

- 2011 Aug 31. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 22020826.
- 6)Enooku K, Tateishi R, Kanai F, Kondo Y, Masuzaki R, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. Evaluation of molecular targeted cancer drug by changes in tumor marker doubling times. **J Gastroenterol**. 2011 Sep 21. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21935635.
- 7)Takata A, Otsuka M, Kogiso T, Kojima K, Yoshikawa T, Tateishi R, Kato N, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. Direct differentiation of hepatic cells from human induced pluripotent stem cells using a limited number of cytokines. **Hepatol Int** 2011 Feb 6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21484132.
- 8)Arano T, Nakagawa H, Tateishi R, Ikeda H, Uchino K, Enooku K, Goto E, Masuzaki R, Asaoka Y, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Omata M, Yoshida H, Koike K. Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients. **Int J Cancer** 2010 Dec 17. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21170963.
- 9)Goto T, Yoshida H, Tateishi R, Enooku K, Goto E, Sato T, Ohki T, Masuzaki R, Imamura J, Shiina S, Koike K, Omata M. Influence of serum HBV DNA load on recurrence of hepatocellular carcinoma after treatment with percutaneous radiofrequency ablation. **Hepatol Int** 2011 Sep;5(3):767-773.
- 10)Taguwa S, Kambara H, Fujita N, Noda T, Yoshimori T, Koike K, Moriishi K, Matsuura Y. Dysfunction of autophagy participates in vacuole formation and cell death in cells replicating hepatitis C virus. **J Virol** 2011;85:13185-13194.
- 11)Kudo Y, Tanaka Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Mohri D, Isomura Y, Seto M, Nakagawa H, Asaoka Y, Tada M, Ohta M, Ijichi H, Hirata Y, Otsuka M, Ikenoue T, Maeda S, Shiina S, Yoshida H, Nakajima O, Kanai F, Omata M, Koike K. Altered composition of fatty acids exacerbates hepatotumorigenesis during activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. **J Hepatol** 2011;55(6):1400-1408.
- 12)Ishizaka N, Hongo M, Sakamoto A, Saito K, Furuta K, Koike K. Liver lipid content is reduced in rat given 7-day administration of angiotensin II. **J Renin Angiotensin Aldosterone Syst** 2011;12(4):462-468.
- 13)Bertot LC, Sato M, Tateishi R, Yoshida H, Koike K. Mortality and complication rates of percutaneous ablative techniques for the treatment of liver tumors: a systematic review. **Eur Radiol** 2011;21(12):2584-2596.
- 14)Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Yoshida H, Aoki T, Hasegawa K, Akahane M, Ohtomo K, Fukayama M, Koike K, Kokudo N. Diagnostic accuracy of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin in screening for hepatocellular

- carcinoma in liver transplant candidates. **Hepatol Res** 2011;41(12):1199-1207.
- 15) Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, Koike K. Hepatocarcinogenesis in hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species. **Oncology** 2011;81 Suppl 1:11-7.
- 16) Ikeda H, Tateishi R, Enooku K, Yoshida H, Nakagawa H, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Kume Y, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Ono T, Koike K, Yatomi Y. Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev** 2011; 20(10):2204-2211. (2010IF 4.1)
- 17) Watanabe S, Enomoto N, Koike K, Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M; PERFECT Study Group. Cancer preventive effect of pegylated interferon α -2b plus ribavirin in a real-life clinical setting in Japan: PERFECT interim analysis. **Hepatol Res** 2011;41(10):955-964.
- 18) Otsuka M, Takata A, Yoshikawa T, Kojima K, Kishikawa T, Shibata C, Takekawa M, Yoshida H, Omata M, Koike K. Receptor for Activated Protein Kinase C: Requirement for Efficient MicroRNA Function and Reduced Expression in Hepatocellular Carcinoma. **PLoS One** 2011;6(9):e24359. Epub 2011 Sep 15. PubMed PMID: 21935400.
- 19) Uchino K, Tateishi R, Shiina S, Kanda M, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Omata M, Yoshida H, Koike K. Hepatocellular carcinoma with extrahepatic metastasis: Clinical features and prognostic factors. **Cancer** 2011;117(19):4475-4483.
- 20) Takata A, Otsuka M, Kojima K, Yoshikawa T, Kishikawa T, Yoshida H, Koike K. MicroRNA-22 and microRNA-140 suppress NF- κ B activity by regulating the expression of NF- κ B coactivators. **Biochem Biophys Res Commun** 2011;411(4):826-831.
- 21) Wakita T, Suzuki T, Evans MJ, Shimotohno K, Chayama K, Matsuura Y, Hijikata M, Moriishi K, Seya T, Enomoto N, Koike K, Kato N, Kanto T, Hotta H. Will There Be an HCV Meeting in 2020? Summary of the 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses. **Gastroenterology** 2011 Jul;141(1):e1-5.
- 22) Nakagawa H, Hirata Y, Takeda K, Hayakawa Y, Sato T, Kinoshita H, Sakamoto K, Nakata W, Hikiba Y, Omata M, Yoshida H, Koike K, Ichijo H, Maeda S. Apoptosis signal-regulating kinase 1 inhibits hepatocarcinogenesis by controlling the tumor-suppressing function of stress-activated MAPK. **Hepatology** 2011;54(1):185-195.
- 23) Kojima K, Takata A, Vadnais C, Otsuka M, Yoshikawa T, Akanuma M, Kondo Y, Kang YJ, Kishikawa T, Kato N, Xie Z, Zhang WJ,

