

25-A-3 高速シーケンス解析技術を応用した血中・体液中の遊離核酸によるがんの高感度分子診断法の基盤確立

谷内田 真一 国立がん研究センター 研究所 がんゲノミクス研究分野

研究の分類・属性

発がん・がん生物学

研究の概要

近年の次世代シーケンス技術の革新的な進歩と血中・体液中の遊離 DNA (cell-free DNA: cf-DNA) の抽出技術の開発により、これまで不可能と考えられていた血中・体液中の遊離核酸中に存在するがんのゲノム異常 (点突然変異あるいは染色体再編成) を検出する技術が開発されつつある。遊離核酸中のゲノム異常を検出することは、膵臓がん等の難治がんの早期診断を可能にするだけでなく、術後再発や分子標的治療に対する抵抗変異獲得クローンの出現を超早期から経時的かつ定量的に検出することができ、CEA や CA19-9 といった既存の腫瘍マーカーを越えた、緻密でかつ個別化された次世代のがん分子モニタリングを実現する可能性も期待されている。さらに腫瘍部位の影響や患者の病状が悪く、組織生検が採取困難な症例についても、本技術を応用することで分子治療標的を同定するいわゆる **“Liquid Clinical Sequencing”** による個別化医療の基盤ともなる技術である。

本研究では、高速シーケンス技術を応用した遊離 DNA (cf-DNA) による、がんの早期発見や分子モニタリングの標準手法の確立・有効性の評価と解析基盤の構築 (サンプルの採取法や前処理法、cf-DNA の抽出法、cf-DNA シーケンス解析法) を目指す。まず、国立がん研究センターで既に全エクソン解読を行った乳がん等における血液を試料として予備実験を行う。血漿中の遊離 DNA の抽出には、QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit (キアゲン社) 等の市販の抽出キットを用いる。さらに、シーケンス解析には当センター・研究所に設置されている高速シーケンサー (HiSeq 2000、イルミナ社) を用いる。さらに、臨床応用の実施を目指した **Feasibility Test** として、難治がんや希少がん患者の血漿や体液を用いた早期診断法の開発や、治療抵抗性獲得症例における経時的採血サンプルを用いた抵抗獲得変異のモニタリングについて検討を進める。なお、本プロジェクトは、愛知県がんセンター・中央病院や鳥取大学医学部、米国・Johns Hopkins 大学との共同研究である。

研究経費

年 度	研究経費
平成 25 年度	9,598 千円
平成 26 年度	9,188 千円
平成 27 年度	9,416 千円
総 計	28,202 千円

研究班の組織

研究者名	所属研究機関名・職名	分担する研究課題名・項目
谷内田真一	国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野・ユニット長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・研究総括ならびに遊離核酸の抽出と試料の保存・管理、臨床情報の解析
柴田龍弘 (H26.3まで)	国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野・分野長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・高速シーケンス技術を用いた解析
十時 泰	国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野・ユニット長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・シーケンスデータの情報解析
島田和明	国立がん研究センター中央病院 肝胆膵外科・科長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
奈良 聡	国立がん研究センター中央病院 肝胆膵外科・医員	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
森實千種	国立がん研究センター中央病院 肝胆膵内科・医員	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
田村研治 (H27.3まで)	国立がん研究センター中央病院 乳腺・腫瘍内科・科長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
吉永繁高	国立がん研究センター中央病院 内視鏡科・医員	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
古田 耕	神奈川県立がんセンター病院 医療技術部・部長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
平岡伸介	国立がん研究センター中央病院 病理臨床検査科・科長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と病理診断

松本和也	鳥取大学医学部 消化器内科・助教	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取（特にセクレチン負荷）と臨床情報の収集
山雄健次	愛知県がんセンター中央病院 消化器内科・部長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
肱岡 範	愛知県がんセンター中央病院 消化器内科・医長	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・試料の採取と臨床情報の収集
高井英里奈 (H26.4から)	国立がん研究センター研究所 がんゲノミクス研究分野・特任研究員	血中・体液中の遊離核酸によるがんの分子診断法の基盤整備・遊離DNAの抽出とデジタルPCRや高速シーケンサーを用いた解析

