

- 13) Ikeda H, Enooku K, Ohkawa R, Koike K, Yatomi Y. Plasma lysophosphatidic acid levels and hepatocellular carcinoma. **Hepatology** 2013;57:417-418. PubMed PMID: 22707340.
- 14) Shiina S, Tateishi R, Imamura M, Teratani T, Koike Y, Sato S, Obi S, Kanai F, Kato N, Yoshida H, Omata M, Koike K. Percutaneous ethanol injection for hepatocellular carcinoma: 20-year outcome and prognostic factors. **Liver Int** 2012;32(9):1434-1442. PubMed PMID: 22712520.
- 15) Uchino K, Obi S, Tateishi R, Sato S, Kanda M, Sato T, Arano T, Enooku K, Goto E, Masuzaki R, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Omata M, Yoshida H, Koike K. Systemic combination therapy of intravenous continuous 5-fluorouracil and subcutaneous pegylated interferon alfa-2a for advanced hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol** 2012;47(10):1152-1159. PubMed PMID: 22438097.
- 16) Sato M, Tateishi R, Yasunaga H, Horiguchi H, Yoshida H, Matsuda S, Koike K. Mortality and morbidity of hepatectomy, radiofrequency ablation, and embolization for hepatocellular carcinoma: a national survey of 54,145 patients. **J Gastroenterol** 2012;47(10):1125-1133. PubMed PMID: 22426637.
- 17) Yoshikawa T, Takata A, Otsuka M, Kishikawa T, Kojima K, Yoshida H, Koike K. Silencing of microRNA-122 enhances interferon- $\alpha$  signaling in the liver through regulating SOCS3 promoter methylation. **Sci Rep** 2012;2:637. Epub 2012 Sep 6. PubMed PMID: 22957141.
- 18) Mikami S, Tateishi R, Akahane M, Asaoka Y, Kondo Y, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Koike K. Computed Tomography Follow-up for the Detection of Hepatocellular Carcinoma Recurrence after Initial Radiofrequency Ablation: A Single-center Experience. **J Vasc Interv Radiol** 2012;23(10):1269-1275. doi:10.1016/j.jvir.2012.06.032. PubMed PMID: 22999746.
- 19) Nakagawa H, Isogawa A, Tateishi R, Tani M, Yoshida H, Yamakado M, Koike K. Serum gamma-glutamyltransferase level is associated with serum superoxide dismutase activity and metabolic syndrome in a Japanese population. **J Gastroenterol** 2012;47(2):187-194. PubMed PMID: 21976134.
- 20) Soroida Y, Ohkawa R, Nakagawa H, Satoh Y, Yoshida H, Kinoshita H, Tateishi R, Masuzaki R, Enooku K, Shiina S, Sato T, Obi S, Hoshino T, Nagatomo R, Okubo S, Yokota H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased activity of serum mitochondrial isoenzyme of creatine kinase in hepatocellular carcinoma patients predominantly with recurrence. **J Hepatol** 2012;57(2):330-336. PubMed PMID:22521349.
- 21) Takata A, Otsuka M, Yoshikawa T, Kishikawa T, Kudo Y, Goto T, Yoshida H, Koike K. A miRNA machinery component DDX20 controls NF- $\kappa$ B via microRNA-140 function. **Biochem Biophys Res Commun** 2012;420(3):564-569. PubMed PMID: 22445758.
- 22) Masuzaki R, Tateishi R, Yoshida H, Arano T, Uchino K, Enooku K, Goto E, Nakagawa H, Asaoka Y, Kondo Y, Goto T, Ikeda H, Shiina S,

- Omata M, Koike K. Assessment of disease progression in patients with transfusion-associated chronic hepatitis C using transient elastography. **World J Gastroenterol** 2012;18(12):1385-1390. PubMed PMID: 22493553; PubMed Central PMCID: PMC3319966.
- 23) Kudo Y, Tateishi K, Yamamoto K, Yamamoto S, Asaoka Y, Ijichi H, Nagae G, Yoshida H, Aburatani H, Koike K. Loss of 5-hydroxymethylcytosine is accompanied with malignant cellular transformation. **Cancer Sci** 2012;103(4):670-676. PubMed PMID: 22320381.
- 24) Goto E, Masuzaki R, Tateishi R, Kondo Y, Imamura J, Goto T, Ikeda H, Akahane M, Shiina S, Omata M, Yoshida H, Koike K. Value of post-vascular phase (Kupffer imaging) by contrast-enhanced ultrasonography using Sonazoid in the detection of hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol.** 2012;47(4):477-485.
- 25) Shiina S, Tateishi R, Arano T, Uchino K, Enooku K, Nakagawa H, Asaoka Y, Sato T, Masuzaki R, Kondo Y, Goto T, Yoshida H, Omata M, Koike K. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: 10-year outcome and prognostic factors. **Am J Gastroenterol** 2012;107(4):569-577. PubMed PMID: 22158026.
- 26) Enooku K, Tateishi R, Kanai F, Kondo Y, Masuzaki R, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. Evaluation of molecular targeted cancer drug by changes in tumor marker doubling times. **J Gastroenterol.** 2012;47(1):71-78. PMID: 21935635.
0. 知的所得権の出願・登録状況  
(予定を含む)
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（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書（平成 24 年度）

