

厚生労働科学研究費補助金
がん臨床研究事業

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
(H23-がん臨床-一般-015)

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者：松田 浩一
平成 26 年 (2014) 年 5 月

目次

・ 統括研究報告書	
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-----	1
(東京大学医科学研究所、シーケンス技術開発分野 松田 浩一) (資料) 別紙1 研究体制図	
・ 分担研究報告	
1. 発癌リスクの解析、MICAを用いた癌治療薬開発に向けた検討-----	9
(東京大学医科学研究所、ゲノムシーケンス解析分野 谷川 千津)	
2. 血清・DNAの採取、臨床情報の収集・管理-----	13
(東京大学医科学研究所、疾患 ユニット 加藤 直也)	
3. 個別化医療の実施、血清・DNAの採取、臨床情報の収集・管理-----	16
(東京大学医学部附属病院・消化器内科学 小池 和彦)	
4. 臨床情報の収集・整理、発癌関連因子の検討-----	19
(国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター 溝上 雅史)	
5. 発癌関連因子の検討-----	22
(東京大学大学院医学系研究科、人類遺伝学 徳永 勝士)	
6. 発癌予測システムの構築、統計解析全般-----	25
(理化学研究所ゲノム医科学研究センター 高橋 篤)	
・ 研究成果の刊行に関する一覧表-----	27
・ 研究成果の刊行物、別刷-----	37

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
統括研究報告書（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

研究代表者 松田 浩一 東京大学医科学研究所 シークエンス技術開発分野 准教授

研究要旨：

癌による死亡原因の第4位である肝癌の約70%がHCVの感染に起因している。我々はHCV陽性肝癌の疾患感受性遺伝子としてMICAを同定した。この知見を元に、本研究では慢性C型肝炎患者に対する発癌リスク予測システムの構築 リスクに応じた治療方法選択による個別化医療の実現（介入試験） MICAの活性化による肝癌予防法・治療薬の開発を目的とする。

今年度は、具体的に以下の4つを行った。

共同研究施設においてHCV関連疾患患者のDNA・血清及び臨床情報の収集を進め、これまで東京大学医科学研究所、東京大学消化器内科、国立国際医療センター3施設あわせて慢性C型肝炎患者8000名、HCV陽性肝硬変2500名、HCV陽性肝癌患者2200名のサンプルを収集した。

HCV陽性肝癌やHCV陽性陽性肝硬変との関連遺伝子としてMICA及びHLA-DQを同定した。さらに新規の予後関連遺伝子の同定を目的に、慢性C型肝炎約4000例、HCV陽性肝癌1000例、HCV陽性肝硬変1200例を用いて、ゲノムワイドのタイピングを施行した。これらの結果を元に、新規疾患感受性遺伝子の探索を進めている。また既報の遺伝因子についても日本人症例での検討を行なった。その結果TULP1上のSNPは肝硬変のリスクと相関を示したが、他のSNPは関連を示さなかった。これらの結果より、HCV感染後の予後における人種差が明らかとなった。

MICAの発現を誘導する市販薬剤のスクリーニングの結果、MICAの発現を約20倍増加させる薬剤を同定した。発がんリスクを低下させるSNPはMICAの高値となることより、MICAの発現誘導することで、癌化が抑制されうると考えられた。薬剤によるMICA調節のメカニズムや、発現誘導における遺伝子多型の影響についてさらなる解析を進めている。

MICAのプロモーター解析の結果、rs2596542が機能的なSNPであることを明らかとした。疾患に対してnon-riskとなるGアレル特異的に転写因子SP1が結合し、MICAの発現量を増加させる事が示された。またMICA遺伝子の3' UTRに結合するmiR25-93-106b clusterによっても、MICAの発現が制御されることが示された。

今回の解析によって、MICAを含む複数の遺伝子多型がHCV陽性肝癌・肝硬変の発症と関連することが示された。これまでに延べ10000人近いHCV関連疾患患者の臨床情報及びDNAが収集されており、患者の多くで血清が複数年度に渡って収集されている。我々が有する症例は、世界レベルでも最大規模の患者コホートと考えられる。我々のゲノム解析によって同定された予後予測因子を実際にこれらの患者群で検証することにより、バイオマーカーとしての有用性が確認出来れば、介入試験に向けたモデルの構築が可能となる。

またMICAの発現制御に関わる転写因子や、miRNAが複数明らかとなっており、また実際に発現を誘導可能な薬剤も同定された。MICAが高くなりやすい方では、肝癌のリスクが高くなることから、MICAの発現を誘導することで、肝癌の予防、治療に役立つと期待される。今後は、遺伝子型を中心とした個人ごとの予後予測だけでなく、薬剤を用いた治療法の開発に向けて研究を進めていく予定である。

