

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 25 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：小池 和彦 東京大学医学系研究科 教授
研究協力者：建石 良介 東京大学医学部附属病院 特任講師

分担研究課題：個別化医療の実施、血清・DNA の採取、臨床情報の収集・管理

研究要旨：近年、特に高齢者を中心として線維化がさほど進展していないにもかかわらず、肝発癌に至る例が増加している。肝炎・線維化の程度と直接関係しない危険因子探索のために、C型肝炎・肝細胞癌患者のデータベース整備、血清・DNA検体の採取を行った。今年度は、新たに52例分のDNA検体（内、肝細胞癌例45人、非癌患者7人）、血清については、54人の検体を採取した。現在までに収集した88例の肝細胞癌に対する根治的治療前後の、血清のペアサンプル、1994年から2003年の間に保存されたC型慢性肝炎患者249人の血清を用いてMICA測定を行った。今後は、血清MICA濃度とrs2596542のSNP情報を合わせた検討が必要である。

A. 研究目的

わが国の肝細胞癌の約 70%は C 型慢性肝炎に起因すると考えられている。慢性化した C 型肝炎において、肝炎の活動度は個人差が大きく、肝の炎症が軽微で感染後 40 年以上過ぎても、肝の線維化がほとんど進行していない例も稀ではない。一方で、近年特に高齢者を中心として線維化がさほど進展していないにもかかわらず、肝発癌に至る例が増加している。肝細胞癌は、炎症性発癌の典型例と考えられていたが、肝炎・線維化の程度と直接関係しない危険因子が存在する可能性がある。

これらの危険因子のうちで遺伝的背景を持つものの詳細を明らかにするためのデータベース整備と DNA 検体・血清検体の採取を行うことを目的とした。

B. 研究方法

一昨年度確立した統合肝疾患データベース上（DB）上に作成した血清 DB および DNA 検体 DB から、外来通院中でこれまで検体を頂いていない被検者をリストアップし、倫

理委員会の承認をえたプロトコールに基づき、患者の同意を取得した後に血球の採取、保存を行った。得られた血清サンプルから肝発癌のリスク遺伝子として同定されている MICA（MHC class I polypeptide-related sequence A）の血中濃度測定を行った。また、88 例の肝細胞癌に対する根治的治療前後の血清のペアサンプルを用いて根治的治療による MICA 濃度を検討した。さらに、1994 年から 2003 年の間に保存された C 型慢性肝炎患者 249 人の血清 MICA 濃度から肝細胞癌発症のリスクをスプライン曲線を用いて前向きに検討した。

（倫理面への配慮）

臨床試験の目的・方法、検査の副作用、患者に関する個人情報の守秘義務、患者の権利保護等についての十分な説明を行い、患者が熟考するに十分な時間と理解の後に書面による同意を得たうえで臨床試験を遂行した（新 GCP に遵守）。

C. 研究結果

平成 24 年度末までに採取、保存されていた HCV 抗体陽性患者からの DNA 検体は 1900 人分であったが、平成 25 年度はさらに 52 人分の DNA 検体（内、肝細胞癌例 45 人、非癌患者 7 人）を採取した。

MICA 濃度は肝細胞癌を発症した患者で高いことが報告されているが、88 例のペアサンプルを用いた検討では、根治的治療後、血清 MICA は中央値 273.9 と根治的治療前に比べて有意な低下は見られなかった ($p = 0.21$, 対応のある T 検定)。また、MICA 濃度と肝細胞癌発症のリスクについては、男性では有意な相関は見られなかったが、女性においては MICA 濃度が高くなるほど肝細胞癌発症のリスクが有意に上昇した ($p = 0.04$)。

D. 考察

血中の MICA 濃度は、肝癌のリスクの推定に有用である可能性が示唆されたが、過去の GWAS の報告から予測されるものとは逆の相関であった。MICA 濃度は rs2596542 の SNP によっても影響を受けるため、SNP 情報も絡めた解析が必要である

E. 結論

血中 MICA 濃度は、肝癌の根治的治療によっては変化しない。また、C 型慢性肝炎患者の MICA 濃度は肝癌発症のリスク推定に有用な可能性がある。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Uranbileg B, Enooku K, Soroida Y, Ohkawa R, Kudo Y, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Shinzawa S, Moriya K, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Tomiya T, Kojima S, Matsuura T, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. High Ubiquitous Mitochondrial Creatine Kinase Expression in Hepatocellular Carcinoma Denotes a Poor

Prognosis with Highly Malignant Potential. *Int J Cancer* 2014;134(9): 2189-98.

