

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：82606

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07250

研究課題名(和文)がんゲノム医療に向けたクリニカルシーケンスの変異解析パイプライン開発

研究課題名(英文)Development of mutation analysis pipeline for cancer genomic medicine

研究代表者

上野 敏秀 (Ueno, Toshihide)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：40381446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：がん遺伝子パネル検査「東大オンコパネル(Todai OncoPanel)」のための解析パイプラインを開発した。融合遺伝子・エキソンスキッピングの変異検出に加え、発現量の定量、既知の融合遺伝子の有無確認など検査を想定したものとなっている。実際、肺がんや肉腫など180症例以上を解析し、病理診断時には原因を特定できなかった検体から疾患原因融合遺伝子が検出や、新規の融合遺伝子の検出を可能にしている。このパイプラインを用いた結果はCancer Sci. 2019; 110:1464-1479に報告している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子検査によるがんゲノム個別化医療の需要はこれから増加すると考えられ、検査体制の整備は重要な課題である。ゲノム医療の遺伝子検査には、次世代シーケンサーによるゲノムの解読とバイオインフォマティクスを用いた解析が必須であり、本研究テーマはゲノム研究だけに留まらないものである。実際、本研究成果は東大オンコパネルの検査に使用されており、社会的意義は高いものと考えている。

研究成果の概要(英文)：We developed an analysis pipeline for the cancer gene panel called "Todai Onco Panel". This pipeline has features such as mutation detection of fusion gene/exon skipping, expression level analysis, confirmation of the presence of known fusion gene. In fact, we analyzed more than 180 cases such as lung cancer and sarcoma are analyzed, and it is possible to detect the driver fusion genes or novel fusion genes from the sample whose cause could not be identified at the time of pathological diagnosis. Results using this pipeline are reported in Cancer Sci. 2019; 110: 1464-1479.

研究分野：バイオインフォマティクス

キーワード：ゲノム医療 変異解析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

(1) がんゲノムの解読研究が進み新たな疾患原因遺伝子を標的とした抗がん剤・分子標的治療薬が次々と開発されて始めていた。また、それらの薬を選択するための遺伝子検査技術の発展に伴い、遺伝子レベルで患者一人ひとりの個人差を見極め、最適な治療薬を選択する「個別化医療」が求められていた。米国の医療現場ではすでに Foundation Medicine 社の「Foundation One」、Foundation One Heme」の検査サービスが始まっており、医師から送付された患者検体を遺伝子解析し、その結果を基に最適な分子標的治療薬情報がフィードバックされていた。このようなサービスは上記の他にも Memorial Sloan Kettering Cancer Center の MSK-IMPACT が知られ、英国では 10 万人のがんおよび希少疾患患者の遺伝子解析を創薬と治療に活用するプロジェクト「Genomics England」により解析した遺伝子情報と診療情報が匿名化され研究開発に活用される予定、と遺伝子診断プラットフォームができつつあった。日本でも京都大学医学部付属病院と三井情報株式会社が連携して遺伝子検査を行うサービス「OncoPrime」があったが、サンプルを米国に送って検査するという形であった。

(2) 2015 年 4 月、東京大学ゲノム医科学研究機構が発足し、がんゲノム個別化医療を目的とした東大オンコパネルの開発が進んでいた。診断対象遺伝子に対して遺伝子変異・融合遺伝子の検出やコピー数解析などを行い、遺伝子レベルでの疾患原因の特定と最適な治療薬の選定を目指したものである。次世代シーケンサーが普及したとは言え医療現場での使用を想定した場合、検査費用・解析時間の面から患者検体から得られるゲノム情報は、現在がんゲノム解析研究で主流になっている全エクソームシーケンスに比べると極めて少ない情報量である。そのため、診断遺伝子に限定されたゲノム情報から検査・治療薬選定に必要な結果を算出するためのシステムが必要であり、個別化医療に特化した解析パイプラインの開発が急務であった。

