

図1. テーラーメイド医療の実現（田中）

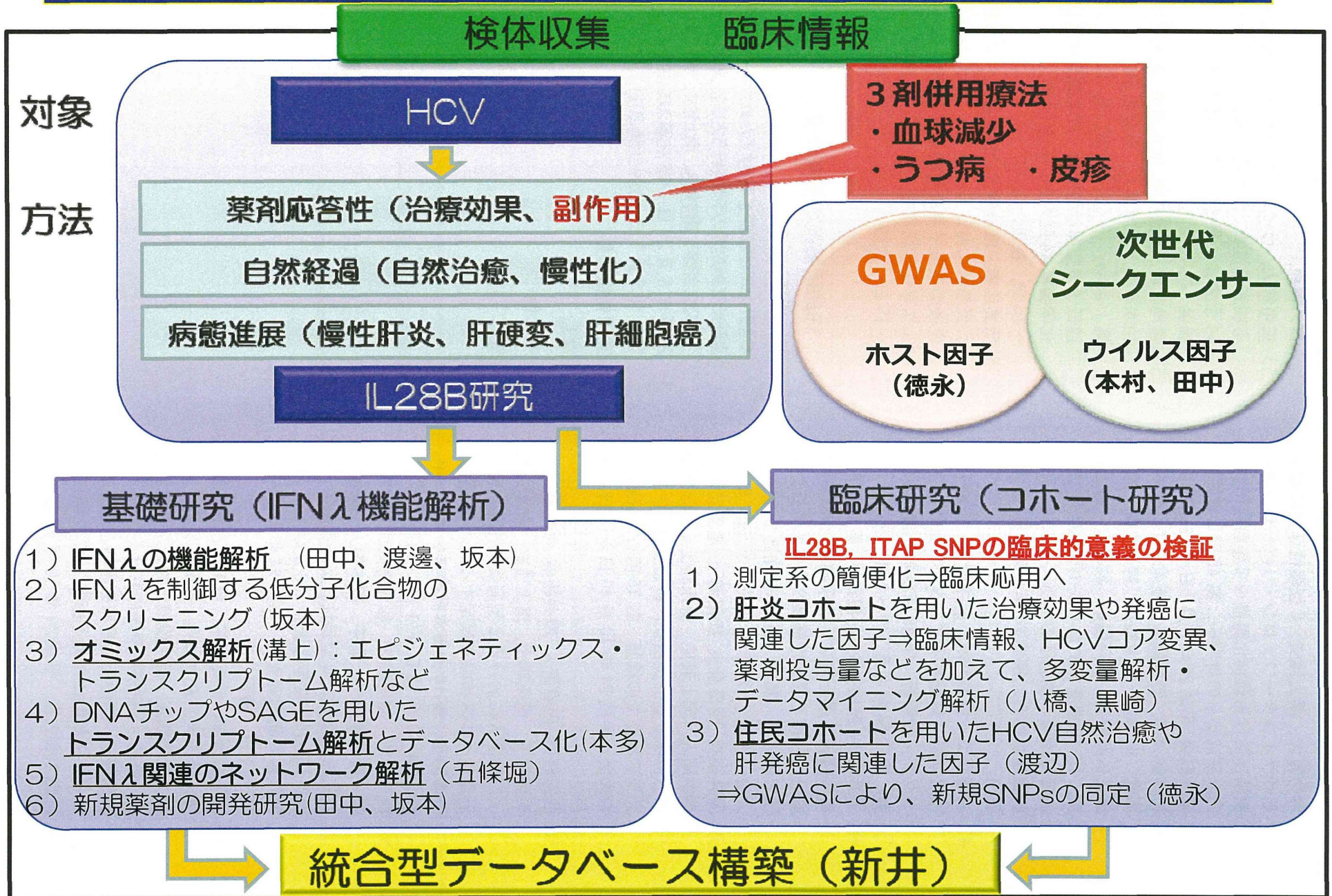


図2. これまで実施した主要なGWAS & Replication検討

*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 ⁻⁴)	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

