

クションにより let-7 は Bcl-xL の発現を抑制し、レポーターアッセイによりこの抑制は配列特異的な現象であることを示した。ヒト肝癌試料の解析により、let-7 の発現が低い肝癌では Bcl-xL の発現が亢進していることが示された。

・研究分担者(宇都浩文)

酸化ストレスマーカー候補としてプロテオミクスから同定した MnSOD の血清濃度と既知の酸化ストレスマーカーである血清チオレドキシンの臨床的意義について解析した。HCV 関連肝癌患者血清中に増加するタンパクとしてアポトーシス抑制に関与する因子および CC ケモカインの 1 種をプロテオミクスから同定した。

・研究分担者(前川伸哉)

RANTES と IL-8 についてビーズアレイ法を用いて精密定量を行ったところ (n=45)、IL-8 低値群と RANTES 高値群で SVR 率が有意に高いことを確認した (それぞれ  $p=0.016$ 、 $p=0.049$ )。RANTES は治療抵抗性のウイルス因子を含めた多変量解析でも独立した因子として抽出された。

・研究分担者(村上周子)

HBV 感染による肝線維化メカニズムを解析するマウスモデルを準備するための予備実験として、ヒト肝細胞置換キメラマウス (PXB マウス) の HBV 感染における肝障害と線維化の関係を検討した。ALT の高いグループにおいて肝細胞の障害像が観察され、線維化を確認した。

・研究分担者(堀本勝久)

TRANSFAC に収納される 3096 のヒト制御因子-遺伝子二項関係から、Molecular Signatures Database (MSigDB) の生物機能分類された遺伝子セットに基づき 1760 の制御ネットワーク (reference network) を準備した。この reference network に対し、特異的条件下で計測した発現データを適用することで、グラフ整合性確率を算出した。当該条件下で活性化していると推定される制御ネットワークを抽出するシステムを構築した。

#### **IV. 23~24 年度の課題**

・研究代表者(金子周一)

AFP、EpCAM に対する薬物が有効であるがんの特徴を明らかにする。肝外転移をきたすがん、肝内転移をきたすがんの分子を明らかにする。これらマーカーを用いた診断法を開発する。作製された分子標的薬を評価する。

・研究分担者(小原道法)

肝癌幹細胞で発現する EpCAM 等を標的とする siRNA を肝細胞がん細胞に導入し、抗がん作用について解析する。低分子化合物ライブラリーをスクリーニングし EpCAM 阻害活性物質を得る。

・研究分担者(菅 裕明)

同定ができていない特殊環状ペプチドの生理活性の検討を引き続き行い、顕著な活性が認められるものについては更なる評価をマウス等の動物を用い検討を進める。

・研究分担者(深澤征義)

HCV ライフサイクルにおける脂肪滴局在宿主タンパク質の役割を検討する。脂質ラフト結合因子の性状解析と抗 HCV 薬としての可能性を検討する。HCV NS4B 結合宿主因子の同定と HCV ライフサイクルにおける役割を検討する。

・研究分担者(竹原徹郎)

let7 マイクロ RNA の肝癌における細胞生物学的な意義を解析する。

・研究分担者(宇都浩文)

有用性を、HBV 関連肝癌を含めて多数例で検証する。また、タンパクの病態との関連を明らかにする。

- 研究分担者(前川伸哉)

RANTES、IL-8 と治療効果の関連を、肝生検組織を含めた臨床検体における検討でさらに検証するとともに、HCV 培養細胞系を用いて機能解析を行う。血清と肝組織中のサイトカインとの関連を明らかとする。サイトカインの抗ウイルス効果の確認と分子的な作用機序について検討を進める。

- 研究分担者(村上周子)

HBV を感染させた PXB マウスに PEG-IFN $\beta$  をヒト型とマウス型でそれぞれ投与し、繊維化やウイルス排除に与える影響や違いについて解析を行うとともに、線維化に寄与する分子種について明らかにする。

- 研究分担者(堀本勝久)

現解析システムにおけるネットワーク構造推定手法の導入。肝炎発現データの適用によるウイルス性肝炎特異的活性化ネットワークを同定する。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) 肝炎対策基本法に則った医療を達成する。
- (2) 肝臓が関連する死亡数を低下させる。
- (3) 新規の診断および治療薬を開発する。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

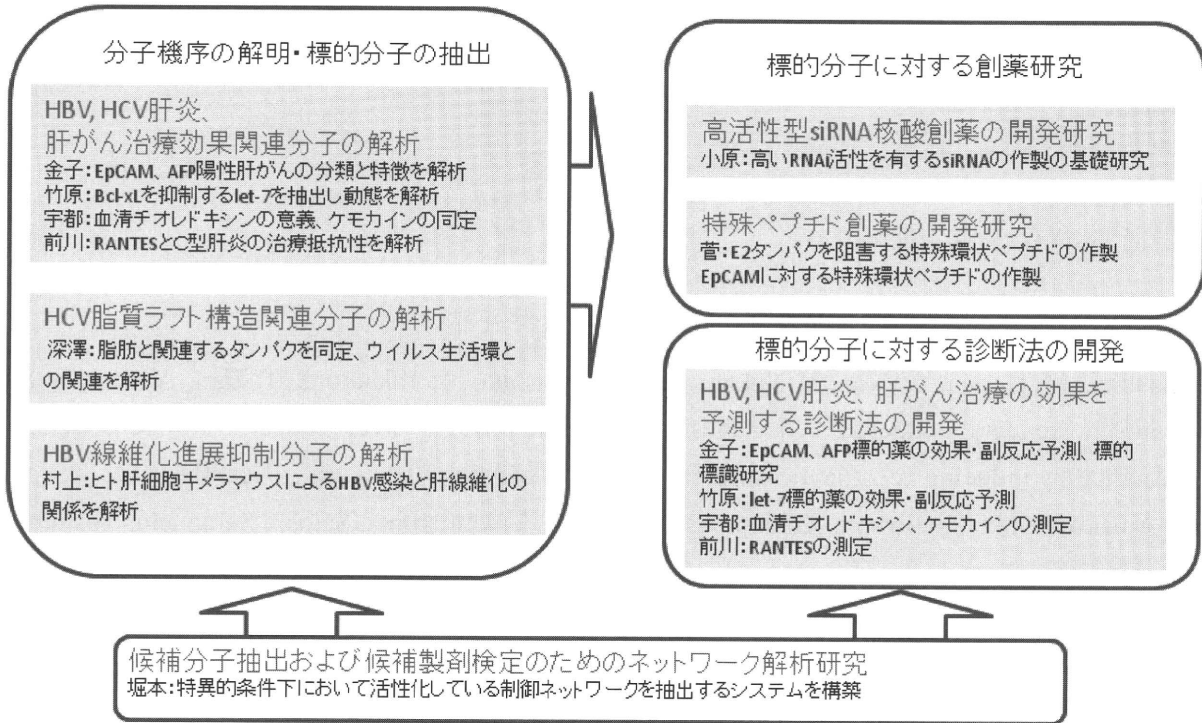
1. T Yamashita, M Honda, K Nio, Y Nakamoto, T Yamashita, H Takamura, T Tani, Y Zen, S Kaneko. Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. *Cancer Res* 70(11):4687-97, 2010.
2. Yutaka Amako, Kyoko Tsukiyama-Kohara, Asao Katsume, Yuichi Hirata, Satoshi Sekiguchi, Yoshimi Tobita, Yukiko Hayashi, Tsunekazu Hishima, Nobuaki Funata, Hiromichi Yonekawa and Michinori Kohara. Pathogenesis of hepatitis C virus infection in *Tupaia belangeri* *J. Virology* 84(1):303-311, 2010.
3. Y Goto, T Katoh, H Suga. Flexizymes for genetic code reprogramming. *Nature Protocols* (in press)
4. Fukasawa M. Cellular lipid droplets and hepatitis C virus life cycle. *Biol. Pharm. Bull.* 33(3): 355-359, 2010.
5. Hikita H, Takehara T, Shimizu S, Kodama T, Shigekawa M, Iwase K, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. *Hepatology* 52:1310-1321, 2010.
6. Takami Y, Uto H, Tamai T, Sato Y, Ishida Y, Morinaga H, Sakakibara Y, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Nakajima T, Okanoue T, Tsubouchi H. Identification of a novel biomarker for oxidative stress induced by hydrogen peroxide in primary human hepatocytes using the 2-nitrobenzenesulfonyl chloride isotope labeling method. *Hepatology Res* 40: 438-45, 2010.
7. Enomoto N, Maekawa S. HCV genetic elements determining the early response to peginterferon and ribavirin therapy. *Intervirology*. 53(1):66-9, 2010.
8. Zhou H, Saito S, Hu R, Piao G, Wang J, Liu Z, Horimoto K. and Chen L. Network Screening of Goto-Kakizaki Rat Liver Microarray Data during Diabetic Progression. *BMC Sys. Biol.* (in press)
9. Oda Y, Yoshimura Y, Ohnishi H, Tadokoro M, Katsube Y, Sasao M, Kubo Y, Hattori K, Saito S, Horimoto K, Yuba S, and Ohgushi H. Induction of pluripotent stem cells from human third molar mesenchymal stromal cells. *J. Biol. Chem.*, 285: 29270-29278, 2010.

