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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：坂元　亨宇　慶應義塾大学医学部　病理学教室　教授

分担研究課題：B型肝炎関連肝癌の早期診断・悪性度診断法の基礎的研究

研究要旨：組織プロテオーム解析により肝細胞癌進展の新規分子マーカーとして同定されたタリン-1の臨床病理学的意義につき解析した。タリン-1発現上昇を伴う癌細胞数の割合が結節内全癌細胞数の50%以上の群と50%未満の群とに分けて検討した。タリン-1低発現群に比べ、高発現群において肝細胞癌の分化度は有意に低く（p=0.004）、門脈浸潤を伴っている率が有意に高かった（p=0.029）。さらに無病生存期間について分析したところ、高発現群は低発現群に比して、有意に無病生存期間が短かった（p=0.039）。本研究により、肝細胞癌進展に伴いタリン-1の発現が上昇することが明らかにされ、予後予測にも有用である可能性が示唆された。

A.　研究目的

B型肝炎ウイルス(HBV)感染に伴う肝細胞癌では、明瞭な多段階発癌過程を示さないいわゆるde novo発癌を起こす症例があり、肝癌全体の予後の改善にはde novo発癌に関する更なる研究が望まれる。本研究は、de novo発癌の分子病理像や多段階発癌との異同をより明確にすることにより、個々の肝癌症例に最適な診断・治療の選択を可能とすることを目的とする。B型肝炎関連肝癌の発癌や悪性度に特異的な分子やシグナル伝達経路の異常を特定することは、より有効な早期診断法・悪性度診断法の開発や新規治療標的の同定、さらには個別化治療に繋がると期待される。

B.　研究方法

1) B型肝炎関連肝癌におけるde novo発癌と多段階発癌の分子機構
　① 幹細胞マーカー発現と癌幹細胞性の解析、癌遺伝子・癌抑制遺伝子異常との関連の解析
　② シグナル伝達経路異常とde novo発癌、多段階発との関連の解析、並びに分子標的薬剤反応性の解析
2) B型関連肝癌の網羅的遺伝子発現解析およびプロテオーム解析
　①癌部並びに非癌肝組織、肝癌細胞株を用いた、網羅的発現解析とプロテオーム解析
　②上記にて同定された特異的分子異常の臨床病理学的意義の解析、並びに機能解析

（倫理面への配慮）
ヒト由来の組織を用いた研究に当たっては、三省合同による「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」及び科学技術会議生命倫理委員会により制定された「ヒトゲノム研究に関する基本原則について」を遵守すると共に、当大学の倫理審査委員会の承認を得て実施する（承認番号16-34）。

C.　研究結果

クッパー細胞、血管平滑筋細胞、胆管および類洞の内皮細胞が抗タリン-1抗体により著しく染まったのに対して、非癌部の肝細胞のタリン-1に対する免疫反応性は明らかに弱かった。癌に隣接する非癌部肝細胞の細胞質の染まりより強く癌細胞の細胞質が抗タリン-1抗体で染まる場合を、癌細胞

におけるタリン-1の発現上昇とみなした。タリン-1は、隣接する非癌部の肝細胞と比較し、早期肝細胞癌で有意に発現が上昇していた（p=0.003）。106個の肝細胞癌結節検体の免疫組織化学的検索にて、肝細胞癌のタリン-1に対する免疫反応性が統計学的有意差をもって癌の脱分化に伴い漸増することが示された（p=0.001）。低分化型肝細胞癌は、タリン-1発現上昇を伴う癌細胞の割合の高さのみならず、タリン-1の免疫染色による細胞質の染まりの強い染色強度が特徴的であった。異型結節は、肝細胞癌と比較し、タリン-1発現上昇の割合が有意に低かった（p=0.003）。臨床病理学的因子とタリン-1発現の関係について検討する際、調査をした106個の肝細胞癌結節のタリン-1発現上昇を伴う癌細胞の割合の平均が53%であったこともあり、検討対象となる検体をタリン-1発現上昇癌細胞の割合が50%以上の群と50%未満の群とに分けた。予想された通り、癌の脱分化度は両群間で有意差があった（p=0.004）。非常に興味深い結果として、タリン-1発現上昇癌細胞の割合が50%未満の群に比べ、50%以上の群において門脈浸潤を伴っている率が有意に高いことが分かった（p=0.029）。これらの結果に一致してGeMDBJ上の公開マイクロアレイデータでの検証にて、低分化型および門脈浸潤陽性肝細胞癌で、それぞれ高分化型および門脈浸潤陰性肝細胞癌に比較し、有意にタリン-1のmRNA発現が上昇していることが判明した（それぞれp=0.034、0.040）。背景因子では、ウイルス陰性群に比して陽性群で高発現を認める傾向はみられたが有意ではなく、またB型、C型の間で有意差は認めなかった。追跡が可能であった72人の肝細胞癌患者の無病生存期間について分析したところ、タリン-1発現上昇を伴う癌細胞の割合が50%以上の47人の患者では、同50%未満の25人の患者に比べ、有意に無病生存期間が短かった（p=0.039）。

