

201125021A

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

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

(H22-肝炎-一般-005)

平成 23 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 田中 靖人

平成 24 (2012) 年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告書	頁
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 .....	1
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 田中 靖人)	
II. 分担研究報告書	
1. 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 .....	17
(東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 徳永 勝士)	
2. 次世代シーケンサーを用いた IL28B の解析 .....	21
(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)	
3. C型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析 .....	23
(武蔵野赤十字病院 消化器科 黒崎 雅之)	
4. PEG-IFN/RBV 治療早期の血中 HCV-RNA 量の減衰の検討 (IL28B 遺伝子多型と治療前血中 IP-10 値により 4 群に層別化して) .....	27
(国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 八橋 弘)	
5. C型慢性肝疾患患者における、ペグインターフェロン・リバビリン併用療法の治療効果、 貧血と宿主因子についての検討 .....	30
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 松浦 健太郎)	
6. 肝炎コホートにおける自然治癒・肝発癌関連因子の解析 .....	35
(山形大学医学部消化器内科学 渡辺 久剛)	
7. 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 .....	39
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 菅内 文中)	
8. 宿主遺伝子に関連した治療抵抗性機構の解析 .....	42
(東京医科歯科大学・分子肝炎制御学講座 坂本 直哉)	
9. 新型シーケンサーによる HCV ゲノム網羅的解析 .....	46
(国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 本村 和嗣)	
10. 肝炎の進展、治療反応性に寄与する宿主遺伝子発現データベースの構築 .....	50
(金沢大学医薬保健研究域 本多 政夫)	

11. 肝炎ウイルス統合データベースの構築およびネットワーク解析 .....	53
(国立遺伝学研究所 生命情報・DDBJ 研究センター 五條掘 孝)	
12. ウイルス性肝炎に対する応答性を既定する宿主因子も含めた情報のデータベース構築 .....	55
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 新井 理)	
III. 研究成果の刊行一覧 .....	57
IV. 研究成果の刊行物・別冊 .....	67

# I. 総括研究報告書

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）  
総括研究報告書（平成 23 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

研究代表者：田中 靖人 名古屋市立大学 大学院医学研究科 教授

研究要旨：本研究は、肝炎ウイルス感染に対する応答性や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両方の遺伝子要因を同一個体内で明らかにすることが大きな特徴である。さらに、統合的にデータベース化し解析することにより、ヒト及びウイルス要因の両方を考慮した知見を得ることを目的とする。

**1) 検体及び付帯情報の収集**：ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、全国 35 施設より検体及び付帯情報の収集を開始した。平成 24 年 1 月現在、慢性ウイルス性肝疾患患者から約 5,000 検体を得た。**2) GWAS 解析**：ペグインターフェロン+リバビリン (PEG-IFN/RBV) 併用療法による副作用（好中球減少、うつ病）及び扁平苔癬に関連する遺伝要因の探索。**3) コホート研究**：a) C 型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析、b) PEG-IFN/RBV 治療早期の血中 HCV-RNA 量の減衰の検討 (IL28B 遺伝子多型と治療前血中 IP-10 値による層別化)、c) 肝炎コホートにおける自然治癒関連因子の解析。**4) 機能解析**：a) IL28B SNP と ISG 発現、b) IL28B 遺伝子発現解析、c) IFN $\lambda$  を制御する低分子化合物のスクリーニング、d) 新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。**5) 肝炎ウイルス統合データベースの構築**：ウイルス遺伝子情報、SNP 情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースのプロトタイプを完成させ、その一部を公開した。患者 SNP、性別、年齢、F 因子、HCV サブタイプ、core70/91 変異等をパラメータとして、治療効果の予測が可能となり、テーラーメイド治療への展開が期待される。また、適切な治療法の選択および新たな治療法の開発で患者の予後を改善するのみならず、医療費の低減に繋がり、社会の福祉に寄与することができる。本システムにより、既報の治療効果は再現された。

研究分担者	
五條堀 孝	国立遺伝学研究所 生命情報・DDBJ 研究センター 教授
徳永 勝士	東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 教授
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
八橋 弘	国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 治療研究部長
本多 政夫	金沢大学医薬保健研究域 教授
黒崎 雅之	武蔵野赤十字病院 消化器科 部長
坂本 直哉	東京医科歯科大学 分子肝炎制御学講座 准教授
渡辺 久剛	山形大学医学部 消化器内科学 講師
新井 理	名古屋市立大学 大学院医学研究科 研究員
菅内 文中	名古屋市立大学 大学院医学研究科 研究員
本村 和嗣	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター 主任研究官

## A. 研究目的

[目的] (1) 本研究では複数のコホートを用いて、C型肝炎ウイルス(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) ウイルス遺伝子情報、SNP情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースのプロトタイプを完成させ、公開を目指す。さらに、関連するデータベースと直接リンク可能な統合型肝炎データベースとして構築し、蛋白質間相互作用も計算機上でネットワーク解析を行う。

[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。

## B. 研究方法

研究代表者である田中は、引き続き本研究の

主研究施設である名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子解析倫理委員会の規定に基づいて、検体の採取を継続した。これまでに35施設においてヒト遺伝子解析倫理委員会の規定に基づいて検体採取が開始され、平成24年1月現在、約5,000検体が東大のSNP(一塩基多型)センターに届けられている。上記目的を達成するための研究概要をポンチ図(P12~15)に示す。