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

分担研究者：溝上 雅史

分担研究課題：臨床情報の収集・整理、発癌関連因子の検討

研究要旨：HCVに暴露後約70%の症例は慢性肝炎を発症しさらに肝硬変・肝癌となるが、肝障害が軽微で推移する患者も多く個人差が大きいのが特徴である。本研究では、比較対照研究による肝癌発症リスク予測システムの構築を目指して、慢性C型肝炎患者群とHCV関連肝癌患者群の2群間で発癌リスクに関する因子を検討する。昨年度から構築を進めている検体管理システムの機能追加を実施した。また、本年度も臨床検体および臨床情報の収集を継続し、これまでにC型肝炎ウイルス関連肝癌・肝硬変サンプル163例（肝癌159例、肝硬変4例）、および慢性肝炎サンプル365例を収集した。これらのうち、肝癌・肝硬変サンプル133例、慢性肝炎サンプル200例を対象として、ゲノムワイド関連解析を実施し、複数の候補遺伝子を検出した。

A. 研究目的

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

本研究では、これまでの知見を元に以下の3項目を解析する事を目的とする。

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

発癌リスク予測システムの検証 (H24-25)

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

B. 研究方法

- ① 研究協力施設からの検体及び付帯情報の収集

すでに研究協力体制ができている国内の大学病院等の15施設から、平成24年度も引き続き検体とその検体についての臨床検査データおよび患者の付帯情報収集を行う。検体解析中に新たに付帯情報が必要となった場合はその都度付帯情報の収集を行う。各施設においての検体とデータは、連結可能な匿名化の作業を順守した上で国立国際

医療研究センターへ提出させる。

## ② 比較対照研究による肝癌発症リスク予測システムの構築

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

### （倫理面への配慮）

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

## C. 研究結果

昨年度から構築を進めている検体管理シ

ステムとして、(1) 検査会社 (SRL) から届いた DNA・血清サンプルを管理するためのバーコード発行システム導入、(2) 届いた DNA サンプルの濃度測定・濃度調整を行い、96 ウェルプレートに分注する作業の自動化、(3) 96 ウェルプレートを管理するためのバーコード発行システムの導入、の機能追加を行った（図 1）。本年度も継続して、臨床検体・臨床情報の収集を行い、これまでに C 型肝炎ウイルス関連肝癌・肝硬変サンプル 163 例（肝癌 159 例、肝硬変 4 例）、および慢性肝炎サンプル 365 例を収集した。

収集した肝癌・肝硬変サンプルのうち、肝癌サンプル 133 例と慢性肝炎サンプル 200 例を用いて、ゲノムワイド関連解析を実施した結果、13 遺伝子領域に存在する 23 か所の SNP が  $P < 10^{-4}$  に達する関連を示すことを明らかとした。

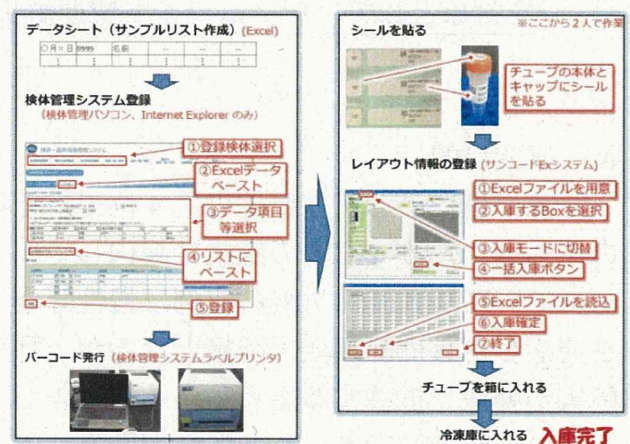


図 1 検体管理システムの概要

## P. 考察

慢性 C 型肝炎患者群と HCV 関連肝癌患者群の 2 群間の比較から発癌リスクに関する因子を検出するためには、詳細な臨床情報が付帯されたサンプルを必要とする。国立国際医療研究センターに構築した検体・