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

（目的と到達目標）

<目的>

がんを診断する「直接的」な検査法は、生検や手術で摘出された組織の病理組織診断であった。しかし、いずれも侵襲的な試料の採取法で、腫瘍が採取困難な部位にあつたり、治療ごとの複数回の生検が必要であつたりすると、採取が困難なことも多い。

これまでの既存の腫瘍マーカー（CEA や CA19-9 など）やプロテオーム解析で発見された新規バイオマーカーの多くは、がんが産生するタンパクやがんに伴う二次的な生体反応を評価し、「間接的」にがんの病状を推測したものである。その結果、がんの量的なモニタリングに用いることは出来ても、早期診断や個々のがんの生物学的な特性、個別化治療には応用出来なかつた。非侵襲的に、そしてリアルタイムにがんを「直接的」に診断する究極の検査法は、血液・体液中からがん細胞や遊離核酸中の遺伝子異常を検出することである。

近年の次世代シーケンス技術の革新的な進歩に加えて、血中・体液中の遊離 DNA (cell-free DNA: cf-DNA) の抽出技術の開発により、これまで不可能と考えられていた血中・体液中の遊離核酸中に存在するがんゲノムの異常を検出する技術が開発されつつある (Rebecca JL et al. *Sci Transl Med* 2010)。

本研究の目的は、高速・高感度の次世代シーケンス技術を用いて、血中・体液中の遊離核酸中に存在するがんのゲノム異常を検出する研究基盤の整備と解析法を確立することである。これらの解析基盤が構築されれば、遊離核酸中にあるごく微量のがんゲノムの遺伝子変異を検出することで、膵臓がん等の難治がんの早期診断法の開発が期待できる。さらに、術後再発や抗がん剤、分子標的薬剤に対する抵抗変異獲得クローンの出現を超早期から経時的かつ定量的に検出することができ、CEA や CA19-9 といった既存の腫瘍マーカーを越えた、緻密でかつ個別化された次世代のがん分子モニタリングを実現する可能性も期待されている。

<到達目標>

1. 遊離核酸の解析に関する研究基盤の整備と解析法の確立
血漿や体液サンプルの採取や保存、前処理法を確立し、全施設で使用できる共通した試料収集に関するプロトコールを作成する。次に、試料から安定した遊離核酸の抽出法を確立し、高速・高感度シーケンス技術とデータの情報解析を駆使して、がんのゲノム異常を検出する。これらの基盤整備は、Johns Hopkins 大学と連携して行う。
2. 臨床応用に向けた **Feasibility Test** の実施
臨床応用の実施を目指した **Feasibility Test** として、難治がんや希少がん患者の血漿や体液を用いた早期診断法の開発や、治療抵抗性獲得症例における経時的採血サンプルを用いた抵抗獲得変異のモニタリングについて検討し、有効性を評価する予定である。

(第3年次評価時点の実績要点)

血液から高品質かつ出来るだけ多くの遊離核酸 (DNA) を抽出するための試料収集法を確立した。第3年次に入り、欧米の企業から様々な市販の抽出キットが発売されたが、いずれのキットにおいても従来法に対する優位性はみられなかった。

259名の膵臓がん患者の血漿から抽出した遊離 DNA (cell-free DNA、cf-DNA) を用いて、高感度のデジタル PCR を用いて *KRAS* 変異の検出を試みた。少量 (0.25 mL) の血漿を用いた検討では、他臓器転移を有する症例においては、約 60% で *KRAS* 遺伝子の変異が検出可能であった。次に血漿 (1.75 mL) 由来の遊離 DNA を研究試料として次世代シーケンス技術を用いて Targeted sequencing を行った。膵臓がんで高頻度に変異がみられる遺伝子や治療標的となり得る遺伝子を含む 60 遺伝子を標的に検討したところ、全例 (48 例) で何らかの遺伝子変異や遺伝子増幅を認めた。さらに約 30% の症例で治療標的となり得る遺伝子変異を認めた。本研究から、進行した膵臓がん症例では少量 (2 mL) の血漿で、治療標的となり得る遺伝子を探索できる可能性が示唆された (Takai E et al. *Sci Rep* 2015)。

