

35. T Takamura, H Misu, N Matsuzawa-Nagata, M Sakurai, T Ota, A Shimizu, S Kurita, Y Takeshita, H Ando, M Honda, S Kaneko. Obesity upregulates genes involved in oxidative phosphorylation in livers of diabetic patients. Obesity 16(12):2601-2609, 2008.
36. H Minagawa, T Yamashita, M Honda, Y Tabuse, K Kamijo, A Tsugita, and S Kaneko. Comparative analysis of proteome and transcriptome in human hepatocellular carcinoma using 2D-DIGE and SAGE. Protein J 27(7-8):409-419, 2008.
37. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, N Mukaida, and S Kaneko. Optimal amount of monocyte chemoattractant protein-1 enhances antitumor effects of suicide gene therapy against hepatocellular carcinoma by M1 macrophage activation. Cancer Sci 99(10):2075-2082, 2008.
38. N Iida, Y Nakamoto, T Baba, K Kakinoki, YY Li, Y Wu, K Matsushima, S Kaneko, and N Mukaida. Tumor cell apoptosis induces tumor-specific immunity in a CC chemokine receptor 1- and 5-dependent manner in mice. J Leukoc Biol 84(4):1001-1010, 2008.
39. E Mizukoshi, M Honda, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, and S Kaneko. Expression of multidrug resistance-associated protein 3 and cytotoxic T cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. J Hepatol 49(6):946-954, 2008.
40. N Matsuzawa-Nagata, T Takamura, H Ando, S Nakamura, S Kurita, H Misu, T Ota, M Yokoyama, M Honda, K Miyamoto, and S Kaneko. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. Metabolism 57(8):1071-1077, 2008.
41. R Nishino, M Honda, H Takatori, H Minato, Y Zen, M Sasaki, H Takamura, K Horimoto, T Ohta, Y Nakanuma, and S Kaneko. Identification of novel candidate tumour marker genes for intrahepatic cholangiocarcinoma. J Hepatol 49(2):207-216, 2008.
42. R Teramoto, H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, K Kamijo, T Ueda, S Kaneko. Protein expression profile characteristic to hepatocellular carcinoma revealed by 2D-DIGE with supervised learning. Biochim Biophys Acta 1784(5):764-772, 2008.
43. H Minagawa, M Honda, K Miyazaki, Y Tabuse, R Teramoto, T Yamashita, R Nishino, H Takatori, T Ueda, K Kamijo, and S Kaneko. Comparative proteomic and transcriptomic profiling of human hepatocellular carcinoma. Biochem Biophys Res Commun 366(1):186-192, 2008.
44. S Aburatani, F Sun, S Saito, M Honda, S Kaneko, and K Horimoto. Gene systems network inferred from expression profiles in hepatocellular carcinogenesis by graphical gaussian model. EURASIP J Bioinform Syst Biol 47214, 2007.
45. Y Kita, E Mizukoshi, T Takamura, M Sakurai, Y Takata, K Arai, T Yamashita, Y Nakamoto, and S Kaneko. Impact of diabetes mellitus on prognosis of patients infected with hepatitis C virus. Metabolism 56(12):1682-1288, 2007.
46. T Takamura, M Honda, Y Sakai, H Ando, A Shimizu, T Ota, M Sakurai, H Misu, S Kurita, N Matsuzawa-Nagata, M Uchikata, S Nakamura, R Matoba, M Tanino, K Matsubara, and S Kaneko. Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells reflect the pathophysiology of type 2 diabetes. Biochem Biophys Res Commun 361(2):379-384, 2007.
47. N Matsuzawa, T Takamura, S Kurita, H Misu, T Ota, H Ando, M Yokoyama, M Honda, Y Zen, Y Nakanuma, K Miyamoto, and S Kaneko. Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet. Hepatology 46(5):1392-1403, 2007.
48. N Oishi, K Shilagardi, Y Nakamoto, M Honda, S Kaneko, and S Murakami. Hepatitis B virus X protein overcomes oncogenic RAS-induced senescence in human immortalized cells. Cancer Sci 98(10):1540-1548, 2007.
49. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, Y Marukawa, M Kitahara, N Mukaida, and S Kaneko. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. J Immunol 178(1):574-583, 2007.
50. T Ota, T Takamura, S Kurita, N Matsuzawa, Y Kita, M Uno, H Akahori, H Misu, M Sakurai, Y Zen, Y Nakanuma, and S Kaneko. Insulin resistance accelerates a dietary rat model of nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology 132(1):282-293, 2007.
51. M Tateno, M Honda, T Kawamura, H Honda, and S Kaneko. Expression profiling of peripheral-blood mononuclear cells from patients with chronic hepatitis C undergoing interferon therapy. J Infect Dis 195(2):255-267, 2007.

52. T Tsuchiyama, Y Nakamoto, Y Sakai, Y Marukawa, M Kitahara, N Mukaida, and S Kaneko. Prolonged, NK cell-mediated antitumor effects of suicide gene therapy combined with monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. J Immunol 178(1):574-583, 2007.
53. H Misu, T Takamura, N Matsuzawa, A Shimizu, T Ota, M Sakurai, H Ando, K Arai, T Yamashita, M Honda, T Yamashita, and S Kaneko. Genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately upregulated with fasting hyperglycaemia in livers of patients with type 2 diabetes. Diabetologia 50(2):268-277, 2007.

特許取得数 1件

【登録番号】特登-03955379

【発明の名称】C型肝炎ウイルス除去用吸着材、吸着装置及び吸着方法

【特許権者】株式会社カネカ

【発明者】荻野 英司、野村 道雄、旭孝 司、金子 周一、酒井 明人

その他、出願中 12件

政策提言：肝炎研究7カ年戦略（平成20年、平成21年）

肝がん診療ガイドライン（2005年版, 2009年度版）

肝がんに対する新規抗がん剤使用に関する指針（2010年度版）

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

研究課題：

ウイルス性肝疾患に対する分子標的治療創薬に関する研究

本研究の背景と目的、および創薬研究における位置づけ

医療の背景

導入される薬剤だけでは、癌を含めたウイルス性肝疾患を制御することはむずかしいと考えられており、新たな開発が進められている

学術的背景

先の研究では

1. 治療の標的とする分子候補の解析
2. 新規の薬剤、および候補となる薬剤を評価する方法の研究
3. 分子標的治療創薬を行うための基盤技術
4. 既に分子標的治療創薬の開始

目的

1. ウイルス性肝炎、肝がん治療薬の効果を予測する方法を開発する
2. ウイルス性肝炎の進展阻止、線維化阻止、発がん抑制を目指した RNAi製剤および特殊ペプチド製剤などの創薬研究を行う

臨床試験  
市場化

新物質の探索

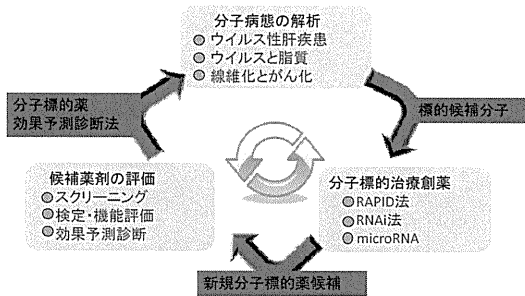
スクリーニング

前臨床試験

H22-24

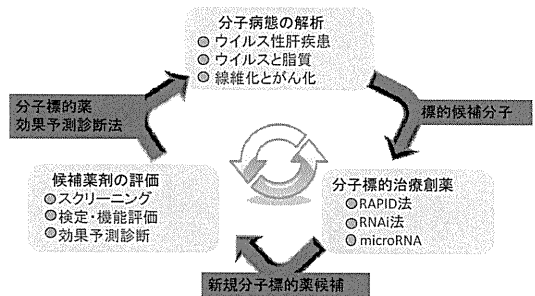
H25-27 H28-32

本研究における分子標的治療創薬の方法



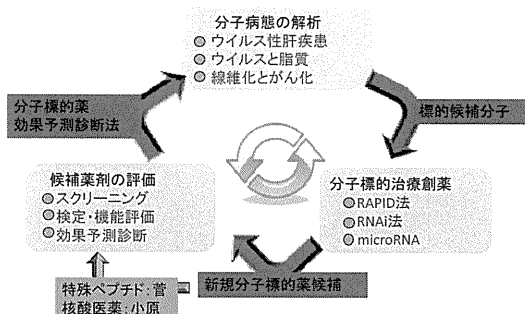
本研究における分子標的治療創薬の方法

- がん幹細胞 EpCAM:金子 ◎アポトーシスを制御 let-7:竹原 ◎酸化ストレス/線維化 MnSOD, AIM:宇土
- 肝炎治療効果 RANTES:前川 ◎HCVと脂肪 PI4KIIIa, Marf, INSL4:深澤 ◎線維化 I16, TLR4:村上