(2) Sato M, Tateishi R, Yasunaga H, Horiguchi H, Yoshida H, Matsuda S, Fushimi K, Koike K. Acute Liver Disease in Japan: A Nationwide Analysis of the Japanese Diagnosis Procedure Combination Database. *J Gastroenterol* 2014;49(3): 547-54.

(3) Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, Kato N, Yoshida H, Taguri M, Koike K. Impact of IL28b Genetic Variation on Hcv-Induced Liver Fibrosis, Inflammation, and Steatosis: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2014;9(3): e91822.

(4) Kondo M, Ishizawa T, Enooku K, Tokuhara Y, Ohkawa R, Uranbileg B, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Kokudo N, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased Serum Autotaxin Levels in Hepatocellular Carcinoma Patients Were Caused by Background Liver Fibrosis but Not by Carcinoma. *Clin Chim Acta* 2014;433C: 128-34.

(5) Enooku K, Nakagawa H, Soroida Y, Ohkawa R, Kageyama Y, Uranbileg B, Watanabe N, Tateishi R, Yoshida H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased Serum Mitochondrial Creatine Kinase Activity as a Risk for Hepatocarcinogenesis in Chronic Hepatitis C Patients. *Int J Cancer* 2014.

(6) Tateishi R, Shiina S, Akahane M, Sato J, Kondo Y, Masuzaki R, Nakagawa H, Asaoka Y, Goto T, Otomo K, Omata M, Yoshida H, Koike K. Frequency, Risk Factors and Survival Associated with an Intrasubsegmental Recurrence after Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2013;8(4): e59040.

(7) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama

R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. Il28b Minor Allele Is Associated with a Younger Age of Onset of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *J Gastroenterol* 2013.

(8) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. Impact of Pnpla3 Polymorphisms on the Development of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Hepatol Res* 2013.

(9) Ohki T, Tateishi R, Akahane M, Mikami S, Sato M, Uchino K, Arano T, Enooku K, Kondo Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Matsuyama Y, Omata M, Ohtomo K, Koike K. Ct with Hepatic Arteriopography as a Pretreatment Examination for Hepatocellular Carcinoma Patients: A Randomized Controlled Trial. *Am J Gastroenterol* 2013;108(8): 1305-13.

(10) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Spontaneous Clearance of Serum Hepatitis C Virus Rna During the Clinical Course of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C. *Hepatol Res* 2013.

(11) Mikoshiba N, Miyashita M, Sakai T, Tateishi R, Koike K. Depressive Symptoms

after Treatment in Hepatocellular Carcinoma Survivors: Prevalence, Determinants, and Impact on Health-Related Quality of Life. *Psychooncology* 2013.

(12) He G, Dhar D, Nakagawa H, Font-Burgada J, Ogata H, Jiang Y, Shalapour S, Seki E, Yost SE, Jepsen K, Frazer KA, Harismendy O, Hatziaepostolou M, Iliopoulos D, Suetsugu A, Hoffman RM, Tateishi R, Koike K, Karin M. Identification of Liver Cancer Progenitors Whose Malignant Progression Depends on Autocrine Il-6 Signaling. *Cell* 2013;155(2): 384-96.

(13) Fujiwara N, Tateishi R, Akahane M, Taguri M, Minami T, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Kondo Y, Asaoka Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Ohtomo K, Koike K. Changes in Risk of Immediate Adverse Reactions to Iodinated Contrast Media by Repeated Administrations in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *PLoS One* 2013;8(10): e76018.