研究分担者

谷川 千津 東京大学医科学研究所 ゲノムシーケンス解析分野 博士研究員

加藤 直也 東京大学医科学研究所 疾患制御ゲノム医学ユニット 特任准教授

小池 和彦 東京大学医学部附属病院 消化器内科学 教授

溝上 雅史 国立国際医療研究センター肝炎・免疫研究センター センター長

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

高橋 篤 理化学研究所 ゲノム医科学研究センター 統計解析チーム チームリーダー

A. 研究目的

肝癌は癌による死亡原因の第4位で、その内約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。我々はMHC class1 相同分子であるMICAの遺伝子多型がHCV陽性肝癌の発症リスクを2倍高める事、また高リスク群であるAAタイプではGGタイプより血中MICA濃度が低くなる(0 vs 68.5 pg/ml)事を明らかとした。Natural killer (NK)細胞はNKG2D受容体を介してMICAを高発現する腫瘍細胞・ウイルス感染細胞を認識し、殺細胞効果を発揮する。AAタイプではMICAの発現が低下する事によりNK細胞の監視機構から逃れ、その結果肝癌の発症リスクが上昇すると考えられる。以上の研究成果より、血中MICAが肝癌発症リスクのバイオマーカーとなる事、さらにはNKG2D-MICA経路の活性化が発癌予防につながる可能性が示された。

本研究では、これまでの知見を元に以下の2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**の構築と検証
- 2.MICAの活性化による肝癌予防法・治療薬の開発(**ゲノム創薬**)

B. 研究方法

本年度は、具体的に以下の2つを行った。

1. 比較対照研究による肝癌、肝硬変発症リスク予測システムの構築

共同研究機関において：慢性C型肝炎、HCV陽性肝硬変、HCV陽性肝癌症例の収集を進めた。東京大学医科学研究所、東京大学消化器内科、国立国際医療センター国府台病院を合わせて、慢性C型肝炎患者8000名、HCV陽性肝硬変2500名、HCV陽性肝癌患者2200名のサンプルを収集した。

また東京大学医科学研究所の症例を中心にIllumina Omni express exome, Illumina HumanHap610のプラットフォームを用いたタイピングを行なう。上記の症例に加え、健常者30000人のデータをを用いて、慢性C型肝炎、HCV陽性肝硬変、HCV陽性肝癌の発症リスクに関する因子を検討する。

臨床情報の整理は小池、加藤、溝上が行い、遺伝子多型のタイピングは松田、谷川、徳永が担当、統計解析を高橋が担当する。

さらに患者由来の血清を用いてMICAの濃度測定を松田、加藤が行なう。この結果を基にリスク予測システムを加藤、高橋が構築する。

2. 慢性肝炎・肝癌患者におけるMICAの制

御機構の解析とゲノム創薬に向けた研究

MICA の HCV 関連疾患における生理的意義について、分子生物学的な手法により以下の項目を検討する。解析は谷川、松田が担当する。

1. HCV 感染による MICA の発現誘導機構の解明と遺伝子多型の影響を検討する。
2. MICA の活性化による肝癌治療・予防法の開発に向けて、MICA の発現を誘導可能な化合物をスクリーニングする。

(倫理面への配慮)

本研究に参加される患者の方は全員インフォームドコンセントを取得済みであり、また研究計画は各医療機関において倫理審査委員会の承認済みである。

C. 研究結果

1. 比較対照研究による肝癌、肝硬変発症リスク予測システムの構築

慢性 C 型肝炎から肝硬変への進展と関連する遺伝因子を探索する目的で、HCV 陽性肝硬変患者 682 名、慢性 C 型肝炎患者 943 名を用いて約 60 万箇所の遺伝子型を決定し、相関解析を行った。その結果、10 箇所の SNP が肝硬変の発症リスクと強く関連することが明らかとなった。さらにこれらの SNP について、肝硬変 936 症例、慢性 C 型肝炎 3786 症例で検討した結果、MHC 領域上の 5 SNP が強い関連を示した。またこれまで肝障害、肝組織の線維化との関連が報告されている HLA 遺伝子についても検討を進めた所、複数の HLA アレルが肝硬変のリスクとなることが明らかとなった。多変量解析の結果、最終的に 3 つの遺伝子多型が肝硬変の発症リスクと独立して関連することを明らかと

し、これらの遺伝子多型を用いた肝硬変発症リスク予測システムを構築した(参考文献 1)。また既報の遺伝因子についても日本人症例での検討を行なった。その結果 TULP1 上の SNP は肝硬変のリスクと相関を示したが、他の SNP は関連を示さなかった。これらの結果より、HCV 感染後の予後における人種差が明らかとなった。

