

様式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（平成29年度）

所属研究機関名称		奈良先端科学技術大学院大学	機関番号	14603
研究代表者	部局	バイオサイエンス研究科		
	職	特任准教授		
	氏名	久木田 洋児		

1. 研究種目名 基盤研究(C)(一般) 2. 課題番号 16K071573. 研究課題名 DNA分子高精度配列決定及び絶対定量技術による血中遊離DNA解析システムの開発4. 補助事業期間 平成28年度～平成30年度

## 5. 研究実績の概要

改良型NOIR-SeqSの臨床検体における性能評価を行うため、膵癌検体解析用に設計した遺伝子パネルの標的領域について、膵癌患者/健常者集団（第1コホート：膵癌57人、健常12人）から抽出した血漿DNAを解析した。その結果、膵癌患者31人（54%）、健常者5人（42%）から変異を検出した。最近、癌に特異的な変異以外に、試料の保存中に生じたDNA損傷に由来する塩基変化や正常細胞中に生じた癌に関与しない体細胞変異の存在が指摘されており、健常者で見つかった変異はそれらに該当すると考えられた。癌に特異的ではない変異は癌患者検体の変異検出解析の障害になるので区別して除く必要があり、それを可能にする情報的なフィルターの開発に取り組んだ。第1コホートを学習データとして扱い、癌体細胞変異を網羅しているCOSMICデータベースから独自基準に従って癌特異的な変異を選択し、癌に特異的ではない変異を除くCV78フィルターを考案した。CV78フィルターを使って再解析すると、変異が検出された人数は、膵癌患者19人（33%）、健常者0人となり、癌と関係のない変異を除くことが出来た。この結果を検証するために、前出集団とは別の第2コホート（膵癌患者86人と良性的膵管内乳頭粘液性腫瘍（IPMN）患者20人）を解析した。改良型NOIR-SeqS単独解析では、膵癌患者62人（72%）、IPMN患者10人（50%）で変異が検出されたが、CV78フィルターを用いると、32人（37%）、1人（5%）になり、CV78フィルター後の変異検出率は独立した上記2集団で同様になった。また、膵癌患者のKRAS変異検出率は他方法を用いた他グループからの報告と同等であったことから、今回開発した改良型NOIR-SeqSとCV78フィルターを組み合わせた変異検出システムが臨床検体の解析に有用であることを確認することが出来た。

## 6. キーワード

癌 体細胞変異 腫瘍マーカー

## 7. 現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由  
癌に特異的な変異を効率良く検出するために、生物情報的なフィルター（CV78フィルター）を考案した後、改良型NOIR-SeqSと組み合わせたシステムを構築し、それが臨床検体の解析に有用であることを確認することが出来たため。

2 版

## 8．今後の研究の推進方策

引き続き、患者検体を使い、今年度開発したシステムの臨床的有用性（癌患者のスクリーニング検査への利用や治療時の詳細なモニタリングによる治療効果判定に利用可能であるか、など）を検証していく。

## 9．次年度使用が生じた理由と使用計画

当初の計画より物品費の一部で効率的な使用ができたので残額が発生した。  
繰越額は実験試薬等の「物品費」や研究成果を公表するための論文投稿料に該当する「その他の費目」としての使用を予定している。

## 10．研究発表（平成29年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1．著者名 Kukita Yoji, Ohkawa Kazuyoshi, Takada Ryoji, Uehara Hiroyuki, Katayama Kazuhiro, Kato Kikuya	4．巻 13
2．論文標題 Selective identification of somatic mutations in pancreatic cancer cells through a combination of next-generation sequencing of plasma DNA using molecular barcodes and a bioinformatic variant filter	5．発行年 2018年
3．雑誌名 PLoS ONE	6．最初と最後の頁 e0192611
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0192611	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1．発表者名 Kukita Y, Takada R, Okawa K, Katayama K, Kato K
2．発表標題 Selective detection of somatic mutations in circulating tumor DNA from pancreatic cancer patients by next-generation sequencing and a bioinformatic variant filter
3．学会等名 Human Genome Meeting 2018（国際学会）
4．発表年 2018年

1. 発表者名 久木田洋児, 高田良司, 大川和良, 片山和宏, 加藤菊也
2. 発表標題 Selective detection of somatic mutations in circulating tumor DNA from cancer patients
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 落谷孝広、前川真人、洪泰浩、加藤菊也、田原栄俊、前田瑞夫、細川和生、北森武彦、一木隆範、馬渡和真、今井靖、黒田雅彦、村上善基、湯川博、菊池春人、戸塚実、丹羽修、植松美幸、野村祐介、久木田洋児、他	4. 発行年 2017年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 288 (167-174)
3. 書名 リキッドバイオプシー 体液中腫瘍マーカーの検出・解析技術	

1 1. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2. 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4. 備考

-