

MEK, ERK のリン酸化の有意な低下を認めた。SCID マウスにおいて HSF1-KD では control に比較して有意に腫瘍の縮小を認めた。マウス肝左葉切除後の肝右葉において HSF1 は 24、48 時間後で発現の増加を認め、HSF1 は肝細胞の増殖、再生に関与していると考えられた。3)TNF α 投与後の NF- κ B signal については、WT マウスに比較して HSF1 KO マウスでは、HSF1 により制御されている BAG-3(Bcl-2-associated athanogene domain 3)の発現減少を介して、IKK γ の proteasome degradation を来し、NF- κ B の活性化の低下を認めた。また HSF1-KD 細胞において、control 細胞に比較して TNF α 投与後 NF- κ B に制御されている抗アポトーシス分子の発現低下を認め、さらに TUNEL 染色において陽性細胞の上昇を認め、HSF1 の発現抑制は apoptosis の亢進に寄与していると考えられた。B ; 肝癌の切除検体における免疫組織染色では、癌部が非癌部に比較して 60%の症例で高発現しており、HSF1 の高発現と分化度、腫瘍径、腫瘍個数、予後が相関しており、臨床上も HSF1 の肝癌における関与が示唆された。

(2) 1) array 解析より、ER-NR 両群間で発現差 2 倍以上ある miRNA を同定した。2) 同定した miRNA の 60 例における定量 PCR で特に早期再発で高発現している 5 つの miRNA; miR-135a, miR-658, miR-665, miR-1246, miR-1915 を抽出した。miRNA それぞれの発現比(ER/NR,ER/H,ER/C)は、miR-135a(3.2, 2.3, 2.7), miR-658(4.2,3.5,2.9), miR-665(3.4,2.7,2.3), miR-1246(2.9,3.4,3.8), miR-1915(4.9,3.2,5.7)であり、HCC の早期再発の感度は 71.2%、特異度は 82.4%であった。

D. 考察

(1) 本研究により、HSF KO マウスでは、ERK, NF- κ B の両方の活性化が減弱し、HSF1KD 細胞、Xenograft では肝癌の増殖抑制が得られた。HSF1 の機能低下に伴い ERK の活性化が低下することは、HSF1KO MEF 細胞での報告があるが(Dai C et al.

Cell 2007; 130: 1005–1018.)、NF- κ B との関与については直接的なものではなく、今回が新規である。肝癌において ERK、NF- κ B の活性化が重要な役割を担っていると従来より考えられており、本研究では、HSF1 と ERK, NF- κ B の関係を KO マウスを用いた *in vivo* モデルから解析した点でも意義が高いと考えられる。

また HSF1 の機能低下が、腫瘍の増殖抑制、apoptosis の亢進を示したことは、臨床検体での HSF1 の発現と肝癌の悪性度、予後との相関を示したことも踏まえて、HSF1 は今後、肝癌における重要な標的の一躍を担うことが期待される。

(2) 今回同定された 5 つの miRNA が肝癌早期再発診断のバイオマーカーになりうる可能性が示唆された。miR-135a は門脈腫瘍栓を伴う HCC の組織で高発現し(J.Hepatol 2012)、miR-1246 は食道癌の予後に相関する血清バイオマーカーである事(BJC 2013)が報告されており、今後多数例での検証が望まれる。

E. 結論

- (1) 肝癌における Heat shock factor 1(HSF1)の分子標的治療としての可能性が示された。
- (2) 肝癌の早期再発に関する miRNA を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, Hige S, Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S. Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor- κ B/mitogen-activated protein kinase.Carcinogenesis. 2014; 35: 272-81.

2. 学会発表

(1)**Chuma M**, Sakamoto N, Hige S, Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Maeda S. Heat shock

factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor κ B/mitogen-activated protein kinase. 48rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. 2013. 4. 27 Amsterdam, Nederland.