D. 考察

プロテオーム解析の結果と一致して、非癌部肝細胞と比較した大多数の肝細胞癌細胞でタリン-1発現が上昇していることが、免疫組織化学的解析にて確認された。癌の脱分化度に伴う肝細胞癌のタリン-1に対する免疫反応性の段階的な上昇は、肝細胞癌進行過程へのタリン-1の関与を示唆している。一般的に、進行肝細胞癌の予後不良は、高率に認められる肝内転移および血管浸潤に関連付けられる。タリン-1発現上昇を伴う肝細胞癌に有意に高率に門脈浸潤が認められたことは、肝細胞癌に対する肝部分切除術後の再発までの期間がタリン-1発現上昇を伴う群において有意に短かったこととの関連があるものと思われ、タリン-1の腫瘍マーカーとしての価値が予後予測においても見出されることが示唆された。タリン-1は、インテグリンβサブユニットの細胞質ドメインとアクチンフィラメントとを連結させる作用のある数ある蛋白質のうちの一つである。最近、タリン-1が前立腺癌の細胞遊走、接着および浸潤を促進させることが報告された。加えてタリン-1は、接着斑キナーゼ（focal adhesion kinase、FAK）を動員することにより、接着斑におけるシグナル伝達にも役割を果たしていると考えられている。FAKはSrcやRasを動員し、下流のシグナル経路を活性化させることが報告されている。このような知見は、タリン-1発現上昇を伴う肝細胞癌で高率に認められた門脈浸潤と関連付けられる可能性がある。

E. 結論

タリン-1は肝細胞癌において、癌進行度に応じて発現が増加し、予後予測のマーカーとして役立つ可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1.Kanamori H, Kawakami T, Effendi K, Yamazaki K, Mori T, Ebinuma H, Masugi Y, Du W, Nagasaka K, Ogiwara A, Kyono Y, Tanabe M, Saito H, Hibi T, Sakamoto M. Identification by Differential Tissue Proteome Analysis of Talin-1 as a Novel Molecular Marker of Progression of Hepatocellular Carcinoma. Oncology 80: 406-415, 2011

2. Tsuchiya K, Komuta M, Yasui Y, Tamaki N,

Hosokawa T, Ueda K, Kuzuya T, Itakura J, Nakanishi H, Takahashi Y, Kurosaki M, Asahina Y, Enomoto N, Sakamoto M, Izumi N. Expression of keratin19 is related to high recurrence of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation. Oncology 80: 278-288, 2011

3. Yamazaki K, Masugi Y, Sakamoto M. Molecular pathogenesis of hepatocellular carcinoma: altering transforming growth factor-β signaling in hepatocarcinogenesis. Dig Dis 29(3):284-8. Review, 2011

4. Yokoo H, Yasuda J, Nakanishi K, Chuma M, Kamiyama T, Todo S, Hirohashi S, Sakamoto M. Clinicopathological significance of nuclear factor-κB activation in hepatocellular carcinoma. Hepatol Res 41(3):240-9, 2011

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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：武冨　紹信　北海道大学大学院医学研究科　教授

分担研究課題：背景肝疾患から見た肝発癌の病態解析

研究要旨：近年ウイルス肝炎を母地としない肝細胞癌(HCC)が増加している。その背景肝疾患の病態を解析するため、2004 年から 2008 年に HCC に対して肝切除を施行した 279 例を対象として検討を行った。血清学的には抗 HCV 抗体(+)136 例(49%)、HBs 抗原(+)50 例(18%)、抗 HCV 抗体(+)/HBs 抗原(+)9 例(3%)、抗 HCV 抗体(-)/HBs 抗原(-)84 例(30%)であった。背景肝疾患を検討するとともに、AFB1-DNA 付加体を免疫組織化学染色で、p53 遺伝子変異の有無を検討した。①AFB1-DNA 付加体の免疫組織学的検討：AFB1-DNA 付加体は 279 例中 18 例(6%)に認められ、HCV 群 0%、HBV 群 10%、NBNC 群 16%と HBV 群および NBNC 群で有意に陽性であった。NBNC 群における AFB1 陽性例(n=13)と AFB1 陰性例(n=70)を比較検討したところ、肝機能、背景肝疾患(アルコール多飲の有無、NASH など)、肝硬変の程度に有意差を認めなかった。②p53 変異の検討：p53 変異は 279 例中 41 例(22%)に認められた。G:C→T:A transversion は 19 例であった。P53 変異と AFB1-DNA 付加体陽性との間には有意な相関は認めなかったものの、codon249 変異を認めた 3 例は全て AFB1-DNA 付加体陽性であった。本邦における非肝炎ウイルス性肝細胞癌の原因の一つとしてアフラトキシンは否定できない。

A. 研究目的

本邦における肝細胞癌(HCC)の原因はC型肝炎ウイルス(HCV)が70－80%、B型肝炎ウイルス(HBV)が10－20%とそのほとんどが肝炎ウイルス感染を背景として発症しているが、近年ウイルス肝炎を母地としないHCCが増加している。Aflatoxin B1(AFB1)は強力な肝発癌物質として知られており、本邦での暴露は少ないとされているが、その詳細は不明である。