臨床情報管理システムを用いることで、詳細な臨床情報が付帯されたクオリティの高いゲノム DNA サンプルを揃えた解析を実施することが可能となる。

#### Q. 結論

本年度に実施した GWAS で検出された候補遺伝子領域について、本研究で収集する臨床検体を用いた Replication 解析、もしくは検体を追加した GWAS を実施し、発癌に関連するホスト因子の同定を目指す。

#### R. 研究発表

##### 3. 論文発表

- (1) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. *BMC Med Genet.* 2012, 13(1):47
- (2) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, **Mizokami M**. Genome-wide association study confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese

and Korean. *PLoS One.* 2012, 7(6):e39175

- (3) Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, **Mizokami M**. Hepatitis C virus kinetics by administration of pegylated interferon- $\alpha$  in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut.* 2012 (in press)
- (4) Sawada N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Shimazu T, Yamaji T, Takachi R, Tanaka Y, **Mizokami M**, Tsugane S; Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Consumption of n-3 fatty acids and fish reduces risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2012, 142(7):1468-75

##### 4. 学会発表

- (1) 西田奈央、田中靖人、澤井裕美、杉山真也、馬渡頼子、徳永勝士、**溝上雅史**、日本人および韓国人における B 型肝炎慢性化、B 型肝炎ウイルス排除を規定する HLA-DP 遺伝子の同定、第 16 回日本肝臓学会大会、神戸、2012
- (2) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Hiromi Sawai, Yoriko Mawatari, Megumi Yamaoka, Asako Koike, Kentaro Matsuura, Masaya Sugiyama, Kazumoto Murata, Masaaki Korenaga, Naohiko Masaski, Kwang-Hyub Han, Katsushi Tokunaga, **Masashi Mizokami**. The associations of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance are widely replicated in East-Asian populations, 61th Annual ASHG Meeting, San Fransisco, 2012
- (3) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Hiromi Sawai, Yoriko Mawatari, Megumi Yamaoka, Kentaro Matsuura, Masaya Sugiyama, Kazumoto Murata, Masaaki Korenaga, Naohiko Masaski, Kwang-Hyub Han, Katsushi Tokunaga, **Masashi Mizokami**,



Meta-analysis identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance widely in East-Asian populations, American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2012, Boston, 2012

(4) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Mayumi Ishii, Katsushi Tokunaga, **Masashi Mizokami**, Investigating the novel host genetic factors associated with treatment response for HCV patients, The 10th JSH Single Topic Conference "Hepatitis C: Best Practice Based on Science", KEIO Plaza Hotel, 2012

(5) 馬渡頼子、西田奈央、中伊津美、徳永勝士、**溝上雅史**、DigiTag2 法における PCR プライマー設計パラメータの検証、第 35 回日本分子生物学会年、福岡、2012

## S. 知的所得権の出願・登録状況

### 7. 特許取得

なし

### 8. 実用新案登録

なし

### 9. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書

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

分担研究者：徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野 教授  
研究協力者：西田 奈央、川嶋 実苗、澤井 裕美、馬渡 頼子、提嶋 恵美

研究要旨：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的要因の解明を目的として、90万種類以上のSNPを対象としたゲノムワイド関連解析を実施した。今年度は、慢性ウイルス性肝疾患患者群（うつ病、扁平苔癬群）277検体を追加してタイピングした。これまでに解析した全慢性ウイルス性肝疾患患者群1,437検体のうち、1,339検体でQC call rateが95%以上となり、Overall call rateの平均は98.74%となった。C型肝炎に対する標準治療であるPeg-IFN $\alpha$ +RBV併用療法の副作用であるうつ症状の発症に関して、ゲノムワイド有意水準と同程度の関連を示す遺伝子領域を検出した。また、HCV関連の扁平苔癬に関連する遺伝子領域として、HLA-DR遺伝子が再現された。

A. 研究目的

C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解析(GWAS)を行うことにより、宿主側の肝病態進展に寄与する遺伝因子、治療効果に寄与する遺伝因子、ウイルス感染感受性に寄与する遺伝因子を探索することを目的とする。

B. 研究方法

90万種以上のSNP解析用プローブが搭載されたAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0（以下、SNP Array 6.0）を用いて、慢性ウイルス性肝疾患患者群を対象としたSNPタイピングを行い、患者群を病態および薬剤応答性に応じてサブグループに分類してGWASを行う。本研究では、GWASで検出された候補遺伝子領域に対して、2次パネルを用いた再現性確認実験（Replication study）を実施することにより、疾患感受性遺伝子の同定を目指した(図1)。