(1) **ヒトSNPsを用いたゲノムワイド関連研究**: 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、各種慢性ウイルス性肝疾患患者群の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解析を行う。ゲノムワイド関連解析は、徳永らが開発したGeneChip analysis ver2.0.10ソフトウェアを用いて実施する。ゲノムワイド関連解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す(図1)。

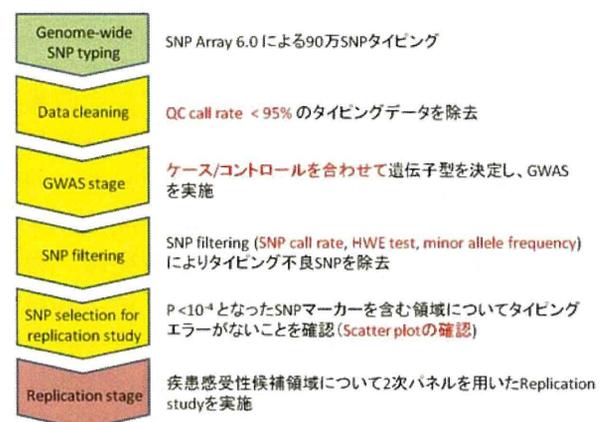


図1

**(2) IL28B, ITPA SNP の臨床的意義の検証：**

**a) C 型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析**

(黒崎雅之)：武蔵野赤十字病院で PEG-IFN/RBV の 2 剤併用療法を施行した 514 例を発癌リスクで層別化し、治療成績の実態を検討した。また、これら治療対象となったコホートにおける Telaprevir 使用困難症例の頻度を検討し、当該症例における PEG-IFN/RBV の 2 剤併用療法の治療効果とその規定因子について解析した。

**b) PEG-IFN/RBV 治療早期の血中 HCV-RNA 量の減衰の検討 (八橋弘)：**長崎医療センターで 2007 年 3 月～2010 年 8 月に Genotype1 型の C 型肝炎に対して PEG-IFN/RBV 併用療法を導入した 82 例を対象とし、治療早期の HCV-RNA 減衰および HCV-RNA 累積陰性化率について検討した。

**c) 肝炎コホートにおける自然治癒関連因子の解析 (渡辺久綱)：**C 型肝炎高浸淫地域住民 7,925 名を対象に HCV 抗体検査を行ったところ、HCV 抗体陽性者は 1,078 名 (HCV 抗体陽性率 13%) であった。これら全員に対し、自記式質問票による感染要因調査、身長、体重、BMI、血液生化学検査、HCV 抗体、HCV genotype、HCV RNA、HBs 抗原、HBs 抗体、HBc 抗体、専門医による腹部超音波を用いた肝がん検診のほか、IL28B 近傍 SNP (rs8099917) を測定した。

自然治癒関連因子及び発癌関連因子を Cox 比例ハザードモデルにより分析した。

**(3) IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫)：**PEG-

IFN/RBV 併用療法を施行した C 型肝炎 91 症例において治療前の肝組織及び末梢血液の遺伝子発現プロファイリングを Affymetrics gene chip (133U Plus 2.0) にて解析した。15 例の治療前の肝組織を用いてレーザーキャプチャ

ー・マイクロダイセクション (LCM) にて肝小葉部と門脈域細胞浸潤を別々に採取し、遺伝子発現を解析した。

**(4) IL28B 遺伝子発現解析 (溝上雅史)：**C 型肝炎に対する PEG-IFN/RBV 併用療法で治療抵抗性を示した患者群と治療反応性であった患者群について、GWAS で同定した多型について個々の変異を導入することで、各 SNP の持つ機能を検討した。

**(5) IFN $\lambda$  を制御する低分子化合物のスクリーニング (坂本直哉)：**IL28B (IFN- $\lambda$ 3) 転写調節領域の下流にルシフェラーゼリポーター遺伝子を挿入したプラスミドベクターを HEK293 細胞に恒常的に導入した細胞株、293/IL28B を樹立し、ランダム合成化合物ライブラリー約 10,000 化合物の High-throughput screening (HTS) を行い、IFN- $\lambda$  発現を増強する化合物、および IFN- $\lambda$  依存性の遺伝子発現を増強する化合物を探索した。使用するライブラリーは炭素骨格を基本とし生体利用可能な化合物から構成される。

**(6) ウイルス遺伝子解析 (本村和嗣)：**新型シーケンサーを用い、HCV 感染者体内の準種の種類とダイナミズムを包括的に解析する方法を研究する。

**(7) 肝炎ウイルス統合データベースの構築 (五條堀、新井)：**同データベースより、C 型肝炎の薬剤反応性やインターフェロン副作用に 관련된 SNP を探索し、その周辺の遺伝子を抽出する。それらの遺伝子産物およびその周辺の蛋白質間相互作用を対象に計算機上でネットワーク解析を行う。その結果をフィードバックすることで、同

データベースの機能拡充の指針を策定する(五條掘)。これまでに収集した SNP 情報および臨床情報を参照し、ある宿主側因子を持つ患者の PEG-IFN/RBV 療法の治療効果を予測するシステムを構築する。また、一般研究者への情報公開を目的として新たな利用者インターフェースを構築する(新井)。