2. 学会発表
なし

H. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

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 25 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

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：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。

今年度は、C型肝炎患者群（肝癌、肝硬変、慢性肝炎）を合計804検体追加して収集し、その臨床情報の紐付けを行った。全検体の臨床情報が付帯できた時点で、病態進展群（肝癌、肝硬変）と慢性肝炎群を比較したGWASで検出された13か所の候補遺伝子領域を対象として、Replication解析を実施する。

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

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、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 25 年 2 月 8 日全部改正）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

H25 年度も継続して、C 型肝炎関連肝癌・肝硬変患者、および慢性肝炎患者のサンプル収集（ゲノム DNA、血清）を行った。国内の大学病院等の全 13 施設から合計 603 例を追加して収集し、これまでに収集してあった 201 例と合わせて、合計 804 例を Replication 解析用に収集した。それらに対応する臨床情報の紐付けを進めている。

臨床情報の収集が完了した段階で、HCV 関連肝癌・肝硬変患者群と慢性肝炎患者群を比較した GWAS（HCV 由来肝発癌 133 例 vs. 慢性肝炎 200 例）で検出された 13 候補遺伝子領域に対する Replication 解析を実施する。

D. 考察

肝発癌に関わるホスト因子の同定を実施するためには、患者背景を揃えた解析が重要となる。検体・臨床情報管理システムを用いたサンプル収集・管理体制が整い、詳細な臨床情報に基づくホスト因子の探索が可能となった。

E. 結論

全 1,337 例の肝癌、慢性肝炎を含む日本人 C 型肝炎由来患者サンプル（ゲノム DNA、血清）を用いた GWAS（計 333 例を使用）および Replication 解析（計 804 例を使用）により、肝発癌に関連する新たなホスト因子の同定が可能と期待する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, Tanaka Y, Ikehara Y, **Mizokami M**, Narimatsu H. Application of a Glycoproteomics-Based Biomarker Development Method: Alteration in Glycan Structure on Colony Stimulating Factor 1 Receptor as a Possible Glycobiomarker Candidate for Evaluation of Liver Cirrhosis. *J Proteome Res.* 2014
- (2) Nagata N, Niikura R, Shimbo T, Kishida Y, Sekine K, Tanaka S, Aoki T, Watanabe K, Akiyama J, Yanase M, Itoh T, **Mizokami M**, Uemura N. Alcohol and smoking affect risk of uncomplicated colonic diverticulosis in Japan. *PLoS One.* 8 (12): e81137, 2013
- (3) Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, Korenaga M, Imamura M, Masaki N, **Mizokami M**. Ex vivo induction of IFN- λ 3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol.* 49 (1): 126-37, 2014
- (4) Kaji H, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y,

- Ozaki H, Hirabayashi J, Tanaka Y, **Mizokami M**, Ikehara Y, Narimatsu H. Glycoproteomic discovery of serological biomarker candidates for HCV/HBV infection-associated liver fibrosis and hepatocellular carcinoma. *J Proteome Res.* 12 (6): 2630-40, 2013
- (5) 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 blood dendritic cell antigen 3 (BDCA3)(+) dendritic cells are a potent producer of interferon- λ in response to hepatitis C virus. *Hepatology* 57 (5): 1705-15, 2013
- (6) Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, Yatsunashi 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- α in human and chimeric mice carrying human hepatocytes with variants of the IL28B gene. *Gut* 62 (9): 1340-6, 2013
2. 学会発表
- (1) 西田奈央、徳永勝士、**溝上雅史**、IL28B 遺伝子による C 型肝炎の治療効果予測と、第二の関連遺伝子の探索、第 17 回日本肝臓学会大会、品川、2013
- (2) 西田奈央、田中靖人、杉山真也、馬渡頼子、石井真由美、徳永勝士、**溝上雅史**、C 型慢性肝炎の治療効果に関連する第二遺伝要因の探索、第 49 回日本肝臓学会総会、新宿、2013
- (3) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Mayumi Ishii, Chieko Haga, Katsushi Tokunaga, **Masashi Mizokami**, Understanding of IL28B gene associated with treatment response for HCV patients, 61th Annual ASHG Meeting, Boston, 2013
- H. 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 25 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：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）