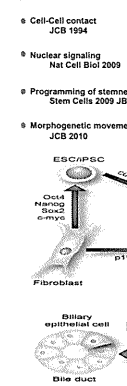
本研究における分子標的治療創薬の方法

- がん幹細胞 EpCAM:金子 ◎アポトーシスを制御 let-7:竹原 ◎酸化ストレス/線維化 MnSOD, AIM:宇土
- 肝炎治療効果 RANTES:前川 ◎HCVと脂肪 PI4KIIIa, Marf, INSL4:深澤 ◎線維化 I16, TLR4:村上



がん幹細胞研究におけるEpCAMと肝がんとの関連

EpCAM and its function



EpCAM as a marker of cancer stem cells (CSCs)

PNAS 2003, 2007, Nat Rev Cancer 2009

EpCAM+ circulating tumor cells and prognosis prediction

Nature 2007

Application for immunotherapy AJP 2003 Ann Oncol 2010 JCO 2011 Can Res 2012

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

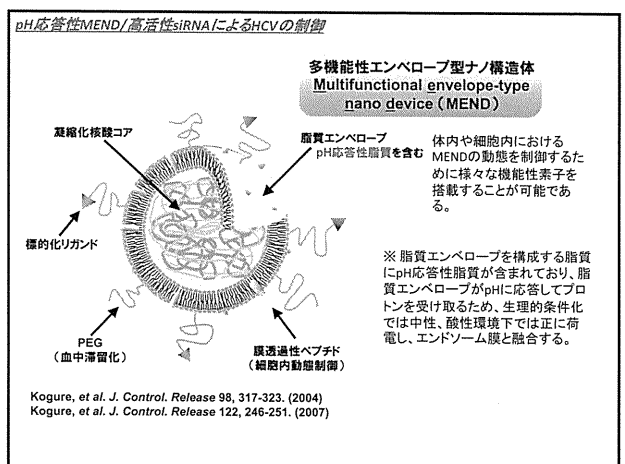
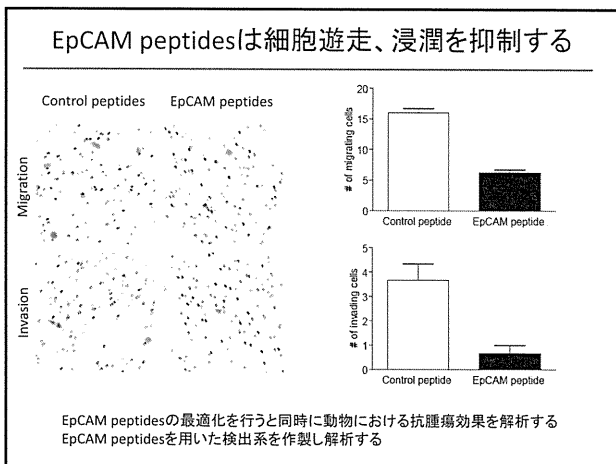
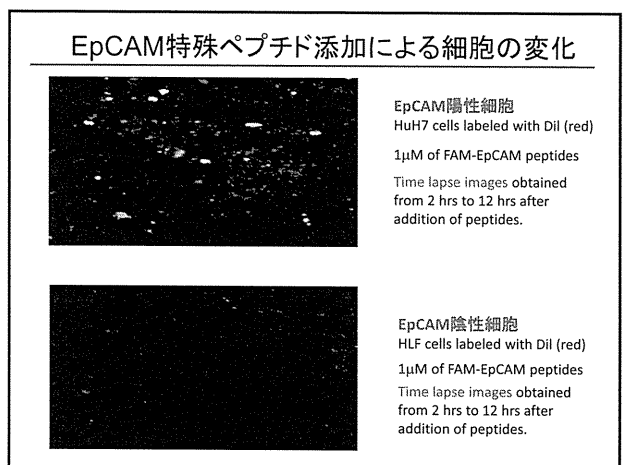
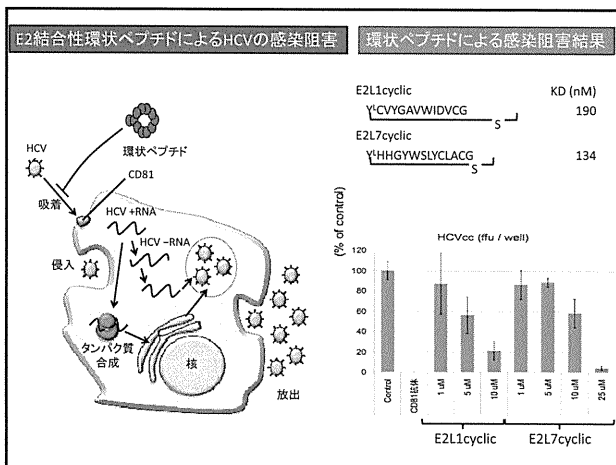
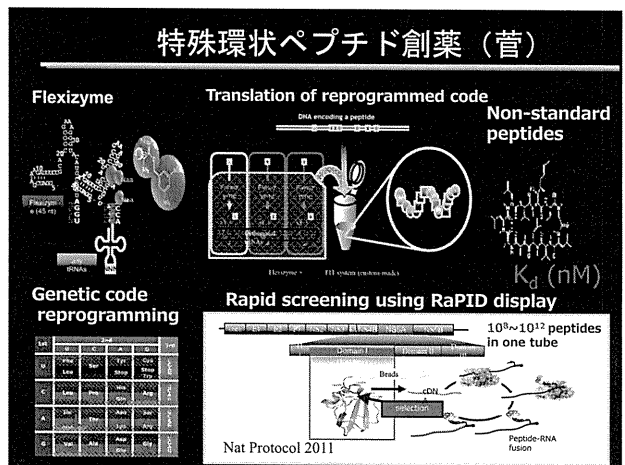
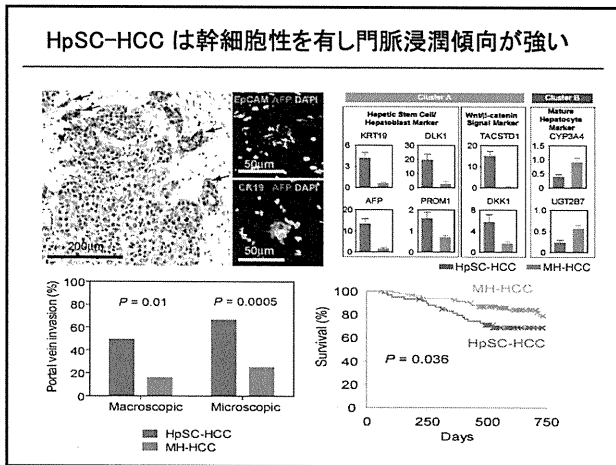
Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

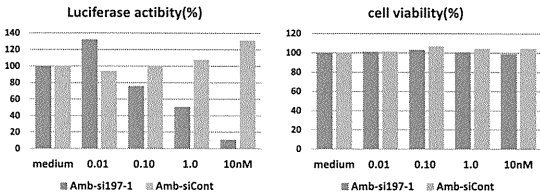
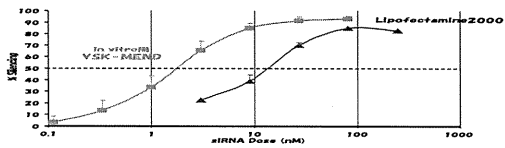
Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

Cancer Res 2007 Cancer Res 2008 Gastroenterology 2009 Hepatology 2009 Cancer Res 2010