### (倫理面への配慮)

ヒト由来試料の解析にあたり、新規試料については必ずインフォームドコンセントを取得し、既存試料についてはインフォームドコンセントの取得されたもののみを取り扱い、解析データの公表に際しては個人情報保護を徹底する。すでに、「テラーメド治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」に関して名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子解析倫理委員会の承認を得ており(平成19年3月30日)、修正版を申請し承認されている。研究分担者や連携研究者は各所属機関の倫理委員会において迅速審査を受けて承認を得ている。また、実験動物に対する動物愛護上の配慮を行い、研究施設委員会の承認を得て研究を行う。

## C. 研究結果

### ・研究代表者(田中靖人)

- (1) 検体及び付帯情報の収集(約 5,000 検体)
- (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) PEG-IFN/RBV 併用療法の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): 好中球減少(750未満、600未満)、うつ病(後ろ向き・前向き研究の実施)。(4) 扁平苔癬スクリーニングの実施、検体採取(久留米大学長尾先生との共同研究)

### ・研究分担者

(1) **新規 SNPs の同定(徳永勝士)**: 本年度は慢性ウイルス性肝疾患患者 388 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 1,210 検体のうち、1,114 検体は QC call rate が 95%以上となり、Overall call rate の平均は 98.65%となった。PEG-IFN/RBV 併用療法でうつ症状を発症した患者群 69 検体とうつ症状が見られなかった患者群 181 検体について、ゲノムワイド関連解析を実施した。ゲノムワイド有意水準( $P=8.05 \times 10^{-8}$ )に達する SNP を含む遺伝子領域は検出できなかったが、 $P < 10^{-4}$ を示す 82SNPs が存在する全 46 個所の候補遺伝子領域を検出した。

さらに、PEG-IFN/RBV 併用療法により好中球数が減少する患者群を対象としてゲノムワイド関連解析を実施し、候補遺伝子領域の絞り込みを行った(図2)。

### (2) IL28B, ITPA SNP の臨床的意義の検証:

・(黒崎雅之): 既報の発癌リスク評価方法により、最も発がんリスクが高い60歳以上、血小板数15



図2

万未満、アルブミン4.0未満の発癌高リスク症例(5年発癌率21%)においては、F3-4の線維化進展例の頻度が49%と高率であった。

発癌リスクに関わらず、Telaprevir 治療が困難である65歳以上、肝硬変、貧血(ヘモグロビン値12未満)のいずれかを有する症例は、現在の治療対象症例の49%であった。これらの症例に限定した多変量解析では、IL28Bmajor タイプ(odds比3.1)、ISDR変異2個以上(odds比3.1)、

血小板数 15 万以上 (odds 比 3.1) が治療効果と関連する独立因子であった。

・(八橋弘) : Genotype1 型の C 型慢性肝炎に対する PEG-IFN/RBV 治療において、IL28B 遺伝子多型と治療前血中 IP-10 値により層別化して、治療初期の HCV-RNA 減衰を検討した結果、IL28B 遺伝子多型 TT および IP-10 低値において減衰が良好であった。同じ IL28B 遺伝子多型でも IP-10 低値例では HCV-RNA 減衰が良好であり、IP-10 値は IL28B 遺伝子多型とは独立した HCV-RNA 減衰に関わる因子と考えられた。

・(渡辺久剛) : 本コホートにおいて、IL28B 近傍 SNP と HCV 自然治癒との関係を検討したところ、メジャーホモ群 (730 名) における HCV 自然治癒率は 375 名 (51.4%) であり、ヘテロ/マイナー群 (167 名) の 49 名 (29.3%) に比べ、有意にメジャーホモの頻度が高かった ( $p < 0.01$ )。さらに HCV 自然治癒に関連する因子を Cox 比例ハザードモデルにより解析したところ、IL28B 遺伝子多型が最も重要な因子であった (ハザード比 10.83, 95%CI: 2.64-44.4,  $p < 0.01$ )。さらに、IL28B 遺伝子多型と肝発癌リスクとの関連をみると、肝発癌例における IL28B SNP はヘテロ/マイナーの頻度が 27%を占める一方、非発癌例では 17%とその頻度に差を認めた。

(3) IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫) : LCM の検討では、IL28B メジャーでは肝小葉部の ISG 発現パターンと門脈域細胞浸潤の ISG 発現パターンが一致していたが、IL28B マイナーでは肝小葉部の ISG 発現が高値にかかわらず門脈域細胞浸潤の ISG 発現が低い傾向が認められた。ISG の一つである IFI44L 及び CD163、CD8 の免疫染色では IL28B マイナーでは、肝細胞では IFI44L の高発現が見られるものの、CD163、CD8 などのマクロ

ファージや T 細胞の免疫担当細胞の浸潤が抑制されていた。以上より、IL28B マイナーでは IFN 療法の反応不良の要因として、治療前の ISG 高値に加え、免疫担当細胞の浸潤不良が要因の一つとして挙げられた。

(4) IL28B 遺伝子発現解析 (溝上雅史) : プロモーター領域にある rs72258881 と rs4803219 について検討した。両 SNPs の野生型と変異型を組み合わせにして導入したフラグメントを Luc ベクターに挿入し、プロモーターアッセイで検討した結果、rs72258881 の多型が導入されたときに転写活性が変化した。この多型は TA の繰り返し配列で、繰り返し数を 13 回から 10 回にした場合に転写活性が低下した。健常検体で検討したところ、この繰り返し数が、10-18 回まで確認できた。それを再びプロモーターアッセイで転写活性を確認したところ、長くなるほどに活性が増加した。

