

いる可能性が考えられた。最近、HCV 感染に伴う肝発癌と複数の宿主因子との関連が報告されているが、宿主の遺伝子多型は、報告されているような抗ウイルス治療効果予測因子であるばかりでなく、C型肝炎の病態に密接に関連している可能性がコホート研究からも示された。

E. 結論

住民ベースの肝炎コホートにおける検討から、IL28B 遺伝子多型は、HCV 感染者の感染自然予後を規定する宿主因子として重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sasayama M, Shoji I, Adianti M, Jiang DP, Deng L, Saito T, Watanabe H, Kawata S, Aoki C, Hotta H: A point mutation at Asn-534 that disrupts a conserved N-Glycosylation motif of the E2 glycoprotein of hepatitis C virus markedly enhances the sensitivity to antibody neutralization. *J Med Virol* 84: 229-234, 2012.
2. Kachko A, Kochneva G, Sivolobova G, Grazhdantseva A, Lupan T, Zubkova I, Wells F, Merchinsky M, Williams O, Watanabe H, Ivanova A, Shvalov A, Loktev V, Netesov S, Major M: New neutralizing antibody epitopes in hepatitis C virus envelope glycoproteins are revealed by dissecting peptide recognition profiles. *Vaccine* 30: 69-77, 2011
3. Soga T, Sugimoto M, Honma M, Mori M, Igarashi K, Kashikura K, Ikeda S, Hirayama A, Yamamoto T, Yoshida H, Otsuka M, Tsuji S, Yatomi Y, Sakuragawa T, Watanabe H, Nihei K, Saito T, Kawata S, Suzuki H, Tomita M, Suematsu M: Serum metabolomics reveals γ -glutamyl dipeptides as biomarkers for discrimination among different forms of liver disease.

J Hepatol 55: 896-905, 2011

4. El-Shamy A, Shoji I, Saito T, Watanabe H, Ide YH, Deng L, Kawata S, Hotta H: Sequence heterogeneity of NS5A and core proteins of hepatitis C virus and virological responses to pegylated-interferon/ribavirin combination therapy. *Microbiol Immunol* 55: 418-426, 2011
5. Saito T, Okumoto K, Haga H, Nishise Y, Ishii R, Sato C, Watanabe H, Okada A, Ikeda M, Togashi H, Ishikawa T, Terai S, Sakaida I, Kawata S: Potential therapeutic application of intravenous bone marrow infusion in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Stem Cells Dev* 20: 1503-1510, 2011.
6. Ishii R, Togashi H, Iwaba A, Sato C, Haga H, Sanjo M, Okumoto K, Nishise Y, Ito JI, Watanabe H, Saito K, Okada A, Takahashi K, Saito T, Kawata S: (99m)Tc-GSA SPECT analysis was clinically useful to evaluate the effect of interferon in a patient with interferon non-responsive chronic hepatitis C. *Ann Nucl Med* 25: 520-523, 2011
7. 渡辺久剛、斎藤貴史、富田恭子、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、奥本和夫、西瀬雄子、河田純男: B型肝炎ウイルスジェノタイプB型感染高浸淫地区における感染実態の変遷。 *肝臓* 52, 753-755, 2011.

2. 学会発表

1. Watanabe H, Saito T, Sato C, Ishii R, Haga H, Okumoto K, Nishise Y, Shinzawa H, and Kawata S. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus (HCV) RNA in a population-based, long-term cohort study of chronic HCV carriers. The 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, November 2011.

2. Nishise Y, Saito T, Sato C, Ishii R, Haga H, Okumoto K, Watanabe H, Togashi H, Hotta H, and Kawata S. Hepatocellular carcinoma and secondary structure of hepatitis C virus (HCV) NS3 protein amino-terminus among patients received peginterferon plus ribavirin combination therapy for chronic HCV subtype 1b infection. The 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, San Francisco, November 2011.
3. 渡辺久剛、齋藤貴史、河田純男：肝炎コホートにおける HCV 自然治癒および肝発癌関連因子からみた C 型慢性肝炎に対する個別化医療の可能性. シンポジウム「C 型肝炎個別化医療のための宿主因子、ウイルス因子」第 53 回日本消化器病学会大会、福岡；2011 年 10 月
4. 渡辺久剛、齋藤貴史、佐藤智佳子、石井里佳、芳賀弘明、奥本和夫、西瀬雄子、斉藤孝治、富樫整、河田純男：急性 B 型肝炎におけるジェノタイプ A 型感染の実態と臨床経過 第 47 回日本肝臓学会総会、東京；2011 年 6 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

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 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

分担研究者：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。*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後、PEG-IFN α 2a を接種した。*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。PEG-IFN α 2a 投与 14 日目での HCV-RNA 減少量を比較した結果、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。*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 治療を施行した 54 例を対象とした。

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。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。血中の HCV-RNA 量はリアルタイム PCR を用いて経時的に測定し、抗 HCV 効果を比較した。各系統 3-4 匹のマウスで検討した。

C. 研究結果

IL28 遺伝子型(rs8099917)の TT, TG および GG は 34, 19 および 1 例にそれぞれ認められた。

PEG-IFN/RBV 投与 24 時間後の HCV 減少量は TG/GG に比較して TT で有意に高値であった (図 1)。さらに 1, 2, 4, 8, 12 週までの HCV 減少量は TG/GG に比較して TT で有意に高値であった。

キメラマウスにおいては PEG-IFN α 2a により、ウイルス量は徐々に減少し、14 日目での HCV-RNA 減少量(log reduction)を比較した結果、TT(major)では平均 2.3log の減少を認めたのに対して、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 (図 2)。