- Yoshida H, Omata M, Nepveu A, Koike K. MicroRNA122 is a key regulator of α -fetoprotein expression and biologically aggressive behavior of hepatocellular carcinoma. **Nat Commun** 2011 Jun 7;2:338. doi: 10.1038/ncomms1345. PubMed PMID: 21654638. (on-line journal)
- 24) Tsukada K, Sugawara Y, Kaneko J, Tamura S, Tachikawa N, Morisawa Y, Okugawa S, Kikuchi Y, Oka S, Kimura S, Yatomi Y, Makuuchi M, Kokudo N, Koike K. Living donor liver transplantations in HIV- and hepatitis C virus-coinfected hemophiliacs: Experience in a Single Center. **Transplantation** 2011;91(11):1261-1264.
- 25) Koshiyama A, Ichibangase T, Moriya K, Koike K, Yazawa I, Imai K. Liquid chromatographic separation of proteins derivatized with a fluorogenic reagent at cysteinyl residues on a non-porous column for differential proteomics analysis. **J Chromatogr A** 2011;1218(22):3447-3452.
- 26) Kumar V, Kato N, Urabe Y, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otuska M, Tateishi R, Omata M, Nakagawa H, Koike K, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. **Nat Genet** 2011;43(5):455-458.
- 27) Nakagawa H, Ikeda H, Nakamura K, Ohkawa R, Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Watanabe N, Tejima K, Kume Y, Iwai T, Suzuki A, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Omata M, Igarashi K, Aoki J, Koike K, Yatomi Y. Autotaxin as a novel serum marker of liver fibrosis. **Clin Chim Acta** 2011;412(13-14):1201-1206.
- 28) Kershenovich K, Razavi HA, Cooper CL, Alberti A, Dusheiko GM, Pol S, Zuckerman E, Koike K, Han K-H, Wallace CM, Zeuzem S, Negro F. The global health burden of hepatitis C virus infection. **Liver Int** 31(S2):4-17, 2011.
- 29) Sievert W, Altraif I, Razavi HA, Abdo A, Ahmed EA, AlOmair A, Amarapurkar D, Chen C-H, Dou X, El Khayat H, elShazly M, Esmat G, Guan R, Han K-H, Koike K, Largen A, McCaughan G, Mogawer S, Monis A, Nawaz A, Piratvisuth T, Sanai FM, Sharara AI, Sibbel S, Sood A, Suh DJ, Wallace C, Young K, Negro F. A systematic review of hepatitis C virus epidemiology in Asia, Australia and Egypt. **Liver Int** 31(S2):61-80, 2011.
- 30) Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue T; The Japan NASH Study Group, The Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. **Clin Gastroenterol Hepatol** 2011;9(5):428-433. (2009; 5.642)

31) Koike K, Miyoshi H, Yotsyanagi H, Moriya K. Effect of treatment with polynsaturated fatty acids on HCV-or diet-induced fatty liver. **J Hepatol** 2011;54:1326.

32) Masuzaki R, Shiina S, Tateishi R, Yoshida H, Goto E, Sugioka Y, Kondo Y, Goto T, Ikeda H, Omata M, Koike K. Utility of contrast enhanced ultrasonography with sonazoid in radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol Hepatol** 2011;26(4):759-764.

33) Miyoshi H, Moriya K, Tsutsumi T, Shinzawa S, Fujie H, Shintani Y, Fujinaga H, Goto K, Todoroki T, Suzuki T, Miyamura T, Matsuura Y, Yotsuyanagi H, Koike K. Pathogenesis of lipid metabolism disorder in hepatitis C: polyunsaturated fatty acids counteract lipid alterations induced by the core protein. **J Hepatol** 2011;54:432-438.

34) Kondo Y, Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Goto E, Nakagawa H, Masuzaki R, Asaoka Y, Fujie H, Goto T, Omata M, Yoshida H, Koike K. Intrahepatic bile duct dilatation after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: impact on patient's prognosis. **Liver Int** 2011;31:197-205.