(5) IFN $\lambda$  を制御する低分子化合物のスクリーニング (坂本直哉) : Toosendanin 前投与 24 時間後に IFN- $\lambda$ 1、 $\lambda$ 2、 $\lambda$ 3 をそれぞれ添加したところ IFN 誘導性の ISRE リポーター活性の誘導がより顕著に見られ、Toosendanin は IFN- $\lambda$  下流のシグナルを亢進することが示された (図 3)。

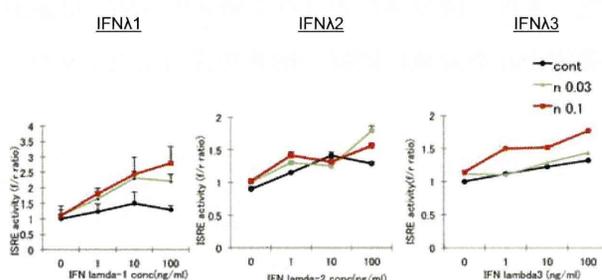


図 3

また、HEK293/IL28B 細胞株を用いて、1,037 化合物の一次スクリーニングを終了し、IFN- $\lambda$

(IL28B)プロモーター活性を亢進させる 68 化合物を同定した。

(6) ウイルス遺伝子解析 (本村和嗣) : IFN 治療後に収束あるいは多様化するアミノ酸座位と領域を調べるために、治療前後間でエントロピー解析した。治療後 (NVR\_4 名) で高度に保存されるアミノ酸は 12 箇所。NS3、NS5A に多いことがわかった。次に、IFN 治療応答-不応答間で比較した結果、治療前 (SVR\_3 名) で高度に保存されるアミノ酸は 13 箇所。E2、NS2 に多いことがわかった。また、治療前 (NVR\_7 名) で高度に保存されるアミノ酸は 1 箇所 NS5B に存在していた。

(7) 統合型データベース構築 (五條堀孝、新井理) : 患者 SNP、性別、年齢、F 因子、HCV サブタイプ、core70/91 変異等をパラメータとして、SVR+TR および NR+Null の頻度を算出するシステムとして構築した。本システムにより、既報の治療効果は再現された。一般研究者向け利用者インターフェースは、班員向けのそれと同機能としてシステムを共有し、対象のみ既報データに限定する形式に構築した。(図 4)。IL28B(薬剤反応性)および ITPA(副作用)の蛋白質間相互作用解析をゲノムネットワークプラットフォームで遂行した。また、同定された IFN $\lambda$  特異的 ISG、肝臓特異的 ISG を対象に同様の解析を遂行した(図 4)。



図 4

#### D. 考察

今年度は、C型慢性肝炎患者 388 検体を追加で SNP Array 6.0 を用いてタイピングした。IFN に伴う抑うつ (うつ病) や好中球減少に関連した遺伝要因、HCV での扁平苔癬発症に関連した遺伝要因を明らかにするために、GWAS を実施した結果、複数の候補遺伝子が同定されたが、現時点では関連性は弱く、今後 GWAS 症例の追加、あるいは Replication 解析を実施する予定である。

今年度までに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、ITPA SNP 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た。IFN 治療歴のない住民ベースの肝炎コホートにおいては、HCV 感染に伴う肝発癌と IL28B 遺伝子多型との関連ははまだ結論に至っていないが、これらヘテロ/マイナー群においては自然経過あるいは抗ウイルス治療による HCV 排除が得られにくいことが発癌と関連している可能性が考えられた。一般臨床において、発癌リスクの高い症例には線維化進展例が多く含まれるが、ウイルス学的難治例、宿主因子難治例の頻度は発癌リスクとは独立しているため、

従来型の2剤併用療法も治療選択肢の一つとなる。今後の標準療法は Telaprevir を含む3剤併用療法になるが、現在の治療対象の49%は Telaprevir 使用が困難な症例である。これらの症例における治療効果規定因子は IL28B、ISDR 変異、血小板数であり、ウイルス学的反応が得られれば、3.5g/体重(kg)以上のリバビリンを投与することで高率に SVR が得られる。また、同じ IL28B 遺伝子多型でも IP-10 低値例では HCV-RNA 減衰が良好であり、IP-10 値は IL28B 遺伝子多型とは独立した HCV-RNA 減衰に関わる因子と考えられ、こうした組み合わせは臨床的にも有用である。

さらに、蛋白質間相互作用ネットワーク解析が C 型肝炎の自然経過や治療効果を決める因子の関係性を調べる上で重要であると考えられるため、同解析に活用可能な相互作用情報、遺伝子発現情報のデータベースへの導入が有用性向上に効果的であると考えられる。これまで研究班で得られたすべてのデータの蓄積・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。

## E. 結論

HCV 感染に対する応答性（自然治癒）や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両方の遺伝子要因を明らかにすることができた。これまでに得られたウイルス遺伝子情報、SNP 情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースのプロトタイプは完成した。本データベースから各種データのダウンロードを可能とし、新たにデータマイニング解析等によりウイルス、宿主、臨床情報（病態、治療効果）の各因子を統合解析する