GWASにおける擬陽性関連の発生を効果的に抑えるために、以下の手順でSNP

filteringを実施する：(1)QC call rateが95%以上となったタイピングデータを選択する。(2)対象群と対照群を合わせてGenotyping Console ver4ソフトウェアによる遺伝子型を決定する。(3)SNP Array 6.0に搭載された全90万SNPの中に含まれる、日本人では頻度が低く統計解析に不適切なSNPやタイピング精度の低いSNPを除去する。(4)統計解析の結果から $P$ 値 $<10^{-4}$ となったSNPについてタイピング生データである散布図を確認し、擬陽性関連

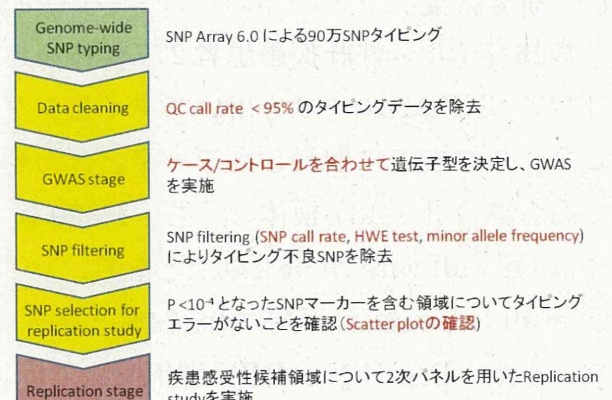


図2 GWASの実施手順



が疑われる SNP を除去する。

GWAS で検出された疾患感受性候補遺伝子領域において、HapMap データを用いた連鎖不平衡解析から TagSNP を選択し、DigiTag2 法を用いた Replication study を実施する。解析対象となる SNP の遺伝子型を決定するためのソフトウェアとして、SNP Star ver0.0.1.0 ソフトウェアを開発した。決定された遺伝子型に基づいて、アリル頻度、遺伝子型頻度、劣性モデル、優性モデルの 4 つの統計解析結果を得る。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

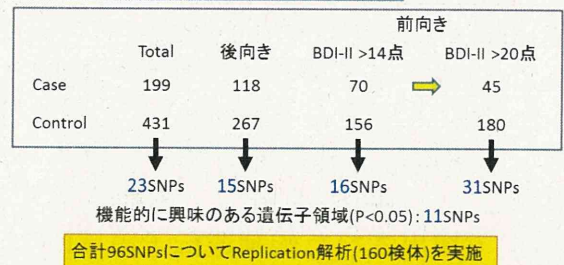
慢性ウイルス性肝疾患患者 277 検体を追加して SNP Array 6.0 を用いてタイピングした。これまでに取得したデータと合わせた患者群合計 1,437 検体のうち、1,339 検体は QC call rate が 95%以上となり、Overall call rate の平均は 98.74%となった。また、Peg-IFN $\alpha$ +RBV 併用療法でうつ症状を発症した患者群 (199 検体) およ

びうつ症状を発症しなかった患者群(431 検体)のサンプル収集を集中的に実施した。BDI テスト (ベックのうつ病調査表) で 14 点以上 (軽いうつ状態)、および 20 点以上 (うつ状態) となった、それぞれ 70 検体と 45 検体に対して、うつ症状を発症しなかった群 156 検体、180 検体を比較対照群とした GWAS を実施した。2 段階の GWAS でオッズ比が強まった領域を選択することでうつ病発症の候補遺伝子領域の絞り込みを行った。

選択された 96 種の SNP について、160 検体 (BDI テストで 20 点以上が 40 検体、20 点以下が 120 検体) を用いた Replication study を実施した結果 (図 2)、 $P = 8.57 \times 10^{-8}$  (OR = 2.54) に達する SNP を同定した。

また、HCV による扁平苔癬に関しても、検体を追加収集し、HCV による扁平苔癬群 99 検体と扁平苔癬なし群 155 検体について、ゲノムワイド関連解析を実施した。ゲノムワイド有意水準 ( $P = 8.34 \times 10^{-8}$ ) に達する SNP を含む遺伝子領域は検出できなかったが、 $P < 10^{-4}$  を示す 65SNPs が存在する全 32 個所の候補遺伝子領域を検出した。

うつ病:うつ症状あり(199) vs. うつ症状なし(431)



Gene	GWAS				Replication		Combine	
	1) 70 vs 156		2) 45 vs 180		40 vs 120		85 vs 300	
	P-value	OR	P-value	OR	P-value	OR	P-value	OR
Gene A	0.001	1.98	$2.23 \times 10^{-5}$	2.72	0.001	2.36	$8.57 \times 10^{-8}$	2.54

