

II. 分担研究、研究協力報告書

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成 22 年度）

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 教授

研究協力者：西田 奈央、澤井 裕美、馬渡 頼子、提嶋 恵美

分担研究課題：ゲノムワイド関連分析による肝炎の宿主遺伝要因の探索

研究要旨：肝炎ウイルスに感染した宿主側の病態促進因子及び薬剤応答性を規定する遺伝要因の解明を目的として、90万種類以上のSNPを対象としたゲノムワイド関連分析を実施した。本年度は慢性ウイルス性肝疾患患者180検体を追加して解析した。これまでに取得した患者群合計822検体のうち756検体でQC call rateが95%以上となり、Overall call rateの平均は99.55%となった。患者群を病態および薬剤応答性に応じてサブグループに分類してゲノムワイド関連分析を実施したところ、C型肝炎に対する標準治療であるPeg-IFN α +RBV併用療法の副作用である血小板減少および貧血と強い関連を示す遺伝子領域を検出した。このうち、*DDRGKI*遺伝子と*ITPA*遺伝子を含む領域に存在する遺伝子多型がゲノムワイド有意水準に達する強い関連（血小板減少： P 値= 5.29×10^{-17} 、OR=4.49、貧血： P 値= 2.00×10^{-28} 、OR=0.05）を示すことを明らかにした。また、HCV自然治癒群とC型慢性肝炎患者群との比較から、*IL28B*遺伝子領域に存在する遺伝子多型がゲノムワイド有意水準に達する強い関連（ P 値= 2.80×10^{-10} 、OR=4.99）を示すことを明らかにした。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルスに感染した宿主を対象としたゲノムワイド関連分析を行うことにより、宿主側の肝病態進展に寄与する遺伝因子、治療効果に寄与する遺伝因子、ウイルス感染感受性に寄与する遺伝因子を探索することを目的とする。

B. 研究方法

90万種以上のSNP解析用プローブが搭載されたAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0（以下、SNP Array 6.0）を用いて、慢性ウイルス性肝疾患患者群を対象としたSNPタイピングを行い、患者群を病態および薬剤応答性に応じてサブグループに分類してゲノムワイド関連分析を行う。

本研究では、ゲノムワイド関連分析で検出され

た候補遺伝子領域に対して、2次パネルを用いた再現性確認実験（Replication study）を実施することにより、疾患感受性遺伝子の同定を目指した（図1）。

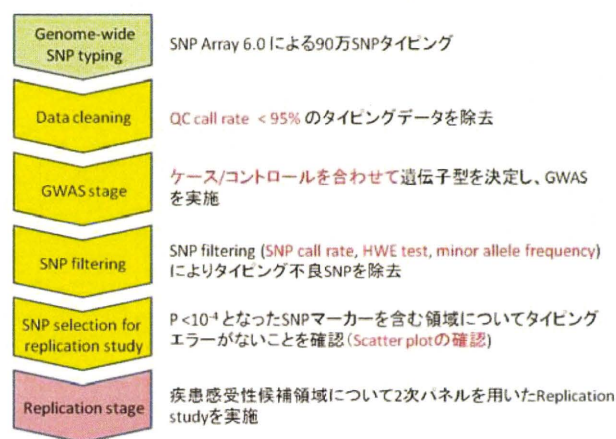


図1 ゲノムワイド関連解析による疾患感受性遺伝子同定までの流れ

dbSNP rsID	Nearest gene	MAF (allele)	Allele (1/2)	Stage	patients with decrease of PLT			patients without decrease of PLT			OR (95% CI) ^a	P-value ^b
					11	12	22	11	12	22		
rs11697186	DDRGK1	0.15 (T)	T/A	GWAS	3	48	56	0	32	161	4.6 (2.7-7.8)	8.17×10^{-9}
				Replication	3	65	95	3	25	181	4.6 (2.8-7.7)	5.88×10^{-10}
				Combined	6	113	151	3	57	342	4.5 (3.1-6.5)	5.29×10^{-17}
					(2.2)	(41.9)	(55.9)	(0.7)	(14.2)	(85.1)		
rs6139030	ITPA	0.17 (C)	T/C	GWAS	56	48	3	157	38	1	3.7 (2.2-6.1)	4.30×10^{-7}
				Replication	96	74	5	181	32	3	4.3 (2.7-6.8)	3.83×10^{-10}
				Combined	152	122	8	338	70	4	3.9 (2.8-5.5)	1.33×10^{-15}
					(53.9)	(43.3)	(2.8)	(82.0)	(17.0)	(1.0)		

表 1 Peg-IFN α +RBV 併用療法で血小板量が減少した患者群と減少が見られなかった患者群についての関連解析結果. a. マイナーアリル優性モデルにおけるオッズ比 b. マイナーアリル優性モデルにおける χ^2 検定の P 値

ゲノムワイド関連分析における擬陽性関連の発生を効果的に抑えるために、以下の手順で SNP filtering を実施する：(1)QC call rate が 95% 以上となったタイピングデータを選択する。(2)対象群と対照群を合わせて Genotyping Console ver4 ソフトウェアによる遺伝子型を決定する。(3)SNP Array 6.0 に搭載された全 90 万 SNP の中に含まれる、日本人では頻度が低く統計解析に不適切な SNP やタイピング精度の低い SNP を除去する。(4)統計解析の結果から P 値 $<10^{-4}$ となった SNP についてタイピング生データである散布図を確認し、擬陽性関連が疑われる SNP を除去する。

ゲノムワイド関連分析は、われわれが開発した GeneChip analysis ver2.0.10 ソフトウェアを用いて実施する。ゲノムワイド関連分析で検出され

た疾患感受性候補遺伝子領域において、HapMap データを用いた連鎖不平衡解析から TagSNP を選択し、DigiTag2 法を用いた Replication study を実施する。解析対象となる SNP の遺伝子型を決定するためのソフトウェアとして、われわれは SNP Star ver0.0.1.0 ソフトウェアを開発した。決定された遺伝子型に基づいて、アリル頻度、遺伝子型頻度、劣性モデル、優性モデルの 4 つの統計解析結果を得る。

C. 研究結果

本年度は慢性ウイルス性肝疾患患者 180 検体を追加して SNP Array 6.0 を用いてタイピングした。これまでに取得したデータと合わせた患者群合計 822 検体のうち、756 検体は QC call rate が 95%以上となり、Overall call rate の平均は 99.55%となった。