2. 慢性肝炎・肝癌患者における MICA の制御機構の解析とゲノム創薬に向けた研究

遺伝子多型の MICA の発現調節機構の解明をまず進めた。MICA のプロモーターの解析の結果、アレル特異的に転写因子 SP-1 が結合し、MICA の転写を活性化する事が示された。また Heat shock 等のストレス刺激によって、MICA の発現量が上昇することが明らかとなった(参考文献 2)。SP-1 に対して親和性が高い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、MICA の活性化が肝癌の治療に有用となりうる事が示された。

また MICA の発現を誘導する市販薬剤のスクリーニングの結果、MICA の発現を約 20 倍増加させる薬剤を同定した。発がんリスクを低下させる SNP は MICA の高値となることより、MICA の発現誘導することで、癌化が抑制されうると考えられた。薬剤による MICA 調節のメカニズムや、発現誘導における遺伝子多型の影響についてさらなる解析を進めている。

D. 考察

我々の遺伝子解析の結果、慢性C型肝炎の予後とかかわる複数の新規遺伝因子が明らかとなった。また欧米人の解析で報告された遺伝因子が必ずしも日本人で関連を示さないことから、日本人の症例での検討する必要性が示された。今後遺伝因子やウイルス側の因子を組み合わせることによって発癌予測システムの構築を目指す。

さらには、MICA の発現調節機構の解明と、慢性C型肝炎、肝癌患者においてMICAの活性化を介した治療法の開発を目指して。

E. 結論

今回の解析によって、MICAを含む複数の遺伝子多型がHCV陽性肝癌・肝硬変の発症と関連することが示された。これまでに延べ10000人近いHCV関連疾患患者の臨床情報及びDNAが収集されており、患者の多くで血清が複数年度に渡って収集されている。我々が有する症例は、世界レベルでも最大規模の患者コホートと考えられる。我々のゲノム解析によって同定された予後予測因子を実際にこれらの患者群で検証することにより、バイオマーカーとしての有用性が確認出来れば、介入試験に向けたモデルの構築が可能となる。

またMICAの発現制御に関わる転写因子や、miRNAが複数明らかとなっており、また実際に発現を誘導可能な薬剤も同定された。MICAが高くなりやすい方では、肝癌のリスクが高くなることから、MICAの発現を誘導することで、肝癌の予防、治療に役立つと期待される。今後は、遺伝子型を中心とした個人ごとの予後予測だけでなく、薬剤を用いた治療法の開発に向けて研究を進

めていく予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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).
2. 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 (2013) e61279.
3. A. Aarnink, H.J. Garchon, Y. Okada, A. Takahashi, K. Matsuda, 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 : JTH* 11 (2013) 384-386.
4. J. Wang, L.G. Carvajal-Carmona, J.H. Chu, A.G. Zauber, A.T. Collaborators, M. Kubo, K. Matsuda, 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* (2013).

5.C.M. O'Seaghdha, H. Wu, Q. Yang, K. Kapur, I. Guessous, A.M. Zuber, A. Kottgen, C. Stoudmann, A. Teumer, Z. Kutalik, M. Mangino, A. Dehghan, W. Zhang, G. Eiriksdottir, G. Li, T. Tanaka, L. Portas, L.M. Lopez, C. Hayward, K. Lohman, K. Matsuda, S. Padmanabhan, D. Firsov, R. Sorice, S. Ulivi, A.C. Brockhaus, M.E. Kleber, A. Mahajan, F.D. Ernst, V. Gudnason, L.J. Launer, A. Mace, E. Boerwinckle, D.E. Arking, C. Tanikawa, Y. Nakamura, M.J. Brown, J.M. Gaspoz, J.M. Theler, D.S. Siscovick, B.M. Psaty, S. Bergmann, P. Vollenweider, V. Vitart, A.F. Wright, T. Zemunik, M. Boban, I. Kolcic, P. Navarro, E.M. Brown, K. Estrada, J. Ding, T.B. Harris, S. Bandinelli, D. Hernandez, A.B. Singleton, G. Girotto, D. Ruggiero, A.P. d'Adamo, A. Robino, T. Meitinger, C. Meisinger, G. Davies, J.M. Starr, J.C. Chambers, B.O. Boehm, B.R. Winkelmann, J. Huang, F. Murgia, S.H. Wild, H. Campbell, A.P. Morris, O.H. Franco, A. Hofman, A.G. Uitterlinden, F. Rivadeneira, U. Volker, A. Hannemann, R.