分担研究課題：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。今年度は、本研究において継続して収集された C 型肝炎関連肝癌・肝硬変患者、および慢性肝炎患者のサンプルについて、Affymetrix AXIOM ASI 1 Array を用いたゲノムワイド SNP タイピングを実施した。合計 533 検体で遺伝子型決定を行い、DishQC および call rate の平均値は 0.974 および 99.52% となり、精度の高い遺伝子型決定を行う事ができた。今後も国立国際医療研究センターとの協力のもとで、詳細な臨床情報が付帯された検体の収集を進めると共に、詳細な臨床情報や HCV ゲノム情報も含めた解析を進める。

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 25 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。検体及び付帯情報の収集は、国立国際医療研究センター（研究分担者：溝上雅史）と協力して行い、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

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）および東京大学医科学研究所（研究代表者：松田浩一）と協力して実施する。

（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 25 年 2 月 8 日全部改正）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、個人情報の管理をパソコンで行う場合には、当該パソコンをネットに連結することなく単独で使用し、独立の鍵の掛かる場所に厳重に保管する。

C. 研究結果

本研究において継続して収集された C 型肝炎関連肝癌・肝硬変患者、および慢性肝炎患者のサンプルおよび臨床情報を、国立

国際医療研究センターの協力のもと集約的に管理し、慢性 C 型肝炎患者群における発癌リスク因子を同定する為に、約 60 万種 SNP を搭載した Affymetrix AXIOM ASI 1 Array を用いたゲノムワイド SNP タイピングを実施した。

ゲノムワイド SNP タイピングは、C 型肝炎関連肝癌・肝硬変患者、および慢性肝炎患者について、研究協力 12 施設から収集した合計 534 検体を対象として実施した。96 検体ごとにデータを取得し遺伝子型決定を行い、DishQC < 0.82 および call rate < 97% を示した検体についてはタイピングデータを再度取得した。その後取得したデータすべてを用いて、Genotyping Console v4 ソフトウェアによる遺伝子型決定を行った。合計 533 検体で遺伝子型を決定し、DishQC = 0.974、call rate = 99.52% を平均値とする精度の高い遺伝子型決定を行う事ができた。全例の臨床情報が揃ったところで、HCV 由来の肝癌群と慢性肝炎群を対象としたゲノムワイド関連解析(GWAS)を実施することが可能となった。

D. 考察

HCV 関連肝癌患者群と慢性 C 型肝炎患者群を対象とした GWAS を実施し、発癌リスク候補因子を絞った後に、replication study による検証が必要となる。そのため今後もより多くの検体収集および臨床情報蓄積が必要とされ、国立国際医療研究センターとの協力のもとで、詳細な臨床情報が付帯された検体の収集を進める。

E. 結論

HCV 関連肝癌のリスク要因を明らかにするために、網羅的なゲノム解析のみならず、詳細な臨床情報や HCV ゲノム情報も含めた解析をする必要がある。またこれまでに蓄積された異なるプラットフォームで取得した GWAS の結果と統合する事で、より多くの検体を用いた、より多数の SNP における検討が可能になる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Nishida N, **Tokunaga K**, Mizokami M, Genome-Wide Association Study Reveals Host Genetic Factors for Liver Diseases. Journal of Clinical and Translational Hepatology 1:45-50, 2013
- (2) 西田奈央、**徳永勝士**、溝上雅史、高密度マイクロアレイによるゲノムワイド関連解析 (GWAS) の実際、肝胆膵 67(1) : 7-14、2013

2. 学会発表

- (4) 西田奈央、**徳永勝士**、溝上雅史、IL28B 遺伝子による C 型肝炎の治療効果予測と、第二の関連遺伝子の探索、第 17 回日本肝臓学会大会、品川、2013
- (5) **徳永勝士** : ゲノム・遺伝子解析研究が

もたらす革新 (教育講演)、第 62 回日本医学検査学会、香川、2013.