**Ⅶ. Ⅲ(1年間の研究成果)の概要図等**

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。

目的: 最新の解析・創薬技術を用いてウイルス性肝炎および肝がんの分子標的医療を開発する

**本年度の研究成果**



初年度はEpCAM, AFP, let-7などを標的とする分子の動態を明らかにし、これらの分子を標的とする分子診断とsiRNAおよび特殊環状ペプチドを用いた創薬研究を実施した

## ●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

### ・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 62 年～平成元年	米国国立衛生研究所(NIH)客員研究員
平成 5 年～平成 7 年	米国南カリフォルニア大学客員教授
平成 8 年～平成 16 年	金沢大学医学部第一内科 講師・助教授
平成 16 年～	金沢大学大学院医学系研究科恒常性制御学(消化器内科) 教授
平成 18 年～平成 21 年	金沢大学医学部長(兼任)
平成 22 年～	金沢大学附属病院副院長(兼任)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

昭和 58 年～昭和 61 年	金沢大学 服部 信教授、吉川 寛教授、村上清史助教授
昭和 62 年～平成元年	米国国立衛生研究所(NIH) Robert H Purcell
平成 5 年～平成 7 年	米国南カリフォルニア大学 French Anderson
平成 8 年～平成 15 年	金沢大学 小林健一教授

### ・主な研究課題

- ・肝炎ウイルスによる肝炎発症機構の解明と、その制御、治療に関する研究
- ・肝発癌の解析と、肝癌診断および治療に関する研究
- ・Genomics 技術を用いた肝臓病学、および血液を用いた診断学の研究

### ・これまでの研究実績

※本研究の成果以外の実績も記載してください。

1. H Misu, T Takamura, H Takayama, H Hayashi, N Matsuzawa-Nagata, S Kurita, K Ishikura, H Ando, Y Takeshita, T Ota, M Sakurai, T Yamashita, E Mizukoshi, T Yamashita, M Honda, K Miyamoto, T Kubota, N Kubota, T Kadowaki, HJ Kim, IK Lee, Y Minokoshi, Y Saito, K Takahashi, Y Yamada, N Takakura, S Kaneko. A liver-derived secretory protein, selenoprotein P, causes insulin resistance. Cell Metab 12(5):483-95, 2010 Nov.
2. J Furuse, T Okusaka, S Kaneko, M Kudo, K Nakachi, H Ueno, T Yamashita, K Ueshima. Phase I/II study of the pharmacokinetics, safety and efficacy of S-1 in patients with advanced hepatocellular carcinoma. Cancer Sci (in press)
3. Y Iwasaki, Y Shiratori, S Hige, S Nishiguchi, H Takagi, M Onji, H Yoshida, N Izumi, Y Kohgo, K Yamamoto, N Sato, A Shibuya, H Saito, M Sata, K Suzuki, S Kaneko, M Moriyama, and M Omata. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon  $\alpha$ -2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. Hepatol Int (in press)
4. S Kaneko, M Sata, T Ide, T Yamashita, S Hige, E Tomita, S Mochida, Y Yamashita, Y Inui, SR Kim, N Komada, T Mikami, S Satoh, S Morita, K Takaguchi, N Hirashima, Y Nishio, D Watanabe, K Kioka, K

- Fujiwara. Efficacy and safety of double filtration plasmapheresis in combination with interferon therapy for chronic hepatitis C. *Hepatology* 40(11):1072-1081, 2010 Nov.
5. H Nuriya, K Inoue, T Tanaka, Y Hayashi, T Hishima, N Funata, K Kaji, S Hayashi, S Kaneko, Kohara M. Detection of hepatitis B and C viruses in almost all hepatocytes by modified PCR-based in situ hybridization. *J Clin Microbiol* 48(11):3843-51, 2010 Nov.
  6. **M Honda, M Nakamura, M Tateno, A Sakai, T Shimakami, T Shirasaki, T Yamashita, K Arai, T Yamashita, Y Sakai, S Kaneko.** *Differential interferon signaling in liver lobule and portal area cells under treatment for chronic hepatitis C.* *J Hepatol* 53(5):817-26, 2010 Nov.
  7. **M Honda, Y Sakai, T Yamashita, T Yamashita, A Sakai, E Mizukoshi, Y Nakamoto, I Tatsumi, Y Miyazaki, H Tanno, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group.** *Differential gene expression profiling in blood from patients with digestive system cancers.* *Biochem Biophys Res Commun* 400(1):7-15, 2010 Sep.
  8. A Kitao, Y Zen, O Matsui, T Gabata, S Kobayashi, W Koda, K Kozaka, N Yoneda, T Yamashita, S Kaneko, Y Nakanuma. Hepatocellular Carcinoma: Signal Intensity at Gadoteric Acid-enhanced MR Imaging--Correlation with Molecular Transporters and Histopathologic Features. *Radiology* 256(3):817-26, 2010 Sep.
  9. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, H Nakagawa, E Mizukoshi, M Naito, N Mukaida, S Kaneko. Antitumor Effect after Radiofrequency Ablation of Murine Hepatoma Is Augmented by an Active Variant of CC Chemokine Ligand 3/Macrophage Inflammatory Protein-1 $\alpha$ . *Cancer Res* 70(16):6556-65, 2010 Aug.
  10. **M Honda, A Sakai, T Yamashita, Y Nakamoto, E Mizukoshi, Y Sakai, T Yamashita, M Nakamura, T Shirasaki, K Horimoto, Y Tanaka, K Tokunaga, M Mizokami, S Kaneko; Hokuriku Liver Study Group.** *Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C.* *Gastroenterology* 139(2):499-509, 2010 Aug.
  11. T Shirasaki, M Honda, H Mizuno, T Shimakami, H Okada, Y Sakai, S Murakami, T Wakita, S Kaneko. La Protein Required for Internal Ribosome Entry Site-Directed Translation Is a Potential Therapeutic Target for Hepatitis C Virus Replication. *J Infect Dis* 202(1):75-85, 2010 Jul.
  12. **T Yamashita, M Honda, K Nio, Y Nakamoto, T Yamashita, H Takamura, T Tani, Y Zen, S Kaneko.** *Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation.* *Cancer Res* 70(11):4687-97, 2010 Jun.
  13. E Mizukoshi, Y Nakamoto, K Arai, T Yamashita, N Mukaida, K Matsushima, O Matsui, S Kaneko. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 126(9):2164-74, 2010 May
  14. Y Wu, Y Y Wang, Y Nakamoto, Y-Y Li, T Baba, S Kaneko, C Fujii, N Mukaida. Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. *Oncogene* 29(15):2228-37, 2010 Apr.
  15. Y Hodo, SI Hashimoto, M Honda, T Yamashita, Y Suzuki, S Sugano, S Kaneko, K Matsushima. Comprehensive gene expression analysis of 5'-end of mRNA identified novel intronic transcripts associated with hepatocellular carcinoma. *Genomics* 95(4):217-23, 2010 Apr.
  16. T Yamashita, J Ji, A Budhu, M Forgues, W Yang, HY Wang, H Jia, Q Ye, LX Qin, E Wauthier, LM Reid, H Minato, M Honda, S Kaneko, ZY Tang, XW Wang. EpCAM-Positive Hepatocellular Carcinoma