良介、小池和彦、小野智子

2. 実用新案登録

なし

3. その他

な

0. 知的所得権の出願・登録状況
(予定を含む)

1. 特許取得

「肝細胞癌発生予測因子としての血中
ADAMTS13」知的財産管理番号

12B10Y001-1 出願日 平成 22 年 11
月 5 日 発明者 池田均、矢富裕、建石

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書（平成 23 年度）

肝癌発症リスク予測システムに基づいた慢性C型肝炎に対する
個別化医療の導入及びゲノム創薬への取り組み

分担研究者：溝上 雅史

分担研究課題：臨床情報の収集・整理、発癌関連因子の検討

研究要旨：HCVに暴露後約70%の症例は慢性肝炎を発症しさらに肝硬変・肝癌となるが、肝障害が軽微で推移する患者も多く個人差が大きいのが特徴である。本研究では、比較対照研究による肝癌発症リスク予測システムの構築を目指して、慢性C型肝炎患者群とHCV関連肝癌患者群の2群間で発癌リスクに関する因子を検討する。今年度は、本研究において収集したHCV患者サンプルおよび健常者サンプル、またその臨床情報を集約的に管理し、本研究において同定された疾患感受性遺伝子の遺伝子型情報を管理するためのシステムを構築した。本年度までに、C型肝炎ウイルス関連肝癌・肝硬変サンプル127例（肝癌101例、肝硬変26例）、および慢性肝炎サンプル394例を収集した。

A. 研究目的

肝癌は癌による死亡原因の第4位で、そのうち約70%がHCVの感染に起因している。HCVに暴露後約70%の症例は慢性肝炎を発症しさらに肝硬変・肝癌となるが、肝障害が軽微で推移する患者も多く個人差が大きいのが特徴である。またC型肝炎に対してはIFN、肝癌にはソラフェニブの有効性が確認されているものの、副作用などで治療を中断せざるを得ない場合も多い。

本研究では、これまでの知見を元に以下の3項目を解析する事を目的とする。

1. 慢性C型肝炎患者における発癌リスク予測システムの構築 (H23-24)
2. テラプレビルを含む3剤併用療法での

発癌リスク予測システムの検証 (H24-25)

3. MICAの活性化による肝癌予防法・治療薬の開発（ゲノム創薬）(H23-25)

B. 研究方法

- ① 研究協力施設からの検体及び付帯情報の収集

すでに研究協力体制ができている国内の大学病院等の15施設から、平成23年度も引き続き検体とその検体についての臨床検査データおよび患者の付帯情報収集を行う。検体解析中に新たに付帯情報が必要となった場合はその都度付帯情報の収集を行う。各施設においての検体とデータは、連結可能な匿名化の作業を順守した上で国立国際

医療研究センターへ提出させる。

② 比較対照研究による肝癌発症リスク予測システムの構築

国立国際医療研究センターにおいて収集した検体を用いて、慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間で発症リスクに関する因子を検討する。遺伝子型多型解析は、国立国際医療研究センター（研究分担者：溝上雅史）および東京大学大学院（研究分担者：徳永勝士）において分担して実施する。

（倫理面への配慮）

本研究に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言（平成 20 年 10 月修正）を遵守する。かつ、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日全部改正）、およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 17 年 6 月 29 日一部改正）に則って本研究を実施するものとする。研究遂行者の供与される情報は、個人識別情報を除き供与される。即ち、連結可能匿名化とする。個人情報に関しては、個人情報識別管理者（国府台病院：管理課長、国立国際医療研究センター病院：企画戦略室長）をおき、情報管理には細心の注意を払う。また、患者個人識別情報と検体との対応表は、独立の鍵が掛かる場所に厳重に保管する。さらに、個人情報の管理をパソコンで行う場合には、当該パソコンをネットに連結することなく単独で使用し、独立の鍵の掛かる場所に厳重に保管する。

C. 研究結果

本研究において収集した HCV 患者サン

プルおよび健常者サンプル、またその臨床情報を集約的に管理し、本研究において同定された疾患感受性遺伝子の遺伝子型情報を管理するためのシステムを構築した（図 1）。

各研究参加施設で採取された検体（血清）は連結可能匿名化された後、SRL へ送付され、ゲノム DNA が抽出される。抽出された DNA サンプルは国際医療研究センター肝炎・免疫研究センターへ送られ、同施設において一括保管される。また、各研究参加施設で収集された患者情報についても、各施設で連結可能匿名化された上で、同センターにおいて一括保存される。

集められた DNA サンプルを、詳細な臨床情報とともに東京大学大学院医学系研究科・人類遺伝学教室（研究分担：徳永勝士）に送付し、同施設において慢性ウイルス性肝疾患（慢性肝炎、肝硬変、肝細胞癌）を対象とした遺伝子解析を実施する。なお、遺伝子多型解析は、東京大学および国際医療研究センター肝炎・免疫研究センターにおいて分担して実施する。なお、解析に必要な DNA サンプルおよび臨床情報は国際医療研究センター肝炎・免疫研究センターから東京大学に適宜送付する。

