

201227005A

厚生労働科学研究費補助金  
肝炎等克服緊急対策研究事業

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

(H22-肝炎- 一般-005)

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 田中 靖人

平成 25 (2013) 年 3 月

# 目 次

I. 総括研究報告書	頁
ウイルス性肝炎に対する応答性を規定する宿主因子も含めた情報の	
1. データベース構築・治療応用に関する研究 …………… 1	
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 田中 靖人)	
II. 分担研究報告書	
2. ゲノムワイド関連分析による肝炎の宿主遺伝要因の探索 ……………17	
(東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 徳永 勝士)	
3. 次世代シーケンサーを用いた IL28B の解析 ……………21	
(国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター 溝上 雅史)	
4. C型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析 ……………29	
(武蔵野赤十字病院 消化器科 黒崎 雅之)	
4. TVR/PEG-IFN/RBV 療法における治療早期の血中ウイルス量減衰の検討 ……………32	
(国立病院機構長崎医療センター 臨床研究センター 八橋 弘)	
5. 地域コホート研究からみた HCV 感染者の自然史 ……………35	
(山形大学医学部消化器内科学 渡辺 久剛)	
6. 宿主遺伝子に関連した治療抵抗性機構の解析 ……………38	
(北海道大学大学院医学研究科 消化器肝臓病学・消化器内科 坂本 直哉)	
7. C型肝炎ウイルス感染肝内自然免疫応答における IL28B SNPs の影響 ……………41	
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 渡邊 綱正)	
8. 肝炎の進展、治療反応性に寄与する宿主遺伝子発現データベースの構築 ……………44	
(金沢大学医学部先端医療技術学 本多 政夫)	
9. 肝炎ウイルス統合データベースの構築およびネットワーク解析 ……………49	
(国立遺伝学研究所 生命情報研究センター 五條掘 孝)	
10. ウイルス性肝炎に対する応答性を既定する宿主因子も含めた情報のデータベース構築…51	
(名古屋市立大学 大学院医学研究科 新井 理)	



# I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）  
総括研究報告書（平成24年度）

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

研究代表者：田中 靖人 名古屋市立大学 大学院医学研究科 教授

研究要旨：本研究は、肝炎ウイルス感染に対する応答性や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両方の遺伝子要因を同一個体内で明らかにすることが大きな特徴である。さらに、統合的にデータベース化し解析することにより、ヒト及びウイルス要因の両方を考慮した知見を得ることを目的とする。**1) 検体及び付帯情報の収集**：ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、全国38施設より検体及び付帯情報の収集を開始した。平成24年12月現在、約5,200の日本人検体及び約1,500の海外検体が東大のSNP（一塩基多型）センターに届けられている。**2) GWAS解析**：ペグインターフェロン＋リバビリン（PEG-IFN/RBV）併用療法による副作用（好中球減少、うつ病）及び扁平苔癬に関連する遺伝子要因の探索。**3) コホート研究**：a) C型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析、b) TVR/PEG-IFN/RBV療法における治療早期の血中ウイルス量減衰の検討、c) 肝炎コホートにおける自然治癒関連因子の解析。20年間のALT値の変動を継時的に追跡。**4) 機能解析**：a) IL28B SNPとISG発現、b) 次世代シーケンサーを用いたIL28B解析、c) IFNλを制御する低分子化合物のスクリーニング、d) C型肝炎ウイルス感染肝内自然免疫応答におけるIL28B SNPsの影響。**5) 肝炎ウイルス統合データベースの構築**：機能解析を展開することで、新規治療法の開発にも繋がるこれまでに得られたウイルス遺伝子情報、SNP情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースはほぼ完成した。臨床の分野においては、本データベースを参照することにより、患者SNPsとウイルス変異の組み合わせから病態進展の予測及びハイリスク群の抽出が可能となり、テーラーメイド治療への展開が期待される。従って、適切な治療法の選択および新たな治療法の開発で患者の予後を改善するのみならず、肝硬変・肝癌という高度な医療が必要な患者数を減らすことにより、医療費の低減に繋がり、社会の福祉に寄与することができる。

研究分担者

五條堀 孝	国立遺伝学研究所 生命情報研究センター 教授
徳永 勝士	東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 教授
溝上 雅史	国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター センター長
八橋 弘	長崎医療センター 臨床研究センター センター長
本多 政夫	金沢大学医学部 先端医療技術学 教授
黒崎 雅之	武蔵野赤十字病院 消化器科 部長
坂本 直哉	北海道大学大学院医学研究科 消化器肝臓病学・消化器内科 教授
渡辺 久剛	山形大学医学部 消化器内科学 講師
新井 理	名古屋市立大学 大学院医学研究科 研究員
渡邊 綱正	名古屋市立大学 大学院医学研究科 講師



## A. 研究目的

[目的] (1) 本研究では複数のコホートを用いて、C型肝炎ウイルス(HCV)自然経過、治療効果、発癌との関連性を中心として、IL28B SNPs及び他の因子を組み合わせにより実際の臨床での有用性を検証し、テーラーメイド医療を目指す。(2) 同一個体内でオミックス解析を行い、遺伝要因、遺伝子発現、ウイルス因子、臨床情報を統合解析する点は独創的であり、疾患や病態、治療の反応性との関連性を明確にできる。機能が未知である IFNλsの働きを解明することは、C型肝炎の新規治療薬の開発に繋がる。(3) 高齢者が多いわが国では、PEG-IFN/RBV併用治療により血球減少、うつ病、間質性肺炎など重篤な合併症を引き起こすことが多々あり、これらの副作用に関連した遺伝要因を明らかにすることで、至適薬剤投与量を設定し、副作用の軽減を図る。(4) ウイルス遺伝子情報、SNP情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースのプロトタイプを完成させ、公開を目指す。さらに、関連するデータベースと直接リンク可能な統合型肝炎データベースとして構築し、蛋白質間相互作用も計算機上でネットワーク解析を行う。

[期待される成果] (1) 得られた遺伝情報(IL28B、ITPA SNPなど)を基にコホート研究を通じて、治療効果や副作用を効率的に予測。(2) IFNλ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つ。