B. 研究方法

2004年から2008年にHCCに対して肝切除を施行した279例を対象とした。抗HCV抗体(+)136例(49%)、HBs抗原(+)50例(18%)、抗HCV抗体(+)/HBs抗原(+)9例(3%)、抗HCV抗体 (-)/HBs 抗原 (-)84 例 (30%) に分け、AFB1-DNA付加体を免疫組織化学染色で検討し、さらにp53遺伝子のexon5-exon9をPCR-direct sequencing行いpoint mutationを検討した。

（倫理面への配慮）
臨床研究に関する倫理指針（平成２０年厚生労働省告示第４１５号）に従い、事前に書面にてICを取得した。

C. 研究結果

①AFB1-DNA付加体の免疫組織学的検討：
AFB1-DNA付加体の平均の染色数(核1000個当たり)は31%(5－80%)であり全例肝細胞核に認められた。
AFB1-DNA付加体は279例中18例(6%)に認められ、HCV群0%、HBV群10%、NBNC群16%とHBV群およびNBNC群で有意に陽性であった。NBNC群におけるAFB1陽性例(n=13)とAFB1陰性例(n=70)を比較検討したところ、肝機能、背景肝疾患(アルコール多飲の有無、NASHなど)、肝硬変の程度に有意差を認めなかった。

②p53変異の検討：p53変異は279例中41例(22%)に認められた。Exon5:13例、exon6:11例、exon7:12例、exon8:10例、exon9:2例。G:C→T:A transversionは19例、G:C→A:T transversionは12例であった。P53変異とAFB1-DNA付加体陽性との間には有意な相関は認めなかったものの、codon249変異を認めた3例は全てAFB1-DNA付加体陽性であった。

D. 考察

食物へのAflatoxin暴露は発展途上国では認められるが、本邦では輸入制限などによりその暴露は少ないと言われてきた。Aflatoxinはp53 codon 249にbulkyなDNA付加体を形成し、G→T transversionの原因となり、高頻度に肝細胞癌を引き起こす(Nature 1991, Lancet 1991)。今回の検討で、その頻度は少なかったものの、p53遺伝子codon249変異を認めた3例は全てAFB1-DNA付加体陽性であったことから、本邦における非ウイルス性肝細胞癌の原因の一つとしてaflatoxinを考慮しなければならないことが示唆された。

E. 結論

本邦における非肝炎ウイルス性肝細胞癌の原因の一つとしてアフラトキシンは否定できない。

F. 研究発表

1. 論文発表

Shirabe K, Toshima T, Taketomi A, Taguchi K, Yoshizumi T, Uchiyama H, Harimoto N, Kajiyama K, Egashira A, Maehara Y.Hepatic aflatoxin B1-DNA adducts and TP53 mutations in patients with hepatocellular carcinoma despite low exposure to aflatoxin B1 in southern Japan. Liver Int. 2011 Oct;31(9):1366-72.

2. 学会発表

該当なし

G. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書（平成23年度）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：松田　浩一　東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター　准教授

分担研究課題：B型肝炎ウイルス関連疾患の全ゲノム関連解析

研究要旨：慢性B型肝炎458症例、健常者2056名を用いた全ゲノム関連解析を行い、新規の慢性B型肝炎疾患感受性遺伝子としてHLA-DQを同定した。以前に報告したHLA-DP遺伝子の多型と組み合わせると、遺伝因子の違いによって慢性B型肝炎の発症リスクが5倍以上異なることが示された。またHCV陽性肝癌の疾患感受性遺伝子として同定したMICA遺伝子が、HBV陽性肝癌のリスクとも関連することを明らかとした。さらに血液中のMICA値が高値の肝癌症例では、予後が不良であることが示された。これらの成果から、遺伝因子や血中MICA値を組み合わせることで、HBV感染者の予後が予測可能となり、個別化医療の実現に貢献すると期待できる。

A. 研究目的

HBV 感染後の疾患の増悪と関連する遺伝子を同定し、予後予測やリスクに応じた治療方法の決定など個別化医療の実現を目指す。また HBV 関連疾患の病態解明を目指す。

B. 研究方法

HBV 陽性肝癌、肝硬変、慢性 C 型肝炎患者及び健常人コントロールサンプルを用いて 50 万箇所以上の一塩基多型の遺伝子型を決定し、各群間でアレル頻度が異なる遺伝子多型を探索する。

（倫理面への配慮）解析に用いた症例は全例インフォームドコンセントを取得済みである。また協力病院において連結可能匿名化済みであるため、患者の個人情報が漏出する可能性が極めて低い。

C. 研究結果

新規の慢性 B 型肝炎疾患感樹性遺伝子として HLA-DQ を同定した。また MICA 遺伝子多型が HBV 陽性肝癌のリスクと、血中 MICA 値が HBV 陽性肝癌患者の予後と関連する事を明らかとした。

D. 考察

これまで同定した遺伝因子、血液生化学因子は HBV 陽性患者のバイオマーカーとして有用と考えられる。

E. 結論

これまで同定した遺伝因子、血液生化学因子は HBV 陽性患者のバイオマーカーとして有用と考えられる。

F. 研究発表

1.論文発表

1) V.Kumar, N.Kato, Y.Urabe, A.akahashi,R.Muroyama,N.Hosono, .Otsuka,R. Tateishi, M.Omata, Nakagawa,K.Koike, N.Kamatani, M.Kubo, Y.Nakamura, K.Matsuda. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepato-cellular carcinoma. Nature genetics. 3(5):455-458. 2011