これまでに、C 型肝炎ウイルス関連肝癌・肝硬変サンプル 127 例（肝癌 101 例、肝硬変 26 例）、および慢性肝炎サンプル 394 例を収集した。

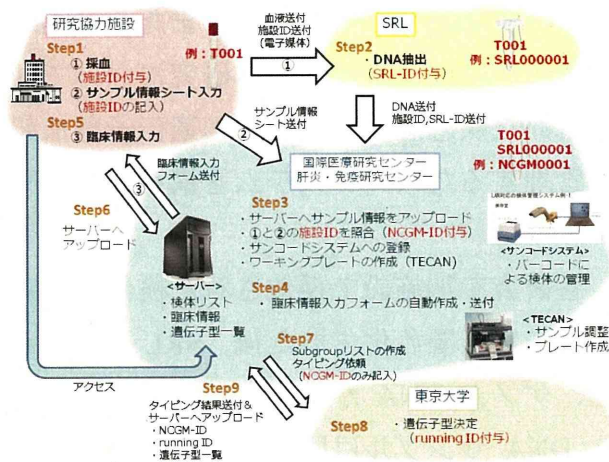


図 1 検体・臨床情報管理システム

P. 考察

慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間の比較から発癌リスクに関する因子を検出するためには、詳細な臨床情報が付帯されたサンプルを必要とする。国立国際医療研究センターに構築した検体・臨床情報管理システムを用いることで、詳細な臨床情報が付帯されたクオリティの高いゲノム DNA サンプルを揃えた解析を実施することが可能となる。また、検体・臨床情報管理システムにおいて、サンプルの分注作業やサンプル・臨床情報管理を自動化することで、サンプルの取り違いなどが起こる危険性も軽減されると期待される。

Q. 結論

東京大学大学院医学系研究科（研究分担：徳永勝士）と分担して遺伝子多型解析を実施する体制を整えることで、効率のよい解析が可能となり、高い研究成果を得ることが期待される。

R. 研究発表

6. 論文発表

1) Sugiyama M, Tanaka Y, Nakanishi M, **Mizokami M**: Novel findings for the development of drug

therapy for various liver diseases: Genetic variation in IL-28B is associated with response to the therapy for chronic hepatitis C. *J Pharmacol Sci.* 115(3):263-9 (2011)

2) Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki NS, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, **Mizokami M**, Watanabe M; Ochanomizu-Liver Conference Study Group: 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.* 83(5): 871-8 (2011)

3) 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, when determined by a suitable genotyping method, is a better predictor for response to pegylated alpha interferon/ribavirin therapy in Japanese patients than other single nucleotide polymorphisms associated with interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 49(5):1853-60 (2011)

4) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, **Mizokami M**: Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C., *Hum Mol Genet.* 20 (17): 3507-16 (2011)

5) Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui 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: Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 16(5): 685-94 (2011)

6) Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, **Mizokami M**: Genetic variation of the IL-28B promoter affecting gene expression. *PLoS One.* 6(10):e26620 (2011)

7) **Mizokami M**: Discovery of critical host factor, IL-28B, associated with response to hepatitis C virus treatment. *J Gastroenterol Hepatol.* 27(3):425-9 (2012)

7. 学会発表

1) Nishida N, Sawai N, Sugiyama M, Matsuura K, Han K-H, Koike A, Ahn SH, Tokunaga K, Tanaka Y, **Mizokami M**, The association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean, Asian Pacific Association for the Study of the Liver 2012, Taiwan, 2012.

2) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Koike A, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, **Mizokami M**, Tokunaga K, A genome-wide association study identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, International Congress of Human Genetics 2011, Montreal, 2011.

3) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, Tokunaga K, **Mizokami M**, The association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2011, San Francisco, 2011.

4) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、伊藤清顕、**溝上 雅史**、徳永勝士、ゲノムワイ

ド関連解析による B 型肝炎ウイルス排除機構に
関与する遺伝要因の探索、第 56 回日本人類
遺伝学会、幕張、2011

5) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、
伊藤清顕、**溝上雅史**、徳永勝士、B 型肝炎の慢
性化・ウイルス排除機構と HLA-DP との関連、
日本組織適合学会第 20 回大会、三島、2011