Biffar, W. Hoffmann, S.Y. Shin, P. Lescuyer, H. Henry, C. Schurmann, P.B. Munroe, P. Gasparini, N. Pirastu, M. Ciullo, C. Gieger, W. Marz, L. Lind, T.D. Spector, A.V. Smith, I. Rudan, J.F. Wilson, O. Polasek, I.J. Deary, M. Pirastu, L. Ferrucci, Y. Liu, B. Kestenbaum, J.S. Kooner, J.C. Witteman, M. Nauck, W.H. Kao, H. Wallaschofski, O. Bonny, C.S. Fox, M. Bochud, Meta-analysis of genome-wide association studies identifies six new Loci for serum calcium concentrations. *PLoS Genet* 9 (2013) e1003796.

5. 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 (2013) 588-593.
6. 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. *PloS one* 8 (2013) e63698.
7. C. Tanikawa, Y. Okada, A. Takahashi, K. Oda, N. Kamatani, M. Kubo, Y. Nakamura, K. Matsuda, Genome wide association study of age at menarche in the Japanese population. *PloS one* 8 (2013) e63821.
8. 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. *J Hum Genet* 58 (2013) 21-26.
- 9.S.W. Yee, J.A. Mefford, N. Singh, M.E. Percival, A. Stecula, K. Yang, J.S. Witte, A. Takahashi, M. Kubo, K. Matsuda, K.M. Giacomini, C. Andreadis, Impact of polymorphisms in drug pathway genes on disease-free survival in adults with acute myeloid leukemia. *J Hum Genet* 58 (2013) 353-361.
- 10.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. Journal international du cancer* (2014).
- 11.T. Kashiwara, 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 (2014) e87220.
- 12.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* (2014).
- ## 2. 学会発表
1. A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region. AACR 2013 3rd April 2013.
 2. ゲノムワイド関連解析による疾患感受性遺伝子の探索-病気になりやすい体質とは?- 第3回泌尿器科最新治療セミナー 福島県立医大 23rd April 2013
 3. 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 8th June 2013 (招待講演).
 4. 個別化医療へ向けた遺伝子多型研究 第36回日本がん疫学・分子疫学研究会 29th 21st June 2013 (招待講演)
 5. 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
 6. 「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).
 7. GWAS of diseases related with Helicobacter pylori infection. The 4th

JCA-AACR Symposia: 17th Dec 2013
(Invited)

8. 全ゲノム関連解析による 発癌リスク、
予後予測因子の探索「がん臨床診断研究の
検証支援によるバイオマーカー開発の迅速
化」公開シンポジウム 2013.12.16. 横浜
(Invited speaker).

9. 慢性 B 型肝炎のゲノムワイド遺伝的関
連研究 JDDW W3(肝臓、消化器) 2013.10.9.
東京(Invited speaker).