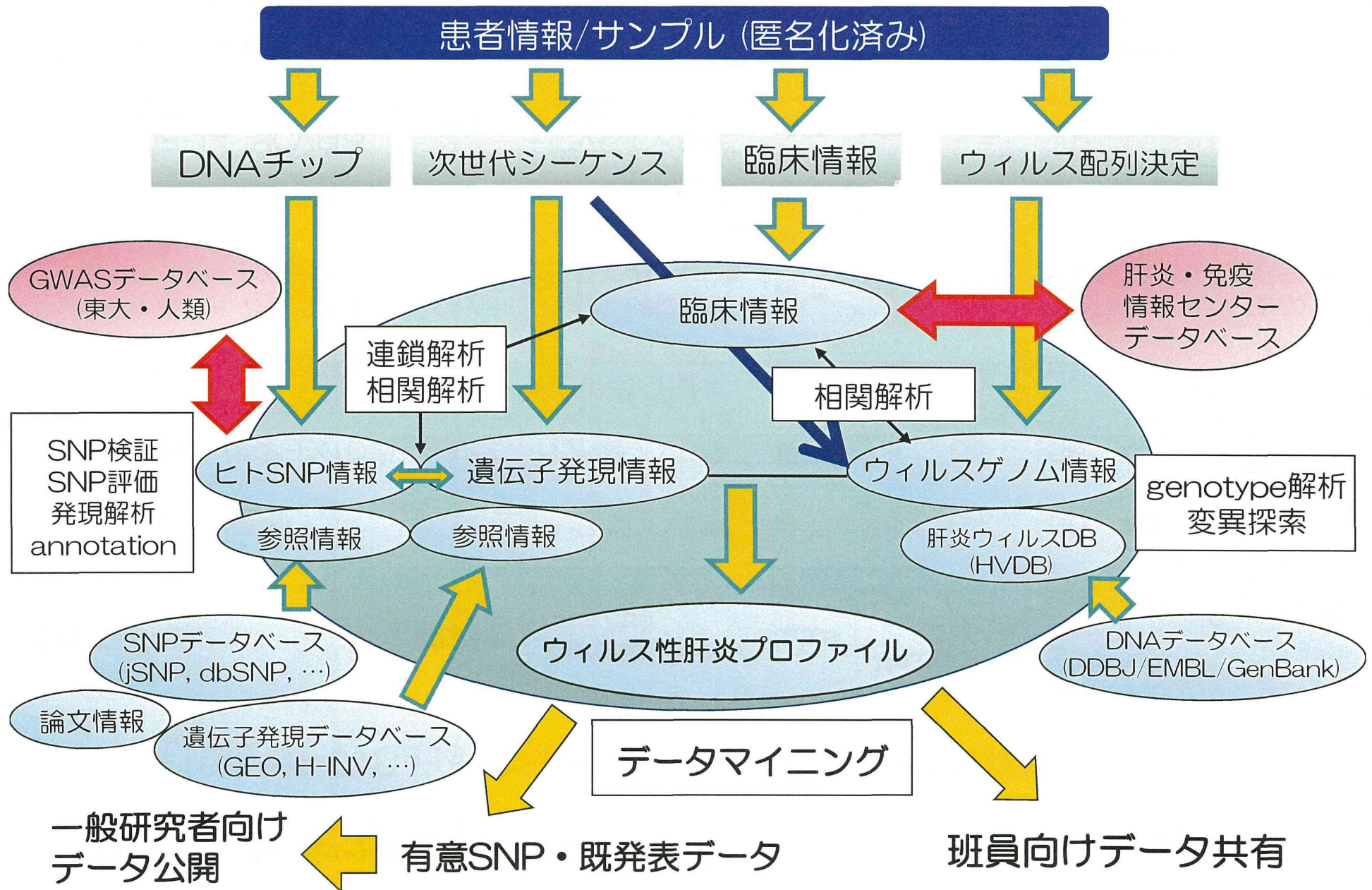


図4. データベース利用概念

search clinical information - Mozilla Firefox

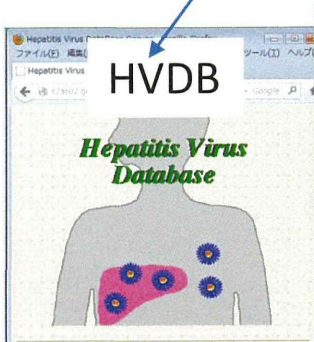
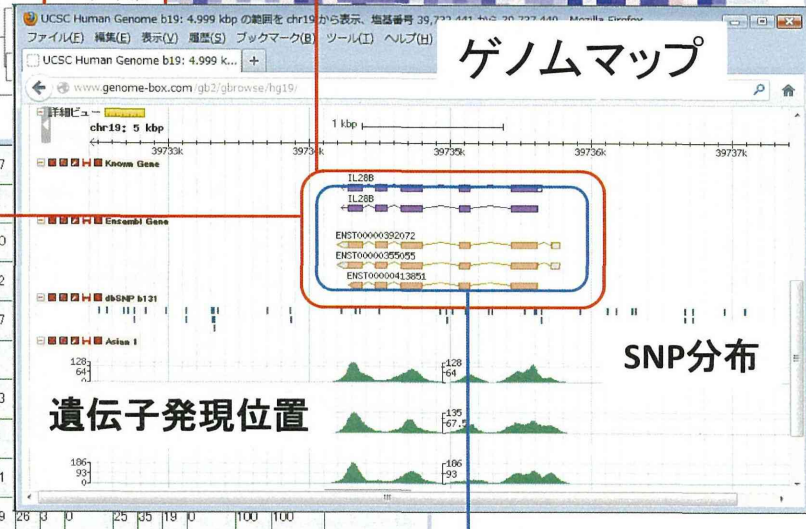
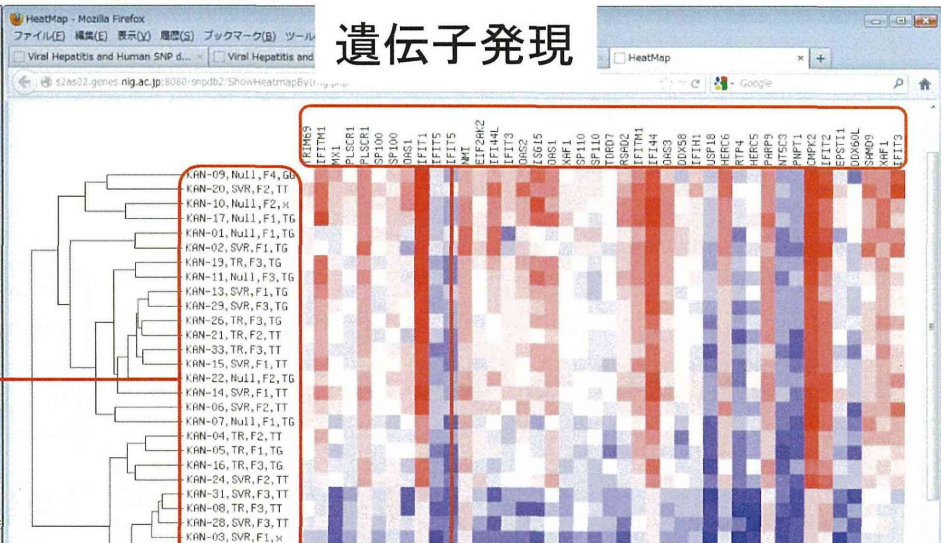
患者情報 ウイルス情報 診断情報

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	2080005B07	KF-9	京都府立	M	50	C	b	M	W	0	CH	PEG/RBV	TR		3	3	0.43	
18	2080001B06	KAN-03	金沢	M	44	C												
302	2080009C03	SAI-08	埼玉医大	M	56	C												
583	2080008D02	YU-33	山口	F	68	C												
114	2080003B11	MSNP-015	武蔵野病院	F	62	C												
276	2080008D10	MSNP-101	武蔵野病院	M	50	C												
305	2080009C06	MSNP-090	武蔵野病院	M	69	C												
309	2080009C10	MSNP-113	武蔵野病院	F	69	C												
318	2080009D06	MSNP-105	武蔵野病院	F	65	C												
560	2080006D09	MSNP-004	武蔵野病院	M	56	C												
561	2080006D10	MSNP-053	武蔵野病院	M	69	C												
563	2080006D12	MSNP-007	武蔵野病院	F	46	C												
587	2080009A09	MSNP-076	武蔵野病院	F	57	C												
588	2080009C11	MSNP-126	武蔵野病院	F	67	C												

found significant SNPs - Mozilla Firefox

SNP情報 遺伝子情報

SNP ID	Affymetric	dbSNP rsid	chr	position	gene	location	type	mAF
SNP_A-1803706	rs17246850	[GWAS][dbSNP]	5	7996354	MTRR	downstream	gSNP	0.31292517
SNP_A-1857598	rs12043519	[GWAS][dbSNP]	1	3225416	PRDM16	intron	iSNP	0.244897959
SNP_A-1876133	rs4142064	[GWAS][dbSNP]	9	5211818	INSL6	upstream	gSNP	0.170068027
SNP_A-1913506	rs2098113	[GWAS][dbSNP]	13	59219257	DIAPH3	intron	iSNP	0.299319728
SNP_A-1941309	rs10208983	[GWAS][dbSNP]	2	80052084	ETAA1	downstream	gSNP	0.465986395
SNP_A-2025989	rs12713624	[GWAS][dbSNP]	2	80051871	C1D	downstream	gSNP	0.336734894
SNP_A-2026411	rs17352986	[GWAS][dbSNP]	15	80140026	MEX3B	upstream	gSNP	0.19047619
SNP_A-2056049	rs9586361	[GWAS][dbSNP]	1	233186005	TOMM20	downstream	gSNP	0.186886667
SNP_A-206763	rs9075713	[GWAS][dbSNP]	17	28824039	ACCN1	intron	iSNP	0.119047819
SNP_A-2091544	rs10208788	[GWAS][dbSNP]	2	80051999	C1D	downstream	gSNP	0.336734894
SNP_A-2111679	rs17187270	[GWAS][dbSNP]	5	7996942	MTRR	downstream	gSNP	0.31292517
SNP_A-2143631	rs342595	[GWAS][dbSNP]	13	59176116	DIAPH3	intron	iSNP	0.357142857