## B. 研究方法

研究代表者である田中は、引き続き本研究の

主研究施設である名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子解析倫理委員会の規定に基づいて、検体の採取を継続した。これまでに38施設においてヒト遺伝子解析倫理委員会の規定に基づいて検体採取が開始され、平成24年12月現在、約5,200の日本人検体及び約1,500の海外検体が東大のSNP(一塩基多型)センターに届けられている。上記目的を達成するための研究概要をポンチ図(P11~16)に示す。

(1) ヒトSNPsを用いたゲノムワイド関連研究: 90万種以上のSNP解析用プローブが搭載されたAffymetrix Genome-Wide Human SNP Array 6.0(以下、SNP Array 6.0)を用いて、各種慢性ウイルス性肝疾患患者群のSNPタイピングを行い、患者群を病態および薬剤応答性に応じてサブグループに分類してゲノムワイド関連分析を行う。ゲノムワイド関連分析は、徳永らが開発したGeneChip analysis ver2.0.10ソフトウェアを用いて実施する。ゲノムワイド関連分析で検出された疾患感受性候補遺伝子領域において、HapMapデータを用いた連鎖不平衡解析からTagSNPを選択し、DigiTag2法を用いた再現性確認実験(Replication study)を実施することにより、疾患感受性遺伝子の同定を目指す(図1)。

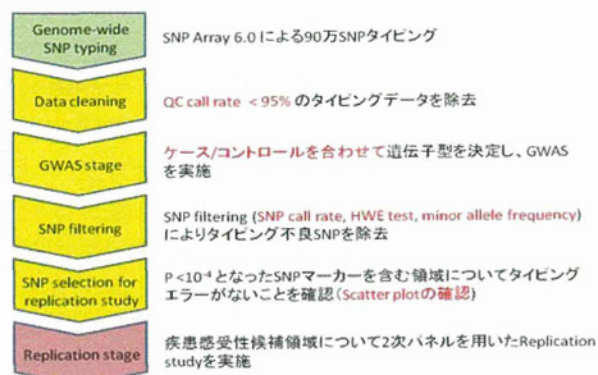


図 1

**(2) IL28B、ITPA SNP の臨床的意義の検証：**

**a) C 型肝炎薬剤応答性のデータマイニング解析**

(黒崎雅之)：PEG-IFN/RBV 併用療法で治療中の HCV Dynamics を TaqMan PCR 法で評価し、治療反応性とウイルス陰性化との関連を解析した。治療反応性を、治療開始前に予測するアルゴリズムをデータマイニング法で検討した。

**b) TVR/PEG-IFN/RBV 療法における治療早期の血中ウイルス量減衰の検討 (八橋弘)：**

2012 年 1 月～12 月の期間、国立病院機構長崎医療センターで 1 型 C 型肝炎慢性肝炎に対して TVR/PEG-IFN/RBV を導入した 12 例を対象とし、治療早期のウイルス量 (HCV コア抗原量、HCV-RNA) の推移を比較検討した。

**c) 肝炎コホートにおける自然治癒関連因子の解析 (渡辺久剛)：**

C 型肝炎高浸淫地域住民 7,925 名を対象に HCV 抗体検査を行ったところ、HCV 抗体陽性者は 1,078 名 (HCV 抗体陽性率 13%) であった。これら 1,078 名について、本コホート開始から 20 年間の ALT 値の変動を継時的に追跡した。

**(3) IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫)：**

PEG-IFN/RBV 併用療法を施行した C 型肝炎慢性肝炎 91 症例において治療前の肝組織及び末梢血液の遺伝子発現プロファイリングを Affymetrics gene chip (133U Plus 2.0) にて解析した。15 例の治療前の肝組織を用いてレーザーキャプチャー・マイクロダイセクション (LCM) にて肝小葉部と門脈域細胞浸潤を別々に採取し、遺伝子発現を解析した。

**(4) 次世代シーケンサーを用いた IL28B 解析 (溝上雅史)：**

ゲノム DNA はメチル化部位の探索を行うために、断片化後に DNA メチル化部位の回収を

行った。それらを高速シーケンサーである GA2x で解析した。得られた配列は、全ゲノム上にマッピングし、治療反応性群と治療無効群で比較し、差のある領域を抽出した。

**(5) 宿主遺伝子に関連した治療抵抗性機構の解析 (坂本直哉)：**

Toosendanin を Huh751/1b レプリコン発現細胞 (Huh7/Rep-Feo) に添加し、IFN 併用・非併用下での HCV 増殖抑制効果を評価し、50%作用濃度 (EC50) を算出した。また、ランダム合成化合物ライブラリー約 10,000 化合物の High-throughput screening (HTS) を行い、IFN- $\lambda$  発現を増強する化合物、および IFN- $\lambda$  依存性の遺伝子発現を増強する化合物を探索した。使用するライブラリーは炭素骨格を基本とし生体利用可能な化合物から構成される。

**(6) C 型肝炎ウイルス感染肝内自然免疫応答における IL28B SNPs の影響 (渡邊綱正)：**

生体応答を明らかにするために、獲得免疫が除去された SCID マウスを背景とするヒト肝細胞置換キメラマウスの HCV 感染モデルを用いて自然免疫応答を検討した。ヒト肝細胞の IL28B SNP をメジャー type (MA) とヘテロ type (HE) の 2 系統作成し、HCV 持続感染成立後、PEG-IFN $\alpha$  (30  $\mu$ g/kg) を 2 週間投与し、血中 HCV-RNA titer 変動、および肝内のインターフェロン誘導遺伝子 (Interferon Stimulated Genes: ISGs) と IFN $\lambda$ s (IL28A、28B、29) の発現レベルを定量し、IL28B SNP による差異を解析した。

**(7) 肝炎ウイルス統合データベースの構築 (五條堀孝、新井理)：**

同データベースより、C 型肝炎の薬剤反応性やインターフェロン副作用に 관련된 SNP を探索し、その周辺の遺伝子を抽出する。



それらの遺伝子産物およびその周辺の蛋白質間相互作用を対象に計算機上でネットワーク解析を行う（五條掘孝）。遺伝子発現情報の導入が要請されているため、それを実現するデータベーススキーマの改定を行い、遺伝子発現情報を導入し SNP 情報および臨床情報と関連付けるシステムを構築する。また、全情報を統一的に取り扱うことの可能な利用者インターフェースを準備する。また、一般研究者への情報公開を目的として新たな利用者インターフェースを構築する（新井理）。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