- (6) **徳永勝士** : 肝炎の診断と治療、(シンポジウム「GWAS 成果と応用」) 第 58 回日本人類遺伝学会大会、仙台、2013.
- (7) 西田奈央、田中靖人、杉山真也、馬渡頼子、石井真由美、**徳永勝士**、溝上雅史、C 型慢性肝炎の治療効果に関連する第二遺伝要因の探索、第 49 回日本肝臓学会総会、新宿、2013
- (8) Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Mayumi Ishii, Chieko Haga, **Katsushi Tokunaga**, Masashi Mizokami, Understanding of IL28B gene associated with treatment response for HCV patients, 61th Annual ASHG Meeting, Boston, 2013

H. 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 25 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・理化学研究所統合生命医科学研究センター統計解析研究チーム・チームリーダー

分担研究課題：肝癌発症リスク予測システムの統計解析

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，予測システムの精度向上に重要な要素である，肝癌発症に関わる新たな遺伝要因を探索する．

B. 研究方法

コピー数多型は，一塩基多型と同じくヒトゲノム上に多く存在する遺伝子多型である．コピー数多型が存在する場合，コピー数多型の領域に存在する一塩基多型を測定したとき，蛍光強度の散布図が通常と異なり，複数のクラスタを示す．この性質を利用して，一塩基多型の実験結果から，コピー数多型の検出が理論的に可能となる．

本研究の遂行にあたり，各医療機関，研究施設において倫理審査委員会の承認を得た上で，実施しており，参加者全員よりインフォームドコンセントを取得している．

また，本研究で用いた症例は，各医療機関で連結可能匿名化済みであり，個人情報は一切含まれていない．さらに，解析はインターネットなどの外部ネットワークに接続されていない計算機上で実施され，情報の安全性を高めている．

C. 研究結果

すでにタイピングされている 50 万ヶ所の一塩基多型の蛍光強度データを用いて，コピー数多型の有無の可能性について，計算機を用いて統計学的に調べた．コピー数多型を検出するためのツールが複数公開されている．本研究では，PennCNV, PlatinumCNV, TriTyper を使用した．各ツールの結果は，ツールごとに異なる結果を示した．そのため，検出された領域の蛍光強度データを目視で確認した．その結果，ある一つのツールが全て正しいというわけではなく，様々な場合が存在した．コピー数多型が存在しても，一塩基多型の蛍光強度のクラスタは完全に分離されず，一部のクラスタ同士が重なるなどが，この現象の理由である．

D. 考察

現時点では，一塩基多型と異なりコピー数多型の検出精度が高くない．そのため，

検出した領域が本当にコピー数多型の領域なのかを実験で確認する必要がある。同時に、検出アルゴリズムの精度の一段の向上が必要である。

E. 結論

予測モデルの精度向上のために、肝癌発症に関連するコピー数多型の探索を行った。コピー数多型の検出精度は、一塩基多型と比べ低い。そのために、関連の有無を結論付けることは難しい。コピー数多型の検出精度の向上、実験によるコピー数多型の存在の再現確認が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 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

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
Y. Urabe, H. Ochi, N. Kato, V. Kumar, A. Takahashi, R. Muroyama, N. Hosono, M. Otsuka, R. Tateishi, P.H. Lo, C. Tanikawa, M. Omata, K. Koike, D. Miki, H. Abe, N. Kamatani, J. Toyota, H. Kumada, M. Kubo, K. Chayama, Y. Nakamura, <u>K. Matsuda.</u>	A genome-wide association study of HCV-induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at the MHC region.	Journal of hepatology	58(5)	875-82.	2013
P.H. Lo, Y. Urabe, V. Kumar, C. Tanikawa, K. Koike, N. Kato, D. Miki, K. Chayama, M. Kubo, Y. Nakamura, <u>K. Matsuda.</u>	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
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	384-386	2013
J. Wang, L.G. Carvajal-Carmona, J.H. Chu, A.G. Zaubler, A.T. Collaborators, M. Kubo, <u>K. Matsuda.</u> , M. Dunlop, R.S. Houlston, O.M. Sieber, L. Lipton, P. Gibbs, N.G. Martin, G.W. Montgomery, J.P. Young, P.N. Baird, M.J. Ratain, Y. Nakamura, S. Weiss, I. Tomlinson, M.M. Bertagnolli,	Germline Variants and Advanced Colorectal Adenomas: Adenoma Prevention with Celecoxib Trial Genomewide Association Study.	Clin Cancer Res	19(23): 6	430-437	2013