Reference SNP(rsSNP) Cluster Report: rs12980602

dbSNP

NCBI

Short Gen

PubMed, Nucleotide, Protein, Genome, Structure, PopSet, Taxonomy, OMM, Books, SNP

Search for SNP on NCBI Reference Assembly

Reference SNP(rsSNP) Cluster Report: rs12980602

Organism: human (Homo sapiens)

Molecule Type: Genomic

Created/Updated in build: 12/13/17

Map to Genome Build: 37.1

Validation Status: X

Allele: A/T

Variation Class: SNV

Ref SNP Alleles: C/T

Allele Origin: unknown

Ancestral Allele: C

Clinical Channel: unknown

Clinical Significance: NA

MAF Reference: 1000 Genomes

MAF Source: 1000 Genomes

Case Control GWAS Data

GWAS DATABASE

SNP analysis result

Chr	Position	Study ID	Disease Name	Study Name	Allelic P-value	OR
19	44435005	Alzheimer GAD6B1	Alzheimer's disease	Alzheimer's disease (GAD6B1)	0.04143	1.342
19	44435005	cerebral	Cerebral aneurysm	cerebral aneurysm	0.8179	1.068
19	44435005	VIR-IR	hepatitis response vs. null response to pegylated interferon alpha and inabron therapy for chronic hepatitis C	hepatitis	0.173e-13	13.18

GEO

GEO Profiles

Display Settings: Summary, 20 per page, Sorted by Subgroup effect

Results: 1 to 20 of 295

1. IL28B_p63 depletion effect

Annotation: IL28B, Interleukin 28B (interleukin, lamda 3) (multiple annotations exist)

Organism: Homo sapiens

Reporter: GPL570, 1552609_s_at, ID_REF, GDS2534, NM_172159

DataSet type: Expression profiling by array, count, 5 samples

ID: 48921847

GEO Datasets: Gene, Unifast, Profile, Readsets, Chromosome, Profiles, Sequences, Readsets, Histogram, Neighbors

2. IL28B_upsin-resistant poly(cyclic) ovary syndrome, muscle

Annotation: IL28B, Interleukin 28B (interleukin, lamda 3) (multiple annotations exist)

Organism: Homo sapiens

Reporter: GPL570, 1552609_s_at, ID_REF, GDS2534, NM_172159

DataSet type: Expression profiling by array, count, 29 samples

ID: 48921847

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

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

分担研究者： 徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学 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

分担研究課題：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

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分析を実施した。本研究において、新たに慢性ウイルス性肝疾患患者845検体を追加収集し、これまでに取得したデータと合わせた患者群は合計1,437検体となった。QC call rateが95%以上となった1,339検体を用いて、(1) Peg-IFN α +RBV併用療法の副作用の一つである貧血・血小板減少、(2) 好中球減少、(3) うつ症、(4) C型肝炎ウイルス自然排除、(5) 扁平苔癬を対象としたゲノムワイド関連解析を実施した。貧血・血小板減少に関わる *ITPA* 遺伝子を同定し、それ以外の病態に関してもゲノムワイド有意水準に近い有望な関連遺伝子を検出することができた。

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分析を行うことにより、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ゲノムワイド関連分析を行う。

本研究では、ゲノムワイド関連分析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）。

ゲノムワイド関連分析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。

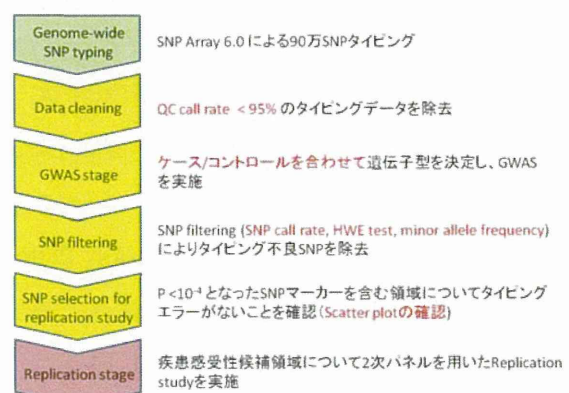


図1 GWASの実施手順

(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、擬陽性関連が疑われる SNP を除去する。

ゲノムワイド関連分析は、われわれが開発した 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 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、われわれは 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。

C. 研究結果

本研究期間内に慢性ウイルス性肝疾患患者のサンプルを合計 845 検体 (1 年目: 180 検体、2 年目: 388 検体、3 年目: 277 検体) を追加して収集した。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。

全 1,339 検体のうち、(1) Peg-IFN α +RBV 併用療法で血小板量が減少した患者群 107 検体と減少が見られなかった患者群 196 検体を比較した関連解析、および (2) 同治療で貧血となった患

者群 93 検体と貧血にならなかった患者群 194 検体を比較した関連解析を実施した結果、いずれの統計解析においても同じ 20 番染色体上の *DDRGI1* 遺伝子および *ITPA* 遺伝子を含む遺伝子領域からゲノムワイド有意水準に達する強い関連を示す SNP として rs11697186 (血小板減少、 P 値= 8.17×10^{-9} , OR=4.58; 貧血、 P 値= 7.93×10^{-10} , OR=0.06) を検出した (Tanaka Y, Tokunaga K et al., Hum Mol Genet. 2011)。

HCV 自然治癒群 105 検体と HCV 慢性肝炎患者群 140 検体について、ゲノムワイド関連分析を実施した結果、ゲノムワイド有意水準に達する遺伝子領域を複数か所検出した。特に、19 番染色体上の *IL28B* 遺伝子領域内に存在する遺伝子多型が HCV 自然治癒に強く関連する (rs8099917: P 値= 1.59×10^{-9} , OR=9.47) ことが明らかとなった。また、HCV 自然治癒群 238 検体と HCV 慢性肝炎患者群 483 検体を対象とした Replication 解析の結果、rs8099917 の関連は P 値= 8.76×10^{-15} (OR=5.51) となった。