また、米国・Johns Hopkins 大学と共同研究を行い、膵嚢胞液を用いた分子診断法の基盤構築を行い (Springer S et al. *Gastroenterology* 2015)、継続して検証実験を行っている。さらに平成 26 年度からシスメックス社との共同研究も始まり、十二指腸液中に含まれる遊離 DNA を用いた診断法を開発している。

平成 27 年度は、難治がんである悪性黒色腫を対象疾患に研究計画書を作成し、個別同意のもとに経時的な採血を約 30 名に行っている (平成 27 年 12 月 11 日現在)。“Liquid Clinical Sequencing”による分子標的治療や免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測を行い、さらに治療効果の早期診断を目標に研究を行っている。

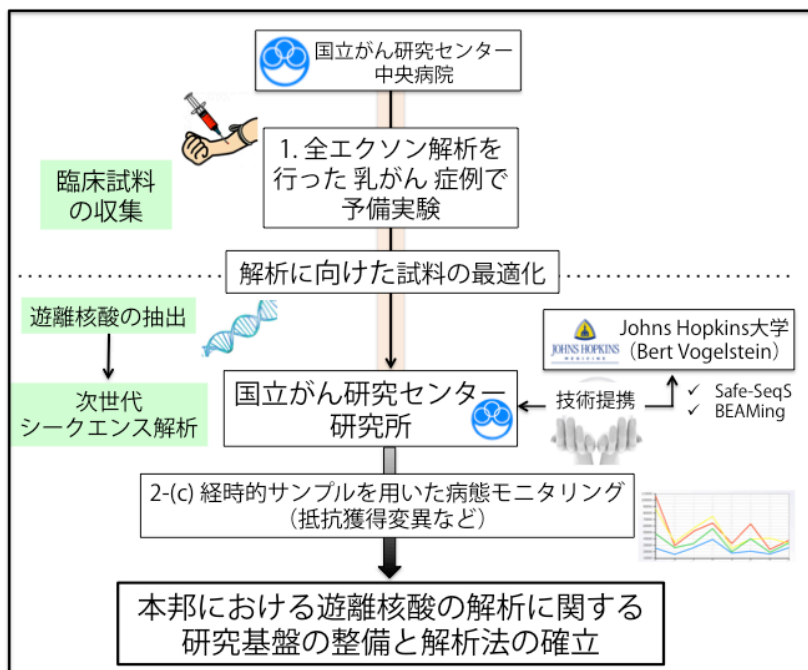
(研究終了時点の実績要点)

1. 血漿から安定して遊離 DNA を抽出し、その濃度や質を評価するワークフローを確立した。
2. デジタル PCR を用いて、微量の血漿 (250 μ L) から膵臓がん患者の *KRAS* 変異を検出した。また、その臨床的意義について考察した。
3. さらに膵臓がん患者の血漿 (1.75 mL) を研究試料として次世代シーケンサーを用いて、膵臓がんで高頻度に変異がみられる遺伝子や治療標的となり得る遺伝子を含む 60 遺伝子を標的に Targeted deep sequencing を行った。シーケンス・データの情報解析を工夫することで、変異のみならず遺伝子増幅の検出も可能となった。解析した症例の約 30% で治療標的となり得る遺伝子異常 (変異や増幅) を検出した。
4. 米国・Johns Hopkins 大学と連携して、膵嚢胞性疾患の鑑別を目的に嚢胞液の遊離 DNA を用いた分子診断法を確立した。現在、さらに検証試験を国際多施設共同研究として実施している。

