

B型肝炎における自然免疫の機能解明とその制御による発癌抑止法開発

分担研究者：松田浩一 東京大学医科学研究所 准教授

分担研究課題：B型肝炎の発癌感受性遺伝子の探索

研究要旨：発癌リスク感受性遺伝子であるMICAのプロモーター領域の解析の結果、SP1の結合に影響を与える機能的SNPを同定した。このSNPのGアレル特異的に転写因子SP1が結合し、遺伝子の発現を活性化することが明らかとなった。またこの遺伝子多型と血中MICA濃度が有意な関連を示した。これらの結果より、MICAが肝癌の感受性領域の責任遺伝子であることが示された。これまでに、HBV陽性肝癌約200例、慢性B型肝炎約2000例のゲノムワイドのタイピングが終了した。これらの結果を元に、新規のHBV陽性肝癌の感受性遺伝子の探索を進めている。

A. 研究目的

MICA多型及び分泌型MICAのHBV陽性肝癌の発症リスクや予後に及ぼす影響を検討することによって、B型肝炎における自然免疫の機能解明を目指す。

B. 研究方法

ゲノム創薬に向けた取り組みとして、MICAの活性化による肝癌予防法の開発を目指している。そこで実際にMICAが疾患感受性領域の原因遺伝子であるかを検証するために、MICA遺伝子のプロモーター領域について機能的なSNPの探索を行なった。

また新規の発癌関連遺伝子の同定を目的として、HBV陽性肝癌症例約200例、慢性B型肝炎症例約2000例を用いてゲノムワイドのタイピングを進めている。これらの結果を元に、新規のB型肝炎感受性遺伝子のスクリーニングを行う。

（倫理面への配慮）

本解析に用いた症例は全て、インフォームドコンセントを取得済みで、また各医療機関、研究機関の倫理委員会の承認済みである。

C. 研究結果

MICAのプロモーター領域にある12のSNPについて、網羅的にEMSAを行ったところ、rs2596538のGアレル特異的に

転写因子が結合することが同定された。インシリコの解析および抗体などを用いた競合阻害実験によって、SP-1が結合する可能性が示された。この結果は、レポーターアッセイ、CHIP assay、SP1の過剰発現がMICAの遺伝子発現量を増加させることなどから証明された（参考文献1）。C型の肝癌患者では、SP-1に対して親和性が高いGアレルを持つ人では、血清MICA値が高く、肝癌の発症リスクが低くなることから、MICAが肝癌発症に対して予防的に働くことが示された。MICAの活性化が肝癌の治療に有用となりうることが示された。

またこれまで収集を行った肝癌症例の内、発症原因不明な504例について血中HBs-Ag及び抗HCV抗体の測定を行った。その結果、B型肝炎11名、C型肝炎83名について発症原因を特定した。これらの結果を元に、HBV陽性肝癌症例約200例、慢性B型肝炎症例約2000例を用いた全ゲノムタイピングを施行中である。

D. 考察

rs2596542アレルとsMICAの相関についてはHCV陽性肝癌と同様の相関を示しており、HBV陽性肝癌においても遺伝子多型がMICAの発現制御に重要であることが示された。GWASで同定されたrs2596542は今回アレル特異的なSP1の結

合が示された rs2596538 と強い連鎖にあることから、rs2596538 が機能的な SNP である事、また MICA の発現量の違いが予後に影響を与えることが示された。

一方、B 型肝炎と C 型肝炎ではリスクアレルが逆転しているため、MICA の腫瘍発生、腫瘍免疫に対する機能も異なる可能性があるため、今後さらなる機能解析が必要となると考えられる。

また新規の疾患感受性遺伝子の同定が必須となる。現在我々は症例数を増やした解析を勧めている。

#### E. 結論

本解析の結果、MICA 多型が慢性 B 型肝炎患者の予後因子として有用であることが明らかとなった。現在新規の疾患感受性遺伝子の同定及びゲノム創薬に向けた研究を進めている。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Identification of a functional variant in the MICA promoter which regulates MICA expression and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk. Lo PH, Urabe Y, Kumar V, Tanikawa C, Koike K, Kato N, Miki D, Chayama K, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. PLoS One. 2013 Apr 11;8(4):e61279.

2. A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region.

Urabe Y, Ochi H, Kato N, Kumar V, Takahashi A, Muroyama R, Hosono N, Otsuka M, Tateishi R, Lo PH, Tanikawa C, Omata M, Koike K, Miki D, Abe H, Kamatani N, Toyota J, Kumada H, Kubo M, Chayama K, Nakamura Y, Matsuda K. J Hepatol. 2013 May;58(5):875-82.

3. Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility. Tanikawa C, Matsuo K, Kubo M, Takahashi A, Ito H, Tanaka H, Yatabe Y, Yamao K, Kamatani N, Tajima K, Nakamura Y, Matsuda K. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63698.

4. Germline variants and advanced colorectal adenomas: adenoma prevention with celecoxib trial genome-wide association study. Wang J, Carvajal-Carmona LG, Chu JH, Zauber AG; APC Trial Collaborators, Kubo M, Matsuda K, Dunlop M, Houlston RS, Sieber O, Lipton L, Gibbs P, Martin NG, Montgomery GW, Young J, Baird PN, Ratain MJ, Nakamura Y, Weiss ST, Tomlinson I, Bert gnolli MM. Clin Cancer Res. 2013 Dec 1;19(23):6430-7.

5. Genome-wide association study identifies a new SMAD7 risk variant associated with colorectal cancer risk in East Asians. Zhang B, Jia WH, Matsuo K, Shin A, Xiang YB, Matsuda K, Jee SH, Kim DH, Cheah PY, Ren Z, Cai Q, Long J, Shi J, Wen W, Yang G, Ji BT, Pan ZZ, Matsuda F, Gao YT, Oh JH, Ahn YO, Kubo M, Thean LF, Park EJ, Li HL, Park JW, Jo J, Jeong JY, Hosono S, Nakamura Y, Shu XO, Zeng YX, Zheng W. Int J Cancer. 2014 Jan 21. doi: 10.1002/ijc.28733.

##### 2. 学会発表

1. 発癌関連遺伝子解析 10 年のあゆみ バイオバンクシンポジウム 2013.1.28 品川、東京 (Invited speaker).

2. GWAS revealed the roles of gene-environmental interaction in carcinogenesis. JCA -AACR joint symposium. 2013.2.25 Maui, Hawaii, U.S.A. (Invited speaker).

3. 遺伝子、生活習慣と癌について 平成 25 年 3 月 9 日 第 15 回泌尿器疾患ゲノム解析研究会 高知 (Invited speaker).

4. MICA variation and soluble MICA are possible prognostic biomarkers for HBV-induced hepatocellular carcinoma 102th AACR meeting 2nd Apr 2012

5. 個別化医療へ向けた遺伝子多型研究 第 13 回 東京大学生命科学シンポジウム 2013.6.8 (Invited speaker).

6. The roles of gene-environmental interaction in human carcinogenesis. 日本癌学会シンポジウム 2013.10.2. 横浜

7. 「聞いて納得！遺 伝子と病気の関係  
～がん・糖尿病・アレルギーなど～」  
市民公開講座 ひとりひとりに合った医療  
をめざして」 2013.12.8. 盛岡 (Invited  
speaker).

G. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他