Peg-IFN α +RBV 併用療法により好中球数が減少する患者群 (好中球数が 750 以下となる患者群 114 検体、好中球数が 600 以下となる患者群 50 検体をそれぞれケース群とし、好中球数が 1,000 以上となる患者群 302 検体をコントロール群とした) を対象としてゲノムワイド関連解析を実施した。2 段階の GWAS でオッズ比が強まった。135SNPs に、各 GWAS で $P < 10^{-4}$ を示した 57SNPs を加えた全 192SNPs を選択し、GWAS で用いた検体とは独立のケース群 122 検体 (好中球数 750 以下)、コントロール群 316 検体 (好中球数 1,000 以上) を用いて Replication 解析を実施した。Peg-IFN α +RBV 併用療法を開始する前の好中球量で補正した重回帰分析の結果、好中球量減少との

関連を示す遺伝子領域を同定した(論文報告準備中)。

Peg-IFN α +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)を対象として、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解析を実施した結果、 $P = 8.57 \times 10^{-8}$ (OR = 2.54) に達するSNPを同定した。

HCVによる扁平苔癬に関して、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。この解析において、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。

D. 考察

本研究において、Peg-IFN α +RBV 併用療法の副作用の一つである貧血や血小板減少に*DDRGKI* 遺伝子および*ITPA* 遺伝子を含む遺伝子領域がゲノムワイド有意水準に達する関連を示すことが明らかとなった。現在では、*ITPA* 遺伝子の遺伝子型は治療方針を決定するための検査項目の一つと考えられており、臨床応用された研究成果の一

つと言える。この他にも、Peg-IFN α +RBV 併用療法の副作用の一つである血小板減少やうつ症状などを対象とした関連解析結果から、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が検出されており、今後の解析でさらに臨床応用につながる遺伝子を同定できるものと期待される。また、C型肝炎感染者に見られる扁平苔癬患者を対象した解析結果から、*HLA-DR* 遺伝子の関連が日本人においても再現されることが明らかとなり、それ以外の候補遺伝子領域についてのReplication解析を進めるために臨床検体を追加する必要がある。

E. 結論

ゲノムワイドSNP解析データを用いたGWASを実施し、検出された疾患関連遺伝子の候補領域を対象としたReplication解析により関連遺伝子を同定するというアプローチはすでに確立されたものとして、本研究対象である肝疾患のみならず様々な疾患を対象として世界各国で実施されている。加えて、ここ数年で目覚ましい技術進歩を見せている高速シーケンサーにより、様々なゲノム解析データを短い期間で得ることができるようになっている。取得できる大規模なデータを処理するために超並列計算機を準備する必要があることや、生物学的な解釈をゲノムワイドに実施するための統計解析手法の確立が求められていることなど、残されている課題は多くあるものの今後の疾患ゲノム研究において高速シーケンサーやゲノムワイドSNP解析は重要な役割を果たすものと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, **Tokunaga K**, Mizokami M., lambda-Interferons and the single nucleotide polymorphisms: A milestone to tailor-made therapy for chronic hepatitis C, *Hepatology Res.* 40(5): 449-60 (2010)

- 2) Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, **Tokunaga K**, Honda M, Ito K, Mizokami M, Watanabe M., ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon- α and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C, *Hepatol Res.* 40(11): 1063-1071 (2010)
- 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 pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors, *J Hepatol.* (2010)
- 4) **徳永勝士** : ゲノムワイド関連解析による疾患感受性遺伝子・薬剤応答性遺伝子の探索、*ファルマシア* 46(5): 421-431 (2010)
- 5) 田中靖人、**徳永勝士**、本多政夫、芥田憲夫、朝比奈靖浩、溝上雅史 : C型肝炎ウイルス感染と宿主因子 : 特に IL28B について、*肝臓* 51(7): 327-347 (2010)
- 6) Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki NS, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, **Tokunaga K**, Mizokami M, Watanabe M, Ochanomizu-Liver Conference Study Group: Association of IL28B variants with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. *J Med Virol.* 83(5): 871-8 (2011)
- 7) Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsushashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, **Tokunaga K**, Mizokami M, Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C., *Hum Mol Genet.* 20 (17): 3507-16 (2011)
- 8) Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, **Tokunaga K**, Mizokami M, Izumi N, Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther.* 16(5): 685-94 (2011)
- 9) Nishida N, Mawatari Y, Sageshima M, **Tokunaga K**, Highly Parallel and Short-Acting Amplification with Locus-Specific Primers to Detect Single Nucleotide Polymorphisms by the DigiTag2 Assay. *PLoS One.* 7(1): e29967 (2012)
- 10) 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.* 13(1): e47 (2012)
- 11) 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.* 7(6): e39175 (2012)
- 12) Kumar V, Yi Lo PH, Sawai H, Kato N, Takahashi A, Deng Z, Urabe Y, **Tokunaga K**, Tanaka Y, Sugiyama M, Mizokami M, Muroyama R, Tateishi R, Omata M, Koike K, Tanikawa C,

Kamatani N, Kubo M, Nakamura Y, and Matsuda K: Soluble MICA and a MICA variation as possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma. PLoS One 7(9): e44743 (2012)

13) 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. 7(10):e46806 (2012)

14) 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, and 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. 85(3): 449-58 (2013)

2. 学会発表

1) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Asako Koike, Megumi Sageshima, Yuko Ogasawara, Yoshimi Ishibashi, Yasuka Shibata, Masashi Mizokami, **Katsushi Tokunaga**: Genome-wide association study identified host factors contributing to response to PEG-IFN- α /RBV therapy for HCV patients, 17th International Meeting on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Yokohama, 2010

2) Nishida N, **Tokunaga K**: Genome-wide association study (GWAS) opens a new approach to identify host genetic factors for multifactorial diseases, aAsian Hepatitis Forum, Urayasu, 2010

3) Nishida N, **Tokunaga K**: Genome-wide screening to identify host genetic factors for hepatitis and developing a public database "Human Genome Variation Database", Translational Research Excellence 10, Brisbane, 2010

4) **徳永勝士**: ゲノム全域から疾患遺伝子を見つけ出す, ゲノム研究最前線, 東京, 2010. 2.

5) **徳永勝士**: 疾患関連ゲノム多型データベース

と個別化医療, 千里ライフサイエンスセミナー, 大阪, 2010. 5.

6) **徳永勝士**: ゲノムワイド関連解析 (GWAS) の現状と展望, 情報計算化学生物学会 2010 年大会, 東京, 2010. 9.

7) **徳永勝士**: 疾患関連遺伝子のゲノム全域探索とゲノム多様性データベース, 第 11 回眼科学会 DNA チップ研究会, 神戸, 2010. 11.