図 3 うつ病を対象とした GWAS 結果

D. 考察



うつ病を対象とした GWAS では、ゲノムワイド有意水準 ( $P = 7.84 \times 10^{-8}$ ) とほぼ同じ強さの関連を示す SNP を検出することができた。しかしながらうつ病を発症した GWAS サンプルは 45 例、Replication サンプルは 40 例と非常にサンプルサイズが小さいため、擬陽性関連である可能性がぬぐいきれない。収集した日本人サンプルはすべて解析に用いたため、東アジアや東南アジアの解析データを追加し、アジア集団において関連が再現されるかを確認する必要がある。

HCV 関連の扁平苔癬については、これまでに収集した扁平苔癬群 99 例と扁平苔癬なし群 155 例のすべてを使用して GWAS を実施した。これまでに HCV 関連の扁平苔癬との関連が報告されている HLA-DR 遺伝子領域から、 $P < 10^{-4}$  となる SNP を検出した。

## E. 結論

うつ病に関しては、関連が検出された SNP について、日本人以外の東アジア・東南アジアの研究協力者などにデータの追加を依頼し、アジア集団において関連が再現されるかを確認する必要がある。アジア集団での関連が再現されれば、Peg-IFN $\alpha$ +RBV 併用療法によるうつ症状発症の関連遺伝子として世界で初の報告となる。

また、扁平苔癬については、本研究班で収集したすべての検体を用いて GWAS を実施したために Replication study に用いる検体を新たに追加する必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 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. 2012, 7(1):e29967.

2) Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K. No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations. BMC Med Genet. 2012, 13:47.

3) Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association study confirming association of HLA-DP with protection against chronic hepatitis B and viral clearance in Japanese and Korean. PLoS ONE. 2012, 7(6):e39175.

4) Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, Kato N, Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, Mbarek H, Tokunaga K, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Soluble MICA and a MICA Variation as Possible Prognostic Biomarkers for HBV-Induced Hepatocellular Carcinoma. PLoS ONE. 2012, 7(9):e44743.

5) Kawashima M, Ohashi J, Nishida N, Tokunaga K. Evolutionary Analysis of Classical HLA Class I and II Genes

Suggests That Recent Positive Selection Acted on DPB1\*04:01 in Japanese Population. PLoS ONE. 2012, 7(10):e46806

6) Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, Aiba Y, Tanaka A, Yasunami M, Nakamura H, Komori A, Nakamuta M, Zeniya M, Hashimoto E, Ohira H, Yamamoto K, Onji M, Kaneko S, Honda M, Yamagiwa S, Nakao K, Ichida T, Takikawa H, Seike M, Umemura T, Ueno Y, Sakisaka S, Kikuchi K, Ebinuma H, Yamashiki N, Tamura S, Sugawara Y, Mori A, Yagi S, Shirabe K, Taketomi A, Arai K, Monoe K, Ichikawa T, Tani ai M, Miyake Y, Kumagi T, Abe M, Yoshizawa K, Joshita S, Shimoda S, Honda K, Takahashi H, Hirano K, Takeyama Y, Harada K, Migita K, Ito M, Yatsuhashi H, Fukushima N, Ota H, Komatsu T, Saoshiro T, Ishida J, Kouno H, Kouno H, Yagura M, Kobayashi M, Muro T, Masaki N, Hirata K, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Hirashima N, Komeda T, Sugi K, Koga M, Ario K, Takesaki E, Maehara Y, Uemoto S, Kokudo N, Tsubouchi H, Mizokami M, Nakanuma Y, Tokunaga K, Ishibashi H. Genome-wide Association Study Identifies TNFSF15 and POU2AF1 as Susceptibility Loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese Population. Am J Hum Genet. 2012, 91(4):721-728.

## 2. 学会発表

1) Tokunaga K: Genome-wide approaches to complex disease: advances and perspectives, Genomic Analysis of Diseases Workshop, Nature Conference, Hangzhou, China, 2012.5.

2) 徳永勝土: 基調講演: 疾患関連遺伝子のゲノム全域探索の現状と展望、「ワークショップ: 最近の遺伝子研究からみた肝臓病の現状と個別化医療への展望」第48回日本肝臓学会総会、金沢、2012.6.

3) 澤井裕美、西田奈央、松田浩一、馬渡頼子、田中靖人、溝上雅史、徳永勝土: HBV陽性肝臓における感受性候補 SNP の東アジア集団での検証、第21回日本組織適合性学会大会、東京、2012.9.

4) 西田奈央、田中靖人、澤井裕美、杉山真也、馬渡頼子、徳永勝土、溝上雅史: 日本人および韓国人における B 型肝炎慢性化、B 型肝炎ウイルス排除を規定する HLA-DP 遺伝子の同定、第16回日本肝臓学会大会、神戸、2012.10.