2) 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. 20:3884-3892, 2011

2. 学会発表
人類遺伝学会,癌学会,アメリカ癌学会

G. 知的所得権の出願・登録状況
1. 特許取得
　特になし
2. 実用新案登録
　特になし
3. その他
　特になし

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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：西田　奈央　国立国際医療センター　上級研究員

分担研究課題：B型肝炎ウイルス感染患者群のゲノム解析

研究要旨：B型肝炎ウイルスに感染した宿主側の病態促進因子及び薬剤応答性を規定する遺伝要因の解明を目的として、約60万種類のSNPを対象としたゲノムワイド関連分析を実施する。今年度は、日本人健常群420検体を対象としてゲノムワイドSNP解析を実施した。全420検体において、Dish QC > 0.81となり平均コール率は99.42%（91.54-99.89%）となった。また、B型肝炎の慢性化およびB型肝炎ウイルスの排除にHLA-DPA1/HLA-DPB1遺伝子が強い関連を示すことを、ゲノムワイド関連解析により明らかにした。しかしながら、HLA Class II遺伝子以外の新たな宿主遺伝要因を同定することはできなかった。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルスに感染した宿主を対象としたゲノムワイド関連分析を行うことにより、B型肝炎ウイルス感染に起因する各種の病態形成に関わる宿主（ヒト）因子、治療効果に寄与する宿主因子、ウイルス感染感受性に寄与する宿主因子を探索することを目的とする。

B. 研究方法

以下の手順でB型肝炎ウイルス患者サンプルの準備からゲノム解析までを実施する。

(1) 各研究参加施設で採取した血液サンプルは連結可能匿名化した後、SRLにおいてゲノムDNAの抽出を行う。DNA・血清サンプルはSRLから国際医療研究センターへ送られ、同センター内に一括保管される。

(2) 各研究参加施設で収集された患者情報は連結可能匿名化された後、国際医療研究センターへ送られ、患者データベース構築に使用される。

(3) 上記の患者情報をもとに、(A) HBV急性肝炎、(B) HBV持続感染、(C) HBV関連肝癌、(D) HBV再活性化、(E) HBV重症化(劇症化)、(F) インターフェロンなど薬剤応答性の6グループに分類し、DNAサンプルと患者情報にゲノム解析用のIDを付与する。

(4) 二重匿名化したDNAサンプルと患者情報は、東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野へ搬送された後、同施設において約60万SNPが搭載されたAXIOM Genome Wide ASI Array Plates (Affymetrix)を用いたゲノムワイドSNP解析を実施する。AXIOM Genome Wide Array Platesは、アジア系集団での解析に適した約60万か所のSNPが搭載されている。

(5)東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野が所有する連結不可能匿名化された日本人健常群420検体をAXIOM Genome Wide ASI Array Platesでタイピングし、本研究における日本人健常対照群として用いる。

(6) ゲノムワイド関連解析で使用しなかった検体は、続くReplication study（再現性確認）において使用する。

（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はらう。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

本年度は、東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野が所有する連結不可能匿名化された日本人健常群 420 検体を対象として、AXIOM Genome Wide ASI Array Plates による SNP タイピングを実施した。全 420 検体において、Dish QC（データクオリティの指標）> 0.81 をクリアし、全 420 検体で遺伝子型を決定した際の Call rate（平均）は 99.42%（91.54-99.89%）となることが明らかとなった（図 1）。

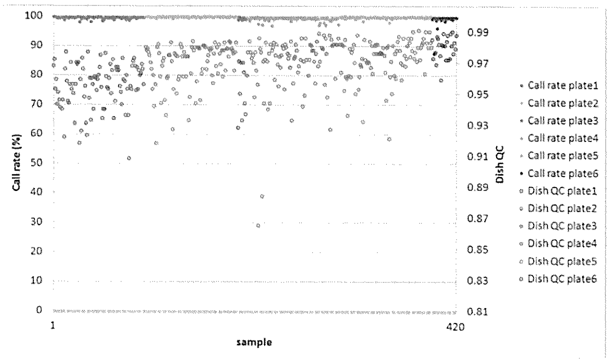

図 1 日本人健常群 420 検体のタイピング結果

また、約 90 万 SNP を搭載した Affymetrix SNP6.0 Array を用いた B 型慢性肝炎患者群 184 検体、健常対照群 184 検体および B 型肝炎ウイルス排除群 185 検体（HBsAg 陰性、HBc 抗体陽性）のタイピングデータを用いてゲノムワイド関連解析を実施し、HLA-DPA1/HLA-DPB1 遺伝子が B 型肝炎の慢性化および B 型肝炎ウイルスの排除に寄与することを明らかにした（論文投稿中）。