### 2. 研究の目的

(1) コピー数解析：肺がんや大腸がんにおける *EGFR*、乳がんにおける *ERBB2* などコピー数異常が疾患原因となっていて分子標的治療薬による治療が可能なものがあるため、個別化医療でもコピー数検査は必須項目である。しかし、オンコパネルによるシーケンスでは限られた遺伝子のデータしか得られないため、その少ないデータから検査に必要なコピー数異常を検出する方法が問題である。全エクソームデータの場合、コピー数解析するツールは ExomeCNV、FREEC、XHMM など幾つも公開されているが、アレル別のコピー数検出が不可であったり、検出データの加工が難しかったりして望む結果を得られなかった。そのため、正常部と腫瘍部サンプルをゲノムにマップしたデータから 1000 genomes SNP (1000g-SNP) 箇所のリード深度とアレル頻度を調べることで、Log R Ratio (LRR) を計算するツールを in-house で開発し、オンコパネル用に拡張して少ないリード情報からコピー数異常箇所を検出する方法を構築する。

(2) 融合遺伝子検出：慢性骨髄性白血病の *BCR-ABL1*、非小細胞肺がんの *EML4-ALK* のように融合遺伝子ががんの直接的要因となっている疾患には、その機能を抑制する薬剤が極めて有効な抗がん剤となることが知られている。そのため、クリニカルシーケンスにおいても融合遺伝子有無の検出は重要な検査項目になる。現在の RNA シーケンスを対象にした融合遺伝子検出ツールは deFuse、Tophat-fusion など公開されているが、計算時間と検出力を考慮した場合、満足できるものではなかったため、融合点を含み in-frame で繋がるリードを高速に検出するツールを開発する。

### 3. 研究の方法

464 種類の遺伝子点突然変異・挿入欠失・コピー数異常、449 種類の遺伝子融合を調べることが目的としたがん遺伝子パネル検査「東大オンコパネル(Todai OncoPanel)」で大腸がん・肺がん・肉腫・卵巣がん唾液腺がんなどを解読した DNA・RNA シーケンスデータを用いてパイプライン開発を行った。融合遺伝子検出では、図 1 のようなアルゴリズムにより構築している。「(A) 抗がん剤の存在する融合遺伝子」は最も検出すべきものであり、「(B) データベースに登録され治療戦略が近い将来期待できそうな融合遺伝子」も確実に検出したいため、仮想配列を作成して融合点を含むリードを検出することを目的とした。(1)(A)、(B)については事前に仮想配列を作成して確実に検出する、(2)新規の融合遺伝子は、トランスクリプトームをリファレンスにして融合遺伝子ペアを予測し、ダイナミックに仮想配