(2)中馬誠, 坂本直哉, 神山俊哉. 肝細胞癌の早期再発に関するバイオマーカー ; miRNA の同定。第17回日本肝臓学会大会、2013.10.10 東京

G. 知的所得権の所得状況

1. 特許取得

無

2. 実用新案登録

無

3. その他

無

C型肝炎の新規診断法や新規治療法を開発するためのゲノムワイド関連解析の
手法を用いた宿主因子の解析に関する研究

研究分担者：近藤 泰輝 東北大学病院 消化器内科 助教

分担研究課題：C型ウイルス性肝炎における microRNA の発現プロファイリングの
特徴とその役割

研究要旨：次世代シーケンサーにて血清内miRNAの網羅的な読み取りを行いC型慢性肝炎特徴的なmiRNA発現を解析するとともに、慢性肝炎から肝硬変、肝細胞癌への進展の中で変化するmiRNA群についても解析を行う。この中で今年度は上記のC型慢性肝炎特徴的なmiRNA発現について解析を加えた。次世代シーケンサーを使用することにより平均約160万リードがmiRBaseにマッピングされた。C型肝炎でコントロールと比較して有意な変動がみられたのは5つのmiRNAであった。

A. 研究目的

C型肝炎ウイルス感染症に特徴的な miRNA 発現を網羅的に解析することにより発見する。また、病態に応じて変化する miRNA についても解析する。

B. 研究方法

C 型慢性肝炎 (CH-C) 20 例、B 型慢性肝炎 (CH-B) 20 例、健常人 (H) 10 例で検討を行った。血清 800ul より Trizol LS にて Total RNA を抽出した。TruSeq Small RNA Sample Preparation Kit にてライブラリーを作成し、Single end 32 塩基、3 サンプル/1 レーンで Illumina GA IIx にて読み取りを行った。

データ解析は膨大なデータとなるため各種ソフトウェアを用いて行った。シーケンスデータからクオリティチェックを行い、アダプター配列を除去した後 miRBase へマッピングし発現量の計算を行った。

個々の miRNA についてマッチしたリード数を集計、サンプル毎の総マップリード数（100万

リード当たり）で正規化し、発現量を計算。サンプルのばらつきは TMM 法により正規化した。3 群で発現量に差のあった miRNA を ANOVA で多群比較を行い P-value を計算し FDR を計算することで多重検体の補正を行い、FDR<0.1 の基準でヒートマップを作成した。

C. 研究結果

得られたリード数は1症例平均約1,000万リードでmiRBaseへマッピングできたのは約170万リードであった。血清内においてC型慢性肝炎において、低発現量を示した、5つのmiRNAは、hsa-miR181a-2-3p, hsa-miR-374a-3p, hsa-miR-374a-5p, hsa-miR-146b-5p, hsa-miR204-5pであった。次に、PBMC内でのmiRNA発現と血清内のmiRNAの発現の相関関係を4症例にて確認を行うとPBMC内で高発現しているmiRNAの中にhsa-miR-146b-5pがあった。

D. 考察

他肝疾患と比較して C 型肝炎において低発現をする miRNA を同定した。また、その中で、PBMC 内で高発現しているものが確認された。何らかの免疫機能に関与している可能性があり、更に検討が必要と思われた。また、病態進展における miRNA 発現の変動についても解析が必要であると思われる。

E. 結論

C型肝炎特異的に発現低下する miRNA を発見した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. **Kondo Y**, Kato T, Kimura O, Iwata T, Ninomiya M, Kakazu E, Miura M, Akahane T, Miyazaki Y, Kobayashi T, Ishii M, Kisara N, Sasaki K, Nakayama H, Igarashi T, Obara N, Ueno Y, Morosawa T, Shimosegawa T. 1(OH) vitamin D3 supplementation improves the sensitivity of the immune-response during Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients-case controlled trial. PLoS One. 2013 May 23;8(5):e63672. doi: 10.1371/journal.pone.0063672.
2. Ninomiya M, **Kondo Y**, Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Ueno Y, Nakayama K, Shimosegawa T. Distinct microRNAs expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers. PLoS One. 2013 Jun 12;8(6):e66086. doi: 10.1371/journal.pone.0066086.
3. Kogure T, **Kondo Y**, Kakazu E, Ninomiya M, Kimura O, Shimosegawa T. Involvement of miRNA-29a in epigenetic regulation of transforming growth factor- β -induced

epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma. Hepatol Res. 2013 Jun 24. doi: 10.1111/hepr.12188.

4. **Kondo Y**, Shimosegawa T. Direct effects of hepatitis C virus on the lymphoid cells. World J Gastroenterol. 2013 Nov 28;19(44) 7889-95.

