司, 第10回日本エピジェネティクス研究会年会、大阪、2016. 5. 19 ポスター
5. 荒瀬型加齢黄斑変性に対する自家iPS細胞由来網膜色素上皮シート移植に関する臨床研究」における第一症例の網膜色素上皮シートの一塩基解像度メチローム解析, ポスター, 木啓充, 三浦史仁, 渡辺亮, 森永千佳子, 北岡文美代, 北野優子, 酒井徳子, 柴田由美子, 寺田基剛, 山中伸弥, 高橋政代, 伊藤隆司, 第10回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
6. An efficient method for single-stranded DNA ligation - An alternative approach for shotgun bisulfite sequencing with PBAT, ポスター, Fumihito Miura, Takashi Ito, IHEC Annual Meeting 2016, 2016/9/7, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

高校生物学教員に対する講義とラボツアー，伊藤隆司，九州大学医学部基礎 A 棟，2016/10/16，国内.

(4) 特許出願

該当なし

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) 革新的先端研究開発支援事業

(英語) Advanced Research and Development Programs for Medical Innovation

研究開発課題名： (日本語) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析と解析技術開発

(英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system and development of analysis technology

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野

分野長 金井 弥栄

所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Chief, Division of Molecular Pathology, National

Cancer Center Research Institute

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) ヒト消化器上皮細胞の標準エピゲノム解析

開発課題名： (英語) Reference epigenome analysis in normal epithelial cells of human digestive system

研究開発分担者 (日本語) 慶應義塾大学医学部病理学教室 教授 金井 弥栄

所属 役職 氏名： (英語) Yae Kanai, Professor, Department of Pathology, Keio University School of Medicine

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者：国立研究開発法人 国立がん研究センター研究所分子病理分野 分野長 金井 弥栄
総括研究報告を参照。

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 3 件、国際誌 2 件）

本研究によるもの

1. Ohara K, Arai E, Takahashi Y, Ito N, Shibuya A, Tsuta K, Kushima R, Tsuda H, Ojima H, Fujimoto H, Watanabe SI, Katai H, Kinoshita T, Shibata T, Kohno T, Kanai Y. Genes involved in development and differentiation are commonly methylated in cancers derived from multiple organs: A single-institutional methylome analysis using 1007 tissue specimens. *Carcinogenesis* 38: 241–251, 2017.
2. Kuramoto J, Arai E, Tian Y, Funahashi N, Hiramoto M, Nammo T, Nozaki Y, Takahashi Y, Ito N, Shibuya A, Ojima H, Sukeda A, Seki Y, Kasama K, Yasuda K, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation analysis during non-alcoholic steatohepatitis-related multistage hepatocarcinogenesis: comparison with hepatitis virus-related carcinogenesis. *Carcinogenesis* 38: 261–270, 2017.
3. 金井弥栄. ヒト正常細胞におけるエピゲノムの個体差：ゲノム多型との関連を中心に. 実験医学増刊号「エピゲノム研究 修飾の全体像の理解から先制・個別化医療へ（金井弥栄 編）」羊土社 44–50, 2016.
4. 金井弥栄. エピゲノムの多様性把握を目指す国際連携：NIH Roadmap/BUEPRINT/国際ヒトエピゲノムコンソーシアム (IHEC). 病理と臨床 文光堂 34: 696–701, 2016.
5. 金井弥栄, 與谷卓也, 新井恵吏. 高速液体クロマトグラフィーに基づく DNA メチル化診断専用機器等を用いた肝発がんリスク診断. 肝胆膵 73: 725–731, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 肝発がん過程におけるエピゲノム解析, 口頭, 金井弥栄, Liver 2016 第 12 回 肝免疫・ウイルス・フロンティア, 2016/4/9, 国内.
2. 肝発がんのエピゲノム機構, 口頭, 金井弥栄, 第 57 回 日本臨床細胞学会総会 (春期大会), 2016/5/29, 国内.
3. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, 口頭, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 中村浩実, 濱奈津子, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
4. NASH 由来肝発がん過程におけるゲノム網羅的 DNA メチル化解析, 口頭, 藏本純子, 新井恵吏, 田迎, 平本正樹, 南茂隆生, 高橋順子, 尾島英知, 安田和基, 金井弥栄, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/6, 国内.
5. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, 口頭, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10/8, 国内.
6. がん細胞の形態異常とゲノム・エピゲノム変化, 口頭, 金井弥栄, 第 106 回日本病理学会総会, 2017/4/28, 国内.