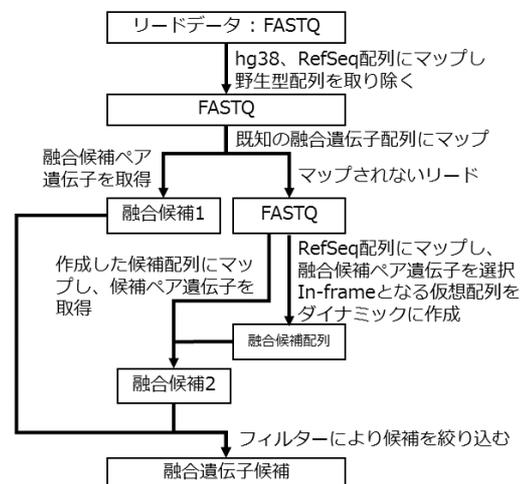


図 1：融合遺伝子探索パイプラインのフローチャート。既知と未知の探索方法を分けることで高精度と高速化を目指した。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kohsaka Shinji, Tatsuno Kenji, Ueno Toshihide, et al.	4. 巻 110
2. 論文標題 Comprehensive assay for the molecular profiling of cancer by target enrichment from formalin fixed paraffin embedded specimens	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1464 ~ 1479
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13968	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takaoka Kensuke, Kawazu Masahito, Koya Junji, Yoshimi Akihito, Masamoto Yosuke, Maki Hiroaki, Toya Takashi, Kobayashi Takashi, Nannya Yasuhito, Arai Shunya, Ueno Toshihide, Ueno Hironori, Suzuki Kenshi, Harada Hironori, Manabe Atsushi, Hayashi Yasuhide, Mano Hiroyuki, Kurokawa Mineo	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 A germline HMTF mutation in familial MDS induces DNA damage accumulation through impaired PCNA polyubiquitination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41375-019-0385-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Namba Shinichi, Sato Kazuhito, Kojima Shinya, Ueno Toshihide, Yamamoto Yoko, Tanaka Yosuke, Inoue Satoshi, Nagae Genta, Iinuma Hisae, Hazama Shoichi, Ishihara Soichiro, Aburatani Hiroyuki, Mano Hiroyuki, Kawazu Masahito	4. 巻 110
2. 論文標題 Differential regulation of CpG island methylation within divergent and unidirectional promoters in colorectal cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1096 ~ 1104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13937	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sato Kazuhito, Kawazu Masahito, Yamamoto Yoko, Ueno Toshihide, Kojima Shinya, Nagae Genta, Abe Hiroyuki, Soda Manabu, Oga Takafumi, Kohsaka Shinji, Sai Eirin, Yamashita Yoshihiro, Iinuma Hisae, Fukayama Masashi, Aburatani Hiroyuki, Watanabe Toshiaki, Mano Hiroyuki	4. 巻 25
2. 論文標題 Fusion Kinases Identified by Genomic Analyses of Sporadic Microsatellite Instability?High Colorectal Cancers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 378 ~ 389
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-1574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morita Keigo, Hama Yutaro, Izume Tamaki, Tamura Norito, Ueno Toshihide, Yamashita Yoshihiro, Sakamaki Yuriko, Mimura Kaito, Morishita Hideaki, Shihoya Wataru, Nureki Osamu, Mano Hiroyuki, Mizushima Noboru	4. 巻 217
2. 論文標題 Genome-wide CRISPR screen identifies TMEM41B as a gene required for autophagosome formation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 The Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 3817 ~ 3828
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1083/jcb.201804132	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagano Masaaki, Kohsaka Shinji, Ueno Toshihide, Kojima Shinya, Saka Kanju, Iwase Hirotarō, Kawazu Masahito, Mano Hiroyuki	4. 巻 24
2. 論文標題 High-Throughput Functional Evaluation of Variants of Unknown Significance inERBB2	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 5112 ~ 5122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-0991	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka Yosuke, Kawazu Masahito, Yasuda Takahiko, Tamura Miki, Hayakawa Fumihiko, Kojima Shinya, Ueno Toshihide, Kiyoi Hitoshi, Naoe Tomoki, Mano Hiroyuki	4. 巻 103
2. 論文標題 Transcriptional activities of DUX4 fusions in B-cell acute lymphoblastic leukemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Haematologica	6. 最初と最後の頁 e522 ~ e526
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3324/haematol.2017.183152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Murakami N, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Nagae G, Suzuki K, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, Ito M, Hirayama M, Watanabe A, Ueno T, Kojima S, Aburatani H, Mano H, Miyano S, Ogawa S, Takahashi Y, Muramatsu H	4. 巻 131
2. 論文標題 Integrated molecular profiling of juvenile myelomonocytic leukemia	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Blood	6. 最初と最後の頁 1576 ~ 1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/blood-2017-07-798157	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kohsaka Shinji, Saito Tsuyoshi, Akaike Keisuke, Suehara Yoshiyuki, Hayashi Takuo, Takagi Tatsuya, Kaneko Kazuo, Ueno Toshihide, Kojima Shinya, Kohashi Ken-ichi, Mano Hiroyuki, Oda Yoshinao, Yao Takashi	4. 巻 72
2. 論文標題 Pediatric soft tissue tumor of the upper arm with LMNA-NTRK1 fusion	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 167 ~ 173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2017.08.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kohsaka Shinji, Nagano Masaaki, Ueno Toshihide, Suehara Yoshiyuki, Hayashi Takuo, Shimada Naoko, Takahashi Kazuhisa, Suzuki Kenji, Takamochi Kazuya, Takahashi Fumiyuki, Mano Hiroyuki	4. 巻 9
2. 論文標題 A method of high-throughput functional evaluation of EGFR gene variants of unknown significance in cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Science Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 ea6566 ~ ea6566
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/scitranslmed.aan6566	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsubara Daisuke, Soda Manabu, Yoshimoto Taichiro, Amano Yusuke, Sakuma Yuji, Yamato Azusa, Ueno Toshihide, Kojima Shinya, Shibano Tomoki, Hosono Yasuyuki, Kawazu Masahito, Yamashita Yoshihiro, Endo Shunsuke, Hagiwara Koichi, Fukayama Masashi, Takahashi Takashi, Mano Hiroyuki, Niki Toshiro	4. 巻 108
2. 論文標題 Inactivating mutations and hypermethylation of the NKX2-1/TTF-1 gene in non-terminal respiratory unit-type lung adenocarcinomas	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1888 ~ 1896
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13313	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----