研究方法

1. 全エクソン解析を行った乳がん等の手術症例を研究対象とした予備実験

国立がん研究センターで、手術検体を用いて全エクソン解読を行った乳がん症例（約 10 例）等を研究対象とする。バイオバンクに保存されている血漿を試料として、手術組織の全エクソン解析で同定された遺伝子変異が血漿中で検出可能か否か、さらにこれらの変異の経時的な変化を検討する。血漿中の遊離 DNA の抽出には、QIAamp Circulating Nucleic Acid Kit（キアゲン社）等の市販の抽出キットを用いる。さらに、シーケンス解析には当センターに設置されている高速シーケンサー（HiSeq 2000、イルミナ社）を用いる。高速シーケンス解析技術を応用した遊離核酸による分子診断技術は、主任研究者（谷内田真一）の前任地である



る米国・Johns Hopkins 大学の Vogelstein 先生らのグループが先行しており (Diaz Jr LA et al. *Nature* 2012)、その技術サポートを受けながら予備実験を進める。

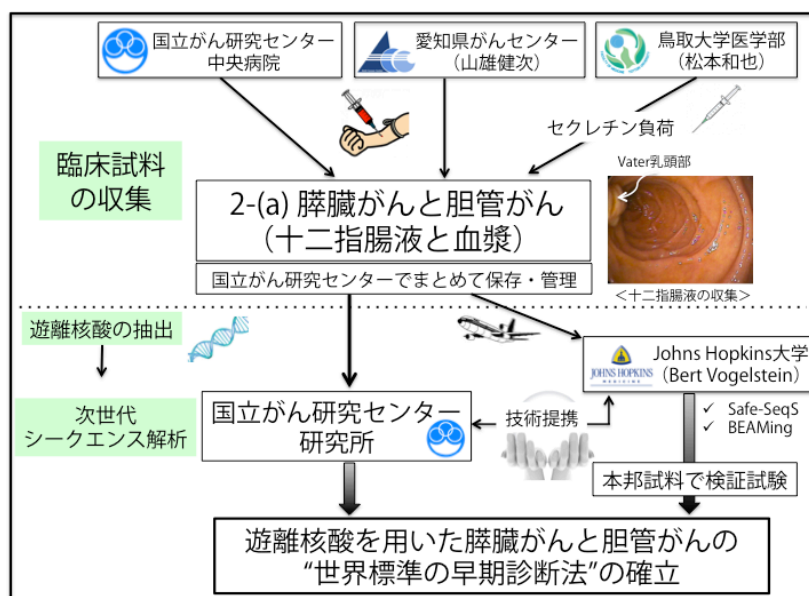
この予備実験を通して、研究試料の調製・保存法の最適化、シーケンス解析やデータの情報解析等の各ステップを十分に検討し、当センターならびに本邦における遊離核酸による分子診断技術のプラットフォームを確立する。

2. 臨床応用を目指した Feasibility Test の体制整備

(a) 難治がん（膵臓がんや胆管がん）の早期診断法の開発

研究試料は、膵臓がんと胆管がん患者の血漿、十二指腸液ならびに手術検体である。血漿は国立がん研究センター・中央病院ならびに愛知県がんセンター・中央病院で治療前に採取され、直ちに冷凍保存されたものを用いる。膵臓がんや胆管がんは治療前に上部消化管内視鏡検査（胃カメラ）を行うことが多いことから、その際に採取した十二指腸液も研究試料として収集する（倫理審査承認番号：2012-081）。

これらの研究試料（血漿ならびに十二指腸液）を用いて、遊離核酸（cf-DNA）の抽出と標的遺伝子（KRAS など）の変異を高速シーケンス技術で解析する体制を、国立がん研究センター・研究所で整備する。特に、十二指腸液を使った遊離核酸の解析は、消化器内視鏡技術に先進性がある本邦オリジナルのもので、その成果が期待される。さらに、鳥取大学医学部・附属病院では、膵液の分泌を促す目的で米国製・セクレチン製剤の負荷（本邦では製造中止）を行い、十二指腸液を収集する（鳥取大学医学部倫理審査承認