D. 考察

C 型肝炎に対する PEG-IFN/RBV 治療効果を規定する IL28B 遺伝子多型(SNP)が同定され HCV ダイナミクスにも大きく関与することが報告されている。本検討でも 2 相性の HCV-RNA の減量が認められ、ヒトにおける PEG-IFN/RBV 治療後の第 1 相(Ph1)および第 2 相(Ph2)の HCV 減少量は TG/GG に比較して TT で有意に高値であった。一方キメラマウスにおいては 2 相性の HCV 減量が認められたが IL28B 遺伝子型による差を認めなかった。

IL28B 遺伝子多型と HCV の自然排除については宿主の自然免疫との関連が報告されている。興味深いことに、黄疸を伴う HCV の急性感染は rs8099917 TT が他のアレルに比較して多いことが報告されている(32% VS. 5%, P=0.047)。このことから HCV の急性感染においては rs8099917-TT がより強い自然排除と関連する事が示唆される。

PEG-IFN/RBV 治療の効果予測因子は多く存在する。HCV 遺伝子型、Core や NS5A と PEG-IFN/RBV

治療の効果との関連が報告されている。HCV-1b についてはコアの 70 と 91、また ISDR の変異が PEG-IFN/RBV 治療の効果との関連あるとされている。本件討ではコア 70 変異株、ISDR 野生株がキメラマウスへ投与された。今後コア 70 アミノ酸、ISDR の野生株と変異株などについてキメラマウスを用いて HCV ダイナミクスを検討する必要がある。

E. 結論

キメラマウスは SCID マウスであることから、T cell、B-cell 系が作用していない。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、実際の臨床でみられる IL28B 遺伝子型による治療効果の差は、肝細胞自体の影響というより免疫担当細胞の役割も重要であると考えられた。

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. *Hepato Res.* 2011; 41(6) 505-511.

2.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.

2011;20(17):3507-3516.

3.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.2011;46:401-409.

4.Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, **Sugauchi F**, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N. Sequences in the Interferon Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis. J Med Virol. 2011;83(3):4425-452.

2. 学会発表

1. **Sugauchi F**, Tanaka Y, Matsuura K, Watanabe T, Tajiri K, Kishi H, Mizokami M. Cross-genotype protection of HBV and a role of HBs antigen mutation in immunity escape in vitro and in vivo model using uPA/SCID mice with human hepatocytes. American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD). Nov.4-8, 2011, San Francisco, USA.

2.Matsuura K, Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Izumi N, Tamori A, Abe K, **Sugauchi F**, Nojiri S, Joh T, Tsubouchi H, Tokunaga K, Mizokami M. Genetic Polymorphism in *IL28B* gene associated with clinical course of hepatitis C virus infection in Japanese population. 21th Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. February 19, 2011. Bangkok, Thailand.

3.Matsuura K, Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Watanabe T, **Sugauchi F**, Kurosaki M, Izumi N, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Kaneko K, 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.American

Association for the Study of Liver Diseases (AASLD).

Nov.4-8, 2011, San Francisco, USA.

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

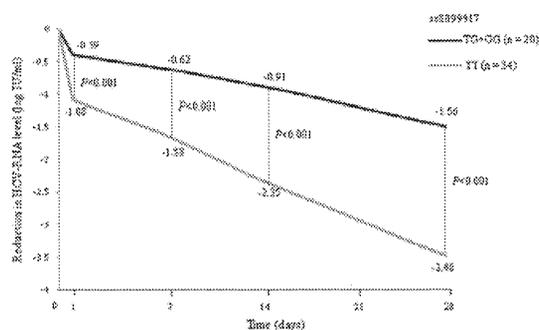
2. 実用新案登録

なし

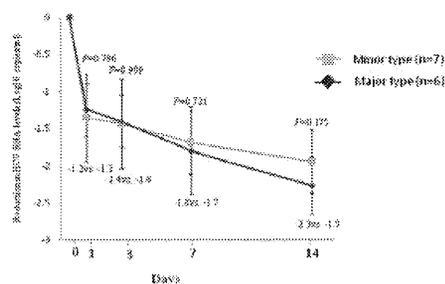
3. その他

なし

31



Median reduction of HCV RNA levels (log IU/ml) at 1, 7, 14 and 28 days between genotype TT and TG/GG in patients treated with PEG-IFN/RBV.



Median reduction of HCV RNA levels (log10 copies/ml) after administering PEG-IFN to 4 lines of chimeric mice and 4 different lots of human hepatocytes chimeric mice containing various rs809917 SNPs around the *IL28B* gene as major type (TT) and minor type (TG or GG).

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 23 年度）

ウイルス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

分担研究者：坂本 直哉 東京医科歯科大学・分子肝炎制御学講座・准教授

分担研究課題：宿主遺伝子に関連した治療抵抗性機構の解析

研究要旨：我々は機能が未知である IFN λ s の働きを解明し、その作用を増強する薬剤をすることを目的として研究を遂行している。今回我々はインターフェロン作用を増強する化合物のスクリーニングを遂行し、植物界に広く分布するトリテルペノイド化合物の一つである toosendanin に HCV 増殖抑制効果および interferon 作用増強効果があることを見いだした。HCV レプリコン細胞に toosendanin 存在下で 24 時間培養後インターフェロン α を添加することにより、ISG 発現増強とともに HCV 増殖が相乗的に抑制された。さらに IFN λ 下流のシグナルを亢進することも確認された。以上の結果より Toosendanin 関連化合物は IFN 作用増強薬として有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