8) **Tokunaga K**: Lessons from genome-wide search for disease-related genes, The 20th Annual Conference of Korean Genome Organization, Gangneung, Korea, 2011.

9) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Koike A, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, Mizokami M, **Tokunaga K**: A genome-wide association study identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, International Congress of Human Genetics 2011, Montreal, 2011.

10) Nishida N, Sawai H, Mawatari Y, Yamaoka M, Matsuura K, Tanaka Y, Sugiyama M, Ito K, **Tokunaga K**, Mizokami M: The association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance, American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2011, San Francisco, 2011.

11) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、伊藤清顕、溝上 雅史、**徳永勝士**: ゲノムワイド関連解析による B 型肝炎ウイルス排除機構に関与する遺伝要因の探索、第 56 回日本人類遺伝学会、幕張、2011

12) 澤井裕美、西田奈央、田中靖人、松浦健太郎、伊藤清顕、溝上雅史、**徳永勝士**: B 型肝炎の慢性化・ウイルス排除機構と HLA-DP との関連、日本組織適合学会第 20 回大会、三島、2011

13) **Tokunaga K**: Genome-wide approaches to complex disease: advances and perspectives, Genomic Analysis of Diseases Workshop, Nature Conference, Hangzhou, China, 2012. 5.

14) **徳永勝士**: 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.

15) 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、2012.10.

16) Nishida N, Tanaka Y, Sawai H, Mawatari Y,
Yamaoka M, Koike A, Matsuura K, Sugiyama M,
Murata K, Korenaga M, Masaski 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.

17) **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.

18) Nishida N, Tanaka Y, Sawai H, Mawatari Y,
Yamaoka M, Matsuura K, Sugiyama M, Murata K,
Korenaga M, Masaski 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.

19) 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.

20) 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. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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

分担研究者：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

分担研究課題：次世代シーケンサーを用いた IL28B の解析

研究要旨：C型慢性肝炎の治療効果を予測するホスト因子としてIL28Bの一塩基多型を報告してきた。最大で80%程度の予測効率を示すが、この判定から外れる例があるのも確かである。そこで、その例外症例にも対応する新たな予測因子の探索を行った。中でも高齢女性で特にこの予測から外れることが知られているため、高齢という集団の特性からDNAメチル化の影響が疑われた。そこで、高速シーケンサーでの全ゲノムメチル化領域の解析を実施した。ケースコントロール解析を行い、全ゲノムを比較して治療効果と関連の有る領域を抽出した。その結果、治療無効と関連するメチル化部位を52箇所同定し、治療反応性と関連する部位を271箇所同定した。同部位について、バリデーション集団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。一方で、血清中のIL28B蛋白量をモニターすることで遺伝子型以外の検査法の確立を行った。IL28B特異的に検出できる抗体の取得を行い、高感度なELISA系を確立した。それを用いた血中のIL28Bを定量したところ、治療予測効率が最大で97.6%まで向上し、遺伝子型よりも改善した。IL28Bの生物学的な意義が明らかでないため、その理解のため霊長類のIL28Bを解析することで進化の面からIL28Bの機能を推測した。進化の過程で遺伝子変換がIL28Aとの間で頻回に起きていることや5'末端側が特に保存性が高いことが明らかとなった。

A. 研究目的

IL28B の機能解析を進め、新規検査法を開発することで治療予測の精度を向上させる。

B. 研究方法

C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロンとリバビリン併用療法で治療抵抗性を示した患者群と治療反応性であった患者群について、GWASで同定した一遺伝子多型について個々の変異を

導入することで、各 SNP の持つ機能を検討した。

また、IL28B の生物学的機能の解明のために、ヒトとチンパンジーのゲノムを高速シーケンスとキャピラリーシーケンスを併用することで詳細に解読、比較することで遺伝学的な側面からの遺伝子の機能と役割について解析した。

同意のとれた患者からゲノム DNA と PBMC を取得した。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と比較し、差のある領域を抽出した。

PBMC は細胞培養を行い、インターフェロンと TLR7 リガンドを処理した後に上清を回収した。回収した上清は以前研究室内で樹立した化学発光系の IL28B 特異的な CLEIA で定量した。

C. 研究結果

これまでの SNPs を用いたゲノムワイド関連解析で同定した SNPs について個別にその影響を解析した。細胞株を用いた解析で、IL28B 遺伝子内のイントロンに位置する rs11881222 と rs28416813 について検討したところ、いずれもスプライシングや mRNA の発現量に差はなく、この多型が IL28B 発現に影響を与えていることは否定的であった。

続いて、非同義置換となる rs8103142 について検討を行った。野生型と変異型のリコンビナント蛋白を作製し、ISRE-Luc のレポーターアッセイで IL28B の活性を確認した。その結果、いずれでも活性に違いはなく、このアミノ酸置換の影響も否定的であった。

最後にプロモーター領域にある rs7225881 と rs4803219 について検討した。両 SNPs の野生型と変異型を組み合わせにして導入したフラグメントを Luc ベクターに挿入し、プロモーターアッセイで検討した。その結果、rs7225881 の多型が導入されたときに転写活性が変化した。この多型は TA の繰り返し配列で、繰り返し数を 13 回から 10 回にした場合に転写活性が低下した。

健常検体で検討したところ、この繰り返し数が、10-18 回まで確認できた。それを再びプロモ-

ーターアッセイで転写活性を確認したところ、長くなるほどに活性が増加した。

チンパンジーとヒトの IL28B 周囲のゲノム構造を解析したところ、ヒトとチンパンジーの間で相同な領域と構造の異なる領域を同定した。この違いはチンパンジーの亜種に依存しており、チンパンジーの中でも違いがあることが明らかとなった。

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、バリデーション集団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。

また、PBMC を用いて IL28B の発現量をモニターすることで治療前にその効果を予測できないか検討した。取得した PBMC に薬剤で刺激することで IL28B の蛋白レベルを培養上清で測定した。IL28B 特異的な抗体で CLEIA による定量を実施したところ、治療反応性群では、治療無効群と比較して有意に IL28B の発現量が高かった ($p < 0.0005$)。IL28B の SNP で分類しても同様であり ($p < 0.04$) あった。SNP での治療効果予測と IL28B の蛋白レベルでの予測を比較したところ、それぞれ 63.4%と 97.6%であり、蛋白レベルで判定する場合に予測効率が高かった。

D. 考察

GWAS で同定された有意な SNPs について個々の機能を検証したところ、プロモーター領域の多型が発現量を規定していた。他にも遠位に存在して

いる有意な SNPs が存在していることから、その領域についても高次構造を取ることで転写活性を変化させる可能性があり、さらなる検討を進める必要がある。

チンパンジーゲノムの解析によりヒトとの相違点が明らかとなった。今後はヒトとチンパンジーIL28B 遺伝子の抗ウイルス活性を比較していくことで遺伝子内の重要なアミノ酸配列を同定し、進化の中で IL28B 遺伝子がどのような意義を果たして来たか明らかとしていく。

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。

E. 結論

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と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

2012年

1. Kumar V, Yi Lo P H, 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. 7 (9):e44743, 2012.
2. Nishida N, Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn S H, Park J Y, Hige S, Kang J H, 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 K

H, 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. 7 (6):e39175, 2012.