番号：2012-081) を行い、十二指腸液を収集する（鳥取大学医学部倫理審査承認

番号：1597)。

膵臓がんの血漿に関しては、国立がん研究センターでの解析に加えて、当センターで解析に使用しない症例の試料(血漿)を米国・Johns Hopkins 大学に提供し、標的遺伝子の変異を BEAMing や Luminex などの蛍光ビーズを用いたアレイシステムに加えて、高速シーケンス技術を用いた Safe-SeqS などのシーケンス解析 (Kinde I et al. *PNAS* 2011) を行い、米国・Johns Hopkins 大学で本邦の試料による大規模な検証試験を行う。

一方、胆管がんは欧米と比較して、本邦で圧倒的に多いがん腫であることから、当センターと愛知県がんセンター・中央病院の試料を中心に、国立がん研究センター・研究所で遊離核酸の抽出と標的遺伝子の変異解析を高速シーケンス技術で行う。胆管がんは、米国・Johns Hopkins 大学から血漿試料の提供を受け、当センターで次世代シーケンス解析を行う予定である。

膵臓がんと胆管がんで手術を施行された症例では、手術時にがん部と非がん部の凍結サンプルを採取する。がん部は凍結サンプルからプレパラートを作成し、がん細胞密度の高い部位をマクロ・ダイセクションする。がん部と非がん部から gDNA を抽出し、がん関連の主要遺伝子変異を国立がん研究センター・オリジナルの Cancer panel 等を用いた Target リシーケンシングを行い、血漿や十二指腸液の標的遺伝子の突然変異と比較する。

(b) 経時的サンプルを用いた病態モニタリング

難治がんの多くは、手術後に再発する。多くのがん腫で、抗がん剤や分子標的薬剤に反応し縮小した腫瘍も、最終的には治療抵抗性を獲得し、Regrowth することが多い。手術検体からの全エクソン解析、あるいは Cancer panel 等を用いた Target リシーケンシングによって生検材料から得られた変異情報を利用して、術後や化学療法後に経時的に血漿中の遊離核酸 (cf-DNA) による病態モニタリングの実現可能性について検討する。さらに、治療抵抗性獲得症例における抵抗獲得変異のモニタリングも検討する。

研究成果と考察

全期間 (研究終了時)

本研究を開始した 3 年前と比較すると、血漿中の遊離 DNA を用いたがんの分子診断に関する論文が極端に増え、日進月歩の研究分野となった。また、アカデミアのみならず、国内外の企業が本研究分野に参入し、極めて競争が激しくなっている。しかし、これらの技術革新は患者に優しいがんの分子診断法であることから、患者や臨床医から強く期待されている。

我々は、膵臓がん患者のバイオバンクに保存されている血漿を用いて遊離 DNA を抽出し検討を行った。デジタル PCR で KRAS 変異をベンチマークにプレスクリーニングを行い、KRAS 変異が検出された症例、すなわち血漿中にがん由来 DNA の存在する症例を対象に次世代シーケンサーを用いて、膵臓がんで高頻度に変異がみられる遺伝子や治療標的となり得る遺伝子を含む 60 遺伝子を標的に、Targeted deep sequencing を行った。シーケンス・データの情報解析を工夫することで、変異のみならず遺伝子増幅の検出も可能となった。解析した症例の約 30% で治療標的となり得る遺伝子異常を検出した。これらの成果から、組織生検を研究試料として行っている Clinical Sequencing が困難な患者(全身状態が悪い患者や組織生検が困難な患者、再生検が必要な患者など)に有益な分子診断法となり得る可能性が示唆された。

事後評価会の委員から、日本独自の切り口、もしくは独創的なアプローチにより Liquid Clinical Sequencing の開発が求められた。これまで我々は血漿を研究試料に用いてきたが、その他の体液 (EUS-FNA の洗浄液や十二指腸液など) を用いたアプローチで現在解析中であり、より高感度、高精度な検査法の開発を目指している。