- Cells Are Tumor-Initiating Cells With Stem/Progenitor Cell Features. Gastroenterology 136(3):1012-1024, 2009.
17. S Ura, M Honda, T Yamashita, T Ueda, H Takatori, R Nishino, H Sunakozaka, Y Sakai, K Horimoto, and S Kaneko. Differential microRNA expression between hepatitis B and hepatitis C leading disease progression to hepatocellular carcinoma. Hepatology 49(4):1098-1112, 2009.
18. Y Sakai, M Honda, H Fujinaga, I Tatsumi, E Mizukoshi, Y Nakamoto, and S Kaneko. Common transcriptional signature of tumor-infiltrating mononuclear inflammatory cells and peripheral blood mononuclear cells in hepatocellular carcinoma patients. Cancer Res 68(24):10267-10279, 2009.
19. S Nakamura, T Takamura, N Matsuzawa-Nagata, H Takayama, H Misu, H Noda, S Nabemoto, S Kurita, T Ota, H Ando, K Miyamoto, S Kaneko. Palmitate Induces Insulin Resistance in H4IIEC3 Hepatocytes through Reactive Oxygen Species Produced by Mitochondria. J Biol Chem 284(22):14809-14818, 2009.
20. H Ando, T Takamura, N Matsuzawa-Nagata, KR Shima, S Nakamura, M Kumazaki, S Kurita, H Misu, N Togawa, T Fukushima, A Fujimura, S Kaneko. The hepatic circadian clock is preserved in a lipid-induced mouse model of non-alcoholic steatohepatitis. Biochem Biophys Res Commun 380(3):684-688, 2009.
21. H Ando, T Takamura, N Matsuzawa-Nagata, KR Shima, T Eto, H Misu, M Shiramoto, T Tsuru, S Irie, A Fujimura, and S Kaneko. Clock gene expression in peripheral leucocytes of patients with type 2 diabetes. Diabetologia 52(2):329-335, 2009.
22. T Yamashita, M Honda, H Takatori, R Nishino, H Minato, H Takamura, T Ohta, and S Kaneko. Activation of lipogenic pathway correlates with cell proliferation and poor prognosis in hepatocellular carcinoma. J Hepatology 50(1):100-110, 2009.
23. BK Popivanova, K Kitamura, Y Wu, T Kondo, T Kagaya, S Kaneko, M Oshima, C Fujii, N Mukaida. Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. J Clin Invest 118(2):560-570, 2008.
24. T Takamura, H Misu, N Matsuzawa-Nagata, M Sakurai, T Ota, A Shimizu, S Kurita, Y Takeshita, H Ando, M Honda, S Kaneko. Obesity upregulates genes involved in oxidative phosphorylation in livers of diabetic patients. Obesity 16(12):2601-2609, 2008.
25. H Minagawa, T Yamashita, M Honda, Y Tabuse, K Kamijo, A Tsugita, and S Kaneko. Comparative analysis of proteome and transcriptome in human hepatocellular carcinoma using 2D-DIGE and SAGE. Protein J 27(7-8):409-419, 2008.
26. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, N Mukaida, and S Kaneko. Optimal amount of monocyte chemoattractant protein-1 enhances antitumor effects of suicide gene therapy against hepatocellular carcinoma by M1 macrophage activation. Cancer Sci 99(10):2075-2082, 2008.
27. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, K Kakinoki, YY Li, Y Wu, K Matsushima, S Kaneko, and N Mukaida. Tumor cell apoptosis induces tumor-specific immunity in a CC chemokine receptor 1- and 5-dependent manner in mice. J Leukoc Biol 84(4):1001-1010, 2008.
28. E Mizukoshi, M Honda, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, and S Kaneko. Expression of multidrug resistance-associated protein 3 and cytotoxic T cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. J Hepatol 49(6):946-954, 2008.

29. N Matsuzawa-Nagata, T Takamura, H Ando, S Nakamura, S Kurita, H Misu, T Ota, M Yokoyama, M Honda, K Miyamoto, and S Kaneko. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. Metabolism 57(8):1071-1077, 2008.
30. R Nishino, M Honda, H Takatori, H Minato, Y Zen, M Sasaki, H Takamura, K Horimoto, T Ohta, Y Nakanuma, and S Kaneko. Identification of novel candidate tumour marker genes for intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatol 49(2):207-216, 2008.
31. R Teramoto, H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, K Kamijo, T Ueda, S Kaneko. Protein expression profile characteristic to hepatocellular carcinoma revealed by 2D-DIGE with supervised learning. Biochim Biophys Acta 1784(5):764-772, 2008.
32. H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, R Teramoto, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, T Ueda, K Kamijo, and S Kaneko. Comparative proteomic and transcriptomic profiling of human hepatocellular carcinoma. Biochem Biophys Res Commun 366(1):186-192, 2008.
33. S Aburatani, F Sun, S Saito, M Honda, S Kaneko, and K Horimoto. Gene systems network inferred from expression profiles in hepatocellular carcinogenesis by graphical gaussian model. EURASIP J Bioinform Syst Biol 47214, 2007.
34. Y Kita, E Mizukoshi, T Takamura, M Sakurai, Y Takata, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, and S Kaneko. Impact of diabetes mellitus on prognosis of patients infected with hepatitis C virus. Metabolism 56(12):1682-1288, 2007.
35. T Takamura, M Honda, Y Sakai, H Ando, A Shimizu, T Ota, M Sakurai, H Misu, S Kurita, N Matsuzawa-Nagata, M Uchikata, S Nakamura, R Matoba, M Tanino, K Matsubara, and S Kaneko. Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells reflect the pathophysiology of type 2 diabetes. Biochem Biophys Res Commun 361(2):379-384, 2007.
36. N Matsuzawa, T Takamura, S Kurita, H Misu, T Ota, H Ando, M Yokoyama, M Honda, Y Zen, Y Nakanuma, K Miyamoto, and S Kaneko. Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet. Hepatology 46(5):1392-1403, 2007.
37. N Oishi, K Shilagardi, Y Nakamoto, M Honda, S Kaneko, and S Murakami. Hepatitis B virus X protein overcomes oncogenic RAS-induced senescence in human immortalized cells. Cancer Sci 98(10):1540-1548, 2007.
38. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, Y Marukawa, M Kitahara, N Mukaida, and S Kaneko. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. J Immunol 178(1):574-583, 2007.
39. T Ota, T Takamura, S Kurita, N Matsuzawa, Y Kita, M Uno, H Akahori, H Misu, M Sakurai, Y Zen, Y Nakanuma, and S Kaneko. Insulin resistance accelerates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology 132(1):282-293, 2007.
40. M Tateno, M Honda, T Kawamura, H Honda, and S Kaneko. Expression profiling of peripheral-blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C undergoing interferon therapy. J Infect Dis 195(2):255-267, 2007.
41. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, Y Marukawa, M Kitahara, N Mukaida, and S Kaneko. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. J Immunol 178(1):574-583, 2007.