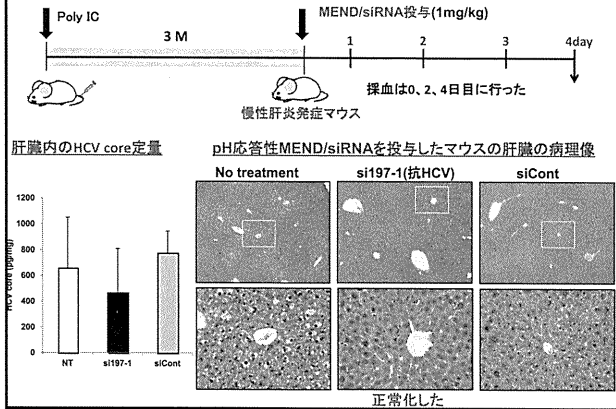


**pH応答性多機能性エンベロープ型ナノ構造体 (MEND: multifunctional envelope-type nano device) によるHCV複製阻害活性**



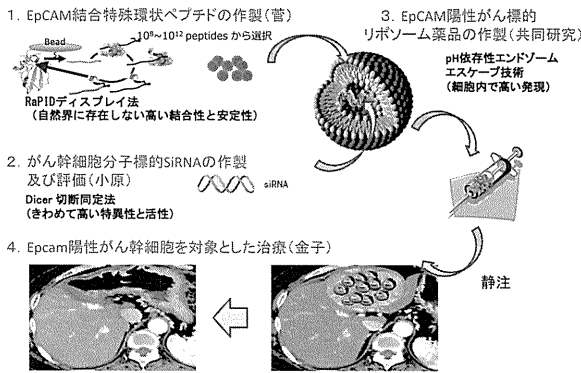
pH応答性MENDによるsiRNA導入で、濃度依存的なHCV阻害活性を確認した

**pH応答性MEND/siRNAによるHCVトランジェニックマウス阻害活性**

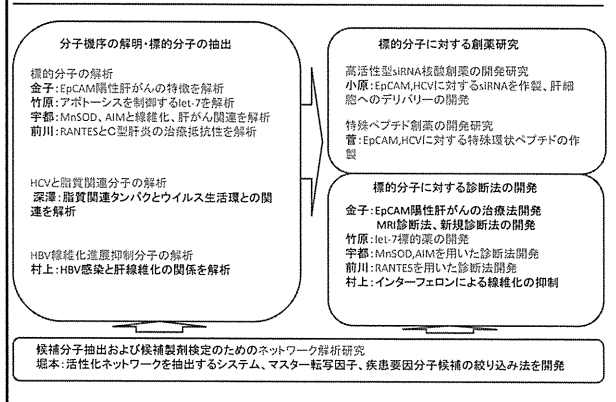


**pH応答性MEND/高活性siRNAによるがん幹細胞の制御**

作製されるMEND/siRNAはEpCAMを表現するがん幹細胞に特異的に取り込まれ、エンドソームエスケープの機構を用いて細胞内にsiRNAを放出し抗腫瘍効果を示す



**まとめ ウイルス性肝疾患に対する分子標的治療創薬に関する研究**



## 平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業『成果概要』

研究課題：ウイルス性肝炎からの発がん及び肝がん再発の抑制に関する研究課題番号：H22-肝炎-一般-004予定期間：H22 年度から H24 年度まで研究代表者：林 紀夫所属研究機関：独立行政法人労働者健康福祉機構関西労災病院所属部局：消化器内科職名：病院長年次別研究費(交付決定額)：1年目 43,524,000 円 2年目 48,360,000 円**I. 研究の意義**

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

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) PEG-IFN/RBV 治療の発がん抑制効果のエビデンスの確立
- (2) 肝炎の鎮静化 (ALT、AFP の正常化) を目指した発がん抑制戦略が明らかになる
- (3) 肝がんの発症・進展・治療抵抗性のメカニズムが解明され、新規肝がん治療戦略が構築される

**III. 2 年間の研究成果**

## ・研究代表者

PEG-IFN/RBV 治療を行った 2600 例の C 型肝炎患者について発がん率を検討し、以下の知見を得た。

- (1) 肝発がんに寄与する独立因子は高齢、男性、血小板低値、AFP 高値、PEG-IFN/RBV 無効であった。
- (2) SVR 例、再燃例では治療効果判定時の AFP 値が治療前より有意に低下した。
- (3) SVR 例における発がんに寄与する因子として治療効果判定時の AFP 高値が抽出された。
- (4) 非著効例からの発がんに寄与する独立因子は高齢、男性、血小板低値、治療効果判定時の AFP 高値、治療効果判定以降の平均血清 ALT 高値であった。

以上より、PEG-IFN/RBV 併用治療においてウイルス排除群では発がん率が有意に抑制されており、また非著効群では ALT を低下させることが発がんを抑制する上で重要であることが示された。

肝細胞アポトーシスを自然発症する遺伝子改変マウス (肝細胞特異的 Mc1-1 KO マウス) は生後早期より ALT 上昇が持続するが、1 年以上の飼育により高率に多発性の肝がんを発症することを明らかにした。肝細胞障害の持続が発がんの十分条件であることが実験医学的に証明された。

## ・研究分担者

- (1) B 型肝炎ウイルス感染受容体候補として preS1 と相互作用する因子を 4 種類同定した (上田)、
- (2) 慢性肝疾患からの肝がんの発生に伴い末梢血中の TIE2 陽性単球 (TEM) が増加することを見出し、TEM が腫瘍の血管新生に関与することを示した (考藤)、
- (3) 肝細胞がんの悪性度と造影超音波

検査血管相初期シグナルとの関連についての検討 (野村)、(4)マウスに抗 PD-1 抗体を投与することにより、腫瘍部に CD4 および CD8 陽性細胞が多く浸潤し、IFN $\alpha$ による抗腫瘍効果が増強することを明らかにした (広石)、(5)マウスの 4 塩化炭素肝障害モデルにおいて、M2 マクロファージにオステオアクチビン発現が誘導されることが示された (坪内)、(6)肝がん患者に対する内科的治療により CypB、SART2、SART3、p53、MRP3、AFP、hTERT に対する T 細胞応答が増強することを明らかにするとともに、GMP グレードのペプチドワクチンを作製して肝がん患者に対する安全性臨床研究を施行し、NCI-CTC グレード 3 以上の有害事象が出現しないことを確認した (中本)、(7)HCV 陽性肝がんに対する根治的治療後に PEG-IFN/RBV 治療を行った 89 例を検討したところ、SVR 率は 1 型高ウイルス量症例 33%、その他の症例 64%であり、SVR により 2 回目以降の再発が有意に抑制されていた (平松)、(8)肝がん細胞ではソラフェニブ治療によりオートファジーが誘導され、これにより治療抵抗性が付与されることを示し、オートファジーを抑制するクロロキンの投与によりソラフェニブの抗腫瘍効果が増強することを前臨床モデルで明らかにした (竹原)。

#### **IV. 平成 24 年度の課題**

- (1) PEG-IFN/RBV 治療による発がん抑制効果を IL28B との関連で解析する必要がある
- (2) 肝細胞死の持続が発がんを誘導するメカニズムを解明する必要がある
- (3) B 型肝炎ウイルスのエントリー機構を解明する必要がある
- (4) TIE2 陽性単球の癌免疫における意義を解明する必要がある
- (5) PD-1 経路の遮断による癌免疫治療の構築を図る必要がある
- (6) オステオアクチビンの免疫制御機構を明らかにする必要がある
- (7) 腫瘍抗原に対する T 細胞応答の臨床的意義について検討する必要がある
- (8) 肝がん根治後の HCV 排除の発がん抑制効果について症例の集積を図る必要がある
- (9) 肝がんにおけるオートファジーの意義について臨床試料を用いた検討を行う必要がある

#### **V. 行政施策への貢献の可能性**

- (1) 肝発がん抑止を目指した抗ウイルス治療戦略の推進 (非発がん例、肝がん根治後)
- (2) 肝庇護療法による発がん抑止戦略の構築
- (3) 肝がん免疫治療法の開発 (オステオアクチビン、PD-1 抗体、T 細胞応答)
- (4) 肝がんのソラフェニブ治療抵抗性に対する補助療法の確立