QC call rate が 95%以上となった 756 検体のうち、Peg-IFN α +RBV 併用療法で血小板量が減少した患者群 107 検体と減少が見られなかった患者群 196 検体について、ゲノムワイド関連分析を実施した結果、20 番染色体上の *DDRGK1* 遺伝子および *ITPA* 遺伝子を含む遺伝子領域からゲノムワイド有意水準に達する強い関連を示す SNP (rs11697186: P 値= 8.17×10^{-9} , OR=4.58) を検出した (図 2 および表 1)。また、Peg-IFN α +RBV

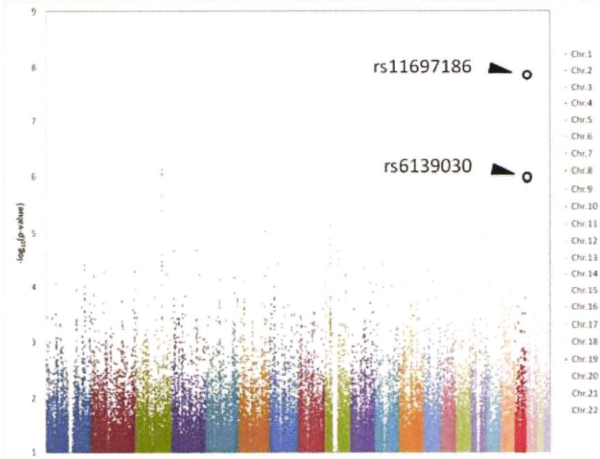


図 2 血小板減少例を対象としたゲノムワイド関連解析の結果

dbSNP rsID	Nearest gene	MAF (allele) (1/2)	Allele	Stage	patients with quantitative change in Hb			patients without quantitative change in Hb			OR (95% CI) ^a	P-value ^b
					11	12	22	11	12	22		
rs11697186	DDRGI1	0.15 (T)	T/A	GWAS	0	3	89	3	70	121	0.06 (0.02-0.16)	7.93×10^{-10}
				Replication	0	2	146	6	103	166	0.02 (0.01-0.09)	1.39×10^{-17}
				Combined	0	5	235	9	173	287	0.03 (0.01-0.08)	8.63×10^{-26}
rs6139030	ITPA	0.17 (C)	T/C	GWAS	88	5	0	116	75	3	0.08 (0.03-0.22)	1.12×10^{-9}
				Replication	149	3	0	162	122	8	0.03 (0.01-0.08)	1.59×10^{-20}
				Combined	237	8	0	278	197	11	0.05 (0.02-0.09)	2.00×10^{-28}

表 2 Peg-IFN α +RBV 併用療法で貧血となった患者群と貧血とならなかった患者群についての関連解析結果. a. マイナーアレル優性モデルにおけるオッズ比 b. マイナーアレル優性モデルにおける χ^2 検定の P 値

併用療法で貧血となった患者群 93 検体と貧血とならなかった患者群 194 検体を対象とした GWAS を実施した結果、20 番染色体上のまったく同じ遺伝子領域がゲノムワイド有意水準に達する強い関連 (rs11697186: P 値= 7.93×10^{-10} 、OR=0.06、rs6139030: P 値= 1.12×10^{-9} 、OR=0.08) を示すことが明らかとなった (表 2)。

ゲノムワイド関連分析で検出された *DDRGI1* 遺伝子および *ITPA* 遺伝子を含む遺伝子領域について、HapMap データを用いた連鎖不平衡解析を行い、Tag SNP を含めた 22 か所の SNP を選択し、DigiTag2 法を用いた Replication study を実施した。GWAS で用いた 303 検体とは独立の血小板減少群 175 検体と比較対照群 (血小板減少無) 216 検体を用いた Replication study の結果、GWAS で検出された 2 つの SNP は、血小板減少に強い関連があることが再現された (rs11697186: combined P 値= 5.29×10^{-17} 、OR=4.49、rs6139030: combined P 値= 1.33×10^{-15} 、OR=3.91)。また、貧

血群 152 検体と比較対照群 (貧血無) 292 検体を用いて、同一の領域を対象とした Replication study を実施した結果、GWAS で検出された 2 つの SNP は、貧血にも強い関連があることが再現された (rs11697186: combined P 値= 8.63×10^{-26} 、OR=0.03、rs6139030: combined P 値= 2.00×10^{-28} 、OR=0.05)。

また、HCV 自然治癒群 105 検体と HCV 慢性肝炎患者群 140 検体について、ゲノムワイド関連分析を実施した結果、ゲノムワイド有意水準に達する遺伝子領域を複数か所検出した。特に、19 番染色体上の *IL28B* 遺伝子領域内に存在する遺伝子多型が HCV 自然治癒に強く関連する (rs8099917: P 値= 1.59×10^{-9} 、OR=9.47) ことが明らかとなった (表 3)。現在、*IL28B* 遺伝子領域以外の候補遺伝子領域を対象とした Replication study を実施中である。

dbSNP rsID	Nearest gene	Allele (1/2)	Stage	HCV自然治癒群			C型慢性肝炎群			OR (95% CI) ^a	P-value ^b
				TT	TG	GG	TT	TG	GG		
rs8099917	IL28B	T/G	GWAS	99	6	0	81	57	2	9.47 (4.01-22.38)	1.59×10^{-9}
			Replication	124	7	1	255	62	3	3.37 (1.65-6.86)	4.09×10^{-4}
			Combined	223	13	1	336	119	5	4.99 (2.89-8.62)	2.80×10^{-10}

表 3 HCV 自然治癒群を対象とした関連解析結果. a. マイナーアレル優性モデルにおけるオッズ比 b. マイナーアレル優性モデルにおける χ^2 検定の P 値

D. 考察

DDRGK1 遺伝子領域から、Peg-IFN α +RBV 併用療法の副作用である血小板減少および貧血と強い関連を示す遺伝子多型 (rs11697186) を発見した。rs11697186 のマイナーアリル (C) を持つ患者群で貧血となった患者の割合は 2.7% (5/187 検体) と有意に低かった一方で、血小板量が減少した患者の割合は 66.5% (119/179 検体) と有意に高くなり、逆の関係となることが明らかとなった。