ことが可能である。臨床の分野においては、本データベースを参照することにより、患者 SNPs とウイルス変異の組み合わせから病態進展の予測及びハイリスク群の抽出が可能となり、テーラーメイド治療への展開が期待される。従って、適切な治療法の選択および新たな治療法の開発で患者の予後を改善するのみならず、肝硬変・肝癌という高度な医療が必要な患者数を減らすことにより、医療費の低減に繋がり、社会の福祉に寄与することができる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Matsuura K, **Tanaka Y**, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, Mizokami M. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatology*. 2011;41(6):505-511.
2. Seto WK, **Tanaka Y**, Liu K, Lai CL, Yuen MF. The Effects of IL-28B and ITPA Polymorphisms on Treatment of Hepatitis C Virus Genotype 6. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(5):1007-1008.
3. **Tanaka Y**, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi 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.* 2011;20(17):3507-3516.
4. 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.* 2011;16(5):685-694.
  5. Tamori A, Kioka K, Kurai O, Sakaguchi H, Enomoto M, Fujii H, Kobayashi S, Iwai S, Morikawa H, Yamaguchi S, Kawasaki Y, Oka H, **Tanaka Y**, Kawada N. Favorable factors for re-treatment with pegylated interferon  $\alpha$ 2a plus ribavirin in patients with high viral loads of genotype 1 hepatitis C virus. *Hepatol Res.* 2011;41(12):1169-1177.
  6. Miyaaki H, Ichikawa T, Yatsuhashi H, Taura N, Miura S, Usui T, Mori S, Kamihira S, **Tanaka Y**, Mizokami M, Nakao K. Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin. *Hepatol Res.* 2011;41(12):1216-1222.
  7. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One.* 2011;6(10):e26620.
  8. Raghwani J, Thomas XV, Koekkoek SM, Schinkel J, Molenkamp R, van de Laar TJ, Takebe Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Rambaut A, Pybus OG. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. *J Virol.* 2012; 86(4):2212-2220.
  9. **Tanaka Y**. Interleukin28B and Inosine Triphosphatase Help to Personalize Hepatitis C Treatment. *Digestion.* 2011;84 Suppl 1:50-55.
  10. Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Kim KI, Sasase N, Kimura N, Sasatani K, Konishi E, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, El-Shamy A, **Tanaka Y**, Sugano M, Sakashita M, Nakamura A, Tsuchida S, Makino T, Kawada T, Nakajima T, Morikawa T, Muramatsu A, Kasugai H, Hotta H, Kudo M. Double-Filtration Plasmapheresis plus Interferon- $\alpha$ 2b for HCV-1b Patients with Non-Sustained Virological Response to Previous Combination Therapy. *Digestion.* 2011;84 Suppl 1:10-16.
  11. Kani S, **Tanaka Y**, Matsuura K, Watanabe T, Yatsuhashi H, Orito E, Inose K, Motojuku N, Wakimoto Y, and Mizokami M. Development of new IL28B genotyping method using Invader Plus assay. *Microbiol Immunol.* 2012 in perss.
  12. Sawada N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Shimazu T, Yamaji T, Takashi R, **Tanaka Y**, Mizokami M, Tsugane S; Japan Public Health Center-based Prospective StudyGroup. Consumption of n-3 Fatty Acids and Fish Reduces Risk of Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology.* 2012 in press.
2. 学会発表
1. **Tanaka Y**. Genome-wide searches personalize hepatitis C treatment. The 8th Japan-Korea Liver Symposium. Jul.17,2011. Kobe.

2. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Nakanishi M, Mizokami M. Influence of genetic variation in IL-28B promoter on the gene expression levels. International Union of Microbiological Societies Congresses 2011. Sep.13, 2011. Sapporo.
3. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Mizokami M. POLYMORPHISM OF IL-28B PROMOTER REGION COULD IMPROVE THE PREDICTION VALUE OF RESPONSE TO CHC TREATMENT FOLLOWING RS8099917 GENOTYPING. THE 62ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nov.4-8,2011. San Francisco.
4. Kurosaki M, takura J, Yasui Y, Tsuchiya K, Nakanishi H, Takahashi Y, Asahina Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Sakamoto N, Enomoto N, Izumi N. PREDICTION MODEL OF RIBAVIRIN-INDUCED ANEMIA INCORPORATING ITPA GENOTYPE COULD IDENTIFY CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS AT HIGH RISK OF RELAPSE AMONG VIROLOGICAL RESPONDERS TO PEGYLATED-INTERFERON AND RIBAVIRIN. THE 62ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nov.4-8,2011. San Francisco.
5. Matsuura K, **Tanaka Y**, Nishida N, Sugiyama M, Watanabe T, Sugauchi F, Kurosaki M, Izumi N, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Kaneko S, Nojiri S, Joh T, Tokunaga K, Mizokami M. IL28B AND ITPA GENE VARIANTS CORRELATE WITH TREATMENT EFFICACY IN PEGYLATED-INTERFERON PLUS RIBAVIRIN THERAPY FOR CHRONIC HEPATITIS C. THE 62ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nov.4-8,2011. San Francisco.
6. Sakamoto N, **Tanaka Y**, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M. ITPA GENE VARIANT PROTECTS AGAINST TREATMENT-INDUCED ANEMIA AND IMPROVES VIRAL CLEARANCE BY PEGYLATED INTERFERON-ALFA AND RIBAVIRIN THERAPY IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS. THE 62ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nov.4-8,2011. San Francisco.
7. Kuga C, Matsuda F, Torii Y, Enomoto H, Aizawa N, Tanaka H, Iwata Y, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Nakamura H, Tsutsi H, Iijima H, **Tanaka Y**, Nishiguchi S. INTERFERON- $\beta$  TREATMENT IS EFFECTIVE FOR CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS WITH ANTI-INTERFERON- $\alpha$  NEUTRALIZING ANTIBODIES. THE 62ND ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nov.4-8,2011. San Francisco.
8. **Tanaka Y**. Host Genetic Factors on the Treatment of Chronic Hepatitis C. The Asian