現在まで多くの抗HCV薬の開発が行われているがインターフェロン α は今なお、抗HCV薬のkey drugである。我々は、独自に開発したHCV培養増殖系を用い、抗ウイルス薬感受性に関わる宿主蛋白の探索、機能解析を進め、新たな抗ウイルス療法を開発することを目的として研究を遂行している。本研究において坂本は、ランダム合成化合物ライブラリーの High-throughput screening (HTS)により、IFN- λ レセプター下流のシグナルを制御する小分子を探索し、植物界に広く分布するトリテルペノイド化合物の一つである toosendanin に HCV 増殖抑制効果および interferon 作用増強効果があることを見いだしたのでその作用機構を解析した。

B. 研究方法

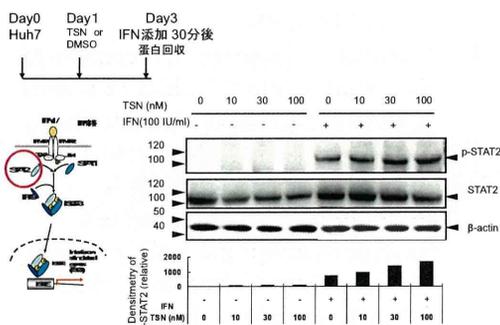
(1) Toosendanin を Huh751/1b レプリコン発現細胞 (Huh7/Rep-Feo) に添加し、IFN 併用・非併用下での HCV 増殖抑制効果を評価し、50%作用濃度(EC50)を算出した。同時に細胞毒性試験として MTS assay により 50%毒性濃度 (CC50) を測定した。インターフェロン効果は ISRE-luciferase リポーターアッセイにて評価し、ISGF3 の

成分である STAT1、STAT2、IRF9 を real time RT-PCR にて、STAT1、STAT2 のリン酸化を Western blotting にて解析した。

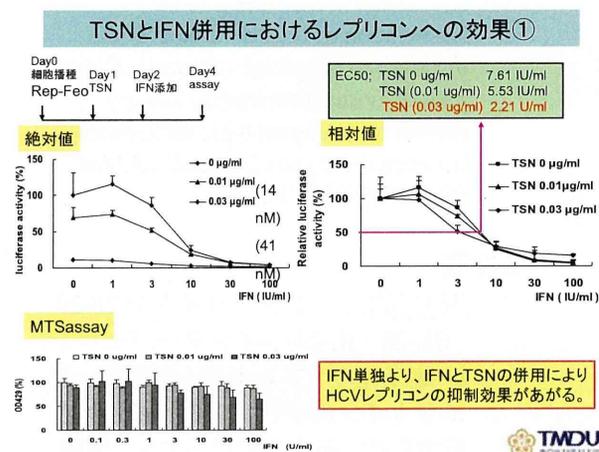
(2) IL28B(IFN- λ 2)転写調節領域の下流にルシフェラーゼリポーター遺伝子を挿入したプラスミドベクターを HEK293 細胞に恒常的に導入した細胞株、293/IL28B を樹立し、ランダム合成化合物ライブラリー約 10,000 化合物の High-throughput screening (HTS)を行い、IFN- λ 発現を増強する化合物、および IFN- λ 依存性の遺伝子発現を増強する化合物を探索した。使用するライブラリーは炭素骨格を基本とし生体利用可能な化合物から構成される。

C. 研究結果

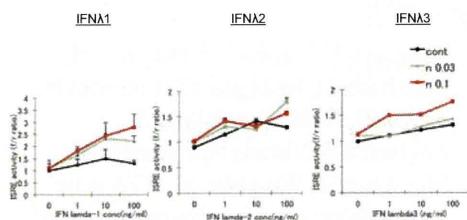
(1) Toosendanin は HCV レプリコンを細胞毒性を示さず特異的に抑制した (IC50 = 8ng/ml、CC50 > 30 μ g/ml、selectivity index > 3.8 $\times 10^3$)。Toosendanin と IFN の併用は、それぞれの単独投与に比べ低濃度で同等の HCV 増殖抑制効果が見られ、相乗的に作用すると考えられた。



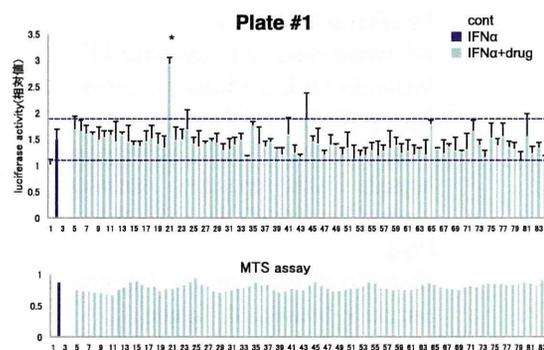
IFN による ISRE リポーター誘導能は Toosendanin 0.01~0.1 μ g/ml 併用下では有意に高く、IFN 作用を増強することが示された。Toosendanin 併用下では IFN による STAT2 リン酸化が増強した。



Toosendanin 前投与 24 時間後に IFN- λ 1, λ 2, λ 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- λ 下流のシグナルを亢進することが示された。



(2) 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- λ (IL28B) プロモーター活性を亢進させる 68 化合物を同定した。



D. 結論

Toosendanin は強力かつ特異的な HCV 複製抑制効果を認め、新規抗 HCV 治療薬としての可能性が示唆された。作用基序として、ISRE 活性の上昇およびその上流 STAT 2 のリン酸化が増加しており、ISG3 量体もしくはその上流に作用点があると考えられた。