F. 知的所得権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

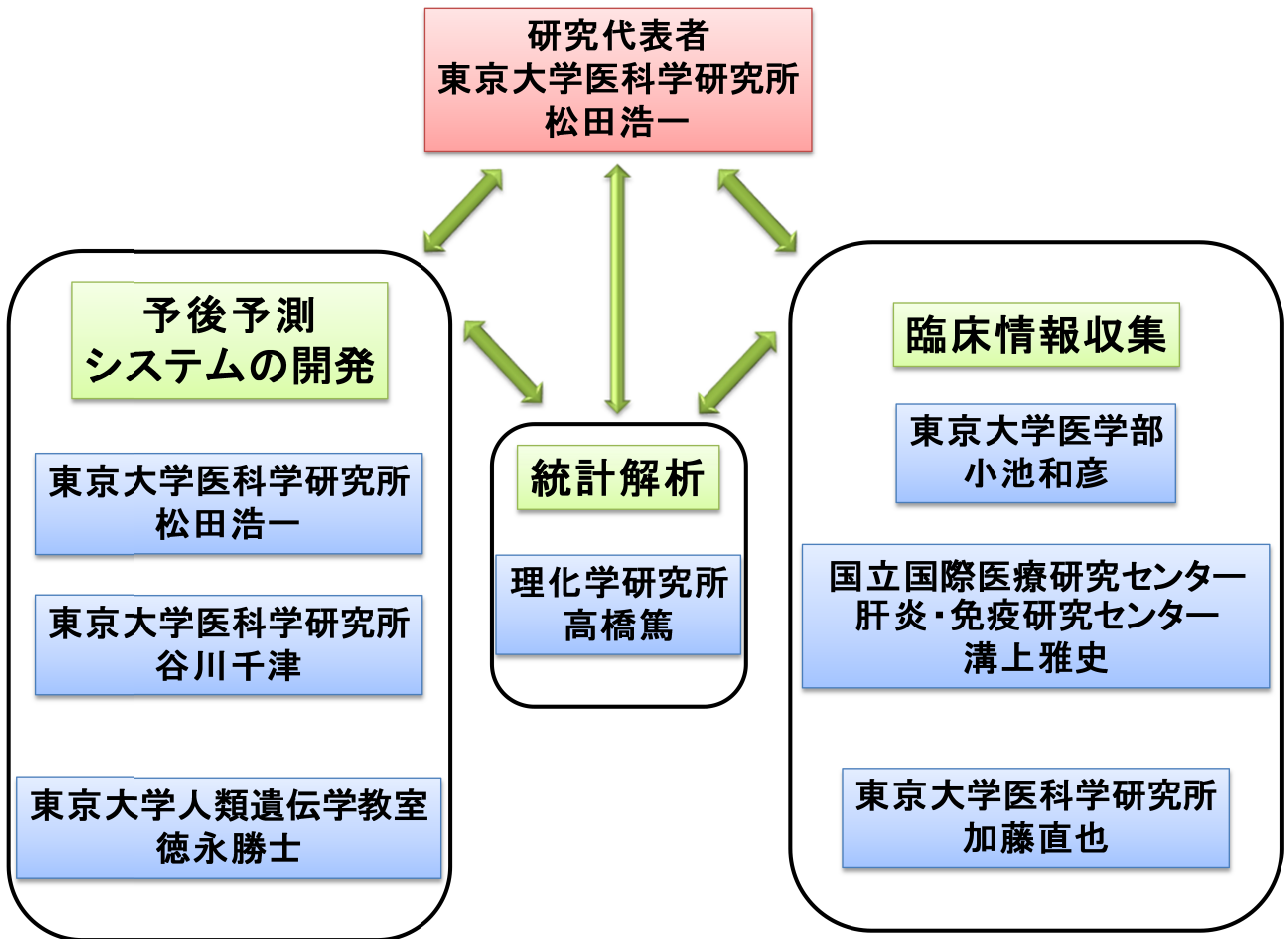
2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

別紙1 研究体制図



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：谷川 千津 東京大学医科学研究所 ゲノムシーケンス解析 助教

分担研究課題：発癌リスクの解析、MICA を用いた癌治療薬開発に向けた検討

研究要旨：遺伝子多型のデータベースの整備と一度に多量のSNP情報を比較的安価にかつ正確に決定できる技術の進歩によって、2007年以降全ゲノム関連解析は疾患感受性遺伝子探索のスタンダードな手法となっている。これまで多数の感受性遺伝子が同定されているにも関わらず、その多くはどのような機序によって疾患リスクを高めるかは明らかになっていない。我々はHCV陽性肝癌の疾患感受性遺伝子としてMICAを同定した。また病気になりやすい遺伝子型を持つ肝癌患者では、血液中のMICAを値が高値となる事が明らかとなった。これらの知見を元に、本研究では遺伝子多型によるMICAの発現制御機構の解明と、MICAの活性化による肝癌予防法・治療薬の開発を目的とする。

H25年度は、MICAのプロモーター領域内で機能的なSNPの同定を試みた。またこのSNPと血清MICA値や発癌リスクとの関連を検討した。さらなるMICA多型の他の発癌に及ぼす影響について検討した。H25年度の成果として、MICAのプロモーター解析の結果、アレル特異的な転写因子SP1の結合を明らかとした。また肝癌以外については、有意な相関を認めなかった。MICAはHCV陽性肝癌、HBV陽性肝癌共に高発現していることから、MICAに対する抗体を用いることによって、肝癌に対して抗腫瘍効果が期待できる。

A. 研究目的

本研究では、MICA の遺伝子多型が肝癌の発症リスクを制御する機序について、分子生物学的なアプローチによって解析を行う。最終的にはMICA を標的としたゲノム創薬を目指す。

B. 研究方法

オーダーメイド医療実現化プロジェクトによって収集された、HCV 関連疾患患者の遺伝子解析結果を元に、機能的な SNP の同定を試みた。まず MICA 遺伝子周辺領域について Imputation 解析を行うことで、強く関連を示す SNP を抽出した。さらに上位の候補 SNP について EMSA, CHIP アッセイを行い、アレル特異的に結合する転写因子の探索を

進めた。また HBV 陽性肝癌における MICA の SNP 及び分泌型 MICA の臨床的な意義についても検証した。

（倫理面への配慮）

本研究に参加される患者の方は全員インフォームドコンセントを取得済みであり、また研究計画は各医療機関において倫理審査委員会の承認済みである。

C. 研究結果

Imputation 解析の結果、MICA 遺伝子領域周辺に約 100 箇所の強い関連を示す SNP が存在することが明らかとなった。しかしながら分泌型 MICA 値及び疾患リスクと相関を示す coding 領域の SNP が存在しなかつ