7. 病理組織検体に見出される DNA メチル化異常, 口頭, 金井弥栄, 第 106 回日本病理学会総会, 2017/4/29, 国内.
8. 非アルコール性脂肪性肝炎由来肝発がん過程におけるゲノム網羅的 DNA メチル化解析—ウイルス性肝炎由来肝発がんとの比較, 口頭, 藏本純子、新井恵吏、田迎、舟橋伸昭、平本正樹、南茂隆生、高橋順子、尾島英知、安田和基、金井弥栄, 2017/4/27, 国内.
9. Reduced expression of microRNA-200 family associated with aggressiveness and poorer patient outcome of clear cell renal cell carcinomas, ポスター, Masahiro Gotoh, Eri Arai, Akio Matsuda, Hiroyuki Fujimoto, Kenji Matsumoto, Yae Kanai. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016, 2016/4/18, 国外.
10. マイクロ RNA-200 ファミリーの発現低下は腎淡明細胞がんの悪性進展に関与する, ポスター, 後藤政広、新井恵吏、松田明生、藤元博行、松本健治、金井弥栄, 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/13, 国内.
11. 発がんのエピゲノム異常に関する臓器横断的解析, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄. 第 105 回日本病理学会総会, 2016/5/14, 国内.
12. ヒト正常肝細胞のエピゲノムプロファイル-標準エピゲノムプロファイルと個体差, ポスター, 新井恵吏, 三浦史仁, 十時泰, 山下聡, 田迎, 後藤政広, 尾島英知, 鈴木穰, 伊藤隆司, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.
13. 発生・分化関連遺伝子は複数臓器のがんで共通して DNA メチル化修飾を受けている, ポスター, 尾原健太郎, 新井恵吏, 尾島英知, 蔦幸治, 九嶋亮治, 津田均, 河野隆志, 柴田龍弘, 金井弥栄, 第 10 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2016/5/19, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 医学生・初期研修医に対する講義とラボツアー, 金井弥栄, 慶應義塾大学医学部東校舎, 2016/6/22, 国内.
2. 基礎腫瘍学・トランスレーショナル研究コース講義とラボツアー, 金井弥栄, 慶應義塾大学医学部総合医科学研究棟・東校舎, 2017/1/14, 国内.

(4) 特許出願

登録番号：特許 6054750 号（国際公開番号：WO/2012/102377A1）

登録日：2016/12/09（出願日：2012/01/27）

題目：肝細胞癌のリスク評価方法

発明人：金井弥栄・新井恵吏・長塩亮

内容：登録

登録番号 : US 9,447,472 B2 (国際公開番号 : W0/2012/102377)

登録日 : 2016/09/20 (出願日 : 2013/09/23)

題目 : Method for assessing risk of hepatocellular carcinoma

発明人 : Yae Kanai, Eri Arai, Ryo Nagashio

内容 : 登録

登録番号 : 特許 5897228 号 (国際公開番号 : W0/2015/129916)

登録日 : 2016/03/11 (出願日 : 2015/03/02)

題目 : 腎細胞癌の予後判定方法

発明人 : 金井弥栄・新井恵吏・根本有理子・與谷卓也

内容 : 登録

出願番号 : PCT/JP2016/075842 (国際公開番号 : W0/2017/038983A1)

出願日 : 2016/09/02

題目 : 腎細胞癌の予後判定方法

発明人 : 金井弥栄・新井恵吏・根本有理子・與谷卓也

内容 : PCT 出願 (2017 年 3 月 9 日公開)