・研究代表者（田中靖人）

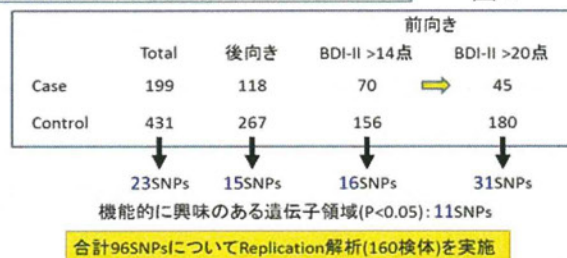
(1) 検体及び付帯情報の収集（約 5,200 検体）。  
 (2) IL28B 及び ITPA SNP を TaqMan 法により一括測定し、各施設に情報提供（約 2,300 検体）。  
 (3) PEG-IFN/RBV 併用療法の副作用に関連する遺伝要因同定のための研究デザイン（立案、実施）：好中球減少（750 未満、600 未満）、うつ病（後ろ

向き・前向き研究の BDI-II テスト実施）。(4) 扁平苔癬スクリーニングの実施、検体採取（久留米大学長尾先生との共同研究）。

・研究分担者

(1) 新規 SNPs の同定（徳永勝士）：本年度は C 型慢性肝疾患患者 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。PEG-IFN/RBV 併用療法など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-II 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 解析を実施した結果（図 2）、 $P = 8.57 \times 10^{-8}$ （OR = 2.54）に達する SNP を同定。

うつ病：うつ症状あり(199) vs. うつ症状なし(431) 図 2



Gene	GWAS		Replication		Combine			
	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

## (2) IL28B、ITPA SNP の臨床的意義の検証

・(黒崎雅之) : 4 週で HCV RNA が 2.0Log 以上減少すると、2 剤併用療法で治療中に HCV RNA が陰性化する確率が 95%であることを示した。また、治療開始前にこのような治療反応性を予測する因子として、IL28B、FIB4、GGT が重要であることをデータマイニング解析により明らかとした。貧血を予測するデータマイニング解析では、治療開始前のヘモグロビン値、クレアチニンクリアランス、ITPA 遺伝子が有意な貧血予測因子であり、治療中の貧血(ヘモグロビン 10g 未満)の頻度が 19~75%の症例を同定できた。

・(八橋弘) : TVR/PEG-IFN/RBV3 剤併用療法では、Pre-Day1-Day3-1W のウイルス量の減衰が、HCV コア抗原で 0 (logfmol/L、平均値、以下同) - (-1.77) - (-2.32) - (-2.95) であるのに対して、HCV-RNA で 0 (logIU/ml、平均値、以下同) - (-3.13) - (-4.03) - (-4.54) と HCV-RNA においてより急峻なウイルス減衰を呈した。

・(渡辺久剛) : 20 年間 ALT 値が 30 IU/L 以下であった HCV 感染住民においては、宿主因子として IL-28B のメジャーホモ型の頻度が高かった。また抗ウイルス治療無治療の HCV 抗体陽性者における生命予後調査の結果、HCV RNA 陽性者では陰性者に比べ、肝疾患関連死の頻度が高かったが、性別による有意差は認めなかった。

## (3) IL28B SNP と ISG 発現 (本多政夫) : IL28B

マイナータイプにおける肝細胞では IFI44L の高発現が見られるものの、CD163、CD8 などのマクロファージや T 細胞の免疫担当細胞の浸潤が抑制されていた。以上より、IL28B マイナーでは IFN 療法の反応不良の要因として、治療前の ISG 高値に加え、免疫担当細胞の浸潤不良が要因の一つとして挙げられた。また、遺伝子発現プロファイルの

検討から IL28B マイナーでは non-canonical wnt シグナル・リガンドである Wnt5A の発現亢進が認められた。Wnt5A とそのレセプター FZD5 の発現は IL28B マイナーで有意に発現亢進しており、肝内 ISGs と有意な相関を認めた。

## (4) 次世代シーケンサーを用いた IL28B 解析 (溝

上雅史) : 高速シーケンサーで全ゲノム領域のメチル化を解析した。得られたデータの解析手法の検討を行い、単点でのケースコントロール解析を実施した。その結果、治療無効群に関連を示すメチル化部位として 52 領域を同定した。また、治療反応性群に関連を示すメチル化部位として 271 箇所を同定した。同部位について、バリデーショングループとして独立した患者群を用いてリアルタイム PCR での検証を実施している。

## (5) 宿主遺伝子に関連した治療抵抗性機構の解

析 (坂本直哉) : Toosendanin は HCV レプリコンを細胞毒性なしに特異的に抑制した (IC50 = 8ng/ml、CC50 > 30 μg/ml、selectivity index > 3.8x10<sup>3</sup>)。Toosendanin 前投与 24 時間後に IFN-λ1、λ2、λ3 をそれぞれ添加したところ IFN 誘導性の ISRE リポーター活性の誘導がより顕著に見られ、Toosendanin は IFN-λ 下流のシグナルを亢進することが示された (図 3)。

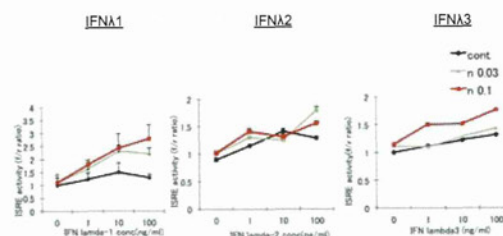


図 3

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



(IL28B) プロモーター活性を亢進させる 68 化合物を同定した。

(6) C型肝炎ウイルス感染肝内自然免疫応答における IL28B SNPs の影響 (渡邊綱正): T、B 細胞機能不全であるキメラマウスに HCV 持続感染が成立した後 PEG-IFN $\alpha$  を投与すると、3 種類いずれの感染源においても移植した肝細胞 IL28B SNP による抗 HCV 効果に差は認めなかった。また、肝内 ISG 誘導能は IL28B SNP による差異を認めなかったが、IL28B を含めた IFN $\lambda$ s 発現量が SNP により異なっていた。