3. Zhou B, Wang Z, Yang J, Sun J, Li H, Tanaka Y, **Mizokami M**, Hou J. Novel evidence of HBV recombination in family cluster infections in Western china. PLoS One 7 (6):e38241, 2012.

4. Murayama A, Kato T, Akazawa D, Sugiyama N, Date T, Masaki T, Nakamoto S, Tanaka Y, **Mizokami M**, Yokosuka O, Nomoto A, Wakita T. Production of infectious chimeric hepatitis C virus genotype 2b harboring minimal regions of JFH-1. J Virol . 86 (4):2143-52, 2012.

5. Nakano T, Lau G M, Sugiyama M, **Mizokami M**. An updated analysis of hepatitis C virus genotypes and subtypes based on the complete coding region. Liver Int. 32 (2):339-45, 2012.

6. Raghwani J, Thomas X V, Koekkoek S M, Schinkel J, Molenkamp R, van de Laar T J, Takebe Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Rambaut A, Pybus O G. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. J Virol. 86 (4):2212-20, 2012.

7. Nakagawa M, Sakamoto N, Watanabe T, Nishimura-Sakurai Y, Onozuka I, Azuma S, Kakinuma S, Nitta S, Kiyohashi K, A K-K, Murakawa M, Yoshino K, Itsui Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Watanabe M, Group t O-L C S. Association of ITPA gene variation and serum ribavirin concentration with a decline in blood cell concentrations during pegylated interferon-alpha plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. Hepatol Int, 2012.

8. Ragheb M, Elkady A, Tanaka Y, Murakami S, Attia F M, Hassan A A, Hassan M F, Shedid M M, Abdel Reheem H B, Khan A, **Mizokami M**. Multiple intra-familial transmission patterns of hepatitis B virus genotype D in north-eastern Egypt. J Med Virol . 84 (4):587-95, 2012.

9. Sawada N, Inoue M, Iwasaki M, Sasazuki S, Shimazu T, Yamaji T, Takachi R, Tanaka Y, **Mizokami M**, Tsugane S. Consumption of n-3 Fatty Acids and Fish Reduces Risk of Hepatocellular Carcinoma. Gastroenterology. 142 (7):1468-75, 2012.

10. Sawai H, Nishida N, Mbarek H, Matsuda K,

- Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang J H, 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 S H, Han K H, Park J Y, Yuen M F, 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.* 13 (1):47, 2012.
11. Miyagi Y, Nomura H, Yamashita N, Tanimoto H, Ito K, Masaki N, **Mizokami M**, Shibuya T. Estimation of two real-time RT-PCR assays for quantitation of hepatitis C virus RNA during PEG-IFN plus ribavirin therapy by HCV genotypes and IL28B genotype. *J Infect Chemother*, 2012.
12. Michikawa T, Inoue M, Sawada N, Iwasaki M, Tanaka Y, Shimazu T, Sasazuki S, Yamaji T, **Mizokami M**, Tsugane S. 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.* 55 (2):137-43, 2012.
13. Nomura H, Miyagi Y, Tanimoto H, Yamashita N, Ito K, Masaki N, **Mizokami M**. Increase in platelet count based on inosine triphosphatase genotype during interferon beta plus ribavirin combination therapy. *J Gastroenterol Hepatol.* 27 (9):1461-6, 2012.
14. 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.* 86 (19):10805-20, 2012.
15. Ito K, Kuno A, Ikehara Y, Sugiyama M, Saito H, Aoki Y, Matsui T, Imamura M, Korenaga M, Murata K, Masaki N, Tanaka Y, Hige S, Izumi N, Kurosaki M, Nishiguchi S, Sakamoto M, Kage M, Narimatsu H, **Mizokami M**. LecT-hepa, a glyco-marker derived from multiple lectins, as a predictor of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients. *Hepatology.* 56 (4):1448-56, 2012.
16. Saito H, Ito K, Sugiyama M, Matsui T, Aoki Y, Imamura M, Murata K, Masaki N, Nomura H, Adachi H, Hige S, Enomoto N, Sakamoto N, Kurosaki M, **Mizokami M**, Watanabe S. Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res.* 42 (10):958-965, 2012.
17. Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, Aiba Y, Tanaka A, Yasunami M, Nakamura H, Komori A, Nakamura 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, Taniai 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, Yatsushashi H, Fukushima N, Ota H, Komatsu T, Saoshiro T, Ishida J, 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.* 91 (4):721-728, 2012.
18. Sugiyama M, Kimura T, Naito S, Mukaide M, Shinauchi T, Ueno M, Ito K, Murata K, **Mizokami M**. Development of specific and quantitative real-time detection PCR and immunoassays for lambda3-interferon. *Hepatol Res.* 42 (11):1089-99, 2012.
19. 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.
20. Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Kakita N, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, Murata K, Fukuhara T, Matsuura Y, Hayashi N, **Mizokami M**, Takehara T. Human BDCA3(+) dendritic cells are a potent producer of IFN-lambda in response to hepatitis C virus. *Hepatology.* 2012.