また、HCV 自然治癒に強く関連することが明らかとなった *IL28B* 遺伝子 (IFN- λ) は、Peg-IFN α +RBV 併用療法の治療応答性にも強い関連を示すことが明らかとなっている。さらに、rs8099917 のマイナーアリル (G) を持つ患者群では、*IL28* 遺伝子の発現量が有意に低くなることが分かっている。HCV 自然治癒群のマイナーアリル保有率は 5.9% (14/237 検体) と有意に低いことから、HCV 排除には IFN- λ で誘導される IFN 誘導遺伝子群が強く関与していることが示唆される。

E. 結論

Peg-IFN α +RBV 併用療法の治療応答性に寄与する *IL28B* 遺伝子と貧血に寄与する *DDRGK1* 遺伝子の SNP を解析することにより、貧血や血小板減少といった副作用なく、また、治療効果が期待できる患者を選択することが可能になると期待される。ただ、rs11697186 のメジャーホモとなる患者群の中では、貧血となる患者の割合は 46.0% (237/515 検体) となり、現段階では rs11697186 のメジャーホモとなる患者群の中で貧血を起こす患者を予測することはできない。貧血や血小板減少に寄与する *DDRGK1* 遺伝子以外の新たな遺伝要因を同定し、副作用の予測精度をさらに上げることが今後の課題となる。

また、HCV 自然治癒群を対象とした GWAS で検出された候補遺伝子領域に存在する SNP を対象とした Replication study を実施することで、HCV

自然治癒に寄与する *IL28B* 遺伝子以外の新しい遺伝子を同定することを目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Tokunaga K, Mizokami M. lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 40(5): 449-60 (2010)
- 2) Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M. ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 40(11): 1063-1071 (2010)
- 3) Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K, Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in *IL28B* and viral factors. *J Hepatol.* 54(3): 439-48. (2011)
- 4) Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Nishimura-Sakurai Y, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Ito Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M. Association of *IL28B* variants with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin

combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. J Med Virol. 2011;83(5):871-78.

5) 徳永勝士：ゲノムワイド関連解析による疾患感受性遺伝子・薬剤応答性遺伝子の探索、ファルマシア 46(5)：421-431 (2010)

6) 田中靖人、徳永勝士、本多政夫、芥田憲夫、朝比奈靖浩、溝上雅史：C型肝炎ウイルス感染と宿主因子：特に IL28B について、肝臓 51(7)：327-347 (2010)

2. 学会発表

- 1) Nishida N. et al., Genome-wide association study identified host factors contributing to response to PEG-IFN- α /RBV therapy for HCV patients, 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, 2010
- 2) Nishida N., Genome-wide association study (GWAS) opens a new approach to identify host genetic factors for multifactorial diseases, aAsian Hepatitis Forum, Urayasu, 2010
- 3) Nishida N., Genome-wide screening to identify host genetic factors for hepatitis and developing a public database "Human Genome Variation Database", Translational Research Excellence 10, Brisbane, 2010
- 4) Tokunaga K: Genome-wide search for disease susceptibility and drug response genes, 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses Luncheon Seminar, Yokohama, 2010. 9. 12.
- 5) Tokunaga K: Dissecting pathogenic mechanisms by genome-wide search for susceptibility genes, The 10th Annual Meeting of East Asian Union of Human Genetics Societies, 中国 泰安, 2010. 10. 9.

6) 徳永勝士, ゲノム全域から疾患遺伝子を見つけ出す, ゲノム研究最前線, 東京, 2010. 2. 12

7) 徳永勝士, 疾患関連ゲノム多型データベースと個別化医療, 千里ライフサイエンスセミナー, 大阪, 2010. 5. 21

8) 徳永勝士, ゲノムワイド関連解析 (GWAS) の現状と展望, 情報計算化学生物学会 2010 年大会, 東京, 2010. 9. 16

9) 徳永勝士, 疾患関連遺伝子のゲノム全域探索とゲノム多様性データベース, 第 11 回眼科学会 DNA チップ研究会, 神戸, 2010. 11. 11

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成 22 年度）

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：溝上 雅史 国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター
センター長

研究協力者：伊藤 清顕 同所属 第二肝疾患室長

分担研究課題：ウイルス性肝炎におけるオミックス解析

研究要旨：我々はゲノムワイド関連解析（GWAS）を行った結果、C 型慢性肝炎難治症例に対する標準的治療であるペグインターフェロン+リバビリン（PEG-IFN/RBV）併用療法において、IL28B 周辺の遺伝子多型（SNPs）が治療効果と強く関連することを報告した（Tanaka Y. Mizokami M. Nat Genet. 2009）。多施設共同研究により収集した臨床データを解析した結果、IL28B に関連する rs8099917 の SNP を PEG-IFN/RBV 併用療法の治療効果予測に用いると、約 80% の症例で予測が可能であった。一方で、SNPs の結果と実際の治療効果との間に discrepancy を認める症例が約 20% 存在する。特に、高齢女性では SNPs による治療効果の予測が他の集団に比べて外れやすい傾向にある。このことは、ジェネティックな要因の他に、ゲノムの後天的な変化、つまりエピジェネティックな要因が関与しているということが想定される。本研究においては、IL28B 遺伝子上流に存在し、調節領域と考えられる CpG アイランドに注目し、メチル化の状態と治療効果との関連に関して検討した。

A. 研究目的

我々は臨床データより、C 型慢性肝炎難治症例に対する PEG-IFN/RBV に対する治療効果予測因子として IL28B 関連 SNPs が最も治療無効例（NVR）に関連することを明らかにした。しかし、IL28B SNPs による治療効果予測が可能な症例はおおよそ 80% 程度であり、約 20% の症例では予測不可能である。そこで、我々はこの約 20% の症例に着目し、さらに臨床データの解析を行った。その結果、Major homozygotes の症例は治療が有効であると予測されるが、高齢者では NVR になる症例が多い。逆に minor allele を持つ症例は治療無効と予測されるが、若年者では SVR になる症例が多い。こ

のことから、年齢の因子が SNPs による治療効果判定に影響を与えていると考えられた。

以上より、IL28B 遺伝子に関して、ジェネティックな要因に加えて、メチル化等の後天的なエピジェネティックな要因が関与していることが想定された。我々は、特に IL28B 遺伝子上流に存在する、シトシン（C）、グアニン（G）ダイマー（CpG）が集中した CpG アイランドに注目した。CpG アイランドは後天的にメチル化修飾を受け、特に調節領域のアイランドがメチル化された場合、遺伝子の発現が抑制される。本研究では、IL28B の調節領域と考えられる CpG アイランドのメチル化の状態と治療効果との関連を検討した。