(7) 統合型データベース構築 (五條堀孝、新井理): 本システムにより、既報の治療効果は再現された。一般研究者向け利用者インターフェースは、班員向けのそれと同機能としてシステムを共有し、対象のみ既報データに限定する形式に構築した(図 4)。研究班で得られた実際の遺伝子発現情報及び各遺伝子の既知の書誌情報を可能な限り取得して同データベースへ導入した。これにより、臨床情報、SNP 情報、もしくは遺伝子発現情報をキーとして、これら全情報にアクセスでき、かつ、これらを相互参照可能な形式で一覧でき、また、遺伝子の詳細情報に容易にアクセス可能となった。併せて、heatmap および dendrogram の導入により、遺伝子発現情報の相互比較が視覚的に可能となった。

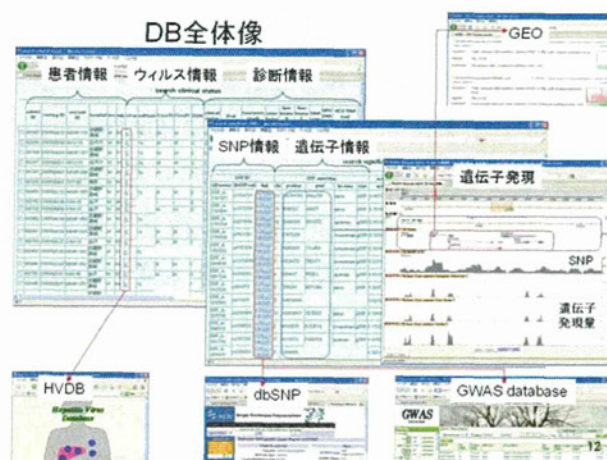


図 4

#### D. 考察

キメラマウスを用いた検討から IL28B SNP に依存した IFN $\lambda$  を介する肝内免疫細胞、特に樹状細胞(DC)の機能が、HCV 排除に大きく影響する可能性が類推される。また、IL28B SNP による C型肝炎治療効果の差は、投与された PEG-IFN $\alpha$  により産生される IFN $\lambda$  量の差によると想定された。

今年度実施した「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拭き切れない。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。

今年度までに複数のコホートを用いて、HCV 自然経過、治療効果、発癌との関連性を中心として、IL28B SNPs、ITPA SNP 及び他の因子を組み合わせにより実際の臨床での有用性を検証した。IL28B と検査データの組み合わせで治療

反応性を治療開始前に予測することが可能であり、ITPA 遺伝子は、貧血リスクと関連し、他の因子と組みあわせることで、総合的な貧血のリスクと治療効果予測に使用できる。一般臨床において、発癌リスクの高い症例には線維化進展例が多く含まれるが、ウイルス学的難治例、宿主因子難治例の頻度は発癌リスクとは独立しているため、従来型の 2 剤併用療法も治療選択肢の一つとなる。C 型慢性肝炎の治療効果の予測においては、遺伝要因である SNP だけでも有効であるが、そこにエピゲノム要因と最終産物である IL28B 蛋白レベルの測定を加える事でより正確に判定できることが示唆された。また、IFN 治療歴のない住民ベースの肝炎コホートにおいて、HCV 自然治癒例では IL-28B メジャーホモ型が有意に多く見られたことから、HCV 感染住民の持続感染例においては、宿主因子が ALT 値の変動とも関連がある可能性が示唆された。

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。さらに、蛋白質間相互作用ネットワーク解析が C 型肝炎の自然経過や治療効果を決める因子の関係性を調べる上で重要であると考えられるため、同解析に活用可能な相互作用情報、遺伝子発現情報のデータベースへの導入が有用性向上に効果的であるとされる。これまで研究班で得られたすべてのデータの蓄積・解析手法の評価を踏まえて、SNP、遺伝子発現、ウイルス配列、患者情報を基にしたウイルス性肝炎プロファイルを構築し、統合型データベースとして公開する。

## E. 結論

HCV 感染に対する応答性（自然治癒）や薬剤応答性の個人差に関わるヒト及びウイルス両

方の遺伝子要因を明らかにすることができた。遺伝、非遺伝要因（エピゲノム）、蛋白の各要素を組み合わせることでより正確な治療効果予測が可能となる。さらに、機能解析を展開することで、新規治療法の開発にも繋がるこれまでに得られたウイルス遺伝子情報、SNP 情報、臨床情報に加えて遺伝子発現情報を統合し、肝炎ウイルス統合データベースはほぼ完成した。本データベースから各種データのダウンロードを可能とし、新たにデータマイニング解析等によりウイルス、宿主、臨床情報（病態、治療効果）の各因子を統合解析することが可能である。臨床の分野においては、本データベースを参照することにより、患者 SNPs とウイルス変異の組み合わせから病態進展の予測及びハイリスク群の抽出が可能となり、テーラーメイド治療への展開が期待される。従って、適切な治療法の選択および新たな治療法の開発で患者の予後を改善するのみならず、肝硬変・肝癌という高度な医療が必要な患者数を減らすことにより、医療費の低減に繋がり、社会の福祉に寄与することができる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 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.



2. Date T, Kato T, Kato J, Takahashi H, Morikawa K, Akazawa D, Murayama A, Tanaka-Kaneko K, Sata T, **Tanaka Y**, Mizokami M, Wakita T. Novel cell culture-adapted genotype 2a hepatitis C virus infectious clone. *J Virol.* 2012;86(19):10805-20.
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. 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.
5. Michikawa T, Inoue M, Sawada N, Iwasaki M, **Tanaka Y**, Shimazu T, Sasazuki S, Yamaji T, Mizokami M, Tsugane S; Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Development of a prediction model for 10-year risk of hepatocellular carcinoma in middle-aged Japanese: the Japan Public Health Center-based Prospective Study Cohort II. *Prev Med.* 2012;55(2):137-43.
6. Kani S, **Tanaka Y**, Matsuura K, Watanabe T, Yatsuhashi H, Orito E, Inose K, Motojuku N, Wakimoto Y, Mizokami M. Development of new IL28B genotyping method using Invader Plus assay. *Microbiol Immunol.* 2012;56(5):318-23.
7. Kim SR, El-Shamy A, Imoto S, Kim KI, Ide YH, Deng L, Shoji I, **Tanaka Y**, Hasegawa Y, Ota M, Hotta H. Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotype 1b and high viral load. *J Gastroenterol.* 2012;47(10):1143-51.
8. 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.
9. Yamaguchi Y, Tamori A, **Tanaka Y**, Iwai S, Kobayashi S, Fujii H, Morikawa H, Hagihara A, Enomoto M, Kawada N. Response-guided therapy for patients with chronic hepatitis who have high viral loads of hepatitis C virus genotype 2. *Hepatol Res.* 2012;42(6):549-57.
10. Date T, Morikawa K, **Tanaka Y**, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Mizokami M, Wakita