2011 年

1. Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Angata T, Unno S, Sogabe M, Ozaki H, Ito K, Hirabayashi J, **Mizokami M**, Narimatsu H. Multilectin assay for detecting fibrosis-specific glyco-alteration by means of lectin microarray. *Clin Chem.* 57 (1):48-56, 2011.
2. Kusakabe A, Tanaka Y, Inoue M, Kurbanov F, Tatematsu K, Nojiri S, Joh T, Tsugane S, **Mizokami M**. A population-based cohort study for the risk factors of HCC among hepatitis B virus mono-infected subjects in Japan. *J Gastroenterol.* 46 (1):117-24, 2011.
3. Wu S, Imazeki F, Kurbanov F, Fukai K, Arai M, Kanda T, Yonemitsu Y, Tanaka Y, **Mizokami M**, Yokosuka O. Evolution of hepatitis B genotype C viral quasi-species during hepatitis B e antigen seroconversion. *J Hepatol.* 54 (1):19-25, 2011.
4. Yokosuka O, Kurosaki M, Imazeki F, Arase Y, Tanaka Y, Chayama K, Tanaka E, Kumada H, Izumi N, **Mizokami M**, Kudo M. Management of hepatitis B: Consensus of the Japan Society of Hepatology 2009. *Hepatol Res* 41 (1):1-21, 2011.
5. Mumtaz K, Hamid S, Ahmed S, Moatter T, Mushtaq S, Khan A, **Mizokami M**, Jafri W. A study of genotypes, mutants and nucleotide sequence of hepatitis B virus in Pakistan: HBV genotypes in Pakistan. *Hepat Mon.* 11 (1):14-8, 2011.
6. Ishiguro S, Inoue M, Tanaka Y, **Mizokami M**, Iwasaki M, Tsugane S. Impact of viral load of hepatitis C on the incidence of hepatocellular carcinoma: A population-based cohort study (JPHC Study). *Cancer Lett.* 300 (2):173-9, 2011.
7. Gulube Z, Chirara M, Kew M, Tanaka Y, **Mizokami M**, Kramvis A. Molecular characterization of hepatitis B virus isolates from Zimbabwean blood donors. *J Med Virol.* 83 (2):235-44, 2011.
8. Sugiyama M, Tanaka Y, Nakanishi M, **Mizokami M**. Novel findings for the development of drug therapy for various liver diseases: Genetic variation in IL-28B is associated with response to the therapy for chronic hepatitis C. *J Pharmacol Sci.* 115 (3):263-9, 2011.
9. 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 pegylated-interferon plus ribavirin for chronic hepatitis C using genetic polymorphism in IL28B and viral factors. *J Hepatol.* 54 (3):439-48, 2011.
10. Sugauchi F, Tanaka Y, Kusumoto S, Matsuura K, Sugiyama M, Kurbanov F, Ueda R, **Mizokami M**. Virological and clinical characteristics on reactivation of occult hepatitis B in patients with hematological malignancy. *J Med Virol.* 83 (3):412-418, 2011.
11. Yuen M F, Ka-Ho Wong D, Lee C K, Tanaka Y, Allain J P, Fung J, Leung J, Lin C K, Sugiyama M, Sugauchi F, **Mizokami M**, Lai C L. Transmissibility of Hepatitis B Virus (HBV) Infection through Blood Transfusion from Blood Donors with Occult HBV Infection. *Clin Infect Dis.* 52 (5):624-32, 2011.
12. Khan A, Tanaka Y, Kurbanov F, Elkady A, Abbas Z, Azam Z, Subhan A, Razza S, Hamid S, Jafri W, Shih J, Xia N, Takahashi K, Mishiro S, **Mizokami M**. Investigating an outbreak of acute viral hepatitis caused by hepatitis E virus variants in Karachi, South Pakistan. *J Med Virol.* 83 (4):622-9, 2011.
13. Tatematsu K, Tanaka Y, Sugiyama M, Sudoh M, **Mizokami M**. Host sphingolipid biosynthesis is a promising therapeutic target for the inhibition of hepatitis B virus replication. *J Med Virol.* 83 (4):587-93, 2011.
14. Kanathezhath B, **Mizokami M**, Stanislaus S, Hounshell C, Neumayr L, Guo H, Hearst J E, Walters M C, Kuypers F A. Improved engraftment with minimal graft-versus-host disease after major histocompatibility complex-mismatched cord blood transplantation with photochemically treated donor lymphocytes. *Exp Biol Med (Maywood)* 236 (4):492-504, 2011.
15. 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, Yatsushashi H, Orito E, Kani S, Tanaka Y, **Mizokami M**. The rs8099917 Polymorphism, When Determined by a Suitable Genotyping Method, Is a Better Predictor for Response to Pegylated Alpha Interferon/Ribavirin Therapy in Japanese Patients than Other Single Nucleotide Polymorphisms Associated with Interleukin-28B. *J Clin Microbiol.* 49 (5):1853-60, 2011.
16. Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y,

- Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Yuki N S, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, **Mizokami M**, Watanabe M. Association of IL28B variants with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy reveals intersubgenotypic differences between genotypes 2a and 2b. *J Med Virol*. 83 (5):871-878, 2011.
17. Matsuura K, Tanaka Y, Kusakabe A, Hige S, Inoue J, Komatsu M, Kuramitsu T, Hirano K, Ohno T, Hasegawa I, Kobashi H, Hino K, Hiasa Y, Nomura H, Sugauchi F, Nojiri S, Joh T, **Mizokami M**. Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepato Res*. 41 (6):505-511, 2011.
18. Sa-Nguanmoo P, Tanaka Y, Ratanakorn P, Sugiyama M, Murakami S, Payungporn S, Sommanustweechai A, **Mizokami M**, Poovorawan Y. Cross-species transmission of gibbon and orangutan hepatitis B virus to uPA/SCID mice with human hepatocytes. *Virus Res*. 158 (1-2):209-15, 2011.
19. Kurosaki M, Tanaka Y, Tanaka K, Suzuki Y, Hoshioka Y, Tamaki N, Kato T, Yasui Y, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Kuzuya T, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Asahina Y, Matsuura K, Sugauchi F, Enomoto N, Nishida N, Tokunaga K, **Mizokami M**, Izumi N. Relationship between polymorphisms of the inosine triphosphatase gene and anaemia or outcome after treatment with pegylated interferon and ribavirin. *Antivir Ther*. 16 (5):685-94, 2011.
20. Nakamura I, Tanaka Y, Ochiai K, Moriyasu F, **Mizokami M**, Imawari M. Clarification of interspousal hepatitis C virus infection in acute hepatitis C patients by molecular evolutionary analyses: Consideration on sexual and non-sexual transmission between spouses. *Hepato Res*. 41 (9):838-45, 2011.
21. Tanaka Y, Kurosaki M, Nishida N, Sugiyama M, Matsuura K, Sakamoto N, Enomoto N, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Hino K, Hige S, Itoh Y, Tanaka E, Mochida S, Honda M, Hiasa Y, Koike A, Sugauchi F, Kaneko S, Izumi N, Tokunaga K, **Mizokami M**. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet*. 20 (17):3507-16, 2011.
22. Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Saito K, Ito K, Tsuruno C, Nagai S, Takahama Y, **Mizokami M**, Hirabayashi J, Narimatsu H. LecT-Hepa: A triplex lectin-antibody sandwich immunoassay for estimating the progression dynamics of liver fibrosis assisted by a bedside clinical chemistry analyzer and an automated pretreatment machine. *Clin Chim Acta*. 412 (19-20):1767-72, 2011.
23. Sugiyama M, Inui A, Shin I T, Komatsu H, Mukaide M, Masaki N, Murata K, Ito K, Nakanishi M, Fujisawa T, **Mizokami M**. Easy-to-use phylogenetic analysis system for hepatitis B virus infection. *Hepato Res*. 41 (10):936-45, 2011.
24. Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, **Mizokami M**. Genetic Variation of the IL-28B Promoter Affecting Gene Expression. *PLoS One*. 6 (10):e26620, 2011.
25. Suzuki H, Murata K, Gotoh T, Kusano M, Okano H, Oyamada T, Yasuda Y, Imamura M, Kudo M, **Mizokami M**, Sakamoto A. Phenotype-dependent production of des-gamma-carboxy prothrombin in hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol*. 46 (10):1219-29, 2011.
26. Furui Y, Hoshi Y, Murata K, Ito K, Suzuki K, Uchida S, Satake M, **Mizokami M**, Tadokoro K. Prevalence of Amino acid mutation in hepatitis C virus core region among Japanese volunteer blood donors. *J Med Virol*. 83 (11):1924-9, 2011.
27. Miyaaki H, Ichikawa T, Yatsuhashi H, Taura N, Miuma S, Usui T, Mori S, Kamihira S, Tanaka Y, **Mizokami M**, Nakao K. Suppressor of cytokine signal 3 and IL28 genetic variation predict the viral response to peginterferon and ribavirin. *Hepato Res*. 41 (12):1216-1222, 2011.
- 2010 年
1. Kurbanov F, Tanaka Y, **Mizokami M**. Geographical and genetic diversity of the human hepatitis B virus. *Hepato Res*. 40 (1):14-30, 2010.
2. Yano K, Tamada Y, Yatsuhashi H, Komori A, Abiru S, Ito K, Masaki N, **Mizokami M**, Ishibashi H. Dynamic epidemiology of acute viral hepatitis in Japan. *Intervirology*. 53 (1):70-5, 2010.
3. Yoshida T, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ito A,