C. Tanikawa, K. Matsuo, M. Kubo, A. Takahashi, H. Ito, H. Tanaka, Y. Yatabe, K. Yamao, N. Kamatani, K. Tajima, Y. Nakamura, K. Matsuda,	Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility.	<i>PloS one</i>	8(5):	e63698.	2013
C.M. O'Seaghdha, K. Matsida, M. Bochud, et al.	Meta-analysis of genome-wide association studies identifies six new Loci for serum calcium concentrations.	PLoS Genet	9	e1003796	2013
R. Takata, K. Matsuda, 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	21-26	2013
T. Yasui, A. Okada, Y. Urabe, M. Usami, K. Mizuno, Y. Kubota, K. Tozawa, S. Sasaki, Y. Higashi, Y. Sato, M. Kubo, Y. Nakamura, K. Matsuda, K. Kohri	A replication study for three nephrolithiasis loci at 5q35.3, 7p14.3 and 13q14.1 in the Japanese population.	J Hum Genet	58	588-593	2013
B. Zhang, W.H. Jia, K. Matsuo, A. Shin, Y.B. Xiang, K. Matsuda, S.H. Jee, D.H. Kim, P.Y. Cheah, Z. Ren, Q. Cai, J. Long, J. Shi, W. Wen, G. Yang, B.T. Ji, Z.Z. Pan, F. Matsuda, Y.T. Gao, J.H. Oh, Y.O. Ahn, M. Kubo, L.F. Thean, E.J. Park, H.L. Li, J.W. Park, J. Jo, J.Y. Jeong, S. Hosono, Y. Nakamura, X.O. Shu, Y.X. Zeng, W. Zheng,	Genome-wide association study identifies a new SMAD7 risk variant associated with colorectal cancer risk in East Asians.	International journal of cancer.	In press		2014

T. Kashiyama, K. Oda, Y. Ikeda, Y. Shiose, Y. Hirota, K. Inaba, C. Makii, R. Kurikawa, A. Miyasaka, T. Koso, T. Fukuda, M. Tanikawa, K. Shoji, K. Sone, T. Arimoto, O. Wada-Hiraike, K. Kawana, S. Nakagawa, K. Matsuda , F. McCormick, H. Aburatani, T. Yano, Y. Osuga, T. Fujii	Antitumor Activity and Induction of TP53-Dependent Apoptosis toward Ovarian Clear Cell Adenocarcinoma by the Dual PI3K/mTOR Inhibitor DS-7423.	Plos One	9	E87220	2014
J. Lin, Z. Deng, C. Tanikawa, T. Shuin, T. Miki, K. Matsuda , Y. Nakamura,	Downregulation of the tumor suppressor HSPB7, involved in the p53 pathway, in renal cell carcinoma by hypermethylation.	Int J Oncol	In press		2014
Fujitomo T, Daigo Y, Matsuda K , Ueda K, Nakamura Y.	Identification of a nuclear protein, LRRC42, involved in lung carcinogenesis.	Int J Oncol	In press		2014
Y. Urabe, H. Ochi, N. Kato, V. Kumar, A. Takahashi, R. Muroyama, N. Hosono, M. Otsuka, R. Tateishi, P.H. Lo, C. Tanikawa , M. Omata, K. Koike, D. Miki, H. Abe, N. Kamatani, J. Toyota, H. Kumada, M. Kubo, K. Chayama, Y. Nakamura, K. Matsuda,	A genome-wide association study of HCV-induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at the MHC region.	Journal of hepatology	58(5)	875-82.	2013
P.H. Lo, Y. Urabe, V. Kumar, C. Tanikawa , K. Koike, N. Kato, D. Miki, K. Chayama, M. Kubo, Y. Nakamura, K. Matsuda,	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