E. 来年度以降の研究課題

- IFN- λ シグナル解析のため、その発現系
- 応答系を別個に解析するためのリポータープラスミドおよび標的培養細胞系を構築する。IFN- λ 発現系として IL28A、IL28B および IL29 遺伝子の転写調節領域を含むルシフェラーゼリポータープラスミドを構築し、転写調節に関連する上流の蛋白の解析を進める。IFN- λ 応答系として ISRE-リポータープラスミドおよび IFN- λ レセプター発現細胞下部を使用する。
- IFN- λ 発現を増強する化合物、および IFN- λ 依存性の遺伝子発現を増強する化合物を探索を継続し、同定された小分子の IFN- λ シグナル増強機構を解析する。さらに、独自に開発した HCV レプリコン系および HCV-JFH1 ウイルス培養系を用いて抗ウイルス効果の検証を行う。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kaushik-Basu N, Sakamoto N: Inhibition of hepatitis C virus NSSB polymerase by S-trityl-L-cysteine derivatives. *Eur J Med Chem* 2012; in press.
- Kusano-Kitazume A, Sakamoto N, Okuno Y, Sekine-Osajima Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Kiyonashi K, Nitta S,

- Murakawa M, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Hagiwara M, Watanabe M: Identification of novel N-(morpholine-4-carboxyloxy) amidine compounds as potent inhibitors against hepatitis C virus replication. *Antimicrob Agent Chemother* 2011; Epub ahead of Print.
3. Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Izumi N: Data Mining Analysis of Hepatocellular Carcinoma Risk Predictors in Chronic Hepatitis C. *J Hepatol* 2011; Epub ahead of Print.
 4. Asahina Y, Tsuchiya K, Muraoka M, Tanaka K, Suzuki Y, Tamaki N, Hoshioka Y, Yasui Y, Katoh T, Hosokawa T, Ueda K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Kurosaki M, Enomoto N, Nitta S, Sakamoto N, Izumi N: Association of gene expression involving innate immunity and genetic variation in IL28B with antiviral response. *Hepatology* 2011; 55(1):20-29.
 5. Ueyama M, Nakagawa M, Sakamoto N, Onozuka I, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Kitazume A, Murakawa M, Nishimura-Sakurai Y, Sekine-Osajima Y, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Watanabe M, Ochanomizu-Liver Conference Study Group: Serum interleukin-6 levels correlate with resistance to treatment of chronic hepatitis C infection with pegylated-interferon-alpha2b plus ribavirin. *Antivir Ther* 2011;16(7):1081-1091.
 6. Yoshida T, Kondoh M, Ojima M, Mizuguchi H, Yamagishi Y, Sakamoto N, Yagi K: Adenovirus vector-mediated assay system for hepatitis C virus replication. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(10):e64.
 7. Funaoka Y, Sakamoto N, Suda G, Itsui Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Watanabe T, Mishima K, Ueyama M, Onozuka I, Nitta S, Kitazume A, Kiyohashi K, Murakawa M, Azuma S, Tsuchiya K, Watanabe M: Analysis of interferon signaling by infectious hepatitis C virus clones with substitutions of core amino acids 70 and 91. *J Virol* 2011; 85(12):5986-5994.
 8. Watanabe T, Sakamoto N, Nakagawa M, Kakinuma S, Itsui Y, Nishimura-Sakurai Y, Ueyama M, Funaoka Y, Kitazume A, Nitta S, Kiyohashi K, Murakawa M, Azuma S, Tsuchiya K, Oooka S, Watanabe M: Inhibitory effect of a triterpenoid compound, with or without alpha interferon, on hepatitis C virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55(6):2537-2545.
 9. 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: 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;83:871-878.
- ## 2. 総説
1. 坂本直哉：インターロイキン 28-29 (IL-28・IL-29) -インターフェロン λ. 臨床免疫・アレルギー科特集：サイトカインのすべて 2011 in press.
 2. 坂本直哉: 海外における DAA 開発臨床試験：最近の動向. 化学療法 2011; 63: 1112-1118, 2011.12.1 発行.
 3. 坂本直哉: 海外における DAA 開発臨床試験：最近の動向. 肝胆膵 2011; 63: 1112-1118, 2011.12.1 発行.
- ## 3. 学会発表
1. Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsubashi 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. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #1016)
 2. Kusano-Kitazume A, Sakamoto N, Okuno Y, Yamamoto M, Sekine-Osajima

Y, Nakagawa M, Kakinuma S, Kiyohashi K, Nitta S, Murakawa M, Hagiwara M, Watanabe M: A high-content screening assay using infectious fluorescence-tagged hepatitis C virus reveals candidates for small molecule inhibitors of viral entry. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #383)

3. Itsui I Y, Sakamoto N, Yauchi T, Watanabe M: Antiviral effect of a novel interferon-inducible protein, IFI-27, against hepatitis C virus replication. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #2086)
4. Suda G, Sakamoto N, Itsui Y, Nakagawa M, Tasaka-Fujita M, Funaoka Y, Watanabe T, Nitta S, Kiyohashi K, Azuma S, Kakinuma S, Tsuchiya K, Imamura M, Hiraga N, Chayama K, Watanabe M: IL-6-mediated intersubgenotypic variation of interferon sensitivity in hepatitis C virus genotype 2a/2b chimeric clones. 62th. Annual Meeting of American Association for the Study of Liver Diseases, Nov-4-2011, San Francisco, CA. (Poster #2040)

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

出願番号：特願 2011-194082

発明の名称：C型肝炎ウイルスの増殖を抑制する医薬組成物

発明者：坂本直哉、渡辺守、北詰晶子、萩原正敏、奥野友紀子

特許出願人：東京医科歯科大学

提出日：平成 23 年 9 月 6 日

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）
分担者研究報告書

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

分担研究者：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

分担研究課題：新型シーケンサーによる HCV ゲノム網羅的解析

研究要旨：我々は、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。今年度は、HCV全長ウイルスゲノム情報を取得し、遺伝的近縁関係、多様性について解析した。(1) HCV全長ウイルスゲノムを18断片に分けてFLX 454 (Roche) を用いて解析し、100万種類の配列（平均長450塩基）、約4億5千万塩基が得た。(2) 系統樹解析をしたところ、各領域、患者毎に収束し、分岐進化していることがわかった。(3) 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について解析した。今回、得られた情報は、治療効果の予測への基盤情報になることが期待される。