- Pacific Association for the Study of the Liver.  
Feb. 16-19,2012. Taiwan.
9. **Tanaka Y.** Genetic variation in IL28B in response to interferon/ribavirin therapy. The Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Feb.16-19,2012. Taiwan.
  10. 伊藤清顕, 正木尚彦, 杉山真也, 斎藤紘昭, 青木孝彦, 今村雅俊, 村田一素, 野村秀幸, 髭 修平, 足立浩司, 日野啓輔, 八橋弘, 折戸悦朗, **田中靖人**, 溝上雅史. C型慢性肝炎患者における IL28B 関連 SNP s に関する検討～どの SNP をどの測定法で検査すべきか～. 第 47 回日本肝臓学会総会. 平成 23 年 6 月 2 日～3 日. 東京.
  11. 松浦健太郎, **田中靖人**, 飯尾悦子, 日下部篤宣, 新海登, 宮木知克, 野尻俊輔, 城卓志, 溝上雅史. C型慢性肝疾患に対するペグインターフェロン・リバビリン療法と ITPA 遺伝子の検討. 第 47 回日本肝臓学会総会. 2011 年 6 月 2 日～3 日. 東京.
  12. 日下部篤宣, **田中靖人**, 井上真奈美, 津金昌一郎, 溝上雅史. HCV 感染症例における HCV ウイルス量、genotype による肝発癌リスクの前向き検討—JPHC Study—. 第 47 回日本肝臓学会総会. 平成 23 年 6 月 2 日～3 日. 東京.
  13. **田中靖人**, 黒崎雅之, 溝上雅史. ペグインターフェロン・リバビリン療法に伴う血球減少関連遺伝子の検討. 第 47 回日本肝臓学会総会. 平成 23 年 6 月 2 日～3 日. 東京.
  14. 藤原圭, 折戸悦朗, 林克巳, 蟹江浩, 城卓志, **田中靖人**. 当院における C 型慢性肝炎治療成績の推移、および宿主遺伝子多型の治療への影響について. 第 47 回日本肝臓学会総会. 平成 23 年 6 月 2 日～3 日. 東京.
  15. 近藤豊, **田中靖人**. 肝炎ウイルスによるエピジェネティック異常の誘発機構. 第 15 回日本肝臓学会. 平成 23 年 10 月 22 日. 福岡.
  16. 可児里美, 柏木有美, 松浦健太郎, 新海登, 菅内文中, 渡邊綱正, 脇本幸夫, **田中靖人**. IL28B および ITPA SNP s 解析によるペグインターフェロン・リバビリン併用療法の効果予測. 日本臨床検査医学会学術集会. 平成 23 年 11 月 17 日～20 日. 岡山.
  17. 柏木有美, 可児里美, 宮地紀明, 脇山直樹, 松浦健太郎, 五藤孝秋, 脇本幸夫, **田中靖人**. C 型慢性肝炎治療に対する IL28B 遺伝子多型 (SNPs) 解析の日常臨床検査への導入. 日本臨床検査医学会学術集会. 平成 23 年 11 月 17 日～20 日. 岡山.
- G. 知的所得権の所得状況**
1. 特許取得  
C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー及びC型肝炎の治療効果の予測を行う方法並びにC型肝炎の予防又は治療剤 **田中靖人**, 溝上雅史, 徳永勝土. 2011 年 3 月 3 日特許公開 2011-41526.
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 主な研究協力施設

	施設名	代表	ヒトゲノム倫理委員会	担当者
1	名古屋市立大	田中靖人	○ (2007. 3. 30)	菅内文中、渡邊綱正
2	国立国際医療研究センター	溝上雅史	○	正木尚彦、伊藤清顕
3	東京大学	徳永勝士	○	西田奈央、上原靖加
4	山形大学	渡辺久剛	○	渡辺久剛
5	金沢大学	本多政夫	○	酒井明人
6	武蔵野赤十字病院	黒崎雅之	○	黒崎雅之
7	東京医科歯科大	坂本直哉	○	中川美奈
8	長崎医療センター	八橋弘	○	八橋弘
9	北海道大	髭修平	○	髭修平
10	手稲溪仁会病院	姜貞慶	○	姜貞慶
11	岩手医科大学	鈴木一幸	○	阿部弘一
12	埼玉医科大	持田智	○	持田智
13	山梨大学	榎本信幸	○	前川伸哉
14	信州大学	田中榮司	○	松本晶博
15	北里大学	渡邊真彰	○	渡邊真彰
16	聖マリアンナ医科大	奥瀬千晃	○	奥瀬千晃
17	名古屋第二赤十字病院	折戸悦朗	○	折戸悦朗
18	奈良県立医科大学	吉治仁志	○	吉治仁志
19	京都府立医科大学	伊藤義人	○	西村健
20	国立大阪医療センター	三田英治	○	三田英治
21	大阪大学	島田昌一	○	島田昌一
22	大阪市立大学	河田則文	○	田守昭博
23	済生会吹田病院	岡上武	○	岡上武
24	神戸朝日病院	金守良	○	金守良
25	市立池田病院	今井康陽	○	今井康陽
26	兵庫医科大学	西口修平	○	榎本平之
27	鳥取大学	村脇義和	○	大山賢治
28	川崎医科大学	日野啓輔	○	是永匡紹
29	岡山大学	山本和秀	○	池田房雄
30	山口大学	坂井田功	○	坂井田功
31	愛媛大学	恩地森一	○	日浅陽一
32	新小倉病院	野村秀幸	○	野村秀幸
33	久留米大学	長尾由実子	○	長尾由実子
34	鹿児島大学	坪内博仁	○	宇都浩文
35	宮崎大学	下田和哉	○	下田和哉