#### **VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**

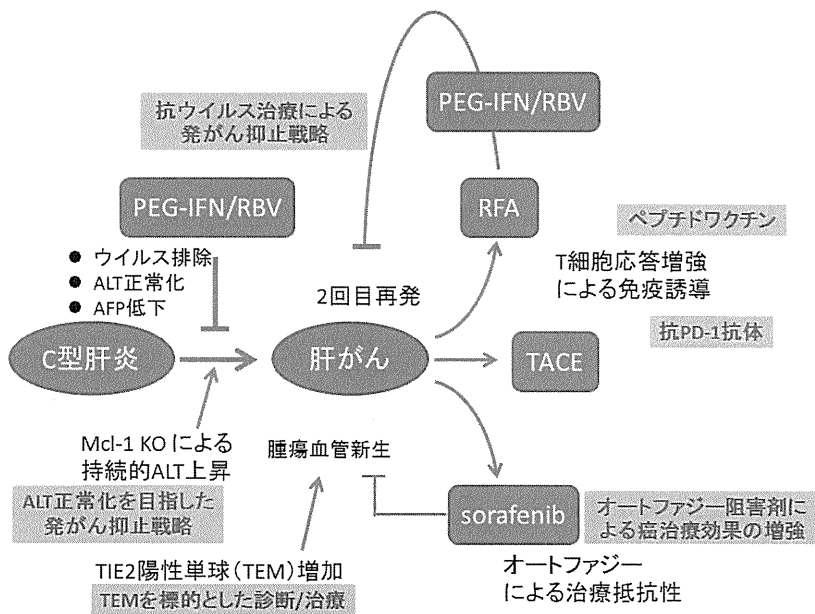
1) Imai Y, Tamura S, Tanaka H, Hiramatsu N, Kiso S, Doi Y, Inada M, Nagase T, Kitada T, Imanaka K, Fukuda K, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Reduced risk of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in aged patients with chronic hepatitis C is limited to sustained virological responders. **J Viral Hepat** 17: 185-191, 2010. 2) Tatsumi T, Takehara T, Miyagi T, Nakazuru S, Mita E, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Hepatitis C virus (HCV)-specific CD8+ T cell responses during pegylated interferon-alfa and ribavirin treatment are associated with the antiviral activity in patients with chronic hepatitis C virus infection. **Hepato Res (in press)** 3) Kanto T. Dendritic cells in hepatitis virus infection : a legatus within. **Current Immunology Reviews** 2010:1-33. 4) Kainuma M, Furusyo N, Kajiwara E, Takahashi K, Nomura H, Tanabe Y, Satoh T, Maruyama T, Nakamuta M, Kotoh K, Azuma K, Shimono J, Shimoda S, Hayashi J; Kyushu University Liver Disease Study Group. Pegylated interferon  $\alpha$ -2b plus ribavirin for older patients

with chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* **16**: 4400-9, 2010. 5) Hiroishi K, Eguchi J, Baba T, Shimazaki T, Ishii S, Hiraide A, Sakaki M, Doi H, Uozumi S, Omori R, Matsumura T, Yanagawa T, Ito T, Imawari M. Strong CD8+ T-cell responses against tumor-associated antigens prolong the recurrence-free interval after tumor treatment in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* **45**: 451-458, 2010. 6) Inokuchi M, Ito T, Nozawa H, Miyashita M, Morikawa K, Uchikoshi M, Shimozuma Y, Arai J, Shimazaki T, Hiroishi K, Imawari M. Lymphotropic hepatitis C virus has an interferon-resistant phenotype. *J Viral Hepat (in press)*. 7) Kanmura S, Uto H, Sato Y, Kumagai K, Sasaki F, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Nagata K, Hayashi K, Stuver SO, Tsubouchi H. The complement component C3a fragment is a potential biomarker for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* **2010;45:459-67**. 8) Wu Y, Wang YY, Nakamoto Y, Li YY, Baba T, Kaneko S, Fujii C and Mukaida N: Accelerated hepatocellular carcinoma development in mice expressing the Pim-3 transgene selectively in the liver. *Oncogene* **29**: 2228-2237, 2010. 9) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: Enhancement of tumor-specific T-cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* **126**: 2164-2174, 2010. 10) Yamashita T, Honda M, Nio K, Nakamoto Y, Yamashita T, Takamura H, Tani T, Zen Y and Kaneko S: Oncostatin m renders epithelial cell adhesion molecule-positive liver cancer stem cells sensitive to 5-Fluorouracil by inducing hepatocytic differentiation. *Cancer Res.* **70**: 4687-4697, 2010. 11) Iida N, Nakamoto Y, Baba T, Nakagawa H, Mizukoshi E, Naito M, Mukaida N and Kaneko S: Antitumor effect after radio-frequency ablation of murine hepatoma is augmented by an active variant of cc chemokine ligand 3/macrophage inflammatory protein-1alpha. *Cancer Res.* **70** :6556-6565, 2010. 12) Nakamoto Y, Mizukoshi E, Kitahara M, Arihara F, Sakai Y, Kakinoki K, Fujita Y, Marukawa Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O and Kaneko S: Prolonged recurrence-free survival following ok432-stimulated dendritic cell transfer into hepatocellular carcinoma during transarterial embolization. *Clin Exp Immunol* **163**: 165-177,2011. 13) Kakinoki K, Nakamoto Y, Kagaya T, Tsuchiyama T, Sakai Y, Nakahama T, Fujita Y, Mukaida N and Kaneko S: Prevention of intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma by combination of suicide gene therapy and monocyte chemoattractant protein-1 delivery in mice. *J Gene Med* **12**: 1002-1013, 2010. 14) Takata Y, Nakamoto Y, Nakada A, Terashima T, Arihara F, Kitahara M, Kakinoki K, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, \*Kaneko S: Frequency of CD45RO+ subset in CD4+CD25(high) regulatory T cells associated with progression of hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett.* **28**: 165-173, 2011. 15) Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, Honda M, \*Kaneko S: Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific T-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **53**: 1206-1216, 2011. 16) Oze T, Hiramatsu N, Yakushijin T, Mochizuki K, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Fukui H, Inui Y, Hijioka T, Inada M, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Kato M, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Hayashi N. Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy. *J Hepatol (in press)* 17) Uemura A, Takehara T, Miyagi T, Suzuki T, Tatsumi T, Ohkawa K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. Natural killer cell is a major producer of interferon  $\gamma$  that is critical for the IL-12-induced anti-tumor effect in mice. *Cancer*



**Immunol Immunother** 59: 453-463, 2010. 18) Yamaguchi S, Tatsumi T, Takehara T, Sasakawa A, Yamamoto M, Kohga K, Miyagi T, Kanto T, Hiramatsu N, Akagi T, Akashi M, Hayashi N. EphA2-derived peptide vaccine with amphiphilic poly( $\gamma$ -glutamic acid) nanoparticles elicits an antitumor effect against mouse liver tumor. **Cancer Immunol Immunother** 59: 759-767, 2010. 19) Kohga K, Takehara T, Tatsumi T, Ishida H, Miyagi T, Hosui A, Hayashi N. Sorafenib inhibited the shedding of MICA on hepatocellular carcinoma cells by downregulating ADAM9. **Hepatology** 51: 1264-1273, 2010. 20) Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Ohkawa K, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. The let-7 family of microRNAs negatively regulates Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma. **J Hepatol** 52: 698-704, 2010. 21) Hikita H, Takehara T, Shimizu S, Kodama T, Shigekawa M, Iwase K, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. **Hepatology** 52: 1310-1321, 2010. 22) Kodama T, Takehara T, Hikita H, Shimizu S, Shigekawa M, Tsunematsu H, Li W, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Kanto T, Hiramatsu N, Kubota S, Takigawa M, Tomimaru Y, Tomokuni A, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. **J Clin Invest** 121: 3343-3356, 2011. 23) Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Tsunematsu H, Miyagi T, Hosui A, Ishida H, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Fujita N, Yoshimori T, Hayashi N. Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma. **Int J Cancer** (in press). 24) Kanto T, Inoue M, Oze T, Miyazaki M, Sakakibara M, Kakita N, Matsubara T, Higashitani K, Hagiwara H, Iio S, Katayama K, Mita E, Kasahara A, Hiramatsu N, Takehara T, Hayashi N. Dynamics of regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells as immune markers for virological response in pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. **J Gastroenterol** (in press).

**Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等**



## ●研究代表者の研究歴等

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

### ・過去に所属した研究機関の履歴

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

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

鎌田武信, JA Peterson, 笠原彰紀, 佐々木 裕

### ・主な研究課題

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

### ・これまでの研究実績

※研究代表者の本研究の成果以外の実績も記載してください。

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

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

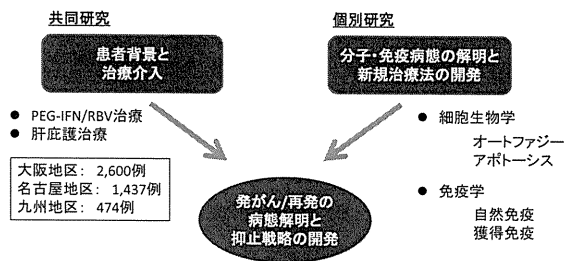
1. ***Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. J Clin Invest 121: 3343-3356, 2011.***
2. ***Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma. Int J Cancer (in press).***
3. ***The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. Hepatology 52: 1310-1321, 2010.***
4. ***Sorafenib inhibited the shedding of MICA on hepatocellular carcinoma cells by downregulating ADAM9. Hepatology 51: 1264-1273, 2010***
5. BH3-only protein Bid participates in the Bcl-2 network in healthy liver cells. **Hepatology 50: 1972-1980, 2009.**
6. Anti-cancer therapy inhibits MICA ectodomain shedding by downregulating ADAM10 expression in hepatocellular carcinoma. **Cancer Res 69: 8050-8057, 2009.**
7. Mcl-1 and Bcl-xL cooperatively maintain integrity of hepatocytes in developing and adult murine liver. **Hepatology 50: 1217-1226, 2009.**

8. Signal transducer and activator of transcription 3 signaling within hepatocytes attenuates systemic inflammatory response and lethality in septic mice. **Hepatology 46: 1564-1573, 2007.**
9. Intrahepatic delivery of  $\alpha$ -galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. **Hepatology 45: 22-30, 2007.**
10. Negative regulation of NK cell activities by inhibitory receptor CD94/NKG2A leads to altered NK cell-induced modulation of dendritic cell functions in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol 173: 6072-6081, 2004.**
11. Concanavarin A injection activates intrahepatic innate immune cells to provoke an anti-tumor effect in murine liver. **Hepatology 40: 1190-1196, 2004.**
12. Hepatocyte-specific disruption of Bcl-xL leads to continuous hepatocyte apoptosis and liver fibrotic responses. **Gastroenterology 127: 1189-1197, 2004.**
13. Hepatitis C virus core functions as a suppressor of cyclin-dependent kinase-activating kinase and impairs cell cycle progression. **J Biol Chem 279: 11719-11726, 2004.**
14. Autocrine/paracrine IL-15 that is required for type I IFN-mediated dendritic cell expression of MHC class I-related chain A and B is impaired in hepatitis C virus infection. **J Immunol 171: 5423-5429, 2003.**
15. Hepatitis C virus core protein differentially regulates the JAK-STAT signaling pathway under interleukin-6 and interferon- $\gamma$  stimuli. **J Biol Chem 278: 28562-28571, 2003.**
16. Critical role of MHC class I-related chain A and B expression on interferon  $\alpha$ -stimulated dendritic cells in NK cell activation: Impairment in chronic hepatitis C virus infection. **J Immunol 170:1249-1256, 2003.**
17. Administration of interleukin-12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma. **Cancer Res 61:7563-7567, 2001.**

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  
「ウイルス性肝炎からの発がん及び  
肝がん再発の抑制に関する研究」  
(H21-肝炎-一般-004)

研究代表者  
林 紀夫

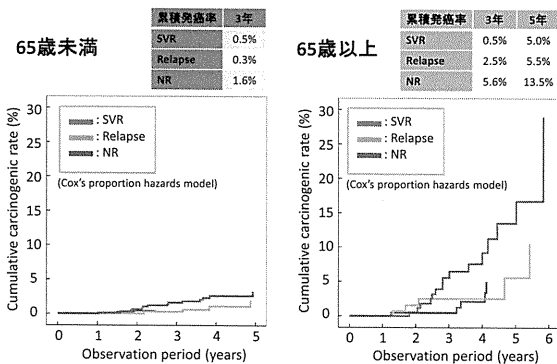
ウイルス性肝炎からの発がん/再発の抑止を目的とする



肝発がんに寄与する因子 PEG-IFN/RBV (N = 2600)

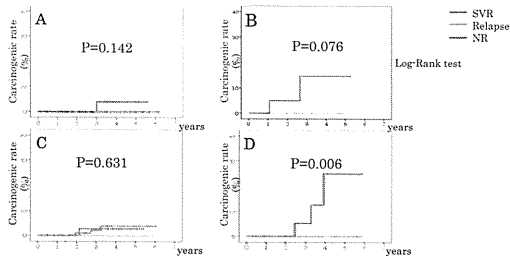
Factor	Category	Hazard ratio	95% CI	p value
Age	0: < 55 y.o.	1		
	1: 55 - 65 y.o.	5.526	1.633 - 18.699	0.006
	2: ≥ 65 y.o.	9.884	2.946 - 33.161	< 0.001
Sex	0: male	4.357	2.222 - 8.545	< 0.001
	1: female	1		
Liver fibrosis	0: F0-2	1	0.749 - 2.673	0.285
	1: F3-4	1.415		
Platelets	0: < 15 × 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup>	2.625	1.279 - 5.387	0.009
	1: ≥ 15 × 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup>	1		
		1		
Total Bilirubin	0: < 0.8 mg/dl	1	0.837 - 2.932	0.161
	1: ≥ 0.8 mg/dl	1.566		
Serum albumin	0: < 4.0 g/dl	0.720	0.398 - 1.303	0.278
	1: ≥ 4.0 g/dl	1		
ALT	0: < 40 IU/l	1	0.516 - 3.112	0.606
	1: ≥ 40 IU/l	1.267		
AFP	0: < 5 ng/ml	1	1.125 - 7.023	0.027
	1: ≥ 5 ng/ml	2.811		
PEG-IFN/RBV Antiviral effect	0: NR	1		
	1: Relapse	0.437	0.201 - 0.949	0.036
	2: SVR	0.259	0.125 - 0.537	< 0.001

累積発癌率 (Peg-IFN/RBV治療効果別)

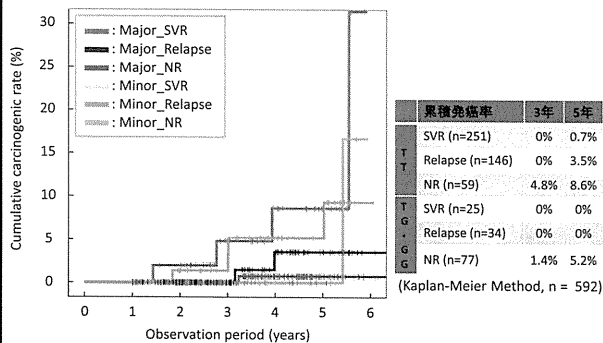


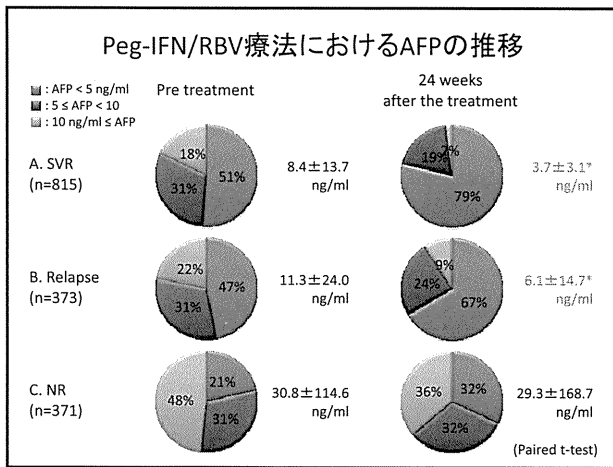
PNALTに対する発がん抑制効果

	血小板16万/μL以上	血小板16万/μL未満
血清ALT値 30IU/L以下	2~4ヶ月毎に血清ALT値がフォローアップ以上をきたした時点で完治の可能性、発癌のリスクを評価し、抗ウイルス療法を考慮	繊維化進展率がかなり存在する。可能な限り肝生検を施行し、F2&3以上の例に抗ウイルス療法を考慮。肝生検非施行例は2~4ヶ月毎に血清ALT値を測定し、以上を示した時点で抗ウイルス療法を考慮。
血清ALT値 31~40IU/L	65歳以下は抗ウイルス療法の考慮。	慢性肝炎治療に注意。