D. 考察

AXIOM Genome Wide ASI Array Plates を用いて取得した日本人健常群 420 検体のタイピングデータは全て Dish QC > 0.81 となり、クオリティの高いタイピングデータとして取得することができた。全 420 検体のタイピングデータを取得するために 6 プレートに分けて解析を実施したが、プレート間でもデータクオリティは安定していることが明らかとなった。このことから、来年度に取得する予定である B 型肝炎ウイルス感染患者群のタイピングデータを対象としたゲノム解析において、今回取得した日本人健常群データを加えて解析しても問題は生じないものと期待される。

HLA-DPA1/HLA-DPB1 遺伝子が B 型肝炎の慢性化に寄与していることは、2009 年にすでに報告されたが、独立の日本人集団を用いた我々の解析から同じ遺伝子領域が関連を示すことが確認された。また、HLA Class II 遺伝子が HBV 排除に寄与していることは候補遺伝子アプローチにより明らかにされてきたが、ゲノムワイド関連解析により HLA-DPA1/HLA-DPB1 遺伝子が HBV 排除にも寄与していることを明らかにした。

E. 結論

B 型肝炎の慢性化および HBV 排除に HLA-DPA1/HLA-DPB1 遺伝子が寄与していることがゲノムワイド関連解析により明らかとなったが、HLA Class II 遺伝子以外の関連遺伝子を同定することはできていない。HLA のアリルで層別化した GWAS を実施することで、HLA Class II 遺伝子以外の新たな宿主因子を同定することができると期待される。しかしながら、層別化 GWAS で疾患感受性遺伝子を検出するためには、より多くの検体を解析する必要がある。AXIOM Genome Wide ASI Array Plates によるゲノムワイド SNP 解析は、他のプラットフォームと比較して安価であり、かつ非常に処理能力が高いため、本研究において有力な解析手法となることが期待される。

F. 研究発表

1. 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, 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)

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) 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)

2. 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

G. 知的所得権の出願・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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：宮寺　浩子　東京大学大学院医学系研究科　人類遺伝学分野　助教
研究協力者：高柳　彩　東京大学大学院医学系研究科　人類遺伝学分野　大学院生

分担研究課題：HLA-DP の機能解析

研究要旨： B型肝炎ウイルス（HBV）の持続感染の罹患率には世界的に大きな地域差があり、日本を含む東アジア地域では顕著に高いことが知られる。日本人を含む東アジア人集団を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)により、B型肝炎慢性化に関わる最も大きな遺伝要因がHLA-DPA1、DPB1遺伝子領域内の多型であることが近年明らかにされた。このことはHLA-DPアリル特異的なHBV由来のペプチド断片提示がB型肝炎慢性化に強く関与していることを示唆する。本研究は、慢性B型肝炎感受性・抵抗性を規定するHLA-DPアリルの機能、および抵抗性アリルを介したHBV排除に関わるHBs抗原領域を同定することを目的として、HLA-DPアリルの機能解析を行う。抵抗性HLA-DPアリル特異的に提示されるHBV由来ペプチド断片の同定を行うため、平成23年度は慢性B型肝炎発症に対する感受性・抵抗性と有意に関連を示すアリル、および関連を示さない中立性アリルの組換えHLA-DPタンパク質を発現し、一部のアリルについてタンパク質を精製した。今後、これらを用いたペプチド‐MHC結合アッセイにより、抵抗性アリルに特異的に提示されうるHBs抗原領域を同定する。

A. 研究目的

B 型肝炎ウイルス（HBV）の持続感染の罹患率には世界的に大きな地域差があり、日本を含む東アジア地域では顕著に高いことが知られる。日本人・タイ人集団を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)により、B 型肝炎慢性化と HLA－DPA1、DPB1 遺伝子領域内の多型との間に顕著に高い関連が報告され、慢性 B 型肝炎感受性及び抵抗性アリルが同定された（Kamatani Y. et al. 2009)。このことは HLA-DP アリル特異的な HBV 由来のペプチド断片提示が、B 型肝炎慢性化に関与していることを示唆する。本研究では慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性を規定する HLA-DP アリルの機能、及び、慢性 B 型肝炎抵抗性 HLA-DP アリルに特異的に提示されうる HBs 抗原領域の同定を目的とする。

B. 研究方法

GWAS において同定された、B 型肝炎慢性化に対する感受性・抵抗性と有意に関連を示す HLA-DP アリル、および、関連を示さない中立性アリル（HLA-DPA1*01:03, *02:01, *02:02, HLA-DPB1*02:01, *03:01, *04:01, *05:01, *09:01）cDNA を HLA 標準細胞株よりクローニングし、バキュロウイルス発現系、哺乳類繊維芽細胞株を用いて組換え HLA-DP タンパク質を発現する。これらの組換え HLA-DP タンパク質を用いたペプチド-MHC 結合アッセイを行い、抵抗性アリルに特異的に結合しうるウイルス抗原を同定する。

（倫理面への配慮）

該当なし（理由： HLA-DP cDNA のクローニングは公共細胞バンクより入手した株化細胞転写産物を用いて行うため）。

C. 研究結果

すべての HLA-DP アリルについて組換えタンパク質の細胞表面発現をフローサイトメトリーにて確認した。一部のアリルについてタンパク質を精製するとともに、ペプチド結合測定を実施した。