倫理面への配慮

提供者、その家族、血縁者その他の関係者の人権および利益の保護の取り扱いについては、提供者側の同意、協力や社会的コンセンサスを十分に配慮した上で行う。本研究は、国立がん研究センター 研究倫理審査委員会で承認されている「高感度の最新シーケンス技術を用いた膵腫瘍の早期診断法の

開発（研究課題番号：2012-081）」を包含する後継事業に位置づける。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」ならびに「疫学研究に関する倫理指針」を遵守し、国立がん研究センターの研究倫理審査委員会に新たな研究計画書を提出し、承認後に研究を開始する。また、共同研究機関である愛知県がんセンター、鳥取大学医学部、米国・Johns Hopkins 大学においても各施設の倫理審査委員会に研究計画書を提出する。

個人情報、は、「国立がん研究センターが扱う個人情報に関するガイドライン」に従って、厳重に保護され慎重に扱うものとする。本研究に登録された患者氏名は、国立がん研究センターから、データセンターをはじめとする外部施設および外部の研究者に知られることはない。登録患者の同定や照会、は、登録時に発行される登録符号を用いて研究代表者（谷内田真一）によって行われる（連結可能匿名化）。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

第1年次

(雑誌論文)

- ・ がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの
- 1. Yachida S, Iacobuzio-Donahue CA. Evolution and dynamics of pancreatic cancer progression. *Oncogene* 2013 32: 5256-5260.
- 2. Oshima M, Okano K, Muraki S, Haba R, Maeba T, Suzuki Y, Yachida S (Corresponding author). Immunohistochemically detected expression of three major genes (*CDKN2A/p16*, *TP53* and *SMAD4/DPC4*) strongly predicts survival in patients with pancreatic cancer. *Ann Surg* 2013 258: 336-346.
- 3. Oguro S, Shimada K, Ino Y, Esaki M, Nara S, Kishi Y, Kosuge T, Kanai Y, Hiraoka N. Pancreatic intraglandular metastasis predicts poorer outcome in postoperative patients with pancreatic ductal carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2013 37: 1030-1038.
- 4. Haba S, Yamao K, Bhatia V, Mizuno N, Hara K, Hijioka S, Imaoka H, Niwa Y, Tajika M, Kondo S, Tanaka T, Shimizu Y, Yatabe Y, Hosoda W, Kawakami H, Sakamoto N. Diagnostic ability and factors affecting accuracy of endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration for pancreatic solid lesions: Japanese large single center experience. *J Gastroenterol* 2013 48: 973-981.
- 5. Mizuno N, Yatabe Y, Hara K, Hijioka S, Imaoka H, Shimizu Y, Ko SB, Yamao K. Cytoplasmic expression of LGR5 in pancreatic adenocarcinoma. *Front Physiol* 2013 4: 269.
- 6. Matsumoto K, Takeda Y, Harada K, Horie Y, Yashima K, Murawaki Y. The effect of pancreatic cytology and/or endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy for pancreatic cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2014 29: 223-227.

(学会発表)

1. 谷内田真一 がんの不均一性と転移—膵臓がんをモデルにして— (シンポジウム) 第22回 日本がん転移学会学術集会・総会 (松本市) 2013年7月11~12日
2. 谷内田真一 ゲノム進化からがんを理解する (イブニングセミナー) 第40回 日本膵切研究会 (高松市) 2013年8月30~31日
3. 谷内田真一 Evolution and Dynamics of Cancer Progression (International Sessions) 第72回 日本癌学会学術総会 (横浜市) 2013年10月3~5日
4. 谷内田真一 ゲノムの進化でがんを理解する (教育講演) 第53回 日本消化器病学会甲信越支部例会 (甲府市) 2013年11月23日
5. 谷内田真一 がんゲノムの進化と tumor heterogeneity (ミニシンポジウム) 平成25年度 文部科学省 新学術領域研究 公開シンポジウム (東京都) 2014年1月30~31日

(書籍)

1. 谷内田真一 胆・膵腫瘍の網羅的ゲノム解析 肝・胆・膵 2014 68: 345-351.