5) 澤井裕美、西田奈央、松田浩一、馬渡頼子、田中靖人、溝上雅史、徳永勝土: 中国集団における B 型肝炎由来肝臓感受性 SNP の東アジア集団での検証、第16回日本肝臓学会大会、神戸、2012.10.

6) Nishida N, Tanaka Y, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Koike A, Matsuura K, Sugiyama M, Murata K, Korenaga M, Masaki N, Han KH, Tokunaga K, Mizokami M, The associations of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance are widely replicated in East-Asian populations, 61th Annual ASHG Meeting, San Francisco, 2012.11.

7) Tokunaga K: Genome-wide Search for disease genes and drug response genes: Implications and perspectives, The 39th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry ISNAC2012, 名古屋, 2012.11.

8) Nishida N, Tanaka Y, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Matsuura K, Sugiyama M, Murata K, Korenaga M, Masaki N, Han KH, Tokunaga K, Mizokami M, Meta-analysis identifies the association of HLA-DP locus with chronic

hepatitis B and viral clearance widely in East-Asian populations, American Association for the Study of Liver Diseases The Liver Meeting 2012, Boston, 2012.11.

9) Nishida N, Tanaka Y, Sugiyama M, Mawatari Y, Ishii M, Tokunaga K, Mizokami M, Investigating the novel host genetic factors associated with treatment response for HCV patients, The 10th JSH Single Topic Conference "Hepatitis C: Best Practice Based on Science", KEIO Plaza Hotel, 2012.11.

10) 馬渡頼子、西田奈央、中伊津美、徳永勝士、溝上雅史、DigiTag2 法における PCR プライマー設計パラメータの検証、第 35 回日本分子生物学会年、福岡、2012.12.

#### 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（がん臨床研究事業）  
分担研究報告書（平成 24 年度）

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

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

研究要旨：慢性 C 型肝炎患者における肝癌発現リスクは、ウイルス因子、血液生化学検査、遺伝子多型や性別、年齢などの表現型が関わっている。これらの情報を元に肝癌の発症を予測するシステムの構築を目指す。

A. 研究目的

これまでの研究により、*MICA* の遺伝子多型の違いにより HCV 陽性肝癌の発症リスクが 2 倍異なることがわかっている。さらに、血中 *MICA* の濃度は、*MICA* 遺伝子多型により違いがあり、血中 *MICA* の濃度が肝癌発症リスクのバイオマーカーとなりうる可能性が示唆されている。*MICA* を含む遺伝子多型、血中 *MICA* 濃度、ウイルス因子、性別・年齢などの表現型の情報から HCV 陽性肝癌の発症予測システムの構築を行う。本研究では、予測システムの構築に必要なプログラム・システムの作成を行い、実データを用いた解析の準備をする。

B. 研究方法

これまでの研究で候補となる遺伝子多型などの因子を考慮した発症予測モデルを構築する。さらに、環境因子なども取り入れることが可能なモデルが必要となる。以上の理由から、予測システムは一般的な統モデルであるロジスティックモデルを採用する。今までのところ、ヒトの個人遺伝子型などの実データを使用しておらず、倫理的な問題はない。

C. 研究結果

ロジスティックモデルを用いた解析は、各種統計ソフトでも可能である。しかしながら、複数の環境因子パターンなど、様々な解析を実施する場合、効率が悪い。そこで、多くの解析を迅速かつ効率的に解析するために、独自にプログラムを作成した。独自プログラムによる解析結果は、統計ソフトで得られた結果と一致しており、正確に動作していることを確認した。

T. 考察

今後、実データを用いて、予測システムに最適なパラメータを決定する。パラメータ決定後、パラメータ決定に用いたサンプルと別サンプルを用いて、予測システムの精度を評価する。また、予測システムに必要な解析プログラムを独自に作成したことにより、予測システムの拡張が容易になった。

## U. 結論

ロジスティックモデルからなる予測システムを構築した。今後、実データを用いて予測システムのパラメータ決定、評価を行い、個別化医療への導入を目指す。

## V. 研究発表

### 5. 論文発表

なし

### 6. 学会発表

なし

## W. 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

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表



研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小池麻子、徳永勝士	ゲノムワイド関連解析データベースとデータ共有	有田正規	使えるデータベース・ウェブツール	羊土社	東京	2011	160-166
加藤直也、室山良介、松田浩一	HCV 感染の GWAS 解析	小俣政男	肝疾患 Review (2012-2013)	日本メディカルセンター	日本	2012	108-112
澤井裕美、徳永勝士	ゲノム多様性と感染症	木村彰方	細胞	ニュー・サイエンス社	東京	2013	243(6): 555-560
川嶋実苗、徳永勝士	よくわかるゲノムワイド関連解析②: GWAS を読む - 質の管理	岩井一宏	医学のあゆみ	医歯薬出版株式会社	東京	2012	555-560
徳永勝士	よくわかるゲノムワイド関連解析③: GWAS の今後の課題	佐藤伸一	医学のあゆみ	医歯薬出版株式会社	東京	2012	934-936