T. Replication and infectivity of a novel genotype 1b hepatitis C virus clone. *Microbiol Immunol.* 2012 ;56(5):308-17.

11. Kurosaki M, **Tanaka Y**, Nishida N, Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N. Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2013;85(3):449-58.
  12. Kohjima M, Enjoji M, Yoshimoto T, Yada R, Fujino T, Aoyagi Y, Fukushima N, Fukuizumi K, Harada N, Yada M, Kato M, Kotoh K, Nakashima M, Sakamoto N, **Tanaka Y**, Nakamura M. Add-on therapy of pitavastatin and eicosapentaenoic acid improves outcome of peginterferon plus ribavirin treatment for chronic hepatitis C. *J Med Virol.* 2013;85(2):250-60.
  13. 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.
  14. 渡邊綱正, **田中靖人**. 特集 抗ウイルス薬—最新の動向—テーラーメイド医療時代のC型肝炎治療. *日本臨牀.* 2012;70(4):681-687.
2. **Tanaka Y**. Pharmacogenomics for Hepatitis C. 14th International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. June 22-25, 2012. Shanghai.
  3. Oda K, Uto H, Tsubouchi N, Kumagai K, Sasaki F, Numata M, Moriuchi A, Oketani M, Ido A, Tsubouchi H, Kusumoto K, Shimoda K, Hayashi K, Stuver S, **Tanaka Y**, Nishida N, Tokunaga K. Impact of a single nucleotide polymorphism upstream of the IL28B gene in subjects positive for anti-HCV antibody in an HCV hyperendemic area in Japan. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Nov. 9-13, 2012. Boston.
  4. Matsuura K, **Tanaka Y**, Watanabe T, Murakami S, Iio E, Endo M, Shinkai N, Fujiwara K, Miyaki T, Nojiri S, Joh T, Kusakabe A, Orito E, Mizokami M. IL28B genetic variants and serum IP-10 level associated with virological response to PEG-IFN/RBV and PEGIFN/RBV/Telaprevir therapy. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Nov. 9-13, 2012. Boston.
  5. Nishida N, Mawatari Y, Sugiyama M, Murata K, Korenaga M, Masaki N, Tokunaga K, Mizokami M, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, **Tanaka Y**, Matsuura K, Han K. Meta-analysis identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance widely in East-Asian populations. The 63rd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver

## 2. 学会発表

1. **Tanaka Y**. Host Factors Determining the Efficacy



Diseases. Nov. 9-13, 2012. Boston.

6. **Tanaka Y.** Role of IFN- $\lambda$  on Antiviral Therapy for Hepatitis C. The 10th JSH Single Topic Conference "Hepatitis C: Best Practice Based on Science". Nov. 21-22, 2012. Tokyo.
7. 牧野祐紀, 今井康陽, 小来田幸世, 澤井良之, 福田和人, 松本康史, 中原征則, 厨子慎一郎, 大濱日出子, 黒川正典, 入潮佳子, **田中靖人**, 小瀬嗣子, 平松直樹, 竹原徹郎. C型慢性肝炎におけるNVRを規定する因子に関する検討. 第98回日本消化器病学会総会. 平成24年4月19日~21日. 東京.
8. 正木尚彦, 杉山真也, **田中靖人**, 伊藤清顕, 村田一素, 青木孝彦, 斉藤紘昭, 松井哲平, 今村雅俊, 溝上雅史. C型慢性肝炎に対するペグインターフェロン・リバビリン併用療法における個別化医療~多施設共同前向き研究からの考察~. 第48回日本肝臓学会総会. 平成24年6月7日~8日. 石川.
9. 松浦健太郎, **田中靖人**, 飯尾悦子, 日下部篤宣, 新海登, 宮木知克, 野尻俊輔, 渡邊綱正, 藤原圭, 折戸悦朗, 城卓志, 溝上雅史. IP-10値を含めたPEG-IFN/RBV療法における治療予測因子の検討. 第48回日本肝臓学会総会. 平成24年6月7日~8日. 石川.
10. 渡邊綱正, 飯島沙幸, **田中靖人**. C型肝炎治療効果を修飾するインターフェロン $\lambda$ シグナルの解析. 第48回日本肝臓学会総会. 平成24年6月7日~8日. 石川.
11. 澤井裕美, 西田奈央, 松田浩一, 馬渡頼子, **田中靖人**, 溝上雅史, 徳永勝士. HBV陽性肝癌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. 平成24年9月15日~17日. 東京.
12. 澤井裕美, 西田奈央, 松田浩一, 馬渡頼子, **田中靖人**, 溝上雅史, 徳永勝士. 中国集団におけるB型肝炎由来肝癌感受性SNPの東アジア集

団での検証. 第16回日本肝臓学会大会. 平成24年10月10日~11日. 神戸.