第2年次

(雑誌論文)

- ・ がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの
- 1. Kim MS, Zhong Y, Yachida S, Rajeshkumar NV, Abel ML, Marimuthu A, Mudgal K, Hruban RH, Poling JS, Tyner JW, Maitra A, Iacobuzio-Donahue CA, Pandey A. Heterogeneity of pancreatic cancer metastases in a single patient revealed by quantitative proteomics. *Mol Cell Proteomics* 2014 13: 2803-2811.

(学会発表)

1. 谷内田真一 がんゲノムの進化(講演) 第14回GIリサーチフォーラム(仙台市) 2014年7月2日

(書籍)

1. 谷内田真一 胆・膵腫瘍の網羅的ゲノム解析 肝・胆・膵 2014 68: 345-351.
2. 谷内田真一 腫瘍内多様性とがんゲノム進化 医学のあゆみ 2014 249:1083-1087.
3. 谷内田真一 ゲノムの進化からみた膵臓がん 医学のあゆみ 2015 252:851-856.

(その他)

1. 谷内田真一 ゲノムの進化でがんを理解する 星薬科大学薬剤師生涯教育講座(東京都) 2014年10月18日
2. 谷内田真一 膵臓がん研究の今日と明日 パープルリボンセミナー in 東京(東京都) 2014年10月5日
3. 谷内田真一 膵臓がんのゲノム解析研究 GMRC アドバンストセミナー(東京都) 2015年2月28日
4. 谷内田真一 がんゲノム解析及び患者に優しい診断技術の開発 第1回市民公開講演会(東京都) 2015年3月14日

第3年次

(雑誌論文)

- ・ がん研究開発費による成果であることが記載されているもの
- 1. Takai E, Totoki Y, Nakamura H, Morizane C, Nara S, Hama N, Suzuki M, Furukawa E, Kato M, Hayashi H, Kohno T, Ueno H, Shimada K, Okusaka K, Nakagama H, Shibata T, Yachida S. Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment in pancreatic cancer. *Sci Rep* 2015 5: 18425.
- 2. Yachida S, Wood LD, Suzuki M, Takai E, Totoki T, Kato M, Luchini C, Arai Y, Nakamura H, Hama N, Elzawahry A, Hosoda F, Shirota T, Morimoto N, Hori K, Funazaki J, Tanaka H, Morizane C, Okusaka T, Nara S, Shimada K, Hiraoka N, Taniguchi H, Higuchi R, Oshima M, Okano K, Hirono S, Mizuma M, Arihiro K, Yamamoto M, Unno M, Yamaue H, Weiss MJ, Wolfgang CL, Furukawa T, Nakagama H, Vogelstein B, Kiyono T, Hruban RH, Shibata T. Genomic sequencing identifies *ELF3* as a driver of ampullary carcinoma. *Cancer Cell* 2016 29: 229-240.
- 3. Takai E, Yachida S. Genomic alterations in pancreatic cancer their relevance to therapy. *World J Gastrointest Oncol* 2015 7: 250-258.
- 4. Springer S, Wang Y, Dal Molin M, Masica DJ, Jiao Y, Kinde I, Blackford A, Raman SP, Wolfgang CL, Tomita T, Niknafs N, Douville C, Ptak J, Dobbyn L, Allen PJ, Klimstra DS, Schttner MA, Schmidt CM, Yip-Schneider M, Cummings OW, Brand Rem She HJ, Singhi AD, Scarpa A, Salvia R, Malleo G, Zamboni G, Falconi M, Jang JY, Kim SW, Kwon W, Hong SM, Sog KB, Kim SC, Swan N, Murphy J, Geoghegan J, Brugge W, Fernandez-Del Castillo C, Mino-Kenudson M, Schulick R, Edil BH, Adsay V, Paulini J, van Hooft J, Yachida S, Nara S, Hiraoka N, Yamao K, Hijioka S, van der Merwe S, Goggins M, Canto MI, Ahuja N, Hirose K, Makary M, Weiss MJ, Cameron J, Pittman M, Eshleman JR, Diaz LA Jr, Papadopoulos N, Kinzler KW, Karchin R, Hruban RH, Vogelstein B, Lennon AM. A

combination of molecular markers and clinical features improve the classification of pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015 149: 1501-1510.