B. 研究方法

IL28B 関連 SNPs の一つである rs8099917 が T/T (major homozygotes) となる症例より SVR 例 20 例、NVR 例 20 例を選択し、IL28B の上流に存在する CpG アイランドに関してメチル化解析を行った。IL28B と相同性の高い IL28A が近傍に存在するため、それぞれの配列が異なる領域を選択し、プライマーを設定した。患者 PBMC 由来のゲノム DNA をバイサルファイト処理し、CpG アイランドの約 1800bp を IL28B に特異的なプライマーを用いて増幅した。増幅産物を direct sequencing により半定量的にメチル化解析を行い、治療効果に関連するメチル化領域を絞り込み、さらにパイロシーケンス法により特異的な領域のメチル化を定量的に評価した。

C. 研究結果

IL28B 遺伝子上流の CpG アイランドのメチル化の状態を半定量的に解析した結果、SVR 群および NVR 群ともにほとんどの CpG はメチル化されていたものの、中央部に特徴的な低メチル化領域を発見した。この領域では SVR 群に比べ NVR 群のメチル化率が高い傾向があった。このため、ビオチン化プライマーを用いて IL28B 特異的に低メチル化領域を増幅し、パイロシーケンスを用いて定量的に解析した。その結果、数ヶ所の CpG サイトにおいて NVR 群が SVR 群と比較して有意に高いメチル化状態を示しており、そのうち 3 か所では統計的にも有意差を認めた。

D. 考察

NVR 群では、SVR 群に比べて IL28B 遺伝子の

発現調節領域と考えられる CpG アイランドの一部で高メチル化状態を示していた。発現調節領域における高メチル化状態は IL28B の発現量を低下させている可能性があり、今後は IL28B の mRNA の定量や ELISA による定量等と併せて検討する必要があると考えられた。また、さらに検体数を増やしパイロシーケンサーでメチル化パターンを定量的に精査すると共に、他の定量法によるメチル化の解析が必要であると考えられた。今後は、DNA 結合蛋白の同定と IL28B 遺伝子周辺のゲノム高次構造の解析も試みる予定である。

E. 結論

IL28B 遺伝子上流の CpG アイランドに関してメチル化を解析し、PEG-IFN/RBV の治療効果と関連する領域を発見した。メチル化を定量的に解析した結果、同部位では NVR 症例において高メチル化状態を認めており、病態との関連が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Nomura H, Hige S, Adachi H, Hino K, Yatsuhashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, Mizokami M. The rs8099917 Polymorphism, Determined by a Suitable Genotyping Method, is a Better Predictor for Response to Pegylated Interferon- α /Ribavirin Therapy in Japanese Patients than Other SNPs Associated with IL28B. J Clin Microbiol. in press
2. Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura

- K, Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. *J Hepatol*, 2010.
3. Akkarathamrongsin S, Sugiyama M, Matsuura K, Kurbanov F, Poovorawan Y, Tanaka Y, Mizokami M. High sensitivity assay using serum sample for IL28B genotyping to predict treatment response in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* 40 (10):956-962, 2010.
4. Elkady A, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Sugiyama M, Khan A, Ali E M, Mouhamed L, Abou El-Fetouh S, Abdel-Hameed A R, Mizokami M. Performance of two Real-Time RT-PCR assays for quantitation of hepatitis C virus RNA: Evaluation on HCV genotypes 1-4. *J Med Virol* 82 (11):1878-1888, 2010.
5. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M, Kaneko S. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 139 (2):499-509, 2010.
6. Kurbanov F, Tanaka Y, Matsuura K, Sugauchi F, Elkady A, Khan A, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, Mizokami M. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. *J Infect Dis* 201 (11):1663-1671, 2010.
7. Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M. ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 40 (11):1063-1071, 2010.
8. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Tokunaga K, Mizokami M. lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 40 (5):449-460, 2010.
9. 伊藤清顕、溝上雅史. SNPが決定する治療効果：IL28BおよびITPA SNPs. *肝胆膵* 62 (2):315-324, 2011
10. 伊藤清顕、佐藤陽、溝上雅史. 【サイトカインと疾患 あらたな病態モデルから治療へ】 サイトカインと感染症 C型肝炎と IL-28B(IFN-λ3). *医学のあゆみ* 234 (5):487-492, 2010.
11. 松浦健太郎、田中靖人、溝上雅史. 【慢性ウイルス肝炎 治療の新たな展開】 ウイルス肝炎治療研究の最前線 C型肝炎の治療反応性と宿主因子. *カレントセラピー* 28 (8):750-755, 2010.
12. 正木尚彦、溝上雅史. C型肝炎の治療効果を作用する遺伝子とその現状. *Medical Practice* 27 (8):1414-1415, 2010.
2. 学会発表