(敬称略)

# これまでの研究成果

全国35施設からの検体提供(各施設で匿名化)

\* 平成23年12月現在

個人情報管理者

ヒトSNPs・ゲノムワイド解析  
・ 健常人 200例 (徳永班員)  
・ 慢性肝疾患 4,217例

患者付帯情報の収集・解析  
(田中、研究協力者)

肝炎ウイルス塩基配列決定  
・ 肝癌症例 243例  
・ B型慢性肝炎 301例  
・ C型慢性肝炎 680例

ヒトSNPs情報

肝炎ウイルスゲノム情報

肝炎ウイルス統合データベースの構築  
・ ウイルス配列DBの更新  
・ 患者SNP DB及び患者情報DBの設計

(五條堀、溝上、新井)

IL28B SNP: PEG-IFN/RBV  
無効を規定する遺伝要因

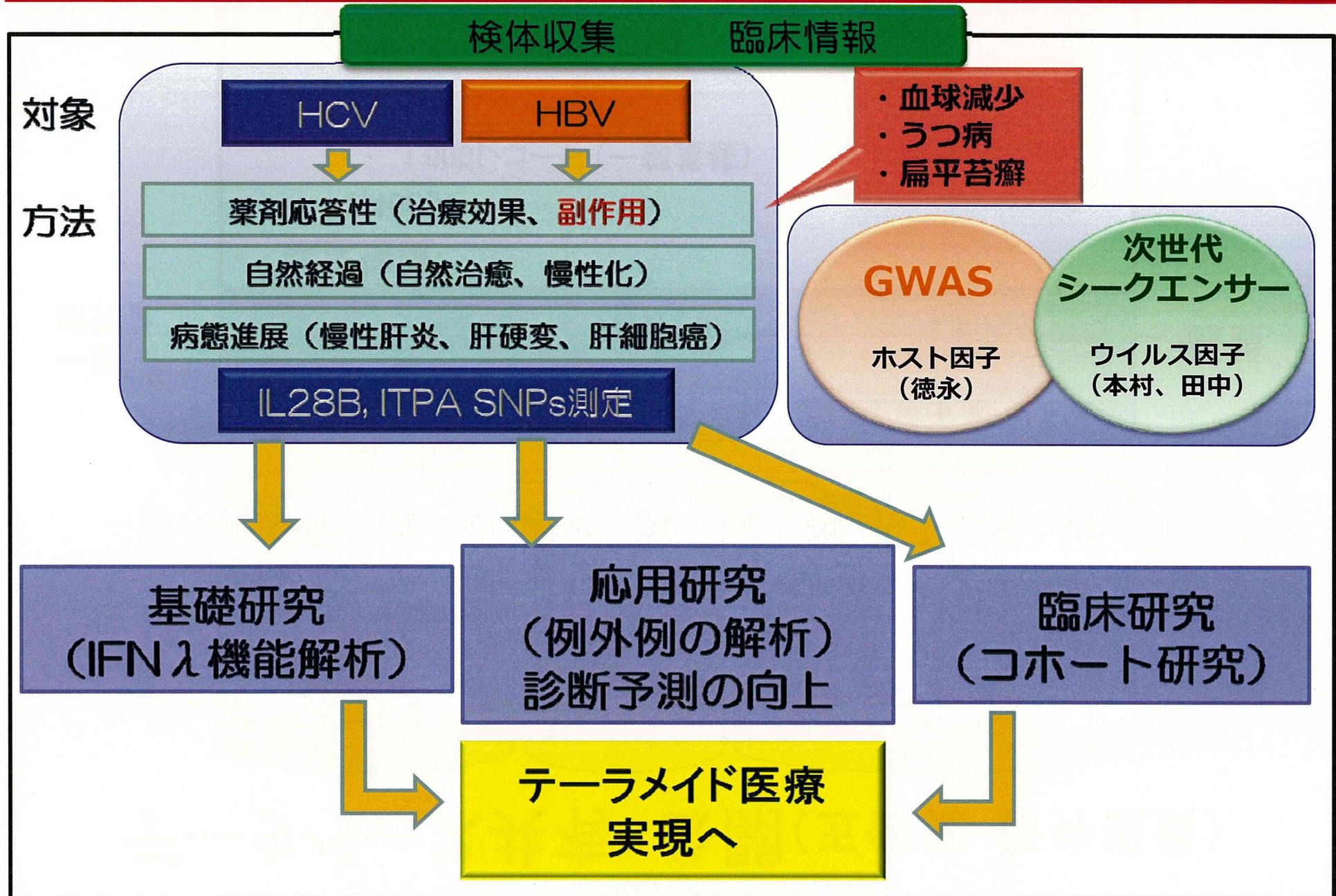
ITPA SNP: RBVに伴う貧血に  
関連する遺伝要因

HCV変異: コア70変異、NS5A  
領域 (ISDR/IRRDR)の決定

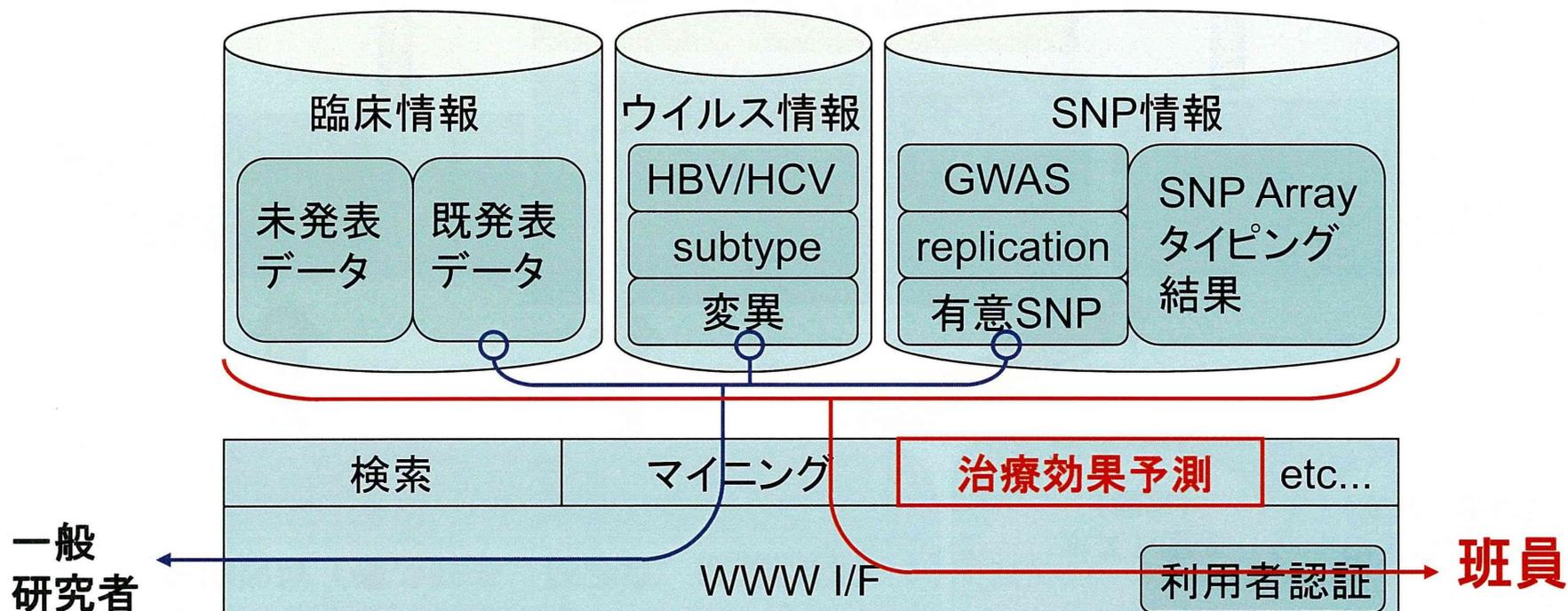
HBV変異: Enhancer~BCP~  
PC変異及びS変異の決定

DB共有・公開⇒ テーラーメイド医療実現へ

# 統合型肝炎データベース構築 (田中、新井、溝上、五條堀)



# データベース共有・公開(五條堀・新井班員)



## 臨床情報

- 1,460人
  - ・ 1,500レコード (一部重複)

## SNP情報

- SNP Array 6.0アッセイ
- IL28B replication study (DigiTag2)
- ITPA replication study (DigiTag2, TaqMan)

# 治療効果予測の例

パラメータ設定

therapeutic effect prediction

parameters	major homo	hetero	minor homo
SNP	rs11881222 (IL28B) <input type="checkbox"/> AA (191)	<input type="checkbox"/> GA (107)	<input type="checkbox"/> GG (5)
	rs8103142 (IL28B) <input type="checkbox"/> T (177)		<input type="checkbox"/> C (110)