A. 研究目的

昨年、我々は、(1) 独自の編集—エラー補正プログラムによるシーケンスエラーの低減、(2) 準種の存在頻度推定の精度検証、(3) インターフェロン (IFN) 耐性関連変異 (R70Q or H) をもつ HCV 準種動態について解析し報告した。我々の研究目的は、IFN 治療応答性に関わるウイルス側要因の影響を調べるために感染者体内に存在する HCV を網羅的に解析することである。しかしながら、既存の技術では、血清中に 20%未満存在するウイルスの準種の種類や動態を検出することは困難である。我々は、新型シーケンサーの大容量配列情報収集能力に着目した。HCV 感染者体内に 1%以上存在する準種の種類や動態を包括的に解析することで、持続感染を理解する手がかりを得たいと考えている。昨年は、core 領域を解析したが、今年度は全長ウイルスゲノムについて網羅的に解析した。

B. 研究方法

(1) 臨床試料を用いた解析

2002年02月03日から2007年10月22日の間に、名古屋市立大学の消化器内科を受診—治療を受けた14症例 (SVR: 3症例、NR: 11症例) を対象とした。血清より、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を使って、HIV RNA を抽出した後、特異的逆転写プライマーを用いてcDNAを合成した。cDNAをtemplateにして、HCV全長ウイルスゲノムを18断片にわけ、nested PCRにより増幅した。FLX 454 (Roche) を用い、増幅産物の塩基配列を網羅的に取得した。

(2) 多様性解析

補正プログラムで補正した配列情報を用いて、治療前後、IFN治療応答—不応答間で、特徴的アミノ酸の存在、頻度について解析した。アミノ酸の頻度は、シャノンの情報エントロピーを指標とした。解析に用いた数式は下記に示す。

$$H(i) = -\sum_{x_i} p(x_i) \log_2 p(x_i)$$

($x_i = G, A, I, V, \dots$),

(倫理面からの配慮について)

ヒト由来臨床材料を使う研究は、関連機関の倫理審査会の承認を得て、提供者本人に十分な説明を行い、承諾を得た上で行った。動物実験は、研究機関の倫理審査会の審議を受け、承認を得て行った。組換え DNA 実験は、実験を実施する研究機関の承認を得て行った。

C. 研究結果

(1) 準種動態解析への応用

HCV 全長ウイルスゲノムを解析するために、全長ウイルスゲノムを 18 断片に分けて、Nested PCR で増幅した。増幅産物を FLX 454 (Roche) を用いて解析し、100 万種類の配列 (平均長 450 塩基)、約 4 億 5 千万塩基が得られた。

(2) 遺伝的近縁関係

遺伝的近縁関係を調べるために、得られた配列情報を元に系統樹解析をおこなった。代表的な解析例、E1, 2, NS5A, NS5B を提示する。IFN 治療不応答性であった Pt. No1-4 の 4 名の患者で解析したところ、各領域、患者毎に収束し、分岐進化していることがわかった。

(3) 多様性解析

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(A) (ア) 治療前 (NVR_7 名) は多様で治療後 (NVR_4 名) で高度に保存される領域、(イ) 治療前 (NVR_7 名) は保存され治療後で多様化する領域、以上について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。また、治療後 (NVR_4 名) に多様化するアミノ酸は NS5A に多いことがわかった。

(B) 次に、IFN 治療応答-不応答間で (ウ) 治療前 NVR (7 名) では多様で、治療前 SVR (3 名) で高度に保存される領域、(エ) 治療前 SVR(3 名)では多様で、治療前 NVR (7 名) で高度に保存される領域について解析した。1.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。

D. 考察

系統樹解析の結果より、患者毎に収束し、分岐進化していることから、IFN 治療不応答性に共通する領域がないことが示唆された。昨年の準種動態解析で、同一患者で薬剤治療開始前後の比較で、薬剤治療開始後に準種が収束するという知見を得ている。系統樹解析の結果と一致することがわかった。合わせて考察すると、感染者体内に存在する準種のなかで、IFN 耐性のウイルスが治療後も存在するため、IFN 治療不応答性になることが示唆される。IFN 治療後に収束するアミノ酸を特定した。これは、IFN 耐性獲得に必要な座位かもしれない。また、IFN 治療後に多様化するアミノ酸を特定した。IFN 存在下で誘導される抗ウイルス因子からの逃避に必要な座位の可能性もある。IFN 治療応答-不応答間を比較することで、IFN 治療応答性とアミノ酸の多様性がリンクする座位と領域治療効果を推定する指標として応用利用できるかもしれない。

E. 結論

今年度は、14 検体 (SVR 3 検体、NVR 11 検体) の血清試料から、全ウイルスゲノムを網羅的に解析しシーケンスデータを蓄積

した。得られた配列情報から系統樹解析による近縁関係、エントロピー解析等により、IFN 治療不応答性に関わる準種に特徴的なアミノ酸の抽出を行った。結果の普遍性を検証するため、症例数 (SVR と NVR 治療後の症例数) を増やして、解析することを考える。また、今回、得られた特徴的なアミノ酸座位が、機能的にどのような差異が生じるのか、計算科学的手法による構造解析、実験科学的手法に因る検証が必要であろう。今回、得られた情報は、治療効果の予測への基盤情報になることが期待される。