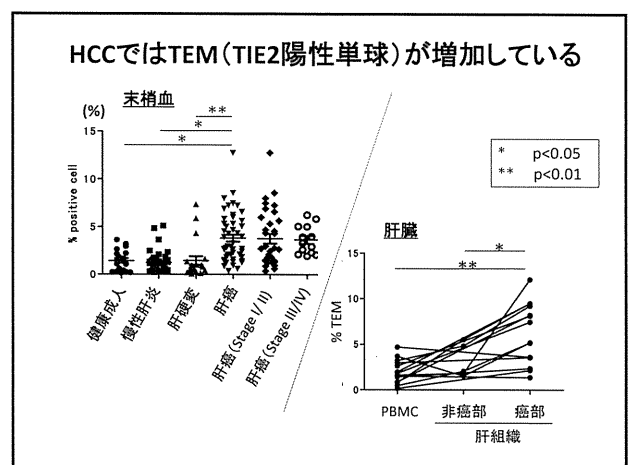
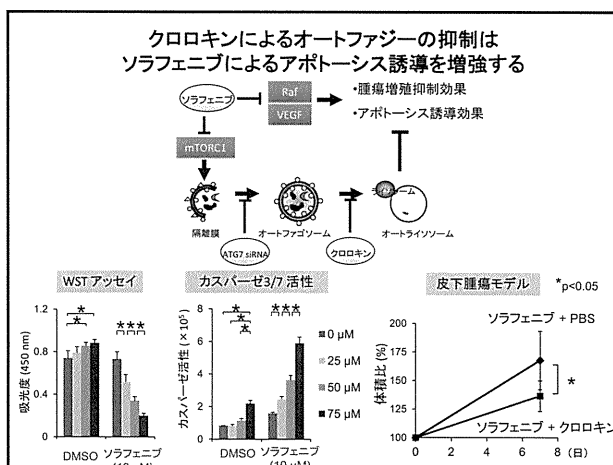
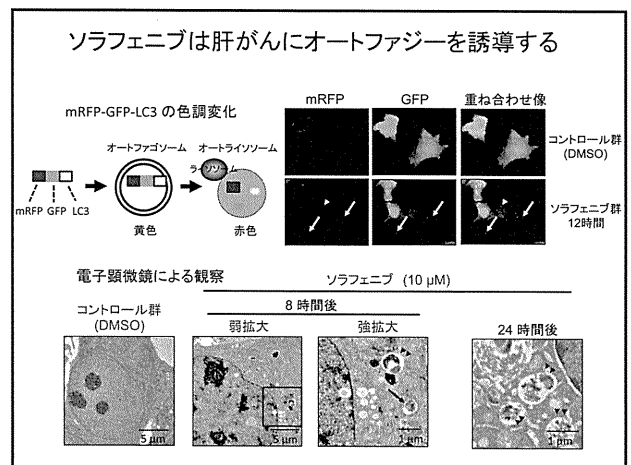
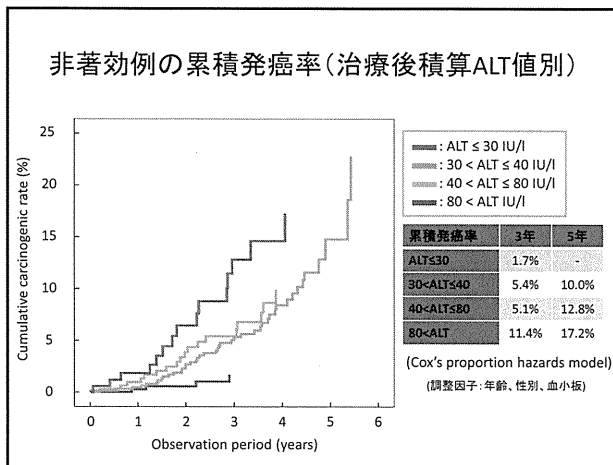
IL28B SNP(rs8099917) 別の累積発癌率





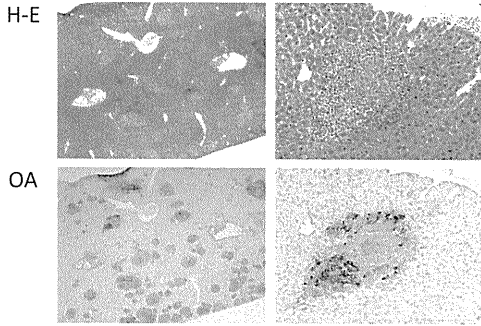
### 肝発癌に関与する因子(治療効果別)(多変量解析)

Factor	Category	SVR			Non-SVR		
		Hazard ratio	95% CI	P value	Hazard ratio	95% CI	P value
Age	0: < 55 y.o.	1			1		
	1: 55 - 65 y.o.	4.994	0.587 - 42.49	0.141	3.454	1.280 - 9.321	0.014
	2: ≥ 65 y.o.	7.775	0.810 - 74.60	0.075	6.602	2.462 - 17.71	<0.001
Sex	0: male	2.473			3.329		
	1: female	1	0.689 - 8.872	0.165	1	1.830 - 6.058	<0.001
Platelets	0: < 15 × 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup>	1.850			1.090		
	1: ≥ 15 × 10 <sup>4</sup> /mm <sup>3</sup>	1	0.523 - 6.544	0.340	1	0.583 - 2.036	0.788
Total Bilirubin	0: < 0.8 mg/dl	1			1		
	1: ≥ 0.8 mg/dl	0.843	0.246 - 2.885	0.786	0.861	0.478 - 1.551	0.619
Serum albumin	0: < 4.0 g/dl	1.921			1.724		
	1: ≥ 4.0 g/dl	1	0.387 - 9.526	0.424	1	0.958 - 3.105	0.069
ALT*	0: > 60 IU/l	1			1		
	1: 40 - 60 IU/l	5690	0 - 3.23X10 <sup>148</sup>	0.959	0.667	0.331 - 1.346	0.259
	2: 30 - 40 IU/l	6861	0 - 3.89X10 <sup>148</sup>	0.959	1.057	0.495 - 2.258	0.886
	3: ≤ 30 IU/l	4486	0 - 2.53X10 <sup>148</sup>	0.961	0.211	0.047 - 0.953	0.043
AFP	0: < 5 ng/ml	1			1		
	1: 5 - 10 ng/ml	6.434	1.894 - 21.86	0.033	3.593	1.486 - 8.711	0.005
	2: ≥ 10 ng/ml	0.000	0 - 7.77X10 <sup>147</sup>	0.693	9.772	2.238 - 14.89	<0.001



オステオアクチビン陽性マクロファージは肝癌周囲に浸潤する

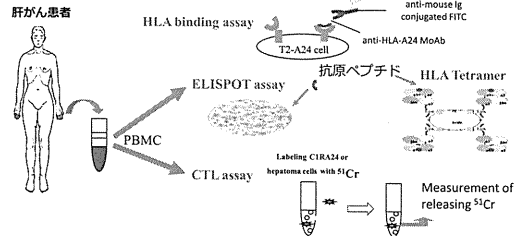
C57/BL6(8週齢)に肝癌細胞株 Hepa1-6(2x10<sup>6</sup>)を脾注



ウイルス性肝炎・肝がんにおける抗原特異的な免疫制御に関する研究

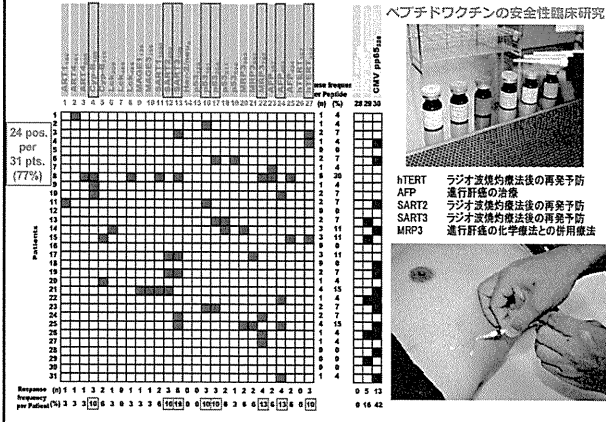
従来の肝がん特異的なTリンパ球を認識する腫瘍抗原ペプチド

Tumor Antigen	HLA restriction	References
p 53	-	Lacabanne et al. 1996
AFP	A2	Butterfield et al. 2003
	A24	Mizukoshi et al. 2006
NY-ESO-1	A2	Shang XY et al. 2004
MAGE	A1, A3	Zerbini et al. 2004
	A2	Dong et al. 2004
Glypican-3	A2, A24	Komori et al. 2006
hTERT	A24	Mizukoshi et al. 2006
MRP3	A24	Mizukoshi et al. 2006



ウイルス性肝炎・肝がんにおける抗原特異的な免疫制御に関する研究

ペプチドワクチンの安全性臨床研究



まとめ

- Peg-IFN/RBV治療によりSVRあるいはTRを得ることにより、AFP値が低下し、発がんリスクは有意に低下する。
- 発がんリスクの低下は65歳以上の高齢者でより顕著であり、またALT正常者でも血小板15万未満の症例では有意である。
- 非著効例では累積ALT値が高値であるほど発がん率は高い。
- 肝がんでは抗がん剤治療によりオートファジーが誘導され、肝がん細胞の治療抵抗性に関与している。
- 肝がんではTIE2陽性単球が腫瘍血管新生に関与し、オステオアクチビン陽性マクロファージが腫瘍免疫抑制に関与していることが示唆された。
- 肝がん患者に対するペプチドワクチン治療は肝がんの進展や再発抑制に有用である可能性がある。