た事から、転写制御領域の SNP に着目して検証を進めた。強い関連を示した 15 NSP について EMSA を行った所、転写開始点 2.8kb 上流の SNP がアレル特異的な転写因子の結合を示した。さらに CHIP アッセイを行った結果、SP1 が protective アレル特異的に結合し、更に転写を活性化することが明らかとなった。また SP1 の過剰発現によって、MICA の発現量が増加した。以上の結果より、SP1 の結合状態を変えることで、アレル特異的な発現量変化がもたらされると考えられる。

D. 考察

肝癌の低リスク群は血中の MICA の値が高値を示したことから、膜上で発現した MICA が免疫細胞を活性化することで疾患予防的に働くことが示唆された。

また HBV 陽性肝癌では、血中の MICA 値と MICA 遺伝子型との関係は HCV 陽性肝癌と同様の結果を示したが、リスクアレルが逆転していた。膜型の MMP が HBV 感染者では高発現している事が報告されている事より、膜上での切断によって、癌抑制的に働く膜型 MICA より oncogenic な働きを示す分泌型 MICA 優位となり、その結果リスクアレルの逆転現象が生じていると考えられる。この結果より、MICA の発現を高めるとともに、MICA の切断を抑制することが癌化の予防、治療に有効であることが示唆された。

E. 結論

我々の解析によって、MICA の遺伝子多型がどのような機序で発癌リスクを制御するかが明らかとなった。また低リスク群は血中の MICA の値が高値を示したことから、膜上で発現した MICA が免疫細胞を活性化する

ことで疾患予防的に働くことが示唆された。MICA に対する抗体を用いることで、分泌型 MICA の oncogenic な機能をブロック、また膜型 MICA に対する ADCC 活性を介して、治療薬となりうる可能性が示された。また薬剤による MICA の発現誘導も有効であると期待される。今後のこれらの成果を元に、治療薬の開発を目指す予定である。

F. 研究発表

論文発表

1. 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).
2. 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 (2013) e61279.
3. C.M. O'Seaghda, H. Wu, Q. Yang, K. Kapur, I. Guessous, A.M. Zuber, A. Kottgen, C. Stoudmann, A. Teumer, Z. Kutalik, M. Mangino, A. Dehghan, W. Zhang, G. Eiriksdottir, G. Li, T. Tanaka, L. Portas, L.M. Lopez, C. Hayward, K. Lohman, K. Matsuda, S. Padmanabhan, D. Firsov, R. Sorice, S. Ulivi,

- A.C. Brockhaus, M.E. Kleber, A. Mahajan, F.D. Ernst, V. Gudnason, L.J. Launer, A. Mace, E. Boerwinckle, D.E. Arking, **C. Tanikawa**, Y. Nakamura, M.J. Brown, J.M. Gaspoz, J.M. Theler, D.S. Siscovick, B.M. Psaty, S. Bergmann, P. Vollenweider, V. Vitart, A.F. Wright, T. Zemunik, M. Boban, I. Kolcic, P. Navarro, E.M. Brown, K. Estrada, J. Ding, T.B. Harris, S. Bandinelli, D. Hernandez, A.B. Singleton, G. Girotto, D. Ruggiero, A.P. d'Adamo, A. Robino, T. Meitinger, C. Meisinger, G. Davies, J.M. Starr, J.C. Chambers, B.O. Boehm, B.R. Winkelmann, J. Huang, F. Murgia, S.H. Wild, H. Campbell, A.P. Morris, O.H. Franco, A. Hofman, A.G. Uitterlinden, F. Rivadeneira, U. Volker, A. Hannemann, R. Biffar, W. Hoffmann, S.Y. Shin, P. Lescuyer, H. Henry, C. Schurmann, P.B. Munroe, P. Gasparini, N. Pirastu, M. Ciullo, C. Gieger, W. Marz, L. Lind, T.D. Spector, A.V. Smith, I. Rudan, J.F. Wilson, O. Polasek, I.J. Deary, M. Pirastu, L. Ferrucci, Y. Liu, B. Kestenbaum, J.S. Kooner, J.C. Witteman, M. Nauck, W.H. Kao, H. Wallaschofski, O. Bonny, C.S. Fox, M. Bochud, Meta-analysis of genome-wide association studies identifies six new Loci for serum calcium concentrations. *PLoS Genet* 9 (2013) e1003796.
4. **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. *PloS one* 8 (2013) e63698.
5. **C. Tanikawa**, Y. Okada, A. Takahashi, K. Oda, N. Kamatani, M. Kubo, Y. Nakamura, K. Matsuda, Genome wide association study of age at menarche in the Japanese population. *PloS one* 8 (2013) e63821.
6. 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. *J Hum Genet* 58 (2013) 21-26.
7. 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* (2014).