謝辞

糞便試料の収集に、以下の先生にご協力いただきました。厚く御礼申し上げます。

田中靖人先生 (名古屋市立大学)、杉山真也先生 (国立国際医療センター)、溝上雅史先生 (国立国際医療センター)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

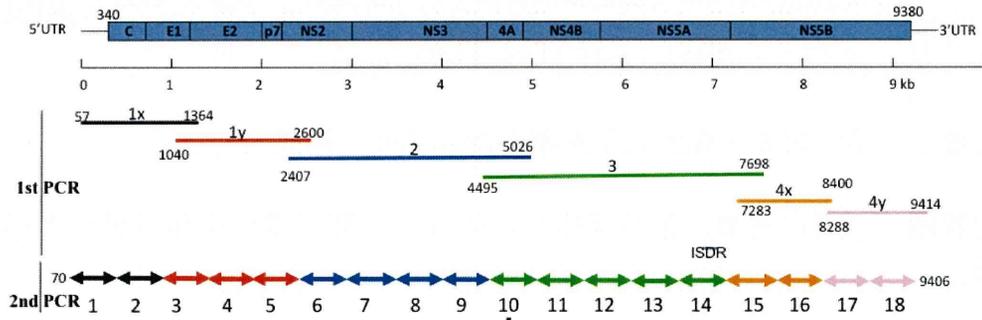
- 1). Ivo N. SahBandar, Kiyomi Takahashi, **Kazushi Motomura**, Zubairi Djoerban, Iman Firmansyah, Katsuhiko Kitamura, Hironori Sato, Herdiman T. Pohan, Shigehiro Sato “The Indonesian Variants of CRF33_01B: Near-Full Length Sequence Analysis” *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2011 Jan;27(1):97-102
- 2). **本村和嗣** “ノロウイルスの生き残り戦略” *Medico* Vol. 42 No.2 p. 32-35: 2011年2月号, 協和企画
- 3). **本村和嗣** “ノロウイルス感染症” *臨床とウイルス* Vol 39 p.115-p.122: 2011年7月
- 4). 岸田典子、高下恵美、藤崎誠一郎、徐

紅、伊東玲子、土井輝子、江島美穂、金 南希、菅原裕美、佐藤 彩、今井正樹、小田切孝人、田代真人、**本村和嗣**、横山 勝 柊元 巖、佐藤裕徳、小口晃央、山崎秀司、藤田信之 “2010/11シーズンのインフルエンザ分離株の解析” *病原微生物検出情報月報* Vol. 32 p. 317-323: 2011年 11月号

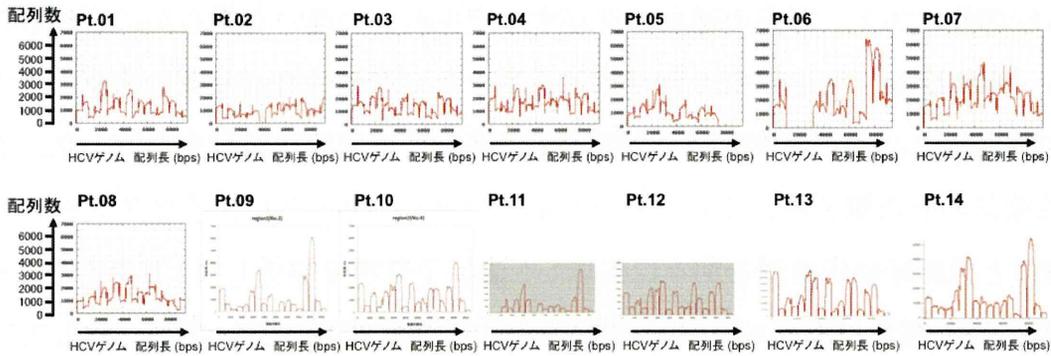
2.学会発表

- 1). 岡智一郎、横山勝、**本村和嗣**、村上耕介、脇田隆字、佐藤裕徳、片山和彦 “Role of conserved amino acid residues in the protease among different genera of Caliciviruses” 第131回日本薬学会 2011年3月28-31日 静岡
 - 2). **本村和嗣**、横山勝、岡智一郎、片山和彦、野田衛、田中智之、佐藤裕徳 “ゲノミクスと計算科学の手法によるノロウイルスGII/4 進化様式の解析 “ 第85回日本感染症学会総会 ワークショップ 2011年4月21-22日 東京
 - 3). **Motomura, K.**, Yokoyama, M., Oka, T., Katayama, K., Noda, M., Tanaka, T., Sato, H., Norovirus Surveillance Group of Japan. “Structural dynamics of norovirus GII.4 genome in nature” 15th International Union of Microbiological Sciences, Virology Division 2011 Sep. 12th-16th Sapporo
 - 4). **本村和嗣** “2006-2011年シーズンに国内で流行したノロウイルスの全長ゲノム解析” 平成 23年度 地方衛生研究所全国協議会近畿支部 ウイルス部会研究会 教育講演 2011年9月30日 奈良
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
- 1.特許取得
なし
 - 2.実用新案登録
なし
 - 3.その他
なし

HCV ゲノム断片情報の大規模収集の戦略



PCR増幅産物 (520~557bpsのPCR増幅断片) をシーケンシング



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 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

分担研究者：本多 政夫 金沢大学医薬保健研究域 教授

分担研究課題：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

研究要旨：ゲノムワイド関連解析（GWAS）による一塩基多型（SNP）解析により、IFN 療法に対する反応性に加え、肝炎の進展に寄与する宿主因子の違いも明らかにされることが期待される。本年度は、PegIFN+Rib 併用療法を受けた C 型慢性肝炎症例の治療前の末梢血液の ISG の発現変化と治療効果及び IL28B 遺伝子多型との関連性に付き検討した。さらに、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。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。免疫染色では IL28B マイナーでは、肝細胞では ISG の高発現が見られるものの、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。