42. H Misu, T Takamura, N Matsuzawa, A Shimizu, T Ota, M Sakurai, H Ando, K Arai, T Yamashita, M Honda, T Yamashita, and S Kaneko. Genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately upregulated with fasting hyperglycaemia in livers of patients with type 2 diabetes. Diabetologia 50(2):268-277, 2007.

特許取得数 1件

【登録番号】特登-03955379

【発明の名称】C型肝炎ウイルス除去用吸着材、吸着装置及び吸着方法

【特許権者】株式会社カネカ

【発明者】荻野 英司、野村 道雄、旭孝 司、金子 周一、酒井 明人

政策提言：肝炎研究7カ年戦略（平成20年、平成21年）

肝がん診療ガイドライン（2005年版, 2009年度版）



## 平成22年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：ウイルス性肝炎からの発がん及び肝がん再発の抑制に関する研究課題番号：H22-肝炎一般-004予定期間：H22年度からH24年度まで研究代表者：林 紀夫所属研究機関：独立行政法人労働者健康福祉機構 関西労災病院所属部局：消化器内科職名：病院長年次別研究費(交付決定額)：1年目 48,360,000 円**I. 研究の意義**

- (1) PEG-IFN/RBV 併用治療時代における抗ウイルス治療の発がん抑制効果が明らかにされていない
- (2) 肝底護療法による発がん抑制効果が明らかにされていない
- (3) C型肝炎からの肝発がん及び肝がん進展・治療抵抗性の分子・免疫病態が不明である

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) PEG-IFN/RBV 治療の発がん抑制効果のエビデンスの確立
- (2) 肝底護療法の発がん抑制に及ぼす効果が明らかになる
- (3) 肝がんの発症・進展・治療抵抗性のメカニズムが解明され、新規肝がん治療戦略が構築される

**III. 1年間の研究成果**

※この期間にどのような成果があったか、研究代表者、研究分担者毎に、できるだけわかりやすく具体的に記述してください。

## ・研究代表者

PEG-IFN/RBV 治療を行った 2098 例の C 型肝炎患者について発がん率を検討し、以下の知見を得た

- (1) 平均観察期間 40.0 カ月で 77 例に発がんが認められた (累積発がん率 3 年:3.3%、5 年:8.5%)
  - (2) 肝発がんに寄与する独立因子は高齢、男性、線維化進展、PEG-IFN/RBV 無効であった
  - (3) SVR 例における発がんに寄与する因子として高齢、AFP 高値、線維化進展が抽出された
  - (4) 非著効例からの発がんに寄与する独立因子は高齢、男性、血小板低値、ALT 高値であった
- 以上より、PEG-IFN/RBV 併用治療においてウイルス排除群では発がん率が有意に抑制されており、また非著効群では ALT を低下させることが発がんを抑制する上で重要であることが示された

## ・研究分担者

- (1) B 型肝炎ウイルス感染受容体候補として preS1 と相互作用する因子を 4 種類同定した (上田)、

(2)慢性肝疾患からの肝がんの発生に伴い末梢血中の TIE2 陽性単球が増加することを見出した(考藤)、(3)肝細胞がんの悪性度と造影超音波検査血管相初期シグナルとの関連についての検討(野村)、(4)マウスに抗 PD-1 抗体を投与することにより、IFN $\alpha$ による抗腫瘍効果が増強することを明らかにした(広石)、(5)マウスの 4 塩化炭素肝障害モデルにおいて、M2 マクロファージにオステオアクチビン発現が誘導されることが示された(坪内)、(6)肝がん患者に対する内科的治療により CypB、SART2、SART3、p53、MRP3、AFP、hTERT に対する T 細胞応答が増強することを明らかにした(中本)、(7)HCV 陽性肝がんに対する根治的治療後に PEG-IFN/RBV 治療を行った 89 例を検討したところ、SVR 率は 1 型高ウイルス量症例 33%、その他の症例 64%であり、SVR により 2 回目以降の再発が有意に抑制されていた(平松)、(8)肝がん細胞ではソラフェニブ治療によりオートファジーが誘導され、これにより治療抵抗性が付与されることを前臨床モデルで明らかにした(竹原)

#### IV. 23 年度の課題

- (1)PEG-IFN/RBV 治療による発がん抑制効果を IL-28B との関連で解析する必要がある
  - (2)B 型肝炎ウイルスのエントリー機構を解明する必要がある
  - (3)TIE2 陽性単球の癌免疫における意義を解明する必要がある
  - (4)造影超音波シグナルを用いた肝がんの性状診断法の確立をすすめる必要がある
  - (5)PD-1 経路の遮断による癌免疫治療の構築を図る必要がある
  - (6)オステオアクチビンの免疫制御機構を明らかにする必要がある
  - (7)腫瘍抗原に対する T 細胞応答の臨床的意義について検討する必要がある
  - (8)肝がん根治後の HCV 排除の発がん抑制効果について症例の集積を図る必要がある
  - (9)肝がんにおけるオートファジーの意義について臨床試料を用いた検討を行う必要がある
- :

#### V. 行政施策への貢献の可能性

- (1)肝発がん抑止を目指した抗ウイルス治療戦略の推進(非発がん例、肝がん根治後)
  - (2)肝がん早期診断法の確立(造影超音波、新しいバイオマーカーとしての TIE2 陽性単球)
  - (3)肝がん免疫治療法の開発(オステオアクチビン、PD-1 抗体、T 細胞応答)
  - (4)肝がんのソラフェニブ治療抵抗性に対する補助療法の確立
- :

#### VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

※本研究費において行った研究に対するもののみを記載してください。

※研究代表者、研究分担者、研究協力者ごとに、発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、

知的財産権の取得及び申請状況、ガイドライン名・作成主体・策定年月日等を記載して下さい。

※執筆者全員を明記し、当該研究者名に下線を引いてください。

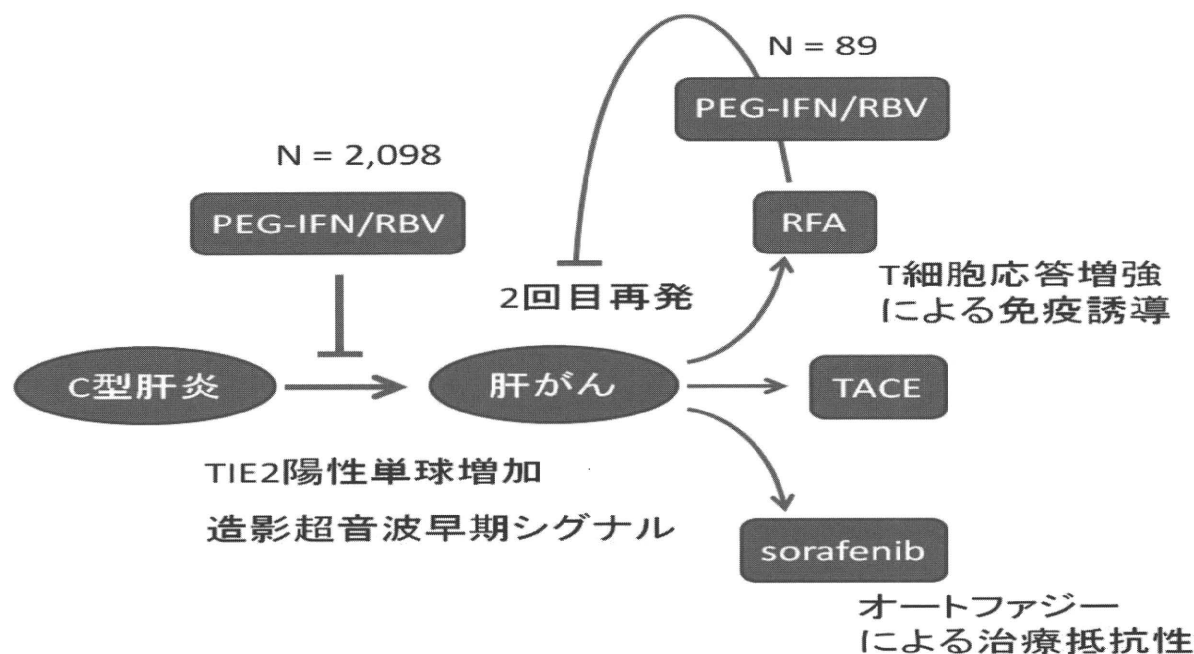
1. Imai Y, Tamura S, Tanaka H, Hiramatsu N, Kiso S, Doi Y, Inada M, Nagase T, Kitada T, Imanaka K, Fukuda K, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Reduced risk of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in aged patients with chronic hepatitis C is limited to sustained virological

- responders. **J Viral Hepat** 17: 185-191, 2010.
2. Tatsumi T, Takehara T, Miyagi T, Nakazuru S, Mita E, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Hepatitis C virus (HCV)-specific CD8+ T cell responses during pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin treatment are associated with the antiviral activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. **Hepatol Res (in press)**
  3. Kanto T. Dendritic cells in hepatitis virus infection : a legatus within. **Current Immunology Reviews** 2010:1-33.
  4. Kainuma M, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Azuma K, Shimono J, Shimoda S, Hayashi J; Kyushu University Liver Disease Study Group. Pegylated interferon  $\alpha$ -2b plus ribavirin for older patients with chronic hepatitis C. **World J Gastroenterol**. 16: 4400-9, 2010.
  5. Kanmura S, Uto H, Sato Y, Kumagai K, Sasaki F, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Nagata K, Hayashi K, Stuver SO, Tsubouchi H. The complement component C3a fragment is a potential biomarker for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol**. 2010;45:459-67.
  6. Wu Y, Wang YY, Nakamoto Y, Li YY, Baba T, Kaneko S, Fujii C and Mukaida N: Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. **Oncogene** 29: 2228-2237, 2010.
  7. Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: Enhancement of tumor-specific T-cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. **Int J Cancer** 126: 2164-2174, 2010.
  8. Yamashita T, Honda M, Nio K, Nakamoto Y, Yamashita T, Takamura H, Tani T, Zen Y and Kaneko S: Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. **Cancer Res**. 70: 4687-4697, 2010.
  9. Iida N, Nakamoto Y, Baba T, Nakagawa H, Mizukoshi E, Naito M, Mukaida N and Kaneko S: Antitumor effect after radio-frequency ablation of murine hepatoma is augmented by an active variant of cc chemokine ligand 3/macrophage inflammatory protein-1 $\alpha$ . **Cancer Res**. 70 :6556-6565, 2010.
  10. Honda M, Sakai Y, Yamashita T, Yamashita T, Sakai A, Mizukoshi E, Nakamoto Y, Tatsumi I, Miyazaki Y, Tanno H and Kaneko S: Hokuriku Liver Study Group: Differential Gene Expression Profiling in Blood from Patients with Digestive System Cancers. **Biochem Biophys Res Commun**. 400: 7-15, 2010.
  11. Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: Prolonged recurrence-free survival following ok432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. **Clin Exp Immunol (in press)**.
  12. Kakinoki K, Nakamoto Y, Kagaya T, Tsuchiyama T, Sakai Y, Nakahama T, Fujita Y, Mukaida N and Kaneko S: Prevention of intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma by combination of suicide gene therapy and monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. **J Gene Med (in press)**.
  13. Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Kato M, Miyagi T, Yoshida

- Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N. Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy. *J Hepatol* (in press)
14. Uemura A, Takehara T, Miyagi T, Suzuki T, Tatsumi T, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Natural killer cell is a major producer of interferon  $\gamma$  that is critical for the IL-12-induced anti-tumor effect in mice. *Cancer Immunol Immunother* 59: 453-463, 2010.
15. Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sasakawa A, Yamamoto M, Kohga K, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Akagi T, Akashi M, Hayashi N. EphA2-derived peptide vaccine with amphiphilic poly( $\gamma$ -glutamic acid) nanoparticles elicits an antitumor effect against mouse liver tumor. *Cancer Immunol Immunother* 59: 759-767, 2010.
16. Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ishida H, Miyagi T, Hosui A, Hayashi N. Sorafenib inhibited the shedding of MICA on hepatocellular carcinoma cells by downregulating ADAM9. *Hepatology* 51: 1264-1273, 2010.
17. Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Ohkawa K, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. The let-7 family of microRNAs negatively regulates Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 52: 698-704, 2010.
18. Hikita H, Takehara T, Shimizu S, Kodama T, Shigekawa M, Iwase K, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. *Hepatology* 52: 1310-1321, 2010.