13. 飯島沙幸, 渡邊綱正, 松浦健太郎, 飯尾悦子, 新海登, 村上周子, **田中靖人**. 末梢血単核球を用いたC型慢性肝炎患者PEG-IFN/RBV投与直後のISG挙動. 第16回日本肝臓学会大会. 平成24年10月10日~11日. 神戸.
14. 松浦健太郎, 飯尾悦子, 日下部篤宣, 新海登, 藤原圭, 宮木知克, 野尻俊輔, 村上周子, 渡邊綱正, 折戸悦朗, 城卓志, **田中靖人**. 2剤, 3剤併用療法における, IP-10の治療前, 治療開始早期の推移と治療効果, ウイルス動態に与える影響. 第16回日本肝臓学会大会. 平成24年10月10日~11日. 神戸.
15. **田中靖人**. ウイルス性肝炎・肝硬変における検査の進歩. 日本臨床検査自動化学会第44回大会. 平成24年10月11日~13日. 横浜.
16. 宮地紀明, 五藤孝秋, 脇本幸夫, 可児里美, 柏木有美, **田中靖人**. 全自動SNPs検査装置i-densy IS-5310を用いたIL28B/ITPA遺伝子多型解析の評価. 日本臨床検査自動化学会第44回大会. 平成24年10月11日~13日. 横浜.
17. 飯島沙幸, 渡邊綱正, **田中靖人**. C型慢性肝炎患者におけるインターフェロン投与直後の遺伝子発現変動. 第60回日本ウイルス学会学術集会. 平成24年11月13日~15日. 大阪.

## G. 知的所得権の所得状況

### 1. 特許取得

C型肝炎の治療効果を予測するためのマーカー及びC型肝炎の治療効果の予測を行う方法並びにC型肝炎の予防又は治療剤 **田中靖人**, 溝上雅史, 徳永勝士. 2009年8月21日. 特願2009-192615.