S. 知的所得権の出願・登録状況

7. 特許取得

なし

8. 実用新案登録

なし

9. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
分担研究報告書（平成 23 年度）

肝癌発症リスク予測システムに基づいた慢性C型肝炎に対する個別化医療の導入及びゲノム創薬への取り組み

分担研究者：徳永 勝士（東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野 教授）

分担研究課題：発癌関連因子の検討

研究要旨：HCVに暴露後約70%の症例は慢性肝炎を発症しさらに肝硬変・肝癌となるが、肝障害が軽微で推移する患者も多く個人差が大きいのが特徴である。本研究では、比較対照研究による肝癌発症リスク予測システムの構築を目指して、慢性C型肝炎患者群とHCV関連肝癌患者群の2群間で発癌リスクに関する因子を検討する。今年度は、本研究において収集したHCV患者サンプルおよび臨床情報を集約的に管理し、一部のサンプルを用いて予備的解析を実施した。C型肝炎関連肝癌サンプル67例およびC型慢性肝炎サンプル164例を用いてゲノムワイド関連解析を行った。約60万SNPのうち、44 SNPsで $p < 10^{-4}$ を示した。今後、国立国際医療研究センター及び東京大学医科学研究所と協力することで、詳細な臨床情報が付帯されたクオリティの高いゲノムDNAサンプルを揃えた解析を実施することが可能となる。

療薬の開発（ゲノム創薬）(H23-25)

A. 研究目的

肝癌は癌による死亡原因の第4位で、そのうち約70%がHCVの感染に起因している。HCVに暴露後約70%の症例は慢性肝炎を発症しさらに肝硬変・肝癌となるが、肝障害が軽微で推移する患者も多く個人差が大きいのが特徴である。またC型肝炎に対してはIFN、肝癌にはソラフェニブの有効性が確認されているものの、副作用などで治療を中断せざるを得ない場合も多い。

本研究では、これまでの知見を元に以下の3項目を解析する事を目的とする。

1. 慢性C型肝炎患者における発癌リスク予測システムの構築 (H23-24)
2. テラプレビルを含む3剤併用療法での発癌リスク予測システムの検証 (H24-25)
3. MICAの活性化による肝癌予防法・治

B. 研究方法

①研究協力施設からの検体及び付帯情報の収集

すでに研究協力体制ができて国内の大学病院等の15施設から、平成23年度も引き続き検体とその検体についての臨床検査データおよび患者の付帯情報収集を行う。検体及び付帯情報の収集は、国立国際医療研究センター（研究分担者：溝上雅史）と協力して行い、各施設においての検体とデータは、連結可能な匿名化の作業を順守した上で国立国際医療研究センターへ提出させる。

②比較対照研究による肝癌発症リスク予測

システムの構築

収集した検体を用いて、慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間で発癌リスクに関する因子を検討する。遺伝子型多型解析は、国立国際医療研究センター（研究分担者：溝上雅史）および東京大学医科学研究所（研究代表者：松田浩一）と協力して実施する。

（倫理面への配慮）

本研究に関係するすべての研究者はヘルシンキ宣言（平成 20 年 10 月修正）を遵守する。かつ、臨床研究に関する倫理指針（平成 20 年 7 月 31 日全部改正）、およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 17 年 6 月 29 日一部改正）に則って本研究を実施するものとする。研究遂行者の供与される情報は、個人識別情報を除き供与される。即ち、連結可能匿名化とする。また、患者個人識別情報と検体との対応表は、独立の鍵が掛かる場所に厳重に保管する。さらに、個人情報管理をパソコンで行う場合には、当該パソコンをネットに連結することなく単独で使用し、独立の鍵の掛かる場所に厳重に保管する。

C. 研究結果

本研究において収集した HCV 患者サンプルおよび健常者サンプル、またその臨床情報を国立国際医療研究センターの協力のもと集約的に管理し、慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間で発癌リスクに関する因子を検討するための予備的解析を実施した。

これまでに、C 型肝炎ウイルス関連肝

癌・肝硬変サンプル 127 例（肝癌 101 例、肝硬変 26 例）、および慢性肝炎サンプル 394 例を収集した。そのうち、肝癌サンプル 67 例、慢性肝炎サンプル 164 例を用いてゲノムワイド関連解析を行った。約 60 万 SNP のうち、44 SNPs で $p < 10^{-4}$ を示した。遺伝子領域としては 23 遺伝子領域に相当する。

T. 考察

慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間の比較から発癌リスクに関する因子を検出するためには、より多くのサンプル数（ケース群 500 検体以上）必要とされる。今後、国立国際医療研究センターと協力することで、詳細な臨床情報が付帯されたクオリティの高いゲノム DNA サンプルを揃えた解析を実施することが可能となる。

U. 結論

国立国際医療研究センター（研究分担者：溝上雅史）および東京大学医科学研究所（研究代表者：松田浩一）と分担して遺伝子多型解析を実施する体制を整えることで、効率のよい解析が可能となり、高い研究成果を得ることが期待される。

V. 研究発表

8. 論文発表

1) Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki NS, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, **Tokunaga K**, Mizokami M, Watanabe M; Ochanomizu-Liver Conference Study Group: 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.* 83(5): 871-8 (2011)

2) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsunashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, **Tokunaga K**, Mizokami M: Genome-wide association study identified ITPA/DDR1GK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C., *Hum Mol Genet.* 20 (17): 3507-16 (2011)

3) Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui 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: Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 16(5): 685-94 (2011)

4) Ogoshi K, Hashimoto SI, Nakatani Y, Qu W, Oshima K, **Tokunaga K**, Sugano S, Hattori M, Morishita S, and Matsushima K: Genome-wide profiling of DNA methylation in human cancer cells. *Genomics.* 98(4): 280-287, 2011.