### Ⅶ. Ⅲ(1年間の研究成果)の概要図等

※ポンチ絵等でわかりやすく簡潔に説明してください。



## ●研究代表者の研究歴等

※研究代表者に関するもののみを記載してください。(研究代表者には下線をつけて下さい)

### ・過去に所属した研究機関の履歴

昭和 49 年 7 月 大阪大学医学部第一内科  
 昭和 54 年 9 月 米国テキサス大学医学部生化学教室  
 昭和 56 年 5 月 大阪大学医学部第一内科  
 平成 10 年 9 月 大阪大学大学院医学系研究科分子制御治療学  
 平成 17 年 6 月 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学  
 平成 22 年 4 月 関西労災病院

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

鎌田武信, JA Peterson, 笠原彰紀, 佐々木 裕

### ・主な研究課題

アルコール性肝障害の病態解明  
 ウイルス性肝炎・肝がんの病態解明と新しい治療法の開発

### ・これまでの研究実績

※本研究の成果以外の実績も記載してください。

(成果概要VIと重複するものや本研究成果によるものは、**太字・斜体**文字で記載してください)

※発表論文名・学協会誌名・発表年(西暦)、知的財産権の取得及び申請状況、研究課題の実施を通じた政策提言(寄与した指針又はガイドライン等)のうち、主なものを選択し、直近年度から順に記載してください。

1. ***The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. Hepatology 52: 1310-1321, 2010.***
2. ***Sorafenib inhibited the shedding of MICA on hepatocellular carcinoma cells by downregulating ADAM9. Hepatology 51: 1264-1273, 2010***
3. BH3-only protein Bid participates in the Bcl-2 network in healthy liver cells. **Hepatology 50: 1972-1980, 2009.**
4. Anti-cancer therapy inhibits MICA ectodomain shedding by downregulating ADAM10 expression in hepatocellular carcinoma. **Cancer Res 69: 8050-8057, 2009.**
5. Mcl-1 and Bcl-xL cooperatively maintain integrity of hepatocytes in developing and adult murine liver. **Hepatology 50: 1217-1226, 2009.**
6. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice. **Hepatology 46: 1564-1573, 2007.**
7. Intrahepatic delivery of  $\alpha$ -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. **Hepatology 45: 22-30, 2007.**

8. Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol 173: 6072-6081, 2004.**
9. Concanavarin A injection activates intrahepatic innate immune cells to provoke an anti-tumor effect in murine liver. **Hepatology 40: 1190-1196, 2004.**
10. Hepatocyte-specific disruption of Bcl-xL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses. **Gastroenterology 127: 1189-1197, 2004.**
11. Hepatitis C virus core functions as a suppressor of cyclin-dependent kinase-activating kinase and impairs cell cycle progression. **J Biol Chem 279: 11719-11726, 2004.**
12. Autocrine/paracrine IL-15 that is required for type I IFN-mediated dendritic cell expression of MHC class I-related chain A and B is impaired in hepatitis C virus infection. **J Immunol 171: 5423-5429, 2003.**
13. Hepatitis C virus core protein differentially regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon- $\gamma$  stimuli. **J Biol Chem 278: 28562-28571, 2003.**
14. Critical role of MHC class I-related chain A and B expression on interferon  $\alpha$ -stimulated dendritic cells in NK cell activation: Impairment in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol 170:1249-1256, 2003.**
15. Administration of interleukin-12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma. **Cancer Res 61:7563-7567, 2001.**

## 平成 22 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：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

課題番号：H22-肝炎-一般-005

予定期間：H22 年度から H24 年度まで

研究代表者：田中靖人

所属研究機関：公立大学法人名古屋市立大学

所属部局：大学院医学研究科

職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1 年目 60,165,000 円

### I. 研究の意義

- (1) IL28B 遺伝子多型の臨床的インパクト：複数のコホートで検証、テーラーメイド医療へ。
- (2) 治療効果予測の向上：遺伝要因、遺伝子発現、ウイルス因子、臨床情報の統合解析。
- (3) ペグインターフェロン/リバビリルン(PEG-IFN/RBV)又は 3 剤併用の副作用に関連する遺伝要因の同定。
- (4) 統合型データベース構築と公開により、肝炎テーラーメイド治療の確立を目指す。

### II. 研究の目的、期待される成果

**[目的]** (1) 本研究では複数のコホートを用いて、HCV 自然経過、治療効果、発癌との関連性を中心として、IL28B SNPs 及び他の因子を組み合わせにより実際の臨床での有用性を検証し、テーラーメイド医療を目指す。(2) 同一個体内でオミックス解析を行い、遺伝要因、遺伝子発現、ウイルス因子、臨床情報を統合解析する点は独創的であり、疾患や病態、治療の反応性との関連性を明確にできる。機能が未知である IFN $\lambda$ s の働きを解明することは、C 型肝炎の新規治療薬の開発に繋がる。(3) 高齢者が多いわが国では、PEG-IFN/RBV 併用治療により血球減少、うつ病、間質性肺炎など重篤な合併症を引き起こすことが多々あり、これらの副作用に関連した遺伝要因を明らかにすることで、至適薬剤投与量を設定し、副作用の軽減を図る。(4) これまでの宿主因子、ウイルス因子を統合したデータベースをプラットフォームとして、新たに SNP 情報と遺伝子発現情報が直接リンク可能なデータベースを構築・公開する。

**[期待される成果]** 1) 得られた遺伝情報(IL28B, ITPA SNP など)を基にコホート研究を通じて、治療効果や副作用を効率的に予測。2) IFN $\lambda$  の機能を明らかにすることで、治療抵抗例への対策が可能。3) 遺伝要因、遺伝子発現、ウイルス因子、臨床情報を統合化したデータベースはすべて公開し、ウイルス性肝疾患に対するテーラーメイド医療に役立てる。

### III. 1 年間の研究成果

・研究代表者 (田中靖人)

(1) 検体及び付帯情報の収集(約 2000 例) (2) IL28B 及び ITPA SNP を TaqMan 法により一括測定し、各施設に情報提供。(3) 副作用に関連する遺伝要因同定のための研究デザイン(立案、実施)。

・研究分担者

(1) **新規 SNPs の同定 (徳永勝士)** : Peg-IFN /RBV 併用療法への応答性に関与する IL28B 遺伝子 (rs8099917) 以外 (例外例含む) の遺伝子の探索、及び GWAS により貧血、血小板減少に関連した DDRGK1/ITPA 遺伝子領域 (20 番染色体) の SNPs を同定。

## (2) IL28B, ITAP SNP の臨床的意義の検証

・(黒崎雅之) : ITPA 遺伝子 (rs1127354) Minor Allele を有する症例では、貧血の発現頻度が有意に低く、また貧血による RBV 減量率も有意に少なかった。IL28B 遺伝子 Major 型の症例に限定して解析すると、ITPA 遺伝子 Minor 型の症例では、再燃率が低く、著効率が高かった。IL28B、ITPA などの遺伝的要因に加えて、治療開始前の Hb、腎機能 (Ccr) を組み合わせることにより、精度の高い予測が可能であった。

・(坂本直哉) : ゲノタイプ 1b および 2 型 C 型慢性肝炎 501 例における IL28B, ITPA SNP と治療効果を解析し、ゲノタイプ 1 型のみならず、2 型においても有用な因子であることが分かった。

・(菅内文中) : PEG-IFN/RBV 併用療法において rs8099917 が治療効果に、rs1127354 が高度貧血の有無と関連していた。ITPA マイナーアリルを持つ症例では、貧血傾向の女性や高齢者などにおいても、リバビリンを減量することなく治療できる可能性が示唆された。

・(八橋弘) : Peg-IFN  $\alpha$  2b/RBV 併用療法の方が Peg-IFN  $\alpha$  2a/RBV 併用療法に比して IL-28B 遺伝子多型の関与が強い傾向が見られた (ヘテロでの SVR 率 4.2% vs. 18.2%)。

・(渡辺久剛) : HCV 感染一般住民コホートにおいて、IL28B SNPs の測定はウイルス自然治癒関連因子として有用であった。すなわち、自然治癒例ではメジャー型が多く、肝発癌例ではヘテロ型が多い傾向にあった。