1. 学会発表

1. 日本肝臓学会総会 2013. シンポジウム 1 「C型肝炎の治療最先端」. 1(OH) VitD3 投与は難治性慢性 C 型肝炎患者の指標である高 IP10, 高 ISGs 発現状態を改善する **近藤泰輝**, 木村修, 下瀬川徹
2. APASL Annual Meeting 2013 シンガポール. Vitamin D3 could improve the adaptive immune response in chronic hepatitis C patients. **Yasuteru Kondo**, Tomoaki Iwata, Tatsuki Morosawa, Osamu Kimura, Masashi Ninomiya, Eiji Kakazu, Takayuki Kogure, Tooru Shimosegawa
3. AASLD Annual Meeting 2013, Washington DC. Lymphotropic HCV infection enhances Th17 commitment, which could affect the pathogenesis of autoimmune and cryoglobuline-related diseases. **Yasuteru Kondo**, Masashi Ninomiya, Osamu Kimura, Keigo Machida, Ryo Funayama, Takeshi Nagashima, Koju Kobayashi, Eiji Kakazu, Takayuki Kogure, Takanobu Kato, Keiko Nakayama, Tooru Shimosegawa

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

C型肝炎の新規診断法や新規治療法を開発するためのゲノムワイド関連解析の
手法を用いた宿主因子の解析に関する研究

研究分担者：池尾 一穂 国立遺伝学研究所 生命情報研究センター 准教授

分担研究課題：次世代シーケンスデータの解析とアノテーション

研究要旨：次世代型シーケンサーを用いた大規模ゲノムシーケンスデータによるゲノムワイド解析のための、次世代シーケンスデータの解析とアノテーション技術を開発し提供する。特に、次世代ゲノムデータを用いて宿主因子を検出するための自動化パイプラインの開発提供を進めるとともに、候補変異の機能予測に必要なアノテーションを行う。また、アノテーションには、構造情報、パスウェイ解析、遺伝子乾燥後作用等、様々な情報の利用とアノテーションパイプラインの開発、次世代シーケンスデータのための関連解析技術の開発を行う。

A. 研究目的

C型肝炎新規診断法、新規治療法開発のための次世代シーケンスデータの解析とアノテーション手法の開発。

B. 研究方法

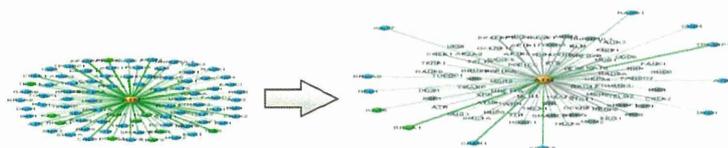
次世代シーケンスデータの大規模性と多様性に適応でき、なおかつ広く医学研究者が利用できるような解析手法とパイプラインを開発、提供する。特に、GWAS 解析の結果から、更に宿主因子を絞り込むために遺伝子相互作用、パスウェイ解析や遺伝子発現データの統合的利用を行うための解析フローを開発する。

C. 研究結果

次世代シーケンスデータをもとに、宿主因子の変異を抽出し、その機能への影響を、構造、代謝、転写ネットワーク等の複合的なデータをもとに予測、アノテーションするための解析フローの開発を進めた。また、既に公開されている肝ガン

次世代シーケンスデータセットを用いて、解析フローの有用性の検証を進めた。

図1 パスウェイアノテーションの例



サンプルが肝臓由来の変異であれば、肝臓で共発現し相互作用しているタンパク質の機能・パスウェイに絞り込み、影響を評価

D. 考察

まだ、試行回数が少ないため、今後更に、検証が必要であるが、得られた因子候補は、既に知られている機能、論文等の結果と矛盾しないものであることが示された。

E. 結論

次世代シーケンサーデータにパスウェイ解析、遺伝子発現情報等を組み合わせることによって、更に因子の絞り込みが可能である可能性が示された。今後、更に方法を改良するとともに、自

動化を図り、広く活用できるようにしていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

Katagiri S, Yoshitake K, Akahori M, Hayashi T, Furuno M, Nishino J, **Ikeo K**, Tsuneoka H, Iwata T. Whole-exome sequencing identifies a novel ALMS1 mutation (p.Q2051X) in two Japanese brothers with Alström syndrome. Mol Vis. 2013;19:2393-406.