5) Nishida N, Mawatari Y, Sageshima M, **Tokunaga K**: Highly Parallel and Short-Acting Amplification with Locus-Specific Primers to Detect Single Nucleotide Polymorphisms by the DigiTag2 Assay. *PLoS One.* 7(1): e29967 (2012)

9. 学会発表

1) **Tokunaga K**, Lessons from genome-wide search for disease-related genes, The 20th Annual Conference of Korean Genome Organization, Gangseo-myeon, Korea, 2011.

2) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Koike A, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, Mizokami M, **Tokunaga K**, A genome-wide association study identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, International Congress of Human Genetics 2011, Montreal, 2011.

3) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, **Tokunaga K**, Mizokami M, The association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2011, San Francisco, 2011.

4) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、伊藤清顕、溝上 雅史、**徳永勝士**、ゲノムワイド関連解析によるB型肝炎ウイルス排除機構に関与する遺伝要因の探索、第56回日本人類遺伝学会、幕張、2011

5) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、伊藤清顕、溝上雅史、**徳永勝士**、B型肝炎の慢性化・ウイルス排除機構とHLA-DPとの関連、日本組織適合学会第20回大会、三島、2011

6) 西田奈央、田中靖人、澤井裕美、杉山真也、馬渡頼子、提嶋恵美、小笠原有子、石橋良美、馬場菜津美、溝上雅史、**徳永勝士**、B型肝炎慢性化、B型肝炎ウイルス排除を規定するHLA-DP遺伝子の同定、第34回日本分子生物学会、横浜、2011

7) Nishida N, Sawai H, Sugiyama M, Matsuura K, Han K-H, Koike A, Ahn SH, **Tokunaga K**, Tanaka Y, Mizokami M, The association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean, The 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2012), Taipei, 2012.

8) Sawai H, Nishida N, Matsuda K, Han K-H, Ahn SH, Matsuura K, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, **Tokunaga K**, No association for Chinese hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in Japanese and Korean populations, The 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL 2012), Taipei, 2012.

W. 知的所得権の出願・登録状況

10. 特許取得

なし

11. 実用新案登録

なし

12. その他

なし

肝癌発症リスク予測システムに基づいた慢性C型肝炎に対する個別化医療の導入及びゲノム創薬への取り組み

分担研究者：高橋篤(理化学研究所ゲノム医科学研究センター統計解析研究チーム)

分担研究課題：肝癌発症リスク予測システムの統計解析

研究要旨：慢性 C 型肝炎患者における肝癌発現リスクは、ウイルス因子、血液生化学検査、遺伝子多型や性別、年齢などの表現型が関わっている。これらの情報を元に肝癌の発症を予測するシステムの構築を目指す。システム構築にあたり、肝癌発症予測リスクシステムの構築の方法に関して、妥当性などの理論的な評価を行った。

A. 研究目的

これまでの研究により、*MICA* の遺伝子多型の違いにより HCV 陽性肝癌の発症リスクが 2 倍異なることがわかっている。さらに、血中 *MICA* の濃度は、*MICA* 遺伝子多型により違いがあり、血中 *MICA* の濃度が肝癌発症リスクのバイオマーカーとなりうる可能性が示唆されている。*MICA* を含む遺伝子多型、血中 *MICA* 濃度、ウイルス因子、性別・年齢などの表現型の情報から HCV 陽性肝癌の発症予測システムの構築を行う。本研究では、予測システムの構築の方法に関して、その妥当性などに対し理論的な評価を行った。

B. 研究方法

これまでの研究で候補となる遺伝子多型などの因子を考慮した発症予測モデルを構築する。構築したモデルの妥当性に関して、シミュレーションにより理論的に評価を行う。遺伝子型の頻度などの各種パラメータは、これまでの観測データを元にしてモデ

ルに組み込む。シミュレーションは計算機を用いて行う。モデルの構築方法の妥当性の評価のために、発症リスクや各種パラメータを明示的に設定し、どの程度の精度で予測できるかを評価する。