(3) **IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫)** : 肝組織と末梢血液が得られた 157 例において、IFI44、IFIT1、Mx 及び IL28B をリアルタイム PCR 法にて測定した。治療前の末梢血 ISG s 発現は肝内 ISG s 発現と有意な相関が認められたが、IL28B マイナーでは肝内 ISGs と末梢血 ISGs の発現は逆相関の関係が認められた。治療不応例では治療前 ISGs は肝組織では高値であるが、末梢血では低値であり、治療による誘導も低かった。

(4) **IFN- $\lambda$  発現制御 (溝上雅史)** : IFN- $\lambda$  3 (IL28B) 遺伝子の発現量を規定する SNPs とその領域を絞り込んだ。また、高齢女性では、IL28B 周辺のゲノムに後天的な変化が生じていた。

(5) **ウイルス因子 (本村和嗣)** : 次世代シーケンサーを用いた HCV 1b 準種の包括的ゲノム解析の系を構築した。IL28B メジャー型で治療不応性の患者群で、治療前後、経時的に得られた検体の準種の組成を比較した結果、薬剤抵抗性と推測される準種 (コア 70 変異) が増加していた。

(6) **統合型データベース構築 (五條堀孝、新井 理)** : 先行研究「テラーメイド医療を目指した肝炎ウイルスデータベース構築に関する研究」の成果を基に、遺伝子発現情報を統一的に導入できるよう、改良されたデータベース構造を設計した。現在、機能限定版データベースシステムおよびユーザ認証機能を準備し、アクセステストを実施した (2011 年 1 月公開予定)。

## IV. 23~24 年度の課題

(1) 検査系の簡便化 及び IL28B SNP, 遺伝子発現、ウイルス因子などを組み合わせて 治療予測の向上 を目指す。(2) 自然予後関連因子 としての肝発がん及び肝疾患関連死・生命予後や肝機能値異常における IL28B SNPs の測定意義。(3) Peg-IFN/RBV 併用療法による副作用 (血球減少例、抑鬱を含む)



むうつ病、間質性肺炎)に関わる遺伝子の探索と臨床応用;複数の肝炎コホートで検証し、テーラーメイド医療を目指す。(4)IFNλ 発現誘導する抗 HCV 薬の大規模スクリーニング⇒ヒト肝臓置換キメラマウスを用いて検証。(5)IL28B SNP と肝内及び末梢血の IFNλ ・ ISG 発現。(6)ジェネティックとエピジェネティックに関する各領域について解析。(7)データの蓄積・解析手法の評価を踏まえて、SNP、遺伝子発現、ウイルス配列、患者情報を基にしたウイルス性肝炎プロファイルを構築し、統合型データベースとして公開する。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) IL28B, ITPA などの遺伝情報に基づいた個別化治療の実現⇒治療抵抗群に対する対策。
- (2) Peg-IFN/RBV を中心とした2剤あるいは3剤併用療法の副作用(血球減少、うつ病、間質性肺炎など)に関わる遺伝要因を同定し、副作用の軽減を図る。特に、高齢者に対する対策。
- (3) 統合型肝炎ウイルスデータベースを構築・公開し、テーラーメイド医療に役立てたい。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者; 田中靖人

(1) 新規先進医療:「IL28B の遺伝子診断によるインターフェロン治療効果の予測評価」厚生労働省第50回先進医療専門家会議、平成22年7月12日認可

(2)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*.2010.40(5):449-60.

研究分担者(五條堀 孝)

(1)Gaudet P, Bairoch A, Field D, Sansone SA, Taylor C, Attwood TK, Bateman A, Blake JA, Bult CJ, Cherry JM, Chisholm RL, Cochrane G, Cook CE, Eppig JT, Galperin MY, Gentleman R, Goble CA, Gojobori T, Hancock JM, Howe DG, Imanishi T, Kelso J, Landsman D, Lewis SE, Mizrahi IK, Orchard S, Ouellette BF, Ranganathan S, Richardson L, Rocca-Serra P, Schofield PN, Smedley D, Southan C, Tan TW, Tatusova T, Whetzel PL, White O, Yamasaki C; on behalf of the BioDBCore working group. Towards BioDBCore: a community-defined information specification for biological databases. *Nucleic Acids Res*. 2010. in press.

研究代表者および研究分担者(氏名太字記載)、研究協力者共著分

(1) Kurosaki M, Hosokawa T, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, Tamaki N, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Enomoto N, Izumi N. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C is a significant risk factor for developing hepatocellular carcinoma independent of age, sex, obesity, fibrosis stage and response to interferon therapy *Hepatol Res*. 2010. 40: 870-7.

(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*.2010.40(11):1063-1071.

(3)Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Yatsuhashi 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. in press.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

統合型肝炎データベース構築(田中、新井)

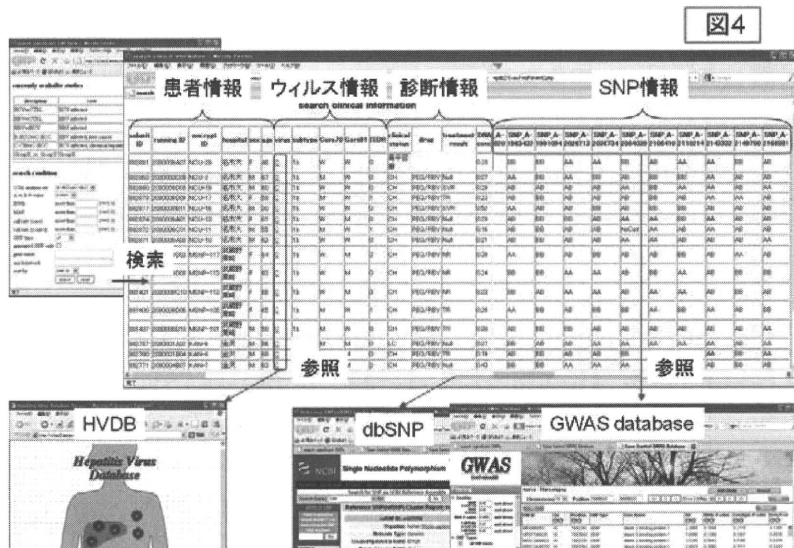
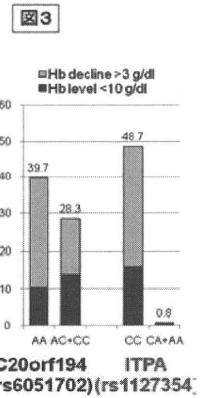
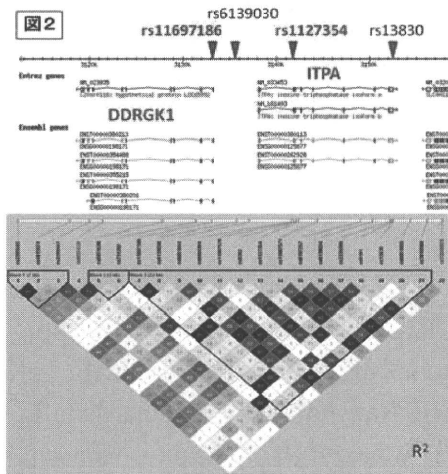
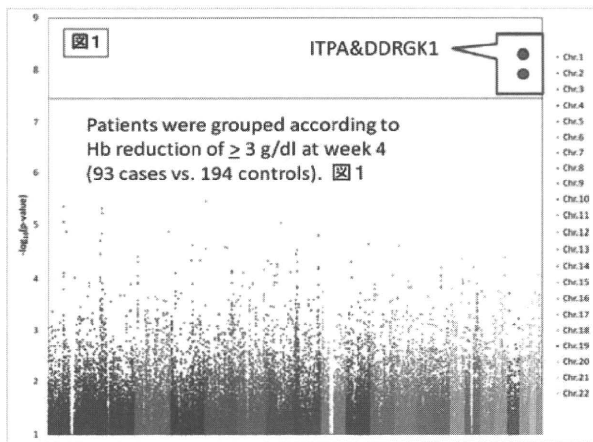
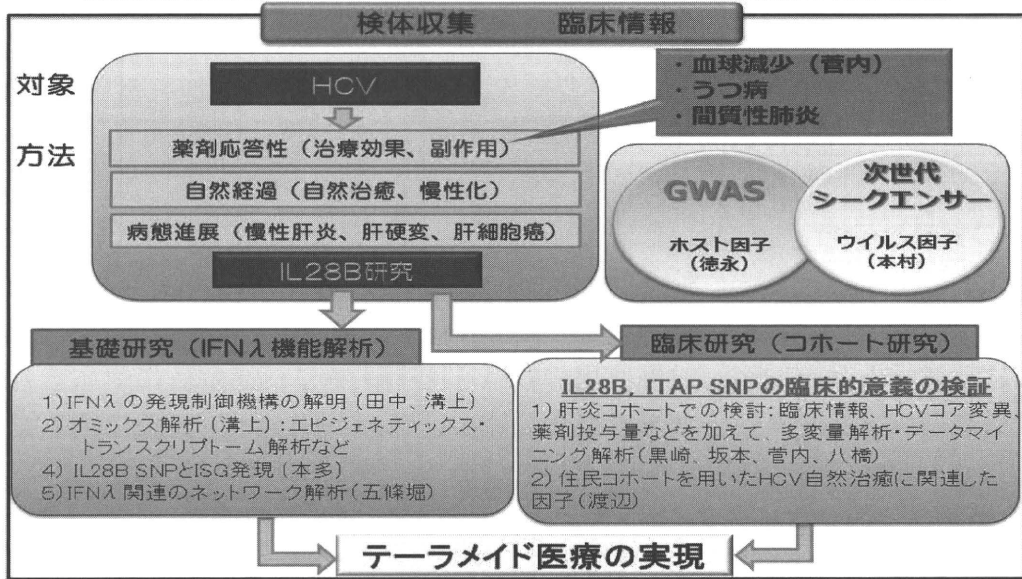