1. 学会発表

- 1) A genome-wide association study identifies PSCA as a susceptible locus for gastric cancer and duodenal ulcer in the Japanese population. Chizu Tanikawa, Koichi Matsuda, and Yusuke Nakamura 104th American association of cancer research. Washington D.C., USA 2013.4.7.
- 2) p53-PADI4 経路によるシトルリン化基質の探索. Chizu Tanikawa, Koichi Matsuda, Yataro Daigo, Yusuke Nakamura 第 72 回 日本癌学会学術総会 横浜 2013.10.3.
- 3) Identification of candidate tumor suppressor gene LBC1 in breast cancer 第 72 回 日本癌学会学術総会 横浜 2013.10.3-5.
- 4) p53 は p53IRI の発現誘導を介して細胞内鉄量の調節に関与する. 第 72 回 日本癌学会学術総会 横浜 2013.10.3-5.

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

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：加藤 直也・東京大学医科学研究所 先端ゲノム医学分野・准教授
研究協力者：室山 良介・東京大学医科学研究所 先端ゲノム医学分野・特任助教
後藤 覚・東京大学医科学研究所 先端ゲノム医学分野・日本学術振興会
特別研究員

分担研究課題：前向きコホートの検討、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：慢性C型肝炎からの発癌にMICA遺伝子上のSNPが関与すること、その遺伝子型と血中MICA濃度が強く相関すること、から、リスクに基づいた個別化医療の実現を目的として、1) MICAの発現調節機構の解明、および2) MICAを標的としたゲノム創薬、につき取り組んだ。その結果、1) MICAの発現にはmiRNAが重要な役割を担っていること、MICAの遺伝子座のSNPによる血中MICA濃度の違いは、プロモーター領域上のSNPによる転写活性の相違により規定されていること、を見出した。また、2) MICA発現を上昇させる薬剤を見出した。本研究の成果を、患者の予後改善や治療に伴う負担の減少、ならびに日本発の肝発癌予防薬の開発に結びつけたいと考えている。

A. 研究目的

- 1) MICA の発現調節において、その SNP が microRNA (miRNA) を介する制御に関与しているかどうか、また、同様に SNP が mRNA の転写活性に影響をおよぼしているかどうかにつき明らかにする。
- 2) MICA 発現を増強する薬剤の探索を目的とする。

B. 研究方法

- 1) 肝癌細胞株のうち、C 型肝炎のプロテクティブアレルを有する HLE 細胞と、リスクアレルを有する Huh7 細胞の配列を検討に用いた。miRNA を介する制御については、MICA の 3'-UTR を 3'-UTR luc vector にクローニングして、ルシフェラーゼ活性を測定することにより検討した。転写活性については、MICA のプロモーター領域を Luc vector にクローニングして、ルシフェラーゼ活性を測定することにより検討した。

- 2)肝癌細胞株として Huh7、PLC/PRF/5、HepG2 細胞を用いた。薬剤は米国食品医薬品局（FDA）承認薬剤をスクリーニングに用いた。MICA mRNA 発現は qRT-PCR により測定した。MICA タンパク質は Immunofluorescence および FACS により検出した。培養細胞上清中可溶性 MICA(sMICA) 濃度は ELISA により測定した。転写活性については、MICA のプロモーター領域を Luc vector にクローニングして、ルシフェラーゼ活性を測定することにより検討した。細胞毒性は細胞によるテトラゾリウム塩還元産物の培養上澄中吸光度により測定した。

（倫理面への配慮）

本研究は、今までのところ培養細胞株を用いた検討を行っており、倫理面への配慮は特に必要ない。将来的にヒト由来試料を用いる場合には、厚生労働省等により定められた「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関

する倫理指針」を遵守する。

C. 研究結果

1) MICA の 3'-UTR 領域をクローニングした 3'-UTR luc vector を用いた検討では、HLE, Huh7 細胞由来の配列とともにルシフェラーゼ活性の低下を認めたが、両者間に差は認められなかった。

一方、MICA のプロモーター領域をクローニングした Luc vector を用いた検討では、Huh7 細胞由来の配列に比し、HLE 細胞由来の配列では約 3~4 倍、ルシフェラーゼ活性が高値であった。両者間のルシフェラーゼ活性の相違を生じさせる SNP を探索したところ、現在までにプロモーター領域上の 2 SNPs が候補 SNPs として見出された。