- Ri M, Ishida T, Komatsu H, Iida S, Sugauchi F, Tanaka Y, **Mizokami M**, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus in HBsAg-negative patients with multiple myeloma: two case reports. *Int J Hematol* 91 (5):844-9, 2010.
4. Akkarathamrongsin S, Praianantathavorn K, Hacharoen N, Theamboonlers A, Tangkijvanich P, Tanaka Y, **Mizokami M**, Poovorawan Y. Geographic distribution of hepatitis C virus genotype 6 subtypes in Thailand. *J Med Virol.* 82 (2):257-62, 2010.
5. Mukaide M, Tanaka Y, Shin I T, Yuen M F, Kurbanov F, Yokosuka O, Sata M, Karino Y, Yamada G, Sakaguchi K, Orito E, Inoue M, Baqai S, Lai C L, **Mizokami M**. Mechanism of entecavir resistance of hepatitis B virus with viral breakthrough as determined by long-term clinical assessment and molecular docking simulation. *Antimicrob Agents Chemother.* 54 (2):882-9, 2010.
6. Murayama A, Weng L, Date T, Akazawa D, Tian X, Suzuki T, Kato T, Tanaka Y, **Mizokami M**, Wakita T, Toyoda T. RNA polymerase activity and specific RNA structure are required for efficient HCV replication in cultured cells. *PLoS Pathog.* 6 (4):e1000885, 2010.
7. Takahashi H, Akazawa D, Kato T, Date T, Shirakura M, Nakamura N, Mochizuki H, Tanaka-Kaneko K, Sata T, Tanaka Y, **Mizokami M**, Suzuki T, Wakita T. Biological properties of purified recombinant HCV particles with an epitope-tagged envelope. *Biochem Biophys Res Commun.* 395 (4):565-71, 2010.
8. Kurbanov F, Tanaka Y, Matsuura K, Sugauchi F, Elkady A, Khan A, Hasegawa I, Ohno T, Tokuda H, **Mizokami M**. Positive selection of core 70Q variant genotype 1b hepatitis C virus strains induced by pegylated interferon and ribavirin. *J Infect Dis.* 201 (11):1663-71, 2010.
9. Panduro A, Roman S, Khan A, Tanaka Y, Kurbanov F, Martinez-Lopez E, Campollo O, Hernandez-Nazara Z, **Mizokami M**. Molecular epidemiology of hepatitis C virus genotypes in west Mexico. *Virus Res.* 151 (1):19-25, 2010.
10. Honda M, Sakai A, Yamashita T, Nakamoto Y, Mizukoshi E, Sakai Y, Nakamura M, Shirasaki T, Horimoto K, Tanaka Y, Tokunaga K, **Mizokami M**, Kaneko S. Hepatic ISG expression is associated with genetic variation in interleukin 28B and the outcome of IFN therapy for chronic hepatitis C. *Gastroenterology.* 139 (2):499-509, 2010.
11. Roman S, Tanaka Y, Khan A, Kurbanov F, Kato H, **Mizokami M**, Panduro A. Occult hepatitis B in the genotype H-infected Nahuas and Huichol native Mexican population. *J Med Virol.* 82 (9):1527-36, 2010.
12. Akkarathamrongsin S, Sugiyama M, Matsuura K, Kurbanov F, Poovorawan Y, Tanaka Y, **Mizokami M**. High sensitivity assay using serum sample for IL28B genotyping to predict treatment response in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* 40 (10):956-62, 2010.
13. Elkady A, Tanaka Y, Kurbanov F, Sugauchi F, Sugiyama M, Khan A, Ali E M, Mouhamed L, Abou El-Fetouh S, Abdel-Hameed A R, **Mizokami M**. Performance of two Real-Time RT-PCR assays for quantitation of hepatitis C virus RNA: Evaluation on HCV genotypes 1-4. *J Med Virol.* 82 (11):1878-88, 2010.
14. Sakamoto N, Tanaka Y, Nakagawa M, Yatsuhashi H, Nishiguchi S, Enomoto N, Azuma S, Nishimura-Sakurai Y, Kakinuma S, Nishida N, Tokunaga K, Honda M, Ito K, **Mizokami M**, Watanabe M. ITPA gene variant protects against anemia induced by pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for Japanese patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res.* 40 (11):1063-1071, 2010.
15. Ito K, Qin Y, Guarnieri M, Garcia T, Kwei K, **Mizokami M**, Zhang J, Li J, Wands J R, Tong S. Impairment of hepatitis B virus virion secretion by single-amino-acid substitutions in the small envelope protein and rescue by a novel glycosylation site. *J Virol.* 84 (24):12850-61, 2010.

2. 学会発表

国際学会

2012年

1. Ito K, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, **Mizokami M**. Risk factors for long-term persistence of serum hbsag following acute hepatitis B virus infection in Japan. APASL2012 : 22nd conference of the Asian Pacific association for the study of the liver Taipei, Taiwan, 2012.02.16-19. Poster.
2. Kirikae I, Ito K, Mukaide M, Sugiyama M, Murata