2. 学会発表

創薬ターゲット探索のためのNGS型データの利用
宮本 青, 村岡 正文, 水谷 尚志, 菅原 秀明, 重元 康昌, 五條堀 孝, **池尾 一穂** 第36回日本分子生物学会年会 2013年12月 神戸ポートアイランド

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

III. 研究成果の刊行一覧

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
* <u>渡辺久剛</u> , 斎藤貴史, 石橋正道, 新澤陽英, 河田純男.	地域コホート研究からみたC型肝炎ウイルス持続感染者の自然史	佐田通夫, 田中榮司, 田中英夫, 長尾由実子	コホート研究からみたウイルス性肝炎の解明	メディカルレビュー	大阪	2013	130-139

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
*Watanabe T, Inoue T, Tanoue Y, Maekawa H, Hamada-Tsutsumi S, Yoshida S, Tanaka Y.	Hepatitis C Virus Genotype 2 May Not Be Detected by the Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HCV Test, Version 1.0.	J Clin Microbiol.	51(12)	4275-4276	2013
*Sugimoto K, Kim SR, El-Shamy A, Imoto S, Ando K, Kim KI, Tanaka Y. , Yano Y, Kim SK, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Takashi H, Hotta H, Hayashi Y, Kudo M.	Factors of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy and mechanism of viral clearance.	Dig Dis.	31(5-6)	421-425	2013
*Kim SR, El-Shamy A, Imoto S, Kim KI, Sugimoto K, Kim SK, Tanaka Y. , Hatae T, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Hotta H, Kudo M.	Prediction of response to pegylated interferon/ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C genotypes 2a and 2b and high viral load.	Dig Dis.	31(5-6)	426-433	2013
Hai H, Tamori A, Enomoto M, Morikawa H, Uchida-Kobayashi S, Fujii H, Hagihara A, Kawamura E, Thuy LT, Tanaka Y. , Kawada N.	Relationship between ITPA genotype and outcome of extended therapy in HCV patients with a LVR to PEG-IFN and RBV.	J Gastroenterol Hepatol.	29(1)	201-207	2014

*Shimada N, Tsubota A, Atsukawa M, Abe H, Ika M, Kato K, Sato Y, Kondo C, Sakamoto C, Tanaka Y , Aizawa Y.	α -Fetoprotein is a surrogate marker for predicting treatment failure in telaprevir-based triple combination therapy for genotype 1b chronic hepatitis C Japanese patients with the IL28B minor genotype.	J Med Virol.	86(3)	461-472	2014
Ragheb MM, Nemr NA, Kishk RM, Mandour MF, Abdou MM, Matsuura K, Watanabe T, Tanaka Y .	Strong prediction of virological response to combination therapy by IL28B gene variants rs12979860 and rs8099917 in chronic hepatitis C genotype 4.	Liver Int.	in press.		2013
*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
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
*Saito T, Sugimoto M, Igarashi K, Saito K, Shao L, Katsumi T, Tomita K, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H , Tomita M, Ueno Y, Soga T.	Dynamics of serum metabolites in patients with chronic hepatitis C receiving pegylated interferon plus ribavirin: A metabolomics analysis.	Metabolism	62 (11)	1577-1586	2013
Sato C, Saito T, Shao L, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H , Makino N, Fukao A, Kitanaka C, Kayama T, Ueno Y, Kawata S.	Impaired mitochondrial β -oxidation in patients with chronic hepatitis C: relation with viral load and insulin resistance.	BMC Gastroenterol.	13	112-119	2013

Ishii R, Saito T, Shao L, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H , Makino N, Fukao A, Kitanaka C, Kayama T, Ueno Y, Kawata S.	Serum prolactin levels and prolactin mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells in hepatitis C virus infection.	J Med Virol.	85 (7)	1199-1205	2013
Tomita K, Haga H, Ishii G, Katsumi T, Sato C, Aso R, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H , Saito T, Otani K, Ueno Y.	Clinical manifestations of liver injury in patients with anorexia nervosa.	Hepatol Res.	in press.		2013
*Tamaki N, Kurosaki M , Matsuda S, Nakata T, Muraoka M, Suzuki Y, Yasui Y, Suzuki S, Hosokawa T, Nishimura T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Takahashi Y, Matsunaga K, Taki K, Asahina Y, Izumi N.	Prospective comparison of real-time tissue elastography and serum fibrosis markers for the estimation of liver fibrosis in chronic hepatitis C patients.	Hepatol Res.	in press.		2014
*Takeshita Y, Takamura T, Honda M , Kita Y, Zen Y, Kato KI, Misu H, Ota T, Nakamura M, Yamada K, Sunagozaka H, Arai K, Yamashita T, Mizukoshi E, Kaneko S.	The effects of ezetimibe on non-alcoholic fatty liver disease and glucose metabolism: a randomised controlled trial.	Diabetologia	57(5)	878-890	2014