図1: GWASにより貧血に関連したSNPsを同定

図2: 20番染色体ITPA遺伝子周辺のFine Mapping

図3: ITPA hetero/minorでは貧血になりにくい

図4: 暫定公開DB利用概念図

## ●研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

1991年5月～2001年7月	名古屋市立大学医学部第二内科 研究員
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 医学博士
1999年11月～2001年7月	米国立保健研究所 (NIH) 留学 (Harvey J Alter)
2001年8月～2009年9月	名古屋市立大学大学院医学研究科 臨床分子情報医学
2009年10月～現在	名古屋市立大学大学院医学研究科 ウイルス学
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 客員研究員

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

1991年5月～1997年3月	名古屋市立大学医学部第二内科 山本正彦、溝上雅史
1997年4月～2001年3月	名古屋市立大学大学院医学研究科 上田龍三、溝上雅史
1997年4月～現在	国立遺伝学研究所 五條堀孝
1999年～2001年	米国立保健研究所 (NIH) Visiting fellow, Harvey J Alter
2006年6月～現在	国立感染症研究所ウイルス第二部 脇田隆宇
2008年10月～現在	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター 溝上雅史

### ・主な研究課題

- 1) HBVの基礎的・臨床的研究 (HBV複製モデルを用いた検討)
- 2) 世界各国における肝炎ウイルスの分子疫学 (感染ルートの解明及び拡散時期の推定)
- 3) ウイルス性肝炎におけるSNPs解析

### ・これまでの研究実績

1. Kurosaki M, **Tanaka Y**, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Honda M, Sugiyama M, Matsuura K, Sugauchi K, 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.* in press.
2. Sakamoto N, **Tanaka Y**, Nakagawa M, Yatsunami 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.* 2010. 40(11):1063-1071.
3. **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.* 2010. 40(5):449-60.
4. **Tanaka Y**, Sugiyama M, Mizokami M. Direct cytopathic effects of particular hepatitis B virus genotypes in immunosuppressive condition. *Uirusu.* 2010. 60(1):79-86.

5. Elkady A, **Tanaka Y**, Kurbanov F, Sugauchi F, Sugiyama M, Khan A, Moustafa S, Mouhamed L, Mizokami M. Performance of two real-time RT-PCR assays for quantification of hepatitis C virus RNA; Evaluation on HCV genotypes 1-4. **J Med Virol.** 2010. 82(11):1878-88.
6. 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.** 2010. 40(10):956-62.
7. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, **Tanaka Y**, Tokunaga K, Mizokami M, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. **Gastroenterology.** 2010. 139(2):499-509.
8. **Tanaka Y**, Nishida N, Kurosaki M, Honda M, Sugauchi F, Tokunaga K, Mizokami M\*: Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nat Genet.** 2009. 41(10):1105-1109.
9. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Mizokami M. et al. Direct cytopathic effects of particular hepatitis B virus genotypes in severe combined immunodeficiency transgenic with urokinase-type plasminogen activator mouse with human hepatocytes. **Gastroenterology.** 2009. 136(2):652-662.
10. **Tanaka Y**, Mizokami M. Genetic diversity of hepatitis B virus as an important factor associated with differences in clinical outcomes. **J Infect Dis.** 2007. 195(1):1-4.
11. **Tanaka Y**, Mukaide M, Mizokami M. et al. Specific Mutations in Enhancer II/Core Promoter of Hepatitis B Virus Subgenotypes C1/C2 Increase the Risk of Hepatocellular Carcinoma. **J Hepatol.** 2006. 45(5):646-653.
12. **Tanaka Y**, Kurbanov F, Mizokami M. et al. Molecular Tracing of Global Hepatitis C Virus Epidemic Predicts Regional Patterns of Hepatocellular Carcinoma Mortality. **Gastroenterology.** 2006. 130(3):703-714.
13. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Mizokami M. et al. Influences of Hepatitis B Virus Genotypes on the Intra- and Extracellular Expression of Viral DNA and Antigens. **Hepatology.** 2006. 44(4):915-924.
14. Ozasa A, **Tanaka Y**, Mizokami M. Influence of Genotypes and Precore Mutations on Fulminant or Chronic Outcome of Acute Hepatitis B Virus Infection. **Hepatology.** 2006. 44(2):326-34.
15. **Tanaka Y**, Hasegawa I, Mizokami M. et al. A case-control study for differences among hepatitis B virus infections of genotypes A (subtypes Aa and Ae) and D. **Hepatology.** 2004. 40:747-755.
16. **Tanaka Y**, Furuta T, Mizokami M. et al. Impact of interleukin-1 beta genetic polymorphism on development of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma in Japan. **J Infect Dis.** 2003. 187(11):1822-1825.
17. **Tanaka Y**, Mizokami M, Alter HJ. et al. A comparison of molecular clock of hepatitis C virus in the United States and Japan predicts that hepatocellular carcinoma incidence