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻・号	ページ	出版年
Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, Kato N, Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, Mbarek H, Tokunaga K, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, <b>Matsuda K.</b>	Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma.	Plos One	7(9)	E44743	2012

Urabe Y, Ochi H, Kato N, Kumar V, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Lo PH, Tanikawa C, Omata M, Koike K, Miki D, Abe H, Kamatani N, Toyota J, Kumada H, Kubo M, Chayama K, Nakamura Y, <b>Matsuda K.</b>	A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region.	Journal of Hepatology	S0168-8278(13)	00011-1.	2013
P.H. Yi Lo, Y. Urabe, V. Kumar, C. Tanikawa, K. Koike, N. Kato, D. Miki, K. Chayama, M. Kubo, Y. Nakamura, <b>K. Matsuda,</b>	Identification of a functional variant in the MICA promoter which regulates MICA expression and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk.	Plos One	8	E61279	2013
S. W. Yee, J. A. Mefford, N. Singh, M. E. Percival, A. Stecula, K. Yang, J. S. Witte, A. Takahashi, M. Kubo, <b>K. Matsuda,</b> K. M. Giacomini, C. Andreadis	Impact of polymorphisms in drug pathway genes on disease-free survival in adults with acute myeloid leukemia	<i>Journal of human Genetics</i>	In press		
C. Tanikawa, K. Matsuo, M. Kubo, A. Takahashi, H. Ito, H. Tanaka, Y. Yatabe, K. Yamao, N. Kamatani, K. Tajima, Y. Nakamura, <b>K. Matsuda,</b>	Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility.	<i>PloS one</i>	In press		
D. Kang, H.S. Cho, G. Toyokawa, M. Kogure, Y. Yamane, Y. Iwai, S. Hayami, T. Tsunoda, H.I. Field, <b>K. Matsuda,</b> D.E. Neal, B.A. Ponder, Y. Maehara, Y. Nakamura, R. Hamamoto,	The histone methyltransferase Wolf-Hirschhorn syndrome candidate 1-like 1 (WHSC1L1) is involved in human carcinogenesis.	<i>Genes Chr. and Cancer</i>	52 (2013)	2012	126-139

A. Aarnink, H.J. Garchon, Y. Okada, A. Takahashi, <u>K. Matsuda</u> , M. Kubo, Y. Nakamura, A. Blancher,	Comparative analysis in cynomolgus macaque identifies a novel human MHC locus controlling platelet blood counts independently of BAK1	Journal of thrombosis and haemostasis	11	2013	384-386
R. Takata, <u>K. Matsuda</u> , J. Sugimura, W. Obara, T. Fujioka, K. Okihara, N. Takaha, T. Miki, S. Ashida, K. Inoue, C. Tanikawa, T. Shuin, S. Sasaki, Y. Kojima, K. Kohri, M. Kubo, M. Yamaguchi, Y. Ohnishi, Y. Nakamura,	Impact of four loci on serum tamsulosin hydrochloride concentration.	<i>Journal of human Genetics</i>	58	2013	21-26
C. Tanikawa, H. Nakagawa, Y. Furukawa, Y. Nakamura, <u>K. Matsuda</u> ,	CLCA2 as a p53-inducible senescence mediator.	<i>Neoplasia</i>	14	2012	141-149
T. Fujitomo, Y. Daigo, <u>K. Matsuda</u> , K. Ueda, Y. Nakamura,	Critical function for nuclear envelope protein TMEM209 in human pulmonary carcinogenesis.	Cancer Research	72	2012	4110-4118
W. Osman, Y. Okada, Y. Kamatani, M. Kubo, <u>K. Matsuda</u> , Y. Nakamura,	Association of common variants in TNFRSF13B, TNFSF13, and ANXA3 with serum levels of non-albumin protein and immunoglobulin isotypes in Japanese.	<i>PloS one</i>	7	2012	E32683