1. Ito K, Higami K, Masaki N, Sugiyama M, Mukaide M, Saito H, Aoki Y, Sato Y, Imamura M, Murata K, Tanaka Y, Mizokami M. The Most Accurate and Convenient Genotyping Methods, and Most Appropriate SNP Associated with IL28B for Japanese Chronic Hepatitis C Patients. The 21st conference of APASL, Bangkok 2011.
2. Saito H, Ito K, Aoki Y, Higami K, Sugiyama M, Sato Y, Mukaide M, Saito H, Murata K, Imamura M, Masaki N, Mizokami M. Clinical Factors Associated with the IL28B Polymorphism Prediction Failure to PEG-IFN/RBV Treatment in Chronic Hepatitis C Japanese Patients. The 21st conference of APASL, Bangkok 2011.
3. Sugiyama M, Tanaka Y, Nakanishi M, Mizokami M. GENETIC VARIANTS IN IL28B PROMOTER INFLUENCE THE GENE EXPRESSION LEVELS. AASLD meeting, Boston 2010.
4. Saito H, Ito K, Aoki Y, Higami K, Sugiyama M, Mukaide M, Sato Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. IL28B POLYMORPHISM IS ASSOCIATED WITH THE LEVEL OF LDL CHOLESTEROL AND THE IMPORTANT PREDICTOR FOR THE PEG-IFN/RBV TREATMENT WITH CHRONIC HEPATITIS C. AASLD meeting, Boston 2010.
5. Higami K, Ito K, Saito H, Aoki Y, Sugiyama M, Sato Y, Mukaide M, Imamura M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. THE MOST SUITABLE DETECTION METHOD OF IL28B POLYMORPHISM FOR PREDICTION OF THE RESPONSE TO PEGYLATED INTERFERON-ALPHA/RIBAVIRIN THERAPY IN JAPANESE PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C. AASLD meeting, Boston 2010.
6. Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Matsuura K, Asahina Y, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M. PREDICTION OF RESPONSE TO PEGYLATED-INTERFERON FOR CHRONIC HEPATITIS C: IMPACT OF SNPS NEAR THE IL28B GENE AND MUTATIONS IN THE ISDR OF HCV REVEALED BY DATA MINING ANALYSIS. AASLD meeting, Boston 2010.
7. Sakamoto N, Nakagawa M, Kakinuma S, Tanaka Y, Mizokami M, Watanabe M. IL28B SNPS AND HCV GENETIC PROFILES, NS5A-ISDR AND CORE MUTATIONS ARE SIGNIFICANT PREDICTORS OF PEG-INTERFERON PLUS RIBAVIRIN TREATMENT OUTCOMES. AASLD meeting, Boston 2010.
8. 田中靖人, 徳永勝士, 溝上雅史. C型肝炎における抗ウイルス療法の近未来 IL28B遺伝子多型に基づいたC型肝炎に対するテーラーメイド治療の確立. 第46回日本肝臓学会総会, 山形, 肝臓, 51, A28, 2010.
9. 杉山真也, 田中靖人, 溝上雅史. 肝炎ウイルスによる病態形成、治療抵抗性獲得のメカニズム IL28B遺伝子多型による遺伝子発現制御機構の解明. 第14回日本肝臓学会大会, 横浜, 肝臓, 51, A518, 2010.
10. 菅内文中, 田中靖人, 西田奈央, 松浦健太郎, 黒崎雅之, 坂本直哉, 日野啓介, 西口修平, 泉並木, 徳永勝士, 城卓志, 溝上雅史. C型慢性肝炎に対するPEG-IFN/RBV併用療法の治療効果とIL28B遺伝子多型との関連 年齢・性別によるサブ解析. 第14回日本肝臓学会大会, 横浜, 肝臓, 51, A540, 2010.
11. 杉山真也, 田中靖人, 溝上雅史. IL28B遺伝子多型による遺伝子発現制御機構の解明. 第

52回日本消化器病学会， 横浜， 日本消化器病学会雑誌， 107, A727, 2010.

12. 松浦健太郎， 田中靖人， 溝上雅史. C型肝炎診療の現在・未来 C型慢性肝疾患に対するペグインターフェロン・リバビリン療法に伴う貧血関連遺伝子の検討. 第38回日本肝臓学会東部会， 東京， 肝臓， 51, A667, 2010.

13. 斉藤紘昭， 伊藤清顕， 溝上雅史. C型肝炎診療の現在・未来 C型慢性肝炎に対する Pegylated Interferon- α /Ribavirin併用療法におけるIL28B遺伝子多型で効果予測不能例の検討. 第38回日本肝臓学会東部会， 東京， 肝臓， 51, A668, 2010.

14. 田中靖人， 小原道法， 溝上雅史. ウイルス肝炎における免疫応答の研究 病態解明と治療への応用 IL28B遺伝子型の違いによるインターフェロンの抗ウイルス効果 キメラマウスを用いて. 第38回日本肝臓学会東部会， 東京， 肝臓， 51, A649, 2010.

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成 22 年度）

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：黒崎 雅之 武蔵野赤十字病院 消化器科 部長

分担研究課題：C 型肝炎薬剤応答性のデーターマイニング解析

研究要旨：PEG-IFN・RBV 治療中の溶血性貧血と関連する宿主遺伝子として同定された ITPA 遺伝子多型を他の臨床検査値と組み合わせることにより、治療開始前に高度貧血を予測するモデルを構築した。ITPA (rs1127354) CC genotype は AA/CA genotype と比較し、治療中の Hb 減少の程度が高度で、RBV 減量の頻度も高く、再燃率が高かった。Hb10g/dl 未満の貧血と関連する因子は ITPA (rs1127354) CC genotype、治療開始前 Hb14g/dl 未満、クレアチニンクリアランス 95 未満であり、この 3 因子の組み合わせにより、貧血の頻度が 0%から 88%まで貧血リスクにより症例を層別化することが可能であった。治療開始前に貧血リスクを予測することで、リスクの高い症例では綿密な検査と早期の RBV 減量、リスクの少ない症例ではより高容量の RBV を検討するなど、個別化治療計画の立案が可能となる。

A. 研究目的

PEG-IFN 治療中の溶血性貧血と関連する宿主遺伝子として同定された ITPA 遺伝子多型と、他の臨床検査データを組み合わせることにより、治療開始前に高度貧血を予測するモデルを構築した。

B. 研究方法

武蔵野赤十字病院および名古屋市立大学で PEG-IFN・RBV 併用療法を施行した 132 例を対象とし、ITPA 遺伝子、IL28B 遺伝子をタイピングした。他の一般臨床検査値も含めて解析し、貧血と関連する因子を解析した。

C. 研究結果

ITPA (rs1127354) CC genotype は AA/CA genotype と比較し、治療中の Hb 減少の程度が高度で、RBV 減量の頻度が高かった。Hb10g/dl 未満の貧血と関連する因子は ITPA (rs1127354) CC genotype、治療開始前 Hb14g/dl 未満、クレアチ

ニンクリアランス 95 未満であり、この 3 因子の組み合わせにより、貧血の頻度が 0%、12%、15%、33%、54%および 88%のサブグループを同定することが可能であった。IL28B 遺伝子の Major タイプに限定すると、ITPA (rs1127354) AA/CA genotype では RBV 予定量の 80%以上を投与される率が有意に高く (78% vs 49%, $p=0.016$)、再燃率が有意に低く (19% vs 48%, $p=0.046$)、結果として著効率が有意に高かった (79% vs 41%, $p=0.031$)。

D. 考察

ITPA 遺伝子と、他の臨床検査値を組み合わせることで、治療開始前に高度貧血を予測することが可能であった。治療開始前に貧血リスクを予測することで、リスクの高い症例では綿密な検査と早期の RBV 減量、リスクの少ない症例ではより高容量の RBV を検討するなど、個別化治療計画の立案が可能となる。

E. 結論

ITPA (rs1127354) CC genotype、治療開始前 Hb14g/dl 未満、クレアチニンクリアランス 95 未満を組み合わせることにより、治療開始前に高度貧血を予測することが可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kurosaki M, Tanaka Y, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K, Sugauchi F, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Sakai A, Kaneko S, Ito K, Masaki N, Tokunaga K, Izumi N, Mizokami M. Pretreatment Prediction of Response to Pegylated-Interferon Plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C using Genetic Polymorphism in *IL28B* and Viral Factors. J Hepatol. 2011;54(3):439-48.

2. Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasuhi Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N. Analysis of the correlations between genetic polymorphisms of the *ITPA* gene and hemolytic anemia or outcome after treatment with pegylated- interferon and ribavirin in genotype 1b chronic hepatitis C. Antiviral Therapy in press.

2. 学会発表

1. Kurosaki et al. The *ITPA* genotype correlates with hemolytic anemia and outcome after treatment with pegylated-interferon and ribavirin in genotype 1b chronic hepatitis C. EASL liver

meeting 2011

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成 22 年度）

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：八橋 弘 長崎医療センター 臨床研究センター 治療研究部長
研究協力者：橋元 悟 長崎医療センター 臨床研究センター 肝臓内科

分担研究課題：PEG-IFN 製剤別、IL28B 遺伝子多型が治療応答性に
与える影響に関する解析

研究要旨：PEG-IFN α +Ribavirin(RBV)併用療法において、IL28B 遺伝子多型が HCV-RNA 陰性化に与える影響について、PEG-IFN α 製剤 2 剤間で比較検討した。治療開始後 4・12・24 週における HCV-RNA 陰性化率および SVR 率を比較したところ、IL28B Major (T/T) 症例においては、各週における陰性化率と SVR 率には有意な差を認めなかったが、Hetero/Minor (T/G, G/G) 症例においては、24 週における陰性化率が PEG-IFN α 2a で 50.0% (9/18)、PEG-IFN α 2b で 22.7% (5/22) と、PEG-IFN α 2a で高い傾向にあった ($p=0.072$)。Hetero/Minor 症例の SVR 率に有意な差は認めなかった。この陰性化率の差は、製剤の違いに起因すると考えられた。

A. 研究目的

これまでに、PEG-IFN α +RBV 併用療法において、PEG-IFN α 2b+RBV (PEG2b/R) では IL28B 遺伝子多型に基づく HCV-RNA 陰性化に関する報告は散見されるが、PEG-IFN α 2a+RBV (PEG2a/R) においては、IL28B 遺伝子多型による HCV-RNA 陰性化に関しては明らかになっていない。そこで、PEG-IFN 製剤別、IL28B 遺伝子多型別の HCV-RNA 陰性化率や治療効果を比較することにより、製剤ごとの特徴を検討した。

B. 研究方法

国立病院機構長崎医療センターで C 型慢性肝炎に対して導入した Genotype1b かつ高ウイルス量 (HCV-RNA $\geq 5.0 \log \text{IU/ml}$) の症例について、PEG2b/R においては 2004 年 12 月～2010 年 12 月までに導入した 155 例のうち治療効果の判明した 55 例を、PEG2a/R においては 2007 年 3 月～2010

年 12 月までに導入した 217 例のうち治療効果の判明した 64 例を解析対象とした。治療開始後 4 週・12 週・24 週時点での HCV-RNA 陰性化率および SVR 率を製剤別、IL28B 遺伝子多型別に求め、比較検討した。IL28B 遺伝子多型の解析は、rs8099917 を対象とし、Major を T/T、Hetero を T/G、Minor を G/G とした。統計解析は χ^2 検定により行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、「臨床研究に関する倫理指針」(改訂版)を遵守し、当院倫理審査委員会の承認を受けて実施した。検体の採取から診療情報の利用に関しては、患者から書面にてインフォームド・コンセントを得た。検体の処理にあたっては、匿名化し、患者が特定できないようにした。

C. 研究結果

IL28B 遺伝子多型 Major においては、PEG2a/R・PEG2b/R がそれぞれ 37 例・42 例であった。治療開始後 4、12、24 週での HCV-RNA 陰性化率はそれぞれ、16.2% (6/37)・7.1% (3/42)、62.2% (23/37)・45.2% (19/42)、83.8% (31/37)・71.4% (30/42) であった。SVR 率はそれぞれ、37.8% (14/37)・33.3% (14/42) であった。いずれの週においても両剤間での陰性化率に統計学的有意差は認めなかった。

次に、Hetero/Minor においては、PEG2a/R・PEG2b/R がそれぞれ 18 例・22 例であった。治療開始後 4、12、24 週での HCV-RNA 陰性化率はそれぞれ、0% (0/18)・0% (0/22)、11.1% (2/18)・9.1% (2/22)、50.0% (9/18)・22.7% (5/22) であった。SVR 率はそれぞれ、16.7% (3/18)・4.5% (1/22) であった。24 週時点での HCV-RNA 陰性化率は PEG2a/R で高い傾向にあった ($p=0.072$)。

D. 考察

IL28B 遺伝子多型が治療応答性に与える影響を PEG-IFN 製剤間で比較したところ、Major 症例では HCV-RNA 陰性化率に有意な差を認めなかったが、Hetero/Minor 症例では、治療開始後 24 週での HCV-RNA 陰性化率が PEG2a/R で高い傾向を認めた。Hetero/Minor 症例における薬剤投与量 adherence を比較したが、ほぼ同等であり、この陰性化率の差は、薬物の体内分布や動態など製剤間の差に起因するものと考えられた。なお、今回の検討は少数例であるため、今後症例を集積してさらなる検討を行う必要があると考えられた。

E. 結論

IL28B 遺伝子多型が治療応答性に与える影響を PEG-IFN 製剤間で比較したところ、Major 症例では HCV-RNA 陰性化率に有意な差を認めなかった

が、Hetero/Minor 症例では、治療開始後 24 週での HCV-RNA 陰性化率が PEG2a/R で高い傾向を認めた。Hetero/Minor 症例における両剤間での患者背景に際立った違いは認めないことから、この陰性化率の差は製剤の違いに起因するものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) Tateyama M, Yatsushashi H, Taura N, Motoyoshi Y, Nagaoka S, Yanagi K, Abiru S, Yano K, Komori A, Migita K, Nakamura M, Nagahama H, Sasaki Y, Miyakawa Y, Ishibashi H. Alpha-fetoprotein above normal levels as a risk factor for the development of hepatocellular carcinoma in patients infected with hepatitis C virus. J Gastroenterol. 2011.46(1):92-100.