A. 研究目的

肝炎の進展や IFN 療法の反応性の違いにはウイルス側因子に加え、宿主側因子の果たす役割が極めて重要と考えられる。ゲノムワイド関連解析（GWAS）による一塩基多型（SNP）解析により、IFN 療法に対する反応性の違いや、肝炎の進展に寄与する宿主因子の違いが明らかにされることが期待される。一方で、ゲノム上で認められる変化が実際に遺伝子発現の変化として再現されるかを網羅的遺伝子発現により解析することが病

態の解明と治療への応用という観点から重要である。

B. 研究方法

PegIFN+Rib 併用療法を施行した C 型慢性肝炎症例 168 例を対象とした。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。また、治療前の末梢血液の ISG の発現変化と治療効果及び IL28B 遺伝子多型との

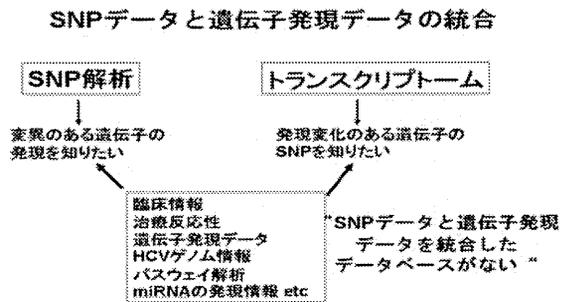
関連性に付き検討した。さらに、15 例の治療前の肝組織を用いてレーザーキャプチャー・マイクロダイセクション (LCM) にて肝小葉部と門脈域細胞浸潤を別々に採取し、遺伝子発現を解析した。

C. 結果

PegIFN+Rib 併用療法を施行した症例の治療前の肝生検組織では ISG を高発現している群では IFN 療法の反応が不良であり、ISG 低発現群では IFN 療法の反応が良好である傾向が認められることを先に報告した (Gastroenterology 2010)。治療前の末梢血液の ISG 発現は肝組織と異なり末梢血液では治療反応例と不応例では ISG の発現に差は認められなかった。治療前の肝組織と末梢血液の遺伝子発現を比較すると、IL28B メジャーでは肝組織における ISG 発現と末梢血液の ISG 発現は有意に相関し、肝組織における遺伝子発現と末梢血液の遺伝子発現は一致した傾向が認められた。一方、IL28B マイナーでは肝組織と末梢血液の ISG 発現の関連性は消失し、肝組織で ISG 高値にかかわらず末梢血の ISG は低い傾向が認められた。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。

D. 考察

遺伝子発現解析とゲノムワイド関連解析を組み合わせることにより、病態の解明と新しい治療法開発が可能になると考えられる。



今回の検討から、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考えられた。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1 in association with hTERT is a potential biomarker for hepatocellular carcinoma. Mizuno H, Honda M, Shirasaki T, Yamashita T, Yamashita T, Mizukoshi E and Kaneko S. *Liver International*. 2012. in press.
2. Induction of elastin expression in vascular endothelial cells relates to hepatoportal sclerosis in idiopathic portal hypertension: possible link to serum anti-endothelial cell antibodies. Sato Y, Ren XS, Harada K, Sasaki M, Morikawa H, Shiomi S, Honda M, Kaneko S, Nakanuma Y. *Clin Exp Immunol*. 2012;167(3):532-42.
3. Identification of blood biomarkers of aging by transcript profiling of whole blood. Nakamura S, Kawai K, Takeshita Y, Honda M, Takamura T, Kaneko S, Matoba R, Matsubara K.

Biochem Biophys Res Commun. 2012. [Epub ahead of print]

4. Randomized, Phase II Study Comparing Interferon Combined with Hepatic Arterial Infusion of Fluorouracil plus Cisplatin and Fluorouracil Alone in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma.

Yamashita T, Arai K, Sunagozaka H, Ueda T, Terashima T, Yamashita T, Mizukoshi E, Sakai A, Nakamoto Y, Honda M, Kaneko S.

Oncology. 2011;81(5-6):281-290.

5. Characterization of naturally occurring protease inhibitor-resistance mutations in genotype 1b hepatitis C virus patients.

Shindo H, Maekawa S, Komase K, Sueki R, Miura M, Kadokura M, Shindo K, Amemiya F, Kitamura T, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Okada SI, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Enomoto N.

Hepatol Int. 2011 Aug 18. [Epub ahead of print]

6. Genome-wide association study identified ITPA/DDRKG1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C.

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.

Hum Mol Genet. 2011 Sep 1;20(17):3507-16.

7. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma.

Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, Kaneko S.

Hepatology. 2011 Apr;53(4):1206-16.

8. Malnutrition impairs interferon signaling through mTOR and FoxO pathways in patients with chronic hepatitis C.

Honda M, Takehana K, Sakai A, Tagata Y, Shirasaki T, Nishitani S, Muramatsu T, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Yamashita T, Nakamura M, Shimakami T, Yi M, Lemon SM, Suzuki T, Wakita T, Kaneko S; Hokuriku Liver Study Group.

Gastroenterology. 2011 Jul;141(1):128-40.

9. Molecular mechanisms of hepatocarcinogenesis

in chronic hepatitis C virus infection.

Yamashita T, Honda M, Kaneko S.

J Gastroenterol Hepatol. 2011 Jun;26(6):960-4.

10. Pre-treatment prediction of response to pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors.

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.