### 2. 実用新案登録

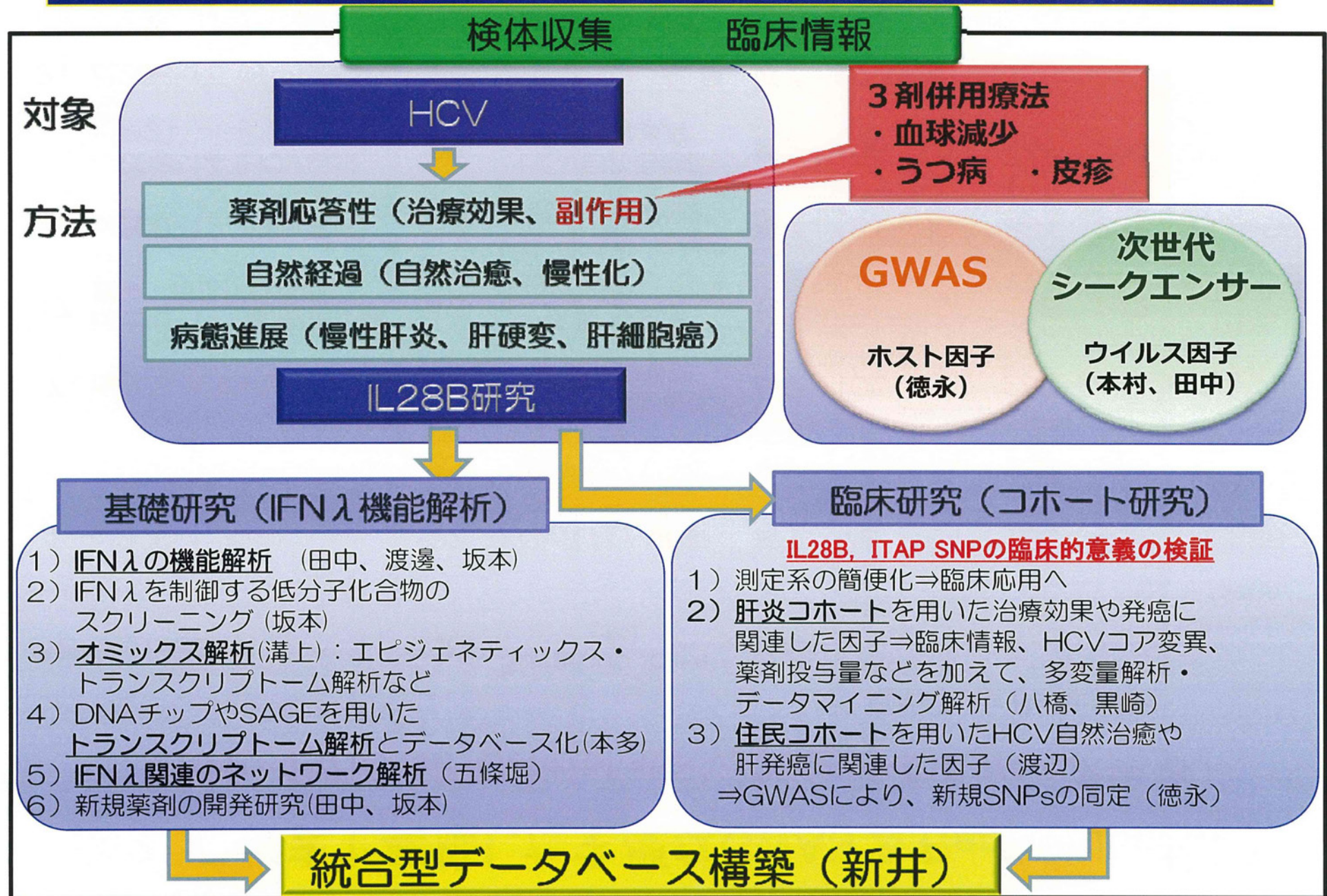
なし

### 3. その他

なし



# 図1. テーラーメイド医療の実現（田中）





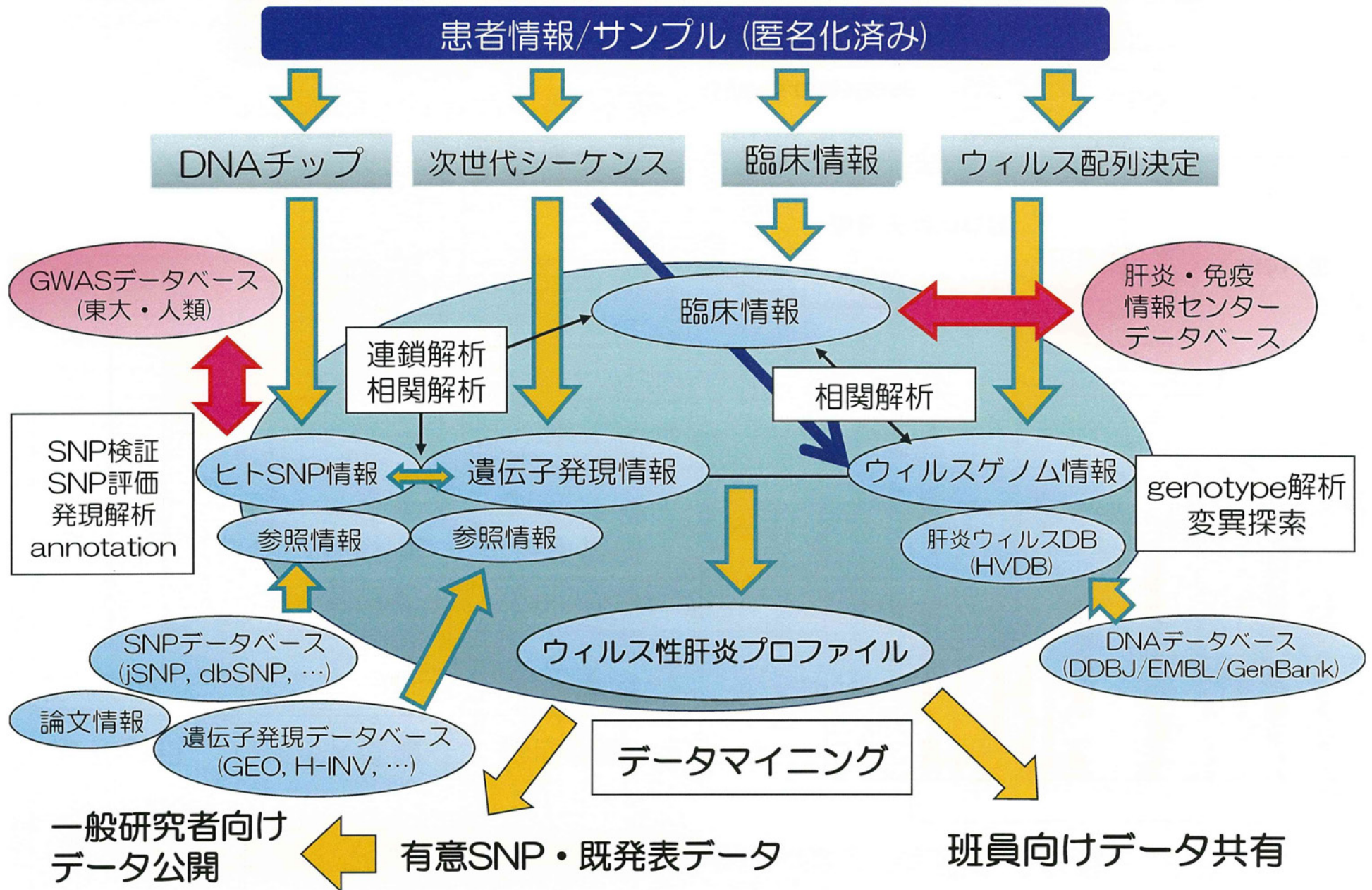
## 図2. これまで実施した主要なGWAS & Replication検討

\*19セットのCase-Control study, 25セットのGWAS実施済

番号	DigiTag2	#SNP	Subgroup (case / ctrl)	status	GWAS #sample		Replication #sample		Candidate Gene
					Case	Ctrl	Case	Ctrl	
1	pj208-1 (薬剤)	32	NVR群 / VR群	終了	78	64	156	431	IL28B
2	pj208-2 (薬剤-P<10 <sup>-4</sup> )	32	NVR群 / VR群	終了	78	64	156	431	DIAPH3, RYR3
7	pj208-4 (HCV自然治癒)	32	HCV自然治癒群 / 慢性肝炎群	終了	105	140	267	401	IL28B, CNV
17	pj208-11 (貧血/血小板減少 - 相互作用解析)	16	貧血 有/無 血小板減少 有/無	終了	91	193	136	242	ITPA, DDRGK1
18	pj208-12 (HBV解析)	32	HBV患者群/健常群 / HBc抗体陽性群	終了	181	369	334	221	HLA-DP
20	pj208-14 (HCV自然治癒2)	95	HCV自然治癒群 / 慢性肝炎群	終了	106	197	146	290	
21	pj208-15 (好中球減少)	96	好中球減少 有/無	終了	114	302	136	381	
23	pj208-17 (薬剤)	32	NVR群 / VR群	終了	118	140	203	434	
25	pj208-19 (うつ)	96	うつ症 有/無	進行中	199	431			



# 図3. 統合型データベース構築・公開





# 図4. データベース利用概念

search clinical information - Mozilla Firefox

患者情報 ウイルス情報 診断情報

plD	running ID	encrypt ID	hospital	sex	age	virus	subtype	Core70	Core91	ISDR	clinical status	drug	treatment result	other lesion	liver biopsy A factor	liver biopsy F factor	DNA conc	HBV DNA load
12	2080001A12	KAN-10	金沢	M	42	C		M	M	0	CH	PEG/RBV	Null				0.39	
541	2080005E07	KF-9	京都府立	M	50	C	b	M	W	0	CH	PEG/RBV	TR		3	3	0.43	
18	2080001E06	KAN-03	金沢	M	44	C												
302	2080009C03	SAI-06	埼玉医大	M	56	C												
583	2080008D02	YU-33	山口	F	88	C												
114	2080003E11	MSNP-015	武漢野見崎	F	82	C												
276	2080008D10	MSNP-101	武漢野見崎	M	50	C												
305	2080009C06	MSNP-090	武漢野見崎	M	89	C												
309	2080009C10	MSNP-113	武漢野見崎	F	89	C												
316	2080009D06	MSNP-105	武漢野見崎	F	85	C												
560	2080006D09	MSNP-004	武漢野見崎	M	56	C												
561	2080006D10	MSNP-053	武漢野見崎	M	89	C												
563	2080006D12	MSNP-007	武漢野見崎	F	46	C												
567	2080009A09	MSNP-076	武漢野見崎	F	57	C												
588	2080009C11	MSNP-126	武漢野見崎	F	87	C												