C. Tanikawa , K. Matsuo, M. Kubo, A. Takahashi, H. Ito, H. Tanaka, Y. Yatabe, K. Yamao, N. Kamatani, K. Tajima, Y. Nakamura, K. Matsuda,	Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility.	<i>PloS one</i>	;8(5):	e63698.	2013
C.M. O'Seaghdha, C. Tanikawa , M. Bochud, et al.	Meta-analysis of genome-wide association studies identifies six new Loci for serum calcium concentrations.	PLoS Genet	9	e1003796	2013
R. Takata, K. Matsuda, 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.	Journal of human Genetics	58	21-26	2013
J. Lin, Z. Deng, C. Tanikawa , T. Shuin, T. Miki, K. Matsuda, Y. Nakamura,	Downregulation of the tumor suppressor HSPB7, involved in the p53 pathway, in renal cell carcinoma by hypermethylation.	Int J Oncol	In press		2014
Lo PH, 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

Urabe Y, Ochi H, <u>Kato N</u> , Kumar V, Takahashi A, <u>Muroyama R</u> , 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, 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	58(5)	875-882	2013
<u>Goto K</u> , Lin W, Zhang L, Jilg N, Shao RX, Schaefer EA, Zhao H, Fusco DN, Peng LF, <u>Kato N</u> , Chung RT.	The AMPK-related kinase SNARK regulates hepatitis C virus replication and pathogenesis through enhancement of TGF- β Signaling.	J Hepatol	59(5)	942-948	2013
Sato M, <u>Kato N</u> , Tateishi R, <u>Muroyama R</u> , Kowatari N, Li W, <u>Goto K</u> , Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K.	IL28B minor allele is associated with a younger age of onset of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection.	J Gastroenterol	Epub ahead of print		2013
Sato M, <u>Kato N</u> , Tateishi R, <u>Muroyama R</u> , Kowatari N, Li W, <u>Goto K</u> , Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K.	The impact of PNPLA3 polymorphisms on the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection.	Hepatol Res	Epub ahead of print		2013
Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, <u>Kato N</u> , Yoshida H, Taguri M, Koike K.	Impact of IL28B genetic variation on HCV-induced liver fibrosis, inflammation, and steatosis: a meta-analysis.	PLoS One	9(3)	e91822	2014

Uranbileg B, Enooku K, Soroida Y, Ohkawa R, Kudo Y, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Shinzawa S, Moriya K, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Tomiya T, Kojima S, Matsuura T, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H.	High Ubiquitous Mitochondrial Creatine Kinase Expression in Hepatocellular Carcinoma Denotes a Poor Prognosis with Highly Malignant Potential.	Int J Cancer	134(9)	2189-98	2014
Sato M, Tateishi R, Yasunaga H, Horiguchi H, Yoshida H, Matsuda S, Fushimi K, Koike K.	Acute Liver Disease in Japan: A Nationwide Analysis of the Japanese Diagnosis Procedure Combination Database.	J Gastroenterol	49(3)	547-54	2014
Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, Kato N, Yoshida H, Taguri M, Koike K.	Impact of Il28b Genetic Variation on Hcv-Induced Liver Fibrosis, Inflammation, and Steatosis: A Meta-Analysis.	PLoS One	9(3)	e91822	2014
Kondo M, Ishizawa T, Enooku K, Tokuhara Y, Ohkawa R, Uranbileg B, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Kokudo N, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H.	Increased Serum Autotaxin Levels in Hepatocellular Carcinoma Patients Were Caused by Background Liver Fibrosis but Not by Carcinoma.	Clin Chim Acta	433C	128-34	2014
Enooku K, Nakagawa H, Soroida Y, Ohkawa R, Kageyama Y, Uranbileg B, Watanabe N, Tateishi R, Yoshida H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H.	Increased Serum Mitochondrial Creatine Kinase Activity as a Risk for Hepatocarcinogenesis in Chronic Hepatitis C Patients.	Int J Cancer	ePub ahead of print		
Tateishi R, Shiina S, Akahane M, Sato J, Kondo Y, Masuzaki R, Nakagawa H, Asaoka Y, Goto T, Otomo K, Omata M, Yoshida H, Koike K.	Frequency, Risk Factors and Survival Associated with an Intrasubsegmental Recurrence after Radiofrequency Ablation for Hepatocellular Carcinoma.	PLoS One	8(4)	e59040	2013

Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K.	Il28b Minor Allele Is Associated with a Younger Age of Onset of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection.	J Gastroenterol	ePub ahead of print		2013
Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K.	Impact of Pnpla3 Polymorphisms on the Development of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection.	Hepatol Res	ePub ahead of print		2013
Ohki T, Tateishi R, Akahane M, Mikami S, Sato M, Uchino K, Arano T, Enooku K, Kondo Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Matsuyama Y, Omata M, Ohtomo K, Koike K.	Ct with Hepatic Arteriopography as a Pretreatment Examination for Hepatocellular Carcinoma Patients: A Randomized Controlled Trial.	Am J Gastroenterol	ePub ahead of print		2013
Mikoshiba N, Miyashita M, Sakai T, Tateishi R, Koike K.	Depressive Symptoms after Treatment in Hepatocellular Carcinoma Survivors: Prevalence, Determinants, and Impact on Health-Related Quality of Life.	Psychooncology	ePub ahead of print		2013
He G, Dhar D, Nakagawa H, Font-Burgada J, Ogata H, Jiang Y, Shalpour S, Seki E, Yost SE, Jepsen K, Frazer KA, Harismendy O, Hatziapostolou M, Iliopoulos D, Suetsugu A, Hoffman RM, Tateishi R, Koike K, Karin M.	Identification of Liver Cancer Progenitors Whose Malignant Progression Depends on Autocrine Il-6 Signaling.	Cell	155(2)	384-96	2013

Fujiwara N, Tateishi R, Akahane M, Taguri M, Minami T, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Kondo Y, Asaoka Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Ohtomo K, Koike K.	Changes in Risk of Immediate Adverse Reactions to Iodinated Contrast Media by Repeated Administrations in Patients with Hepatocellular Carcinoma.	PLoS One	8(10)	e76018	2013
Ocho M, Togayachi A, Iio E, Kaji H, Kuno A, Sogabe M, Korenaga M, Gotoh M, Tanaka Y, Ikehara Y, Mizokami M , Narimatsu H.	Application of a Glycoproteomics-Based Biomarker Development Method: Alteration in Glycan Structure on Colony Stimulating Factor 1 Receptor as a Possible Glycobiomarker Candidate for Evaluation of Liver Cirrhosis.	J Proteome Res.			2014
Nagata N, Niikura R, Shimbo T, Kishida Y, Sekine K, Tanaka S, Aoki T, Watanabe K, Akiyama J, Yanase M, Itoh T, Mizokami M , Uemura N.	Alcohol and smoking affect risk of uncomplicated colonic diverticulosis in Japan.	PLoS One	8 (12)	e81137	2013
Murata K, Sugiyama M, Kimura T, Yoshio S, Kanto T, Kirikae I, Saito H, Aoki Y, Hiramane S, Matsui T, Ito K, Korenaga M, Imamura M, Masaki N, Mizokami M .	Ex vivo induction of IFN- λ 3 by a TLR7 agonist determines response to Peg-IFN/ribavirin therapy in chronic hepatitis C patients.	J Gastroenterol.	49 (1)	126-37	2014
Kaji H, Ocho M, Togayachi A, Kuno A, Sogabe M, Ohkura T, Nozaki H, Angata T, Chiba Y, Ozaki H, Hirabayashi J, Tanaka Y, Mizokami M , Ikehara Y, Narimatsu H.	Glycoproteomic discovery of serological biomarker candidates for HCV/HBV infection-associated liver fibrosis and hepatocellular carcinoma.	J Proteome Res.	12 (6)	2630-40	2013