D. 考察

先行研究において HBs 抗原が HLA-DR 分子を介して T 細胞応答を誘導することが報告されており、HLA-DP を介した HBs 抗原提示についても少数の報告があるが、疾患感受性、抵抗性の決定に関わる HBs 抗原部位は同定されていない。また、HLA-DP 分子は他の HLA クラス II 分子と比較して発現量が低いことが知られており、この特徴が HBV 感染防御に寄与する機構は不明である。今後、細胞レベル、および精製 HLA-DP 組換えタンパク質を用いたペプチド結合アッセイを最適化し、HLA-DP*04:02 など抵抗性アリルを介したウイルス排除に関わる HBs 抗原ペプチド領域の同定、および結合特異性、親和性の解析によりこれらのメカニズムの解明を行う。

E. 結論

慢性 B 型肝炎感受性及び抵抗性に関連する HLA-DP アリルの組み換えタンパク質発現系を構築した。今後、ペプチド結合測定系を最適化し、抵抗性アリルを介した HBV 排除に関わる HBs 抗原領域を同定する。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士
慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性に関連する HLA-DP の機能解析
第 20 回日本組織適合性学会大会
2011 年 8 月 29 日　静岡

2) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士
慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性に関与する HLA-DP の機能解析
第 34 回日本分子生物学会大会
2011 年 12 月 14 日　横浜

3) 高柳彩、宮寺浩子、徳永勝士
慢性 B 型肝炎感受性・抵抗性に関与する HLA-DP の機能解析
第 40 回日本免疫学会学術集会
2012 年 11 月 27 日　千葉

G. 知的所得権の出願・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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：本多　政夫　金沢大学医学部先端医療技術学　教授

分担研究課題：B型肝炎ウイルス感染の病態別におけるトランスクリプトーム解析

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、B型肝炎ウイルス感染の病態や療法に対する反応性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。また、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。本年度は慢性肝炎から肝癌発症に関わる遺伝子群のネットワーク解析ならびに検証を試みた。B型慢性肝炎、肝癌およびC型慢性肝炎、肝癌の肝組織を用い、各群における発現上昇・低下する遺伝子を選定し、各群での階層クラスター解析、ネットワーク解析を行った。Bioinformaticsの手法を用いB型慢性肝炎、肝癌ならびにC型慢性肝炎、肝癌での変動遺伝子群のネットワークの違いが明らかとなった。今後の、SNPと関連する遺伝子発現変化を同定する上で、重要な知見と考えられた。

A. 研究目的

B型肝炎の病態の進展や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、B型肝炎ウイルス感染の病態や療法に対する反応性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

本年度は慢性肝炎から肝癌発症に関わる遺伝子群のネットワーク解析ならびに検証を試みた。B型慢性肝炎（CH-B）37例、CH-B関連肝癌17例（HCC-B）およびC型慢性肝炎（CH-C）35例、CH-C関連肝癌（HCC-C）17例の肝組織を用いた。各群における発現上昇・低下する遺伝子を選定し、各群での階層クラスターを行った。VIF(variance inflation factor)をstopping ruleとして用い、各群での至適階層クラスター数を決定した。各クラスターにおける発現プロファイルの平均を算出し、偏相関係数を用いて各クラスター間の関係を検討した。高い偏相関係数を示すクラスター間には真の因果関係を有することより、クラスター間を結びグラフ化することでネットワーク構築を試みた。また、CH-BとHCC-B間およびCH-CとHCC-C間における高い偏相関を示す、遺伝子クラスターを同定し、発癌に関わる遺伝子群の推定を行った。

C. 結果

CH-B、CH-C、HCC-B、HCC-Cそれぞれにおいて、順に11、7、10、12クラスターを用いた各群でのネットワーク構築が可能であった。HCC-Cでは発現上昇を4つの遺伝子クラスターで認め、これらはそれぞ

れ細胞増殖群、間質系細胞群、免疫応答群、腫瘍マーカー群であり、主にリンパ球や間質で発現する遺伝子を多く含んでいた。一方、発現低下のクラスター群の多くは代謝関連遺伝子にて形成されており、これらの遺伝子は主に肝細胞で発現する遺伝子であった。これらの遺伝子発現と密接に関連するCH-Cの遺伝子クラスターは、ケモカインを中心とした炎症に関わるクラスターであり、おもにリンパ球で発現する遺伝子であった。一方、HCC-Bの遺伝子発現はHCC-Cとは異なり、細胞増殖群が多く、免疫応答群が少ない傾向が認められた。またこれら遺伝子発現と密接に関連するCH-Bの遺伝子クラスターはCH-Bの炎症に関わる遺伝子群のほか、主に肝細胞にて発現する機能未知の遺伝子群であった。

D. 考察

Bioinformaticsの手法を用いCH-B関連肝癌ならびにCH-C関連肝癌での遺伝子発現ならびに遺伝子群のネットワークの違いが明らかとなった。今後の、SNPと関連する遺伝子発現変化を同定する上で、重要な知見と考えられた。

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。

E. 結論

B型慢性肝炎、肝癌ならびにC型慢性肝炎、肝癌での遺伝子発現は異なっており、GWASと関連する遺伝子発現変化を同定する上で、重要な知見と考えられた。

F. 研究発表

1.論文発表

1. Coexpression network analysis in chronic hepatitis B and C hepatic lesion reveals distinct patterns of disease progression to hepatocellular carcinoma. He D, Liu ZP, Honda M, Kaneko S, Chen L. J Mol Cell Biol. 2012 in press.