(2) Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsushashi H, Izumi N. Pretreatment prediction of response to peginterferon plus ribavirin therapy in genotype 1 chronic hepatitis C using data mining analysis. J Gastroenterol. 2010 Sep 10.

(3) Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M. ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. Hepatol Res. 2010. 40(11):1063-1071

2. 学会発表

なし

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成 22 年度）

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：渡辺 久剛 山形大学医学部消化器内科学 助教

研究協力者：石井 里佳 山形大学医学部消化器内科学 特任助教

分担研究課題：肝炎コホートにおける自然治癒関連因子の解析

研究要旨：無治療の HCV 持続感染者を対象とした長期コホート研究は、HCV 感染自然史を知りうる貴重な分子疫学研究であるが、コホートを基にしたウイルス自然治癒機構の解析やその頻度、肝発癌を含めた予後についてはこれまでほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、一般住民の肝炎コホートを用い、HCV 自然治癒関連因子としての IL28B SNPs の有用性について解析した。まず本コホートにおける HCV RNA 累積自然陰性化率を算出した。次に IL28B 近傍 SNPs と HCV 自然治癒との関係を検討したところ、メジャーホモタイプにおいて有意にその頻度が高く、一方ヘテロマイナータイプでは持続感染率が高かった。多変量解析では IL28B 遺伝子多型が HCV 自然治癒に関わる最も重要な因子であり、ほかに AST 値、ZTT 値などが独立した自然治癒関連因子であった。一般住民における肝炎コホートにおいて、IL28B 近傍の SNPs は HCV 自然治癒関連因子として重要であると考えられた。

A. 研究目的

HCV 持続感染者の 20－30%を占めるとされる無症候性キャリアでは、ALT 値が正常であるにもかかわらずウイルスの自然排除が行われないことが多いことから、実際、感染 HCV の複製機構が自然に止まりウイルス排除に向かうことは非常に稀な現象と考えられる。一方、すべての HCV 持続感染者が重篤な肝疾患に進展するわけでもない。

C 型肝炎の予後は、抗ウイルス治療が介在する病院受診者を対象とした研究と、一般住民を対象とした研究で大きく異なる。HCV 感染者のほとんどは無症状で経過するため、HCV 感染自然史を理解するためには、一般集団における大規模なコホート研究が必要であり、とくに HCV 高浸淫地域住民を対象とした長期前向きコホート研究が最も

望ましいと考えられる。

現在までに C 型肝炎に関する多くの宿主側、ウイルス側因子の解明が進んでいるにもかかわらず、HCV 持続感染後のウイルス血症からの自然治癒や肝発がんをはじめとする自然予後・経過についてはいまだ不明な点が多い。そこで一般住民の肝炎コホートを用い、HCV 感染の自然経過、とくに HCV 自然治癒について、その関連因子を解析した。

B. 研究方法

1991 年より 2009 年まで C 型肝炎高浸淫地域（HCV 抗体陽性率 13%）8,000 名余りを対象に HCV RNA 陽性者をコホート追跡した。HCV RNA 持続陽性 846 人中、HBs 抗原陽性例やインターフェロン治療例を除き、逐年検診を 1 回以上受診した 454

人（平均 61.2 ± 9.9 歳）を検討対象とした。経年的に TaqMan HCV にて血中ウイルス量を測定し、累積陰性化率を推定した。さらに IL28B SNPs をこのコホート集団で解析し、Cox 比例ハザードモデルにより HCV RNA 陰性化に寄与するリスクを分析した。

C. 研究結果

平均観察期間は 16.0 ± 1.6 年であった。TaqMan HCV による HCV RNA 自然陰性化は 45 例（9.9%）で認められた。Kaplan-Meier 法による HCV RNA 累積自然治癒率は 4.3%（5 年）、8.1%（10 年）、11.6%（15 年）であった。人年法による解析では、0.6%/year person の頻度で HCV が自然治癒している可能性があることが明らかとなった。

本コホートにおける IL28B 近傍 SNPs の頻度を解析すると、メジャーホモタイプ（T/T）が 347 例（76.4%）、ヘテロタイプ（T/G）が 98 例（21.6%）、マイナータイプ（G/G）が 9 例（2%）であった。そこで IL28B 近傍 SNPs と HCV 自然治癒との関係を検討したところ、HCV 自然治癒群においてはメジャーホモタイプが 95.6%を占め、その頻度が有意に高く、一方 HCV 持続感染群においてはメジャーホモタイプ 74.3%、ヘテロマイナータイプ 25.7%と、ヘテロマイナータイプの頻度が有意に高かった。

さらに HCV 自然治癒に関連する因子を多変量解析したところ、IL28B 遺伝子多型が最も重要な因子であり、ほかに AST 値、ZTT 値などが独立した自然治癒関連因子であった。

D. 考察

国内外のこれまでのエビデンスより、HCV キャリアからのウイルス自然消失は起こり得る事象と考えられる。しかし本コホートの追跡結果を含

む、我が国の一般住民におけるその頻度は高いものではなく、HCV 排除には抗ウイルス治療の介入が不可欠であることを示唆する結果であった。

慢性感染におけるウイルス自然消失にはさまざまなウイルス側因子、宿主側因子が影響を与えられているが、一般住民を対象とした HCV コホートでは、IL28B 遺伝子多型が最も自然治癒に関連した因子であり、HCV 感染者の自然予後規定に重要な役割を果たしていることが示唆された。今後は肝臓がんをはじめとする HCV 感染予後に関わる因子についての解明が期待される。

E. 結論

一般住民における肝炎コホートにおいて、HCV 自然治癒関連因子について検討した。HCV キャリアは自然経過の中で自然治癒している可能性があり、IL28B 近傍の SNPs は、肝炎コホートにおける HCV 自然治癒関連因子として重要であることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Haga H, Saito T, Okumoto K, Ugajin S, Sato C, Ishii R, Nishise Y, Ito J, Watanabe H, Saito K, Togashi H, Kawata S: Enhanced expression of fibroblast growth factor 2 in bone marrow cells and its potential role in the differentiation of hepatic epithelial stem-like cells into the hepatocyte lineage. Cell Tissue Res 343: 371-378, 2010.