計算機シミュレーションによりデータを仮想的に作成してモデルの評価を行い、個人のデータを使用しておらず、倫理面での問題は無い。

C. 研究結果

予測システムの構築は、モデルパラメータを推定するための学習データセット、およびモデル評価のための評価データセットの 2 つが必要となる。予測システム構築の方法のひとつとして、データセットを N 分割して、学習データセットおよび評価データセットを作成する Cross Validation 法がある。計算機シミュレーションの結果、Cross Validation 法はバイアスを生じる

ことが判明した。

予測精度を上げるためには、発症に関連する因子のみを過不足なく取り入れる必要があることが明らかになった。関連の無い因子を取り入れると、学習データセットでは予測精度が良い場合でも、評価データセットでの予測精度が大きく低下する。

X. 考察

発症予測システムの構築では、使用するデータセットが非常に重要となる。学習用と評価用のデータセットは、完全に独立である必要がある。Cross Validation 法では、精度が高くなる方向のバイアスを生じる。さらに、予測に使用する因子は、過不足なく取り入れる必要がある。発症リスクモデルの構築には、これらの点を留意する必要がある。

Y. 結論

本研究の結果から、予測システム構築において、データの重要性が明らかになった。モデル構築のためのデータと評価のためのデータは独立である必要がある。前向きコホートのデータは、モデル構築のデータとは完全に独立のため、発症予測システムを正しく評価することが可能である。

Z. 研究発表

10. 論文発表

なし

11. 学会発表

なし

AA. 知的所得権の出願・登録状況

なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小池麻子、徳永勝士	ゲノムワイド関連解析データベースとデータ共有	有田正規	使えるデータベース・ウェブツール	羊土社	東京	2011	160-166

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
H. Mbarek, H. Ochi, Y. Urabe, V. Kumar, M.Kubo, N. Hosono, A. Takahashi, Y. Kamatani, D. Miki, H. Abe, T. Tsunoda, N. Kamatani, K. Chayama, Y. Nakamura, K. Matsuda	A genome-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population.	Human molecular genetics.	20(19)	3884-3892	2011
J. Li, D. Yang, Y. He, M. Wang, Z. Wen, L. Liu, J. Yao, K. Matsuda , Y. Nakamura, J. Yu, X. Jiang, S. Sun, Q. Liu, Q. Song, M. Chen, H. Yang, F. Tang, X. Hu, J. Wang, Y. Chang, X. He, Y. Chen, J. Lin	Associations of HLA-DP variants with hepatitis B virus infection in southern and northern Han Chinese populations: a multicenter case-control study.	PloS one	6(8)	e24221	2011
V.Kumar, N.Kato, Y.Urabe, A.akahashi, R.Muroyama, N.Hosono, .Otsuka, R.Tateishi, M.Omata, H.Nakagawa, K.Koike, N.Kamatani, M.Kubo, Y.Nakamura, K.Matsuda ,	Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma.	Nature genetics	43(5)	455-458	2011
J.C. Chambers, K. Matsuda , et al.	Genome-wide association study identifies loci influencing concentrations of liver enzymes in plasma.	Nature genetics	43	1131-1138.	2011

Y.J. Kim, M.J. Go, C. Hu, C.B. Hong, Y.K. Kim, J.Y. Lee, J.Y. Hwang, J.H. Oh, D.J. Kim, N.H. Kim, S. Kim, E.J. Hong, J.H. Kim, H. Min, Y. Kim, R. Zhang, W. Jia, Y. Okada, A. Takahashi, M. Kubo, T. Tanaka, N. Kamatani, <u>K. Matsuda</u> , T. Park, B. Oh, K. Kimm, D. Kang, C. Shin, N.H. Cho, H.L. Kim, B.G. Han, Y.S. Cho,	Large-scale genome-wide association studies in east Asians identify new genetic loci influencing metabolic traits.	Nature genetics	43	990-995	2011
Yoshimi A, Yamamoto G, Goto T, <u>Koike K</u> , Kurokawa M	Hepatocellular carcinoma in cirrhotic liver with graft-versus-host disease	Ann Hematol		2012 Feb 9.[Epub ahead of print]	
Goto E, Masuzaki R, Tateishi R, Kondo Y, Imamura J, Goto T, Ikeda H, Akahane M, Shiina S, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K</u>	Value of post-vascular phase (Kupffer imaging) by contrast-enhanced ultrasonography using Sonazoid in the detection of hepatocellular carcinoma	J Gastroenterol		2011 Dec 27. [Epub ahead of print]	
Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Sato T, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Yoshida H, Omata M, <u>Koike K</u>	Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: 10-year outcome and prognostic factors	Am J Gastroenterol		2011 Dec 13. doi: 10.1038/ajg.2011.425. [Epub ahead of print]	