* Honda M , Shirasaki T, Shimakami T, Sakai A, Horii R, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Okada H, Murai K, Nakamura M, Mizukoshi E, Kaneko S.	Hepatic interferon-stimulated genes are differentially regulated in the liver of chronic hepatitis C patients with different interleukin 28B genotypes.	Hepatology	59(3)	828-838	2014
Terashima T, Yamashita T, Arai K, Sunagozaka H, Kitahara M, Nakagawa H, Kagaya T, Mizukoshi E, Honda M , Kaneko S.	Feasibility and efficacy of hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma after sorafenib.	Hepatol Res.	in press.		2013
Honda M , Yamashita T, Yamashita T, Arai K, Sakai Y, Sakai A, Nakamura M, Mizukoshi E, Kaneko S.	Peretinoin, an acyclic retinoid, improves the hepatic gene signature of chronic hepatitis C following curative therapy of hepatocellular carcinoma.	BMC Cancer	13	191	2013
Higashimoto M, Sakai Y, Takamura M, Usui S, Nasti A, Yoshida K, Seki A, Komura T, Honda M , Wada T, Furuichi K, Ochiya T, Kaneko S.	Adipose tissue derived stromal stem cell therapy in murine ConA-derived hepatitis is dependent on myeloid-lineage and CD4+ T-cell suppression.	Eur J Immunol.	43(11)	2956-2968	2013
Seki A, Sakai Y, Komura T, Nasti A, Yoshida K, Higashimoto M, Honda M , Usui S, Takamura M, Takamura T, Ochiya T, Furuichi K, Wada T, Kaneko S.	Adipose tissue-derived stem cells as a regenerative therapy for a mouse steatohepatitis-induced cirrhosis model.	Hepatology	58(3)	1133-1142	2013

*Komura T, Sakai Y, Honda M , Takamura T, Wada T, Kaneko S.	ER stress induced impaired TLR signaling and macrophage differentiation of human monocytes.	Cell Immunol.	282(1)	44-52	2013
*Shirasaki T, Honda M , Shimakami T, Horii R, Yamashita T, Sakai Y, Sakai A, Okada H, Watanabe R, Murakami S, Yi M, Lemon SM, Kaneko S.	MicroRNA-27a regulates lipid metabolism and inhibits hepatitis C virus replication in human hepatoma cells.	J Virol.	87(9)	5270-5286	2013
*Hodo Y, Honda M , Tanaka A, Nomura Y, Arai K, Yamashita T, Sakai Y, Yamashita T, Mizukoshi E, Sakai A, Sasaki M, Nakanuma Y, Moriyama M, Kaneko S.	Association of interleukin-28B genotype and hepatocellular carcinoma recurrence in patients with chronic hepatitis C.	Clin Cancer Res.	19(7)	1827-1837	2013
*八橋弘, 中村実可, 釘山有希, 佐々木龍, 戸次鎮宗, 橋元悟, 裊成寛, 大谷正史, 佐伯哲, 長岡進矢, 小森敦正 , 阿比留正剛.	全自動生物化学発光免疫測定装置「BLEIA®-1200」専用試薬「BLEIA® ‘栄研’HCV抗体」の性能評価	医学と薬学	69(4)	643-653	2013
*八橋弘, 中尾瑠美子, 木村梨沙, 小森敦正 .	特集/C型肝炎治療2014:経口抗ウイルス薬時代の到来, Faldaprevir (PI) + Deleobuvir (NNI) 併用療法	肝胆膵	67(6)	943-950	2013
Utsunomiya T , Ishikawa D, Asanoma M, Yamada S, Iwahashi S, Kanamoto M, Arakawa Y, Ikemoto T, Morine Y, Imura S, Ishibashi H, Takasu C, Shimada M.	Specific miRNA expression profiles of non-tumor liver tissue predict a risk for recurrence of hepatocellular carcinoma.	Hepatol Res.	in press.		2013