J Hepatol. 2011 Mar;54(3):439-48.

11. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma.

Sunagozaka H, Honda M, Yamashita T, Nishino R, Takatori H, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Kaneko S.

Int J Cancer. 2011 Oct 1;129(7):1576-85.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

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 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

分担研究者：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

分担研究課題：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

研究要旨：ウイルス性肝炎に関して、宿主(ヒト)側とウイルス側双方の要因のデータを収集し、患者より得られた臨床情報を加えて多次元的に構成されたデータベースを構築し、継続的に情報および機能の拡充を図った。また、C型肝炎の薬剤反応性に影響を及ぼすと考えられる遺伝子およびそれらと相互作用の推定される遺伝子に関するネットワーク解析を、同データベースを応用して遂行した。併せて、同解析により得られた知見を基に、同データベースの拡充に必要な機能定義を行った。

A. 研究目的

本研究では、ウイルス性肝炎を特徴付けるプロファイルを構築し、それがテーラーメイド医療の分野で利用されることを目的としている。その実現のために構築されたデータベースを、実際にホスト側要因のネットワーク解析に応用し、特に C 型肝炎の治療効果を決める因子の関係性に関する知見を得る。さらに、その知見を踏まえ、同データベースの有用性向上を目指した機能拡充の方向付けを行う。

B. 研究方法

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相関する 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。

C. 研究結果

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 λ 特異的 ISG、肝臓特異的 ISG を対象に同様の解析を遂行した。

D. 考察

前述の結果より、蛋白質間相互作用ネットワーク解析が C 型肝炎の治療機序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。

E. 結論

蛋白質間相互作用ネットワーク解析の有用性を示すことができ、それを基にデータベースの機能拡充の指針を策定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

・Takayama K, Tsutsumi S, Katayama S, Okayama T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Urano T, Kawazu C,

Hasegawa A, Ikeo K, **Gojobori T**, Ouchi Y, Hayashizaki Y, Aburatani H, Inoue S. (2011). Integration of cap analysis of gene expression and chromatin immunoprecipitation analysis on array reveals genome-wide androgen receptor signaling in prostate cancer cells.

Oncogene 30: 619-630.

• Fukuchi S., Hosoda K., Homma K., **Gojobori T**, Nishikawa K. (2011). Binary classification of protein molecules into intrinsically disordered and ordered segments.

BMC Struct Biol. 11 (1) : 1-29.

• Bousquet J, Anto J, Sterk P, Adcock I, Brahmachari S, Roca J, Agusti A, **Gojobori T**, Auffray C, et al. (2011). Systems medicine and integrated care to combat chronic noncommunicable diseases.

Genome Medicine. (3 (43): 1-12.

• Taniya T, Tanaka S, Yamaguchi-Kabata Y, Imanishi T, **Gojobori T**. (2012). A prioritization analysis of disease association by data-mining of functional annotation of human genes.

Genomics 99(1):1-9.

2. 学会発表

• **五條堀 孝** (2011) (ご発表)「統計解析データベースについて」、厚生労働科学研究費補助金第1回班会議、東京大学本郷キャンパス (東京) 5月30日

• **五條堀 孝** (2011)「ライフサイエンス革命によるゲノム情報社会の将来形成」、九州大学創立百周年記念講演会、九州大学 (福岡) 6月18日

• **五條堀 孝** (2011)「ゲノム情報とバイオインフォマティクス」、北九州産業学術研究都市産学連携フェア、バイオ分野セミナー、北九州学術研究都市学術情報センター (福岡県北九州市) 10月19日

• **五條堀 孝** (2011) (講義)「比較ゲノム学の革新的発展とデータベースの役割」、東京大学大学院生命化学フロンティア II 講義、東京大学農学部 (東京) 12月2日

• **五條堀 孝** (2011)「次世代シーケンサー時代のデータベースを考える」 “What is useful integration of biological information in genome science?”、ワークショップ「役に立つデータベース、役に立たないデータベース」

“Useful and Useless database”、日本分子生物学会、パシフィコ横浜 (神奈川) 12月14日

• **T. Gojobori** (2011) “Progress of genome studies using a next generation sequencer “「次世代シーケンサーを用いたゲノム関連研究の展開」、放射線影響研究所 (広島) 12月16日

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 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

分担研究者：新井 理 名古屋市立大学大学院医学研究科 研究員

分担研究課題：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

研究要旨：ウイルス性肝炎に関して、宿主(ヒト)側とウイルス側双方の要因のデータを収集し、患者より得られた臨床情報を加えて多次的に構成されたデータベースを構築し、継続的に臨床情報の拡充を遂行した。その成果を基に、宿主側因子より IFN/RBV 治療効果を予測するシステムを構築し、班員にその機能を提供した。また、班員外の一般研究者への情報公開を念頭に、新たな利用者インターフェースを構築した。

A. 研究目的

本研究では、ウイルス性肝炎を特徴付けるプロフィールを構築し、それがテラーメイド医療の分野で利用されることを目的としている。その実現のために構築されたデータベースの宿主側因子の情報を拡充し、また、班員のニーズを実現した解析機能を追加する。併せて、一般研究者への情報公開を目的とした機能を追加する。

B. 研究方法

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 IFN/RBV 療法の治療効果を予測するシステムを構築する。その基となる臨床情報を拡充するためデータベーススキーマを改定し、またデータレコードを可能な限り追加することで、予測精度の向上を図る。

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。

C. 研究結果

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。

D. 考察

治療効果予測システムおよび一般向け利用者インターフェースにより、本データベースの有用性が向上したと考えられる。

E. 結論

本データベースの有用性向上、および今後の機能追加の枠組みの準備が実現できた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

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