## 平成 23 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報のデータベース構築・治療応用に関する研究

課題番号：H22-肝炎-一般-005

予定期間：H22年度からH24年度まで

研究代表者：田中靖人

所属研究機関：公立大学法人名古屋市立大学

所属部局：大学院医学研究科

職名：教授

年次別研究費(交付決定額)：1年目 75,161,000円 2年目 73,286,000円

### I. 研究の意義

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

### II. 研究の目的、期待される成果

[目的] (1) 本研究では複数のコホートを用いて、HCV 自然経過、治療効果、発癌との関連性を中心として、IL28B SNPs と他の因子を組み合わせることにより、予測率が向上するかを実際の臨床で検証し、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 あるいはテラプレビル併用治療により血球減少、うつ病、高度皮疹など重篤な合併症を引き起こすことが多々あり、これらの副作用に関連した遺伝要因を明らかにすることで、至適薬剤投与量を設定し、副作用の軽減を図る。(4) これまでの宿主因子、ウイルス因子を統合したデータベースをプラットフォームとして、新たに SNP 情報と遺伝子発現情報が直接リンク可能なデータベースを構築・公開する。

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

### III. 2年間の研究成果

・研究代表者(田中靖人)(図1)

- (1) 検体及び付帯情報の収集(約5,000例)(2) IL28B及びITPA SNPをTaqMan法により一括測定し、各施設に情報提供。(3) 血球減少、うつ病などのIFN副作用に関連する遺伝要因探索研究のデザイン(立案、実施)。(4) IFNレセプターKOマウスを用いた検討によりIFN $\lambda$ 特異的ISGの同定。

・研究分担者

(1) 新規 SNPs の同定 (徳永勝士) : Affymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0 による慢性ウイルス性肝疾患患者群のゲノム全域 SNP 解析を、H22 年度に 180 検体、H23 年度に 376 検体をそれぞれ追加して実施 (合計 1,210 検体)。ゲノムワイド関連解析 (GWAS) により、C 型肝炎に対する標準治療である PEG-IFN/RBV 併用療法の副作用である血小板減少および貧血と強い関連を示す遺伝子領域を検出し、論文報告。

(2) IL28B、ITAP SNP の臨床的意義の検証

・(黒崎雅之) : データマイニング解析により、IL28B SNP と血小板数、HCV-RNA 量、NS5A 遺伝子変異の組み合わせにより、PEG-IFN/RBV 併用療法でウイルス学的著効を治療開始前に予測できるモデルを作成した (予測著効率 90%~97%)。ITPA SNP と腎機能、治療開始前ヘモグロビン値の組み合わせで、治療中の高度貧血を治療開始前に予測することが可能であり、この予測に基づく治療計画の立案について報告した (図 2)。

・(菅内文中) : IL28B SNP の異なるキメラマウス間で IFN の抗 HCV 効果に差が認められなかったことからヒトにおける IL28B SNP による治療効果の差には免疫担当細胞の役割も重要であると考えられた。

・(八橋弘) : PEG-IFN/RBV 併用療法を施行した 1 型高ウイルス量 82 例における RVR 率を検討。IL28B major homo (MH) and IP10-L:64% (16/25)、MH and IP10-H:22.9% (8/35)、Non-MH and IP10-L:0%(0/10)、Non-MH and IP10-H:0%(0/12) で有意差を認めた。血中 IP-10 値は、IL28B SNP とは独立した因子であった。

・(渡辺久剛) : C 型肝炎高浸淫地域的一般住民コホートにおけるウイルス自然治癒・肝発癌関連因子としての IL28B SNPs の有用性を検討するため、HCV RNA 陽性者 870 余名をコホート追跡した。HCV 自然治癒 45 例ではメジャー型が多く (96%)、肝発癌例ではヘテロ/マイナー型が多い傾向にあった。一般住民における肝炎コホートにおいては、IL28B 近傍の SNPs は HCV 自然治癒・肝発癌関連因子として重要である。

(3) IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫) : IL28B マイナーでは肝組織と末梢血液の ISG 発現の相関はみられなかった。LCM にて肝小葉領域、門脈域浸潤リンパ球を採取し、肝組織・末梢血液の遺伝子発現を合わせて解析した結果、IL28B メジャーでは免疫担当細胞が肝小葉内に浸潤しているのに対し、IL28B マイナーでは免疫担当細胞の肝小葉内浸潤が抑制されており、IFN 不応答のメカニズムの一つと考えられた。

(4) IFN- $\lambda$  発現制御 (溝上雅史) : IFN- $\lambda$  3 (IL28B) 遺伝子上流に存在する TATA リピート数の違いが IFN- $\lambda$  3 発現量を制御していた (図 3)。(坂本直哉) : IFN 作用を増強する化合物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 IFN 作用増強効果があることを見出した。(5) ウイルス因子 (本村和嗣) : 次世代シーケンサーを用いた HCV 1b 準種の包括的ゲノム解析の系を構築。IL28B メジャー型で治療不応答性の患者を中心に、全ウイルスゲノムを網羅的に解析しシーケンサーデータを蓄積し、IFN 治療不応答性に関わる特徴的なアミノ酸の抽出。

(6) 統合型データベース構築 (五條堀孝、新井理) : 発現遺伝子の種類や発現量の他、転写因子結合サイト、塩基修飾を対象に、次世代シーケンサーによる解析結果を効率的に取り扱えるよう配慮した。また、検体情報を軸として、SNP 情報と遺伝子発現情報が相互参照可能な形式とした。臨床情報管理機能では、同一患者の複数回の診断結果を時系列で取り扱えるよう、そのデータベース構造および利用者インターフェースを改定 (図 4)。機能限定版データベースシステムおよびユーザー認証機能を準備し、ユーザー限定で公開した。

#### IV. 24 年度の課題

(1) 検査系の簡便化及び IL28B SNP、遺伝子発現、ウイルス因子などを組み合わせて治療予測の向上を目指す。(2) 自然予後関連因子としての肝発がん及び肝疾患関連死・生命予後や肝機能値異常における IL28B SNPs の測定意義。(3) PEG-IFN/RBV あるいはテラプレビル併用療法による副作用 (血球減少、うつ病、高度皮疹)



に関わる遺伝子の探索と臨床応用；複数の肝炎コホートで検証し、テーラーメイド医療を目指す。(4) IFNλの機能解析及びIFNλ発現誘導する抗HCV薬の大規模スクリーニング。(5) IL28B SNPと肝内及び末梢血の IFNλ・ISG発現制御⇒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構築。(6) 次世代シーケンサーを用いた オミックス解析。(7) HCV肝外病変の遺伝要因(扁平苔癬)。(8) データの蓄積・解析手法の評価を踏まえて、SNP、遺伝子発現、ウイルス配列、患者情報を基にしたウイルス性肝炎プロファイルを構築し、統合型データベースとして公開する。

## V. 行政施策への貢献の可能性

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

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者；田中靖人

1. **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/DDR1G1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Hum Mol Genet**. 2011;20(17):3507-16.
2. 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.

研究分担者(研究代表者、研究分担者共著分)

1. **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):685-94.
2. 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, Determined by a Suitable Genotyping Method, is a Better Predictor for Response to Pegylated Interferon- $\alpha$ /Ribavirin Therapy in Japanese Patients than Other SNPs Associated with IL28B. **J Clin Microbiol**. 2011;49(5):1853-60.
3. **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**. Pre-treatment prediction of response to peg-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. **J Hepatol**. 2011;54(3):439-48.
4. **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. Malnutrition Impairs Interferon Signaling Through mTOR and FoxO Pathways in Patients With Chronic Hepatitis C. **Gastroenterology**. 2011;141(1):128-140.
5. Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Sakai A, Sakai Y, Kagaya T, Yamashita T, **Honda M**, Kaneko S. Comparative analysis of various tumor-associated antigen-specific t-cell responses in patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatology**. 2011;53(4):1206-16.