found significant SNPs - Mozilla Firefox

SNP情報 遺伝子情報

SNP ID	Affymetrix	dbSNP rsid	chr	position	gene	location	type	mAF
SNP_A-1803700		rs17246850 [GWAS][dbSNP]	7	7996354	MTRR	downstream	eSNP	0.31292517
SNP_A-1857599		rs12043519 [GWAS][dbSNP]	1	3225416	PRDM16	intron	iSNP	0.244897959
SNP_A-1876138		rs4142064 [GWAS][dbSNP]	9	5211818	INSL6	upstream	eSNP	0.170068027
SNP_A-1913505		rs2008113 [GWAS][dbSNP]	13	59219257	DIAPH3	intron	iSNP	0.299319728
SNP_A-1941390		rs10208883 [GWAS][dbSNP]	2	88052084	ETAA1	downstream	eSNP	0.465996395
SNP_A-2025966		rs12713624 [GWAS][dbSNP]	2	88051871	C1D	downstream	eSNP	0.336734694
SNP_A-2026411		rs17352896 [GWAS][dbSNP]	15	80140026	MEX3B	upstream	eSNP	0.19047619
SNP_A-2056048		rs6596361 [GWAS][dbSNP]	1	233186006	TOMM20	downstream	eSNP	0.169668687
SNP_A-2067633		rs8075713 [GWAS][dbSNP]	17	28824039	ACCN1	intron	iSNP	0.119047619
SNP_A-2091543		rs10208798 [GWAS][dbSNP]	2	88051999	C1D	downstream	eSNP	0.336734694
SNP_A-2111675		rs17187270 [GWAS][dbSNP]	5	7896942	MTRR	downstream	eSNP	0.31292517
SNP_A-2143634		rs342595 [GWAS][dbSNP]	13	59176116	DIAPH3	intron	iSNP	0.357142857

HeatMap - Mozilla Firefox

遺伝子発現

UCSC Human Genome browser

ゲノムマップ

SNP分布

遺伝子発現位置

HVDB

Hepatitis Virus Database

NCBI dbSNP

Reference SNP(rs) Cluster Report: rs1796602

dbSNP

Allele: A/G

Gene: MTRR

GWAS database

GWAS DATABASE

SNP analysis result

Chr	Position	Study ID	Disease Name	Study Name	Allelic P value	OR
19	44435005	Alzheimer GWMCB	Alzheimer's disease	Alzheimer's disease (GWMCB)	0.04143	1.340
19	44435008	2e1903	Cerebral aneurysm	Cerebral aneurysm	0.8176	1.058
19	44435005	VR_LR	Hepatitis	Viral response vs. null viral response to pegylated interferon alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C	8.172e-13	13.19

GEO

GEO Profiles

Results: 1 to 20 of 295

1. IL28B\_p63 depletion effect

2. IL28B\_intron1 resistant polycystic ovary syndrome\_muscle



# 図5. 治療効果予測

therapeutic effect prediction - Mozilla Firefox

パラメータ設定

http://s2as02.gent

therapeutic effect prediction

## therapeutic effect prediction

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

sex:

age:

biopsy F factor:

ISDR:

core70:

core91:

hemoglobin gain:   : Hb(2/4w) - Hb(0w)

WBC gain:   : WBC(2/4w) - WBC(0w)

neutrophil gain:   : Neut(2/4w) - Neut(0w)

platelet gain:   : Plt(2/4w) - Plt(0w)

IFN adherence:  ignore if < 60%

RBV adherence:  ignore if < 60%

実行

[DB home][top]

完了

SNP

性別、年齢

F因子、ISDR、core70/91変異

Hb, WBC, 好中球, Plt の時間変化 (0-2 or 0-4週)

実行

完了



## 主な研究協力施設

	施設名	代表	ヒトゲノム倫理委員会	担当者
1	名古屋市立大	田中靖人	○ (2007.3.30)	菅内文中、渡邊綱正
2	国立国際医療研究センター	溝上雅史	○	正木尚彦、伊藤清顕
3	東京大学	徳永勝士	○	西田奈央、上原靖加
4	山形大学	渡辺久剛	○	渡辺久剛
5	金沢大学	本多政夫	○	酒井明人
6	武蔵野赤十字病院	黒崎雅之	○	黒崎雅之
7	東京医科歯科大	坂本直哉	○	中川美奈
8	長崎医療センター	八橋弘	○	八橋弘
9	北海道大	髭修平	○	髭修平
10	手稲溪仁会病院	姜貞慶	○	姜貞慶
11	岩手医科大学	鈴木一幸	○	阿部弘一
12	埼玉医科大	持田智	○	持田智
13	山梨大学	榎本信幸	○	前川伸哉
14	信州大学	田中榮司	○	松本晶博
15	北里大学	渡邊真彰	○	渡邊真彰
16	聖マリアンナ医科大	奥瀬千晃	○	奥瀬千晃
17	名古屋第二赤十字病院	折戸悦朗	○	折戸悦朗
18	奈良県立医科大学	吉治仁志	○	吉治仁志
19	京都府立医科大学	伊藤義人	○	西村健
20	国立大阪医療センター	三田英治	○	三田英治
21	大阪大学	島田昌一	○	島田昌一
22	大阪市立大学	河田則文	○	田守昭博
23	済生会吹田病院	岡上武	○	岡上武
24	神戸朝日病院	金守良	○	金守良
25	市立池田病院	今井康陽	○	今井康陽
26	兵庫医科大学	西口修平	○	榎本平之
27	鳥取大学	村脇義和	○	大山賢治
28	川崎医科大学	日野啓輔	○	是永匡紹
29	岡山大学	山本和秀	○	池田房雄
30	山口大学	坂井田功	○	坂井田功
31	愛媛大学	恩地森一	○	日浅陽一
32	新小倉病院	野村秀幸	○	野村秀幸
33	久留米大学	長尾由実子	○	長尾由実子
34	鹿児島大学	坪内博仁	○	宇都浩文
35	宮崎大学	下田和哉	○	下田和哉
36	社会保険中京病院	大野智義	○	大野智義
37	香川県立中央病院	高口浩一	○	高口浩一
38	新松戸中央総合病院	島田紀朋	○	島田紀朋

(敬称略)

## II. 分担研究報告書