	rs12980275 (IL28B) <input type="checkbox"/> AA (393)	<input type="checkbox"/> GA (229)	<input type="checkbox"/> GG (16)
	rs8099917 (IL28B) <input type="checkbox"/> TT (428)	<input type="checkbox"/> TG (200)	<input type="checkbox"/> GG (10)
	rs11697186 (ITPA) <input type="checkbox"/> AA (438)	<input type="checkbox"/> TA (147)	<input type="checkbox"/> TT (9)
	rs6139030 (ITPA) <input type="checkbox"/> TT (424)	<input type="checkbox"/> TC (157)	<input type="checkbox"/> CC (11)
	rs1127354 (ITPA) <input type="checkbox"/> CC (519)	<input type="checkbox"/> CA (173)	<input type="checkbox"/> AA (10)

sex: both  
age: unset

biopsy F factor: unset  
ISDR: unset  
core70: both  
core91: both

hemoglobin gain: 4week : Hb(2/4w) - Hb(0w)  
WBC gain: 4week : WBC(2/4w) - WBC(0w)  
neutrophil gain: 4week : Neut(2/4w) - Neut(0w)  
platelet gain: 4week : Plt(2/4w) - Plt(0w)

IFN adherence  ignore if < 60%  
RBV adherence  ignore if < 60%

search reset 実行

[DB home][top]

完了

SNP

性別、年齢

F因子、ISDR、core70/91変異

Hb, WBC, 好中球, Plt の時間変化 (0-2 or 0-4週)

## II. 分担研究、研究協力報告書