Utsunomiya T. Shimada M, Kudo M, Ichida T, Matsui O, Izumi N, Matsuyama Y, Sakamoto M, Nakashima O, Ku Y, Kokudo N, Makuuchi M; Liver Cancer Study Group of Japan.	Nationwide study of 4741 patients with non-B non-C hepatocellular carcinoma with special reference to the therapeutic impact.	Ann Surg.	in press.		2013
Utsunomiya T. Tovuu LO (equal contribution), Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Arakawa Y, Mori H, Hanaoka J, Kanamoto M, Sugimoto K, Saito Y, Yamada S, Asanoma M, Shimada M.	The role of Aurora B expression in non-tumor liver tissues of patients with hepatocellular carcinoma.	Int J Clin Oncol.	in press.		2013
*Ogawa Y, Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Tomeno W, Shinohara Y, Kato S, Mawatari H, Nozaki Y, Fujita K, Kirikoshi H, Maeda S, Saito S, Wada K, Nakajima A.	Soluble CD14 Levels Reflect Liver Inflammation in Patients with Nonalcoholic Steatohepatitis.	PLoS One	8(6)	e65211	2013
*Tomeno W, Yoneda M, Imajo K, Ogawa Y, Kessoku T, Saito S, Eguchi Y, Nakajima A.	Emerging drugs for non-alcoholic steatohepatitis.	Expert Opin Emerg Drugs.	18(3)	279-290	2013
*Taketani H, Sumida Y, Tanaka S, Imajo K, Yoneda M, Hyogo H, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Kanemasa K, Chayama K, Itoh Y, Yoshikawa T, Saibara T, Fujimoto K, Nakajima A; Japan Study Group of NAFLD (JSG-NAFLD).	The association of insomnia with gastroesophageal reflux symptoms in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease.	J Gastroenterol.	in press.		2013

*Imajo K, Yoneda M, Ogawa Y, Wada K, <u>Nakajima A.</u>	Microbiota and nonalcoholic steatohepatitis.	Semin Immunopathol.	36	115-132	2014
*Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Ogawa Y, Maeda S, Sumida Y, Hyogo H, Eguchi Y, Wada K, <u>Nakajima A.</u>	Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease /nonalcoholic steatohepatitis.	Int J Mol Sci.	14(11)	21833-21857	2013
Kitamoto T, Kitamoto A, Yoneda Y, Hyogo H, Ochi H, Mizusawa S, Ueno T, Nakao K, Sekine A, Chayama K, <u>Nakajima A.</u> , Hotta K.	Targeted next-generation sequencing and fine linkage disequilibrium mapping reveals association of PNPLA3 and PARVB with the severity of nonalcoholic fatty liver disease.	Journal of Human Genetics	in press.		2014
Olszak T, Neves J, Dowds M, Baker K, Glickman J, Davidson N, Lin CS, Jobin C, Brand S, Sotlar K, Wada K, Katayama K, <u>Nakajima A.</u> , Mizuguchi H, Kawasaki K, Nagata K, Kaser A, Zeissig S, Schreiber S, Müller W, Snapper S, Blumberg R.	Protective mucosal immunity mediated by epithelial CD1d and IL-10.	Nature	in press.		2014
* <u>Chuma M.</u> , Sakamoto N, Nakai A, Hige S, Nakanishi M, Natsuizaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S.	Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor- κ B/mitogen-activated protein kinase.	Carcinogenesis	35(2)	272-281	2014