2. 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.

3. 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.

4. 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]

5. 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.

6. 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]

7. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 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, 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. Hum Mol Genet. 2011 Sep 1;20(17):3507-16.

8. 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.

9. 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.

10. 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.

11. 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.

12. 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. 知的所得権の出願・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）

B型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：間野　修平　統計数理研究所　准教授
研究協力者：山田　隆行　統計数理研究所　特任助教

分担研究課題：多型情報と臨床情報を統合した統計解析手法の開発

研究要旨：今後のゲノムに基づく疾患研究においては、個体レベルの大量の多型データを扱う必要がある。多型の選択とグラフによる疾患メカニズムの推論を目的とし、現代的統計解析手法を適用する。データベースに多型情報と臨床情報が蓄積されることを前提とし、多型の選択に正則化回帰を用いる。グラフィカルモデルにより多型と臨床情報の交互作用をグラフ表示することで推論に供する。データが得られていない状況であるから、本年度は解析手法を確立することを目指した。具体的には、変量選択、グラフィカルモデルについて実装し、有効性を確認した。

A.　研究目的

今後のゲノムに基づく疾患研究においては、個体レベルの大量の多型データを扱う必要がある。ここでは、従来の統計学の前提である、少数のパラメタ、標本サイズの漸近論に依拠できない。多型の選択とグラフによる疾患メカニズムの推論を目的として、現代的統計解析手法を適用する。

B.　研究方法

データベースに多型情報と臨床情報が蓄積されることを前提とする。多型の選択には、Lasso や Elastic Net などの正則化回帰を用いることが基本である。Group Lasso により有用な多型のグループを抽出する。さらに、ガウシアングラフィカルモデルにより、疾患に関わる多型と臨床情報の交互作用をグラフ表示することで、推論に供する。また、倫理面への配慮として、解析に

供するデータを使用することについて、データを取得している各参加機関、さらに分担者が所属する統計数理研究所の研究倫理審査委員会より承認を得ている。

C.　研究結果

まだデータが得られていない状況であるから、本年度は、準備段階として、データのクリーニングの手続きを確立し、臨床データと全ゲノムタイピングのデータから疾患に関連する臨床とゲノムの交互作用の解析手法を確立することを目指した。具体的には、Lasso や Elastic Net を独自に実装し、その性能を評価するに留まらず、本年度に発表された stability selection を用いて多型を選択する手法も検討した。Group Lasso、ガウシアングラフィカルモデルについても、その有効性を考察した。実用上は、事前にかなり変量を減らしておく必要があることが示唆された。それらの手法を代表者らが過去に関わった研究のデータに適用し、有用性を評価することができた。この成果は学会で報告した。

D.　考察

来年度はデータが得られることが期待されるので、本年度に開発した手法を適用する。

E.　結論

来年からは、確立した手法を実際のデータに適用し、交互作用を網羅的に調べるこ

と、データベースの統計解析の手続きを確立することを目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

山田隆行，溝上雅史，間野修平「全ゲノム交互作用解析により見つかったC型肝炎のインターフェロン・リバビリン併用治療における年齢と薬剤奏功の交互作用」日本人類遺伝学会第56回大会

G. 知的所得権の出願・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）

B 型肝炎ウイルス感染の病態別における宿主因子等について、網羅的な遺伝子解析を用い、新規診断法及び治療法の開発を行う研究

分担研究者：鈴木　哲朗　浜松医科大学医学部感染症学講座　教授
研究協力者：小林　良正　浜松医科大学内科学第二講座　助教

分担研究課題：オカルト HBV が疑われた核酸アナログ投与症例の HBV 遺伝子解析

研究要旨：ラミブジンの長期間投与に伴って HBs 抗原が検出限界以下となったものの HBV DNA 陽性が持続する慢性 B 型肝炎患者について、オカルト HBV と薬剤耐性変異の可能性を考え、HBs 抗原領域及びポリメラーゼ領域の HBV 遺伝子配列を解析した。その結果、HBs 抗原に２カ所の変異：A194V 及び I195M を見出した。また、HBV ポリメラーゼの L526M と M550V の変異を検出した。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HCV）の持続感染、病態進展、治療薬応答性などに関与する宿主側及びウイルス側の両遺伝要因が明らかとなることにより新たな診断技術、治療法の開発へ繋がることが期待される。本年度は、オカルトHBVが疑われた、核酸アナログ（ラミブジン）投与B型肝炎症例におけるHBV遺伝子の解析を行なった。

B. 研究方法

浜松医大附属病院肝臓内科にて2005年4月より72ヶ月間、ラミブジン投与による治療を行なった慢性B型肝炎患者よりインフォームドコンセントを得て経時的に採取した血清検体を用いた。QIAmp DNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて血清よりtotal DNAを抽出し、PCRにてHBV DNA断片を得、ダイレクトシークエンシングにて遺伝子配列を決定した。PCRにはSugauchiらが報告（J Gen Virol (2001)）したHBVプライマー HB11F (nt 2814-2834)とHB2R (nt 989-970)HBVプライマーを用いた。