Ohki T, Tateishi R, Akahane M, Shiina S, Yamashiki N, Mikami S, Enooku K, Goto E, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Inoo S, Ohtomo K, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K</u>	Characteristics of hepatocellular carcinoma nodules newly detected by computed tomography during arteriography and arterial portography: preliminary report of a randomized controlled trial	Hepatol Int		2011 Aug 31. [Epub ahead of print]	
Enooku K, Tateishi R, Kanai F, Kondo Y, Masuzaki R, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Omata M, <u>Koike K</u>	Evaluation of molecular targeted cancer drug by changes in tumor marker doubling times	J Gastroenterol		2011 Sep 21. [Epub ahead of print]	
Takata A, Otsuka M, Kogiso T, Kojima K, Yoshikawa T, Tateishi R, Kato N, Shiina S, Yoshida H, Omata M, <u>Koike K</u>	Direct differentiation of hepatic cells from human induced pluripotent stem cells using a limited number of cytokines.	Hepatol Int		2011 Feb 6. [Epub ahead of print]	
Inoue H, Yamazaki S, Shimizu M, Uozaki H, Goto T, Ohnishi S, <u>Koike K</u>	Liver injury induced by the Japanese herbal drug kamishoyosan	Gastroenterol Hepatol (NY)	7(10)	692-695	2011
Arano T, Nakagawa H, Tateishi R, Ikeda H, Uchino K, Enooku K, Goto E, Masuzaki R, Asaoka Y, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Omata M, Yoshida H, <u>Koike K</u>	Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients	Int J Cancer	129	2226-22 35	2011

Goto T, Yoshida H, Tateishi R, Enooku K, Goto E, Sato T, Ohki T, Masuzaki R, Imamura J, Shiina S, <u>Koike K</u> , Omata M	Influence of serum HBV DNA load on recurrence of hepatocellular carcinoma after treatment with percutaneous radiofrequency ablation	Hepatol Int	5(3)	767-773	2011
Taguwa S, Kambara H, Fujita N, Noda T, Yoshimori T, <u>Koike K</u> , Moriishi K, Matsuura Y	Dysfunction of autophagy participates in vacuole formation and cell death in cells replicating hepatitis C virus	J Virol	85	13185-13194	2011
Kudo Y, Tanaka Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Mohri D,	Altered composition of fatty acids exacerbates hepatotumorigenesis	J Hepatol	55(6)	1400-1408	2011
Isomura Y, Seto M, Nakagawa H, Asaoka Y, Tada M, Ohta M, Ijichi H, Hirata Y, Otsuka M, Ikenoue T, Maeda S, Shiina S, Yoshida H, Nakajima O, Kanai F, Omata M, <u>Koike K</u>	during activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway				
Ishizaka N, Hongo M, Sakamoto A, Saito K, Furuta K, <u>Koike K</u>	Liver lipid content is reduced in rat given 7-day administration of angiotensin II	J Renin Angiotensin Aldosterone Syst	12(4)	462-468	2011
Bertot LC, Sato M, Tateishi R, Yoshida H, <u>Koike K</u>	Mortality and complication rates of percutaneous ablative techniques for the treatment of liver tumors: a systematic review	Eur Radiol	21(12)	462-468	2011

Yamashiki N, Sugawara Y, Tamura S, Kaneko J, Yoshida H, Aoki T, Hasegawa K, Akahane M, Ohtomo K, Fukayama M, <u>Koike K</u> , Kokudo N	Diagnostic accuracy of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin in screening for hepatocellular carcinoma in liver transplant candidates	Hepatol Res	41(12)	1199-12 07	2011
Fujinaga H, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K, <u>Koike K</u>	Hepatocarcinogenesis in hepatitis C: HCV shrewdly exacerbates oxidative stress by modulating both production and scavenging of reactive oxygen species	Oncology	Suppl 1	11-17	2011
Ikeda H, Tateishi R, Enooku K, Yoshida H, Nakagawa H, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Kume Y, Tomiya T, Inoue Y, Nishikawa T, Ohtomo N, Tanoue Y, Ono T, <u>Koike K</u> , Yatomi Y	Prediction of hepatocellular carcinoma development by plasma ADAMTS13 in chronic hepatitis B and C	Cancer Epidemiol Biomarkers Prev	20(10)	2204-22 11	2011
Watanabe S, Enomoto N, <u>Koike K</u> , Izumi N, Takikawa H, Hashimoto E, Moriyasu F, Kumada H, Imawari M ; PERFECT Study Group.	Cancer preventive effect of pegylated interferon α -2b plus ribavirin in a real-life clinical setting in Japan: PERFECT interim analysis.	Hepatol Res	41(10)	955-964	2011
Otsuka M, Takata A, Yoshikawa T, Kojima K, Kishikawa T, Shibata C, Takekawa M, Yoshida H, Omata M, <u>Koike K</u>	Receptor for Activated Protein Kinase C: Requirement for Efficient MicroRNA Function and Reduced Expression in Hepatocellular Carcinoma. PLoS One	PLoS One	6(9)	e24359.	2011