Kondo Y , Kato T, Kimura O, Iwata T, Ninomiya M, Kakazu E, Miura M, Akahane T, Miyazaki Y, Kobayashi T, Ishii M, Kisara N, Sasaki K, Nakayama H, Igarashi T, Obara N, Ueno Y, Morosawa T, Shimosegawa T.	1(OH) vitamin D3 supplementation improves the sensitivity of the immune-response during Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients-case controlled trial.	PLoS One	8(5)	e63672	2013
Ninomiya M, Kondo Y , Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Ueno Y, Nakayama K, Shimosegawa T.	Distinct microRNAs expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers.	PLoS One	8(6)	e66086	2013
Kondo Y , Shimosegawa T.	Direct effects of hepatitis C virus on the lymphoid cells.	World J Gastroenterol.	19(44)	7889-7895	2013
*Kogure T, Kondo Y , Kakazu E, Ninomiya M, Kimura O, Shimosegawa T.	Involvement of miRNA-29a in epigenetic regulation of transforming growth factor- β -induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma.	Hepato Res.	in press.		2013
Katagiri S, Yoshitake K, Akahori M, Hayashi T, Furuno M, Nishino J, Ikeo K , Tsuneoka H, Iwata T.	Whole-exome sequencing identifies a novel ALMS1 mutation (p.Q2051X) in two Japanese brothers with Alström syndrome.	Mol Vis.	19	2393-2406	2013

*IV. 研究成果の別冊あり

IV. 研究成果の刊行物・別冊

地域コホート研究からみた C型肝炎ウイルス持続感染者の 自然史

*Natural history of persistently infected-hepatitis C virus carrier
based on a cohort study in HCV hyperendemic area*

渡辺久剛¹・齋藤貴史¹・石橋正道²・新澤陽英³・河田純男^{1,4}

山形大学医学部消化器内科学¹，内科消化器科石橋医院²

公立置賜総合病院³，兵庫県立西宮病院⁴



キーワード 分子疫学研究，地域コホート，HCV，自然予後，遺伝子多型

要旨

山形大学医学部第二内科(消化器内科)では、1991年からC型肝炎ウイルス(HCV)感染多発地域において住民コホート研究を行ってきた。これまでの解析からは、HCV感染の疫学はもちろんのこと、HCV感染経過と宿主因子の関係、キャリアにおける自然治癒と肝発癌、HCV感染者の生命予後に関する知見が集積され、コホート研究の果たしてきた役割は大きいと思われる。とくに21世紀COEプログラムの一環として行ったHCV感染経過に関わる宿主遺伝子要因探索では、HCV感染感受性やウイルス複製、免疫応答に関与する複数の一塩基多型(SNP)が明らかとなった。わが国ではHCV感染例の高齢化が問題となっており、これら地域コホートを通じたキャリアの病診連携の推進が望まれる。

代表著者連絡先

渡辺久剛

Facsimile : 023-628-5311



対象となったコホート調査の町に関する基本情報

1990年秋、新澤陽英先生(当時 山形大学医学部第二内科(消化器内科))から石橋正道先生へ、C型肝炎ウイルス(HCV)に関する住民検診を担当するよう指示があったと聞いている。新澤先生は当時の予防協会や献血センターのデータから、山形県内にHCVの高浸淫地域が複数存在することを確信していたが、そのため、検診すべき対象自治体が県内複数に及ぶこととなり、以後数年にわたり、肝臓研究班のメンバーは検診業務に忙殺されることとなった。

なかでも現在まで追跡検診が続いているR町は、県南に位置する人口15,000人あまりの自治体であるが、1967~1973年にかけて河川沿いに急性肝炎が多発したことが当時の新聞記事などで報道されており、真っ先に本検診対象と考えられたことから、翌1991年から当教室とR町役場を中心に町全体のHCV感染実態調査を行うこととなった。新澤先生を中心とし、山形大学医学部第二内科の肝臓研究班が5年の歳月をかけて連日、町内すべての地域内の公民館などをくまなく回り、子供を含む全住民を対象に、採血を含めた感染実態調査を行ったのが現在の山形HCVコホートの始まりである。

はじめに

C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus : HCV)感染者の分布は世界的あるいは国内的に地域的な偏りがある。山形県においても HCV 感染者の地域分布には偏りがあり、高浸淫地域が存在する。そのような地域では、慢性肝臓病の予防のため積極的な医療介入が必要であるが、同時にそのような地域における分子疫学研究は、C型肝炎の未解決の問題を明らかにするうえできわめて重要である。

われわれは1991年より現在に至るまで、C型肝炎をターゲットとしたコホート設定とその追跡調査を行ってきた¹⁾⁻³⁾。また隣接したN市U地区住民3,814人に対し、1991~1992年にかけて2,382人(62.5%)のHCV感染実態を調査した。本稿では、これまで山形大学医学部第二内科(消化器内科)が行ってきた、長年にわたるHCV感染多発地区住民コホート研究からみえてきたHCV感染の疫学と、自然経過、感染者の予後について紹介したい。