VII. III (2年間の研究成果)の概要図等

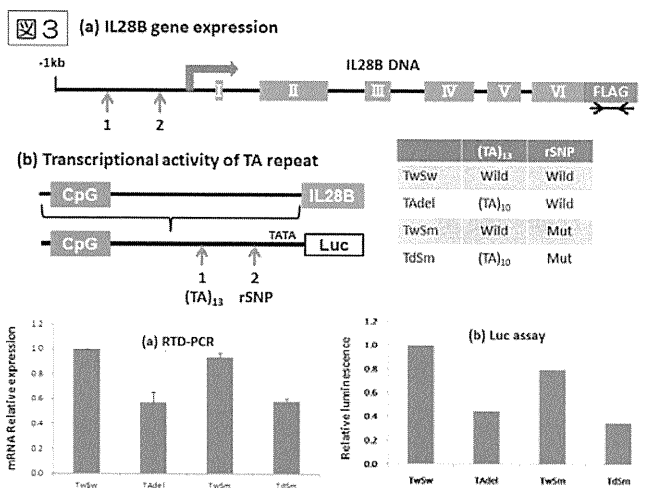
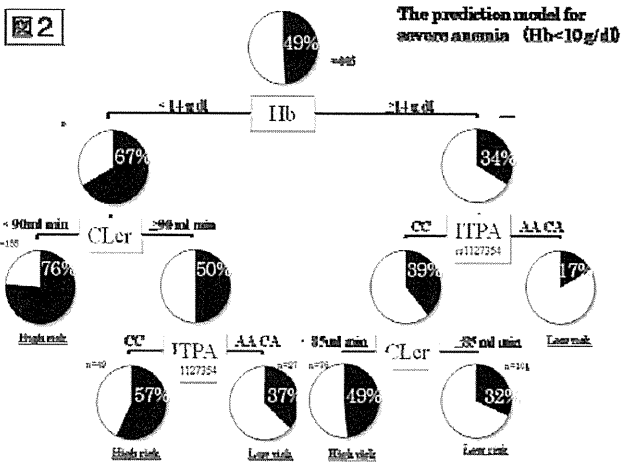
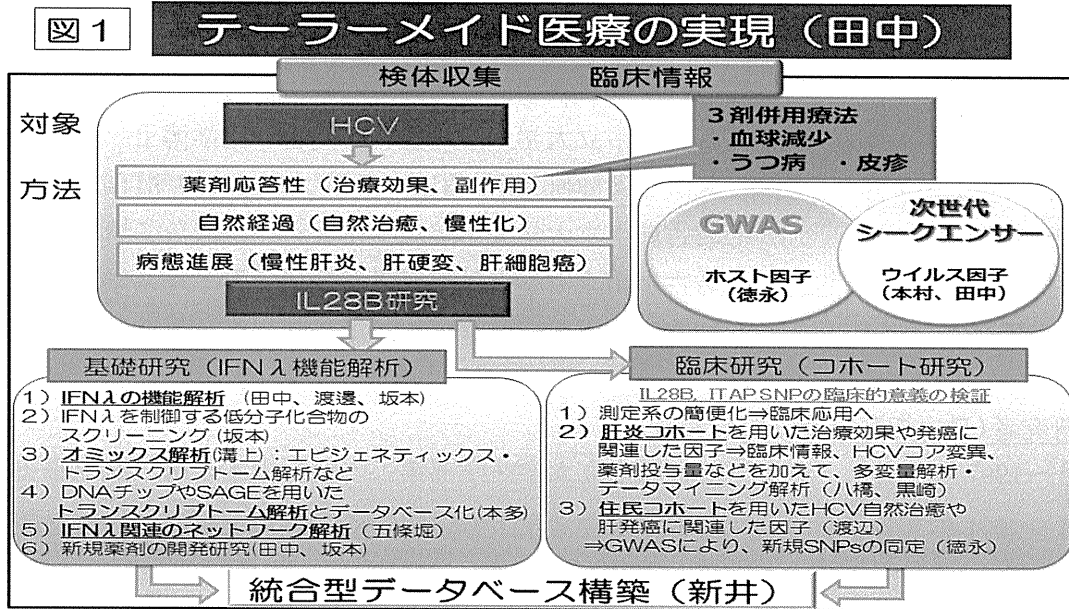


図1. 統合型肝炎データベースの構築～テーラーメイド医療を目指して

図2. データマイニング解析による重度貧血予測

図3. IL28B 遺伝子発現制御。IL28B プロモーター領域の TATA box の影響 (a) IL28B mRNA レベル、(b) IL28B プロモーター領域の転写レベル

図4. データベース利用概念図

## ●研究代表者の研究歴等

## ・過去に所属した研究機関の履歴

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

## ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

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

## ・主な研究課題

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

## ・これまでの研究実績

## 政策提言

新規先進医療：「IL28B の遺伝子診断によるインターフェロン治療効果の予測評価」

厚生労働省第 50 回先進医療専門家会議、平成 22 年 7 月 12 日認可

## 発表論文

1. Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsunami 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/DDRGI1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet.* 2011;20(17):3507-16.
2. 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.
3. 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):1007-8.

4. Raghvani J, Thomas XV, Koekkoek SM, Schinkel J, Molenkamp R, van de Laar TJ, Takebe Y, **Tanaka Y**, Mizokami M, Rambaut A, Pybus OG. The origin and evolution of the unique HCV circulating recombinant form 2k/1b. **J Virol**. 2011 in press.
5. Matsumoto A, Tanaka E, Suzuki Y, Kobayashi M, **Tanaka Y**, Shinkai N, Hige S, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Chayama K, Tsuge M, Yokosuka O, Imazeki F, Nishiguchi S, Saito M, Fujiwara K, Torii N, Hiramatsu N, Karino Y, Kumada H. Combination of hepatitis B viral antigens and DNA for prediction of relapse after discontinuation of nucleos(t)ide analogs in patients with chronic hepatitis B. **Hepatol Res**. 2011 in press.
6. 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 in press.
7. Afdhal NH, McHutchison JG, **Tanaka Y**, et al. Pharmacogenetics and Hepatitis C Meeting Participants. Hepatitis C pharmacogenetics: state of the art in 2010. **Hepatology**. 2011;53(1):336-45.
8. Yuen MF, Wong DK, **Tanaka Y**, et al. Transmissibility of hepatitis B virus (HBV) infection through blood transfusion from blood donors with occult HBV infection. **Clin Infect Dis**. 2011;52(5):624-32.
9. **Tanaka Y**, Nishida N, Sugiyama M, et al. *lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C*. **Hepatol Res**. 2010;40(5):449-60.
10. Honda M, Sakai A, **Tanaka Y**, et al. *Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in IL28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C*. **Gastroenterology**. 2010;139(2):499-509.
11. Kurbanov F, **Tanaka Y**, Matsuura K, et al. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. **J Infect Dis**. 2010;201(11):1663-71.
12. **Tanaka Y**, Nishida N, Sugiyama M, et al. *Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon- $\alpha$  and ribavirin therapy for chronic hepatitis C*. **Nature Genet**. 2009;41(10):1105-9.
13. Sugiyama M, **Tanaka Y**, et al. *Direct Cytopathic Effects of Particular Hepatitis B Virus Genotypes in uPA/SCID Mouse with Human Hepatocytes*. **Gastroenterology**. 2009;136(2):652-662.
14. Kurbanov F, **Tanaka Y**, et al. When should "I" consider a new hepatitis B virus genotype? **J Virol**. 2008;82(16):8241-2.
15. Kurbanov F, **Tanaka Y**, et al. Molecular epidemiology and Interferon-sensitivity of the natural recombinant hepatitis C virus strain RF1\_2k/1b. **J Infect Dis**. 2008;198(10):1448-56.
16. Yuen MF, **Tanaka Y**, et al. Risk for hepatocellular carcinoma with respect to hepatitis B virus genotypes B/ C, specific mutations of enhancer II/ core promoter/ precore regions and HBV DNA levels. **Gut**. 2008;57(1):98-102.
17. Sugiyama M, **Tanaka Y**, et al. Early Dynamics of Hepatitis B Virus in Chimeric Mice Carrying Human Hepatocytes Mono- or Coinfected with Genotype G. **Hepatology**. 2007; 45(4):929-937.
18. **Tanaka Y**, Mizokami M. Genetic diversity of hepatitis B virus as an important factor associated with differences in clinical outcomes. **J Infect Dis**. 2007; 195(1):1-4.
19. Osiowy C, Giles E, **Tanaka Y**, Mizokami M, Minuk GY. Molecular evolution of hepatitis B virus over 25 years. **J Virol**. 2006;80(21):10307-14.
20. Sugiyama M, **Tanaka Y**, et al. Influences of Hepatitis B Virus Genotypes on the Intra- and Extracellular