5. Shibayama Y, Fujimori T, Nguyen G, Hirose T, Totsune K, Ichihara A, Kitada K, Nakano D, Kobori H, Kohno M, Masaki T, Suzuki Y, Yachida S, Nishiyama A. (Pre)renin receptor is crucial for Wnt/ β -catenin-dependent genesis of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Sci Rep* 2015 5: 8854.
 6. Ohmoto A, Yachida S, Kubo E, Takai E, Suzuki M, Shimada K, Okusaka T, Morizane C. Clinicopathologic features and germline sequence variants in young pancreatic ductal adenocarcinoma patients (≤ 40 years of age). *Pancreas* 2016 45: 1056-1061.
- がん研究開発費による成果としての記載はないが、関連するもの
1. Bastrurk O, Hong SM, Wood LD, Adsay NV, Albores-Saavedra J, Biankin AV, Brosens LA, Fukushima N, Goggins M, Hruban RH, Kato Y, Klimstra DS, Klöppel G, Krasinskas A, Longnecker DS, Matthaei H, Offerhaus GJ, Shimizu M, Takaori K, Terris B, Yachida S, Esposito I, Furukawa T. A revised classification system and recommendation from the Baltimore consensus meeting for neoplastic precursor lesions in the pancreas. *Am J Surg Pathol* 2015 39: 1730-1741.
 2. Matsuda Y, Ishiwata T, Yachida S, Suzuki A, Hamashima Y, Hamayasu H, Yoshimura H, Honma N, Aida J, Yakubo K, Arai T. Clinicopathological features of 15 occult and 178 clinical pancreatic ductal adenocarcinomas in 8339 autopsied elderly patients. *Pancreas*, 2016 45: 234-240.
 3. Uchi R, Takahashi Y, Niida A, Shimamura T, Sugimachi K, Hirata H, Sawada G, Iwaya K, Kurashige J, Shinden Y, Iguchi T, Eguchi T, Chiba K, Shiraishi Y, Nagae G, Yoshida K, Nagata Y, Haeno H, Yamamoto H, Ishii H, Doki Y, Iinuma 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, Yamamoto K, Suzuki Y, Aburatani H, Ogawa S, Miyano S, Mimori K. Integrated multiregional analysis proposing a new model of colorectal cancer evolution. *PLoS Genetics* 2016 12: e1005778.

(学会発表)

1. Takai E. Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment and precision medicine in pancreatic cancer (Oral presentation). IX. Congress CNAPS-Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum (Berlin, Germany) 12 September 2015
2. 高井英里奈 膵がんにおける Liquid Clinical Sequencing (シンポジウム) 日本癌学会学術総会 (名古屋市) 2015年10月9日
3. 谷内田真一 膵臓がんのゲノム解析とその臨床応用 (基調講演) 日本膵臓学会大会 (名古屋市) 2015年6月20日
4. 谷内田真一 ゲノム異常に基づく膵臓がん治療の個別化による予後向上の可能性 (シンポジウム) 日本癌治療学会 (京都市) 2015年10月30日

(書籍)

1. Takai E, Yachida S. Liquid biopsy for early diagnosis of pancreatic cancer. Innovation of Diagnosis and Treatment for Pancreatic Cancer (Editor: Hiroki Yamaue) Springer 2016, *in press*.

(その他)

1. Takai E. **Best Abstract Award**. IX. Congress CNAPS-Circulating Nucleic Acids in Plasma and Serum (Berlin, Germany). Title: Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment and precision medicine in pancreatic cancer. 12 September 2015