I 山形コホート

本地域コホートは、R町全住民約15,000人を対象とした1991~1995年までのmass surveyと、1996年以降現在まで続くHCV RNA持続陽性者の追跡調査である。この地区は、何十年にもわたり人の出入りがきわめて少ない地区であるため、HCV感染自然史に関わる分子疫学研究に優れた地域と考えられる¹⁾。

1991年および1992年は6歳以上の4,655人を対象とし、1993~1995年にかけて30歳以上の住民10,709人に対し調査を行った。この間同時に2,568組の夫婦について、HCVの夫婦間感染実態についても検討した。Mass surveyの受診率は全住民15,364人中8,950人(58.3%)であり、うち1,078人(12%)がHCV抗体(hepatitis C virus antibody : anti-HCV)陽性であった。とくに1967~1973年にかけて原因不明の急性肝炎が多発したA地区では、HCV抗体陽性者は地区住民3,094人中602人(19.5%)に上り、その78.1%でHCV RNAが陽性であることが判明した³⁾。

年齢階層別のHCV抗体陽性率は、40歳未満ではわずか1.4%であるのに対し、40歳以上では32.4%と明らかに高く(図1)、また急性肝炎流行以前より住んでいた住民におけるHCV抗体陽性率は34.7%(559人/1,609人)であり、急性C型肝炎流行後に居住した住民のHCV抗体陽性率(9人/156人; 5.8%)と比べ有意に高いことがわかった。検診受診時調査票をもとに感染リスク要因を解析すると、手術歴、輸血歴、鍼治療歴が有意なリスク要因であることが当時の住民コホートから明らかにされた(表1)。

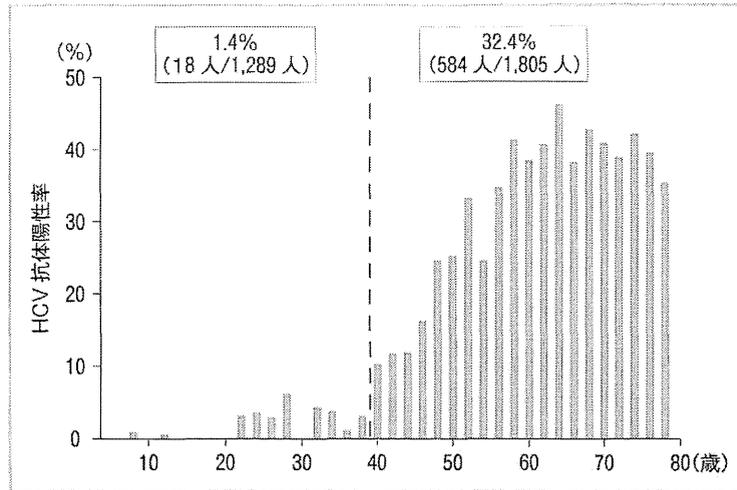


図1 年齢階層別の HCV 抗体陽性率

表1 A 地区における感染リスク要因

単変量解析	HCV 抗体 (%)		p 値
	陽性者 (n=339)	陰性者 (n=957)	
平均値	140 (41.3)	215 (22.5)	<0.001
新血歴	49 (14.5)	47 (4.9)	<0.001
発給済歴	89 (26.3)	139 (14.5)	<0.001
民間療法歴	12 (3.5)	14 (1.5)	<0.05
家族歴	75 (22.1)	168 (17.6)	NS

χ² 検定

多変量解析	オッズ比 (95%CI)	p 値
平均値	1.89 (1.41~2.54)	<0.0001
新血歴	2.05 (1.29~3.26)	<0.01
発給済歴	1.75 (1.27~2.40)	<0.001
民間療法歴	1.82 (0.79~4.12)	NS

多重ロジスティック解析

NS : not significant (有意差なし)

II 分子系統樹解析

コホート研究を始めて間のないころ、この多発地域における約 2,500 組の夫婦の HCV 感染実態について溝上雅史先生 (現 独立行政法人国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター) と共同研究を行った。共に HCV 抗体が陽性の 11 組の夫婦において感染 HCV の genotype を系統樹解析したところ、夫婦間で系統樹上の同一ウイルス株は認められず、HCV の夫婦間感染リスクはきわめて低いものと考えられた。