2. Watanabe H, Wells F, and Major ME: Clearance of hepatitis C in chimpanzees is associated with intrahepatic T-cell perforin expression during late acute phase. J Viral Hepatitis 17: 245-253, 2010.

3. Sanjo M, Saito T, Nishise Y, Haga H, Okumoto K, Ito J, Watanabe H, Saito K, Togashi H, Fukuda K, Imai Y, El Shamy A, Deng L, Shoji I, Hotta H, Kawata S: Secondary structure of the amino-terminal region of HCV NS3 and virological response to pegylated interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. J Med Virol 82: 1364-1370, 2010.

4. Nishise Y, Saito T, Makino N, Okumoto K, Ito JI, Watanabe H, Saito K, Togashi H, Ikeda C, Kubota I, Daimon M, Kato T, Fukao A, Kawata S: Relationship between alcohol consumption and serum adiponectin levels: the Takahata study- a cross-sectional study of a healthy Japanese population. J Clin Endocrinol Metab 95: 3828-3835, 2010.

5. 渡辺久剛、斎藤貴史、西瀬雄子、邵力、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、奥本和夫、斎藤孝治、富樫 整、新沢陽英、河田純男：HCV コホート研究による持続感染者の自然経過。HCV 感染の natural course を探る：わが国におけるコホート研究（河田純男監修、佐田通夫・新沢陽英・斎藤貴史編）p45-50, 山形大学出版, 山形, 2011.

2. 学会発表

1. Watanabe H, Saito T, Ishii R, Sato C, Haga H, Sanjo M, Okumoto K, Nishise Y, Ito J, Saito K, Kawata S: Incidence of hepatocellular carcinoma after achieving sustained virological response to interferon therapy for chronic hepatitis C. The 61th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, November

2010.

2. Watanabe H, Wells F, Saito T, Sato C, Ishii R, Haga H, Sanjo M, Okumoto K, Nishise Y, Ito J, Saito K, Kawata S, and Major ME: Clearance of hepatitis C virus in chimpanzees is associated with intrahepatic perforin expression during the late acute phase. 18th United European Gastroenterology Week, Barcelona, Spain, October 2010.

3. 渡辺久剛、斎藤貴史、西瀬雄子、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、三條麻衣、奥本和夫、伊藤純一、斎藤孝治、富樫 整、新沢陽英、河田純男：B型肝炎ジェノタイプB型高浸淫地域における急性B型肝炎の実態。第14回日本肝臓学会大会, 2010年10月。

4. 渡辺久剛、斎藤貴史、西瀬雄子、邵力、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、三條麻衣、奥本和夫、伊藤純一、斎藤孝治、石橋正道、富樫 整、新沢陽英、河田純男：HCV コホート研究による持続感染者の自然経過。第46回日本肝臓学会総会サテライトシンポジウム「HCV 感染の natural course を探る：わが国におけるコホート研究」, 2010年5月。

5. 渡辺久剛、斎藤貴史、西瀬雄子、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、三條麻衣、奥本和夫、伊藤純一、斎藤孝治、富樫 整、新沢陽英、河田純男：HCV コホートにおけるウイルス自然治癒および肝発癌の検討。第46回日本肝臓学会総会, 2010年5月。

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の
データベース構築・治療応用に関する研究

研究分担者：菅内 文中 名古屋市立大学 大学院医学研究科 研究員

分担研究課題：ヒト肝細胞置換キメラマウスの *IL28B* 遺伝子多型と
インターフェロン投与による抗ウイルス効果との関連

研究要旨：C 型肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン (PEG-IFN/RBV) 治療効果を規定する *IL28B* 遺伝子多型 (SNP) が同定されたが、そのメカニズムは明らかにされていない。 *IL28B* 遺伝子型の異なるドナー肝細胞を移植したヒト肝細胞置換キメラマウスを用いて IFN による抗 HCV 効果の違いを検討した。 HCV-1b の感染源 (ヒト血清) をキメラマウスに経静脈的に接種し感染を確認した後、PEG-IFN α 2a を 30 μ g/kg、day0, 3, 7, 10 の計 4 回接種した。 *IL28* 近傍の SNP が異なるドナー肝細胞を移植した 4 種類のマウス系統を用いた。 HCV-1b の感染源接種により全例 HCV 感染を確認した。 PEG-IFN α 2a 投与 14 日目での HCV-RNA 減少量 (log reduction) を比較した結果、rs8099917-TT (major) では平均 2.2log の減少を認めたのに対して、rs8099917-GG (minor) では平均 1.9log の減少となり両群間で有意差を認めなかった。 キメラマウスは SCID マウスであり、免疫不全状態において、 *IL28* 遺伝子型の異なるマウス間で IFN の抗 HCV 効果に差が見られなかったことより、 *IL28B* 遺伝子型による治療効果の差は、免疫担当細胞の役割も重要であると考えられた。

A. 研究目的

C 型肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン (PEG-IFN/RBV) 治療効果を規定する *IL28B* 遺伝子多型 (SNP) が同定されたが、そのメカニズムは明らかにされていない。 C 型慢性肝炎 54 例に対する PEG-IFN/RBV 治療による *IL28* 遺伝子型の違いによるウイルスダイナミクスおよび、 *IL28B* 遺伝子型の異なるドナー肝細胞を移植したヒト肝細胞置換キメラマウスを用いて IFN による抗 HCV 効果の違いを検討した。

B. 研究方法

長崎医療センターおよび名古屋市立大学にて C

型慢性肝炎に対して PEG-IFN/RBV 治療にを施行した 54 例を対象とした。 血液採集は day1 and 1, 2, 3, 4, 8 and 12 週におこなった。 HCV -RNA は Abbott Real time HCV test で施行した。 *IL28* 遺伝子型は TaqMan SNP genotyping assay を用いた。 キメラマウスについては *IL28* 近傍の SNP が異なるドナー肝細胞 (major-homozygote, minor-homozygotes) を移植した 4 種類のマウス系統を用いた (Table 1)。 HCV-1b の感染源 (ヒト血清：core70Q and ISDR wild type) をキメラマウスに経静脈的に接種し感染を確認した後、PEG-IFN α 2a を 30 μ g/kg、day0, 3, 7, 10 の計 4 回接種した (Table 2)。 血中の HCV-RNA 量はリアル