C. Tanikawa, M. Espinosa, A. Suzuki, K. Masuda, K. Yamamoto, E. Tsuchiya, K. Ueda, Y. Daigo, Y. Nakamura, <b>K. Matsuda</b> ,	Regulation of histone modification and chromatin structure by the p53-PADI4 pathway.	<i>Nature communications</i>	3	2012	676
C. Tanikawa, Y. Urabe, K. Matsuo, M. Kubo, A. Takahashi, H. Ito, K. Tajima, N. Kamatani, Y. Nakamura, <b>K. Matsuda</b> ,	A genome-wide association study identifies two susceptibility loci for duodenal ulcer in the Japanese population.	Nature Genetics	44	2012	430-434,
Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, <u>Kato N</u> , Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, Mbarek H, Tokunaga K, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C, Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K.	Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma.	PLoS One	7(9)	e44743	2012
Lo PHY, Urabe Y, Kumar V, Tanikawa C, Koike K, <u>Kato N</u> , Miki D, Chayama K, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K	Identification of a functional variant in the MICA promoter which regulates MICA expression and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk.	PLoS One	8(4)	e61279	2013
Liu Y, Higashitsuji H, Higashitsuji H, Itoh K, Sakurai T, <u>Koike K</u> , Hirota K, Fukumoto M, Fujita J.	Overexpression of gankyrin in mouse hepatocytes induces hemangioma by suppressing factor inhibiting hypoxia-inducible factor-1 (FIH-1) and activating hypoxia-inducible factor-1.	Biochem Biophys Res Commun			[Epub ahead of print] PubMed PMID: 23376718

Hikita H, Enooku K, Satoh Y, Yoshida H, Nakagawa H, Masuzaki R, Tateishi R, Soroida Y, Sato M, Suzuki A, Gotoh H, Iwai T, Yokota H, <u>Koike K</u> , Yatomi Y, Ikeda H.	Perihepatic lymph node enlargement is a negative predictor for sustained responses to pegylated interferon- $\alpha$ and ribavirin therapy for Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1	Hepatol Res			[Epub ahead of print] PubMed PMID: 233569 77
Urabe Y, Ochi H, Kato N, Kumar V, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Lo PH, Tanikawa C, Omata M, <u>Koike K</u> , Miki D, Abe H, Kamatani N, Toyota J, Kumada H, Kubo M, Chayama K, Nakamura Y, Matsuda K	A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region	J Hepatol			[Epub ahead of print] PubMed PMID: 233213 20
Gotoh H, Enooku K, Soroida Y, Sato M, Hikita H, Suzuki A, Iwai T, Yokota H, Yamazaki T, <u>Koike K</u> , Yatomi Y, Ikeda H	Perihepatic lymph node enlargement observed at a general health examination: A cross-sectional study	Hepatol Res			[Epub ahead of print] PubMed PMID: 232792 15
Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, <u>Koike K</u> , Hayashi N, Kumada H	Fibrosis score consisting of four serum markers successfully predicts pathological fibrotic stages of chronic hepatitis B	Hepatol Res			[Epub ahead of print] PubMed PMID: 231310 00

Ohki T, Isogawa A, Iwamoto M, Ohsugi M, Yoshida H, Toda N, Tagawa K, Omata M, <u>Koike K</u>	The effectiveness of liraglutide in nonalcoholic Fatty liver disease patients with type 2 diabetes mellitus compared to sitagliptin and pioglitazone	Scientific World Journal				[Epub ahead of print] PubMed PMID:22927782
Kurano M, Hara M, Tsuneyama K, Okamoto K, Iso-O N, Matsushima T, <u>Koike K</u> , Tsukamoto K	Modulation of lipid metabolism with the over-expression of NPC1L1 in mice liver	J Lipid Res				[Epub ahead of print] PubMed PMID:22891292
Takata A, Otsuka M, Yoshikawa T, Kishikawa T, Hikiba Y, Obi S, Goto T, Kang YJ, Maeda S, Yoshida H, Omata M, Asahara H, <u>Koike K</u>	MiRNA-140 acts as a liver tumor suppressor by controlling NF- $\kappa$ B activity via directly targeting Dnmt1 expression	Hepatology	57	162-170	2013	
Hikita H, Nakagawa H, Tateishi R, Masuzaki R, Enooku K, Yoshida H, Omata M, Soroida Y, Sato M, Gotoh H, Suzuki A, Iwai T, Yokota H, <u>Koike K</u> , Yatomi Y, Ikeda H	Perihepatic lymph node enlargement is a negative predictor of liver cancer development in chronic hepatitis C patients	J Gastroenterol				[Epub ahead of print] PubMed PMID:22790352
Minami T, Kishikawa T, Sato M, Tateishi R, Yoshida H, <u>Koike K</u>	Meta-analysis: mortality and serious adverse events of peginterferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C	J Gastroenterol				[Epub ahead of print] PubMed PMID:22790350