C. 研究結果

当該患者は、治療開始前、HBs抗原 35497 IU/mL, HBV DNA 8.8以上（log copies/mL）と高値を示し、投与開始後、6ヶ月でHBs抗原 493 IU/mL, HBV DNA 2.7 log copies/mL まで低下した。しかしながら、その後、2011年5月までの間にHBs抗原は陰性化を認めたものの、HBV DNAは10^2～10^3 copies/mL を推移した。このことから、ラミブジン長期間投与に伴ってHBs抗原検出系に低感受性／非感受性のHBV変異が生じた可能性を考えた。

そこで、ラミブジン投与前及び投与72ヶ月後の患者血清中のHBVについて PreS1/PreS2/S領域とそれに対応するポリメラーゼ領域の遺伝子配列を決定した。その結果、図１のようにHBs抗原のアミノ酸194,195番のAla, Ile（投与前）がそれぞれVal, Met（投与後）に置換する変異(A194V, I195M)が見出された。また、ポリメラーゼのアミノ酸526番LeuがMetへ(L526M)、550番MetがValへ(M550V)の置換変異が認められた。

D. 考察

HBs 抗原検出試薬に対する反応性の低下に寄与する HBs 抗原変異としては、アミノ酸 116, 120, 126, 129, 130, 133, 145, 159, 183 番目等の変異がこれまで報告されている。オカルト HBV の要因となりうる新たな

HBs抗原変異として今回A194V及びI195Mが見出された。A194V及びI195Mを持つ組換えHBs抗原を作製し、検出試薬に対する感受性への影響を調べることにより本変異の意義が明らかとなる。一方、HBVポリメラーゼのL526M (B-domain)とM550V (YMDD motif)はラミブジン耐性変異として報告されている（Bock et al, Gastroenterol (2002)）ものと一致した。

E. 結論

ラミブジン長期間投与B型肝炎症例におけるHBV遺伝子解析の結果、オカルトHBVに関与する可能性のある新たなHBs抗原変異を同定した。

F. 研究発表

論文発表

1. Saeed M, Suzuki R, Watanabe N, Masaki T, Tomonaga M, Muhammad A, Kato T, Matsuura Y, Watanabe H, Wakita T, Suzuki T. Role of the ERAD pathway in degradation of hepatitis C virus envelope proteins and production of the viral particles. J Biol Chem 286: 37264-37273, 2011.
2. Yamamoto M, Aizaki H, Fukasawa M, Teraoka T, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Structural requirements of virion-associated cholesterol for infectivity, buoyant density and apolipoprotein association of hepatitis C virus. J Gen Virol. 92: 2082-2087, 2011.
3. Akazawa D, Morikawa K, Omi N, Takahashi H, Nakamura N, Mochizuki H, Date T, Ishii K, Suzuki T, Wakita T. Production and characterization of HCV particles from serum-free culture. Vaccine 29: 4821-4828, 2011.
4. Saeed M, Shiina M, Date T, Akazawa D, Watanabe N, Murayama A, Suzuki T, Watanabe H, Hiraga N, Imamura M, Chayama K, Choi Y, Krawczynski K, Liang TJ, Wakita T, Kato T. In Vivo adaptation of hepatitis C virus for efficient virus production and evasion of apoptosis. Hepatology 54: 425-433, 2011.
5. 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. Malnutrion Impairs Interferon Signaling Through mTOR and FoxO Pathways in Patients With Chronic Hepatitis C. Gastroenterology 141: 128-140, 2011.
6. 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. 54: 432-438, 2011.
7. Wen X, Abe T, Kukihara H, Taguwa S, Mori Y, Tani H, Kato N, Suzuki T, Tatsumi M, Moriishi K, Matsuura Y. Elimination of hepatitis C virus from hepatocytes by a selective activation of therapeutic molecules. PLoS One. 6: e15967, 2011.
8. Watanabe N, Aizaki H, Matsuura T, Kojima S, Wakita T, Suzuki T. Hepatitis C virus RNA replication in human stellate cells regulates gene expression of extracellular matrix-related molecules. Biochem Biophys Res Commun. 407 : 135-140, 2011.
9. Inoue Y, Aizaki H, Hara H, Matsuda M, Ando T, Shimoji T, Masaki T, Shoji I, Homma S, Matsuura Y, Miyamura T, Wakita T, Suzuki T. Chaperonin TRiC/CCT participates in replication of hepatitis C virus genome via interaction with the viral NS5B protein. Virology 410: 38-47, 2011.
10. Iwasaki Y., Mori K., Ishii K., Maki N., Iijima S., Yoshida T., Okabayashi S., Katakai Y., Lee Y.J., Saito A., Funai H., Kimura N., Ageyama N., Yoshizaki S., Suzuki T., Yasutomi Y., Miyamura T., Kannnagi M. and Akari H. Long-term persistent GBV-B infection and development of a chronic and progressive hepatitis C-like disease in marmosets. Front Microbiol. 2: 240, 2011.

G. 知的所有権の出願・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