2) 構築した MICA プロモーター活性測定細胞系を用いて FDA 承認薬剤ライブラリーを用いて強力に MICA プロモーターを活性化させる薬剤を複数同定した。そのうち、最も強力な活性を示した薬剤により処理を行った結果、細胞毒性をもたらさない濃度においてレポーター細胞の濃度依存的なルシフェラーゼ活性上昇が認められると共に、Huh7、PLC/PRF/5、HepG2 細胞において MICA mRNA、細胞膜上タンパク質、sMICA 濃度の上昇が観察された。

D. 考察

1) MICA の発現調節に、miRNA の関与が示唆されたが、3'-UTR 上の SNP は影響しない。一方、MICA の転写活性にはプロモーター上の SNP が影響しており、この SNP の違いにより、MICA の発現量が異なると考えられた。

2) FDA 承認薬ライブラリーを用いたスクリーニングにより同定した候補薬剤のうち最も強力な活性を有していたものは他の癌腫に対して現在使用されている抗癌剤であるため、早期に肝癌治療にも応用されると期待される。今後は同定した薬剤の抗肝癌効果を調べるための培養細胞系またモデル動物を用いた免疫細胞による抗腫瘍効果検証実験、MICA 誘導作用機序の分子レベル

での解析、大規模ハイスループットスクリーニングを視野に入れており、同定した薬剤の MICA 発現増強機序の解明と共に、新規に同定される低分子化合物は肝癌に対する抗腫瘍免疫療法の魅力的な候補となることが期待される。

E. 結論

1) MICA の発現には miRNA が重要な役割を担っており、MICA の遺伝子座の SNP による血中 MICA 濃度の違いは、プロモーター領域上の SNP による転写活性の相違により規定されていた。

2) MICA 発現を上昇させる薬剤を見出した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Lo PH, Urabe Y, Kumar V, Tanikawa C, Koike K, Kato N, 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 2013; 8: e61279

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. A genome-wide association study of HCV induced liver cirrhosis in the Japanese population identifies novel susceptibility loci at MHC region. J Hepatol 2013; 58: 875-882

Goto K, Lin W, Zhang L, Jilg N, Shao RX, Schaefer EA, Zhao H, Fusco DN, Peng LF, Kato N, Chung RT. The AMPK-related kinase SNARK regulates hepatitis C virus replication and pathogenesis through enhancement of TGF- β Signaling. J Hepatol 2013; 59: 942-948

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 (Epub ahead of print)

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: e91822

Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, 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. *Hepatology* 2013 (Epub ahead of print)

2. 学会発表

Naoya Kato, Vinod Kumar, Ryosuke Muroyama, Ryosuke Tateishi, Yasuhito Tanaka, Masashi Mizokami, Masao Omata, Kazuhiko Koike, Koichi Matsuda. MICA plays an opposite role in hepatocarcinogenesis between hepatitis B and hepatitis C. 48th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Amsterdam, Netherlands. 24-28 April, 2013

Kaku Goto, Ryosuke Muroyama, Wenwen Li, Norie Kowatari, Ryo Nakagawa, Naoya Kato. Effective inducers of a GWAS-discovered anti-HCC gene MICA. 20th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses. Melbourne, Australia. 7 October, 2013

Ryosuke Muroyama, Vinod Kumar, Kaku Goto, Norie Kowatari, Wenwen Li, Ryo Nakagawa, Ryosuke Tateishi, Yasuhito Tanaka, Masashi Mizokami, Masao Omata, Kazuhiko Koike, Koichi Matsuda, Naoya Kato. MICA might have opposite effect on hepatocarcinogenesis between B-HCC and C-HCC. 2013 International Meeting on Molecular Biology of

Hepatitis B Viruses. Shanghai, China. 22 October, 2013

Kaku Goto, Ryosuke Muroyama, Wenwen Li, Norie Kowatari, Ryo Nakagawa, Naoya Kato. An HCV-HCC susceptibility gene MICA found in GWAS was effectively induced by HDAC inhibitors. The Liver Meeting 2013. Washington, DC, U.S.A. 2 November, 2013

加藤直也、室山良介、小池和彦．肝発癌において自然免疫関連分子 MICA は B 型肝炎と C 型肝炎では反対の役目を担っている．第 49 回日本肝臓学会総会．東京．2013 年 6 月 6-7 日

後藤 覚、室山良介、李ウエンウエン、中川良、古渡礼恵、加藤 直也．GWAS により同定された肝癌感受性遺伝子 MICA の発現を誘導する薬剤の探索．第 72 回日本癌学会学術総会．横浜．2013 年 10 月

室山良介、松田浩一、加藤直也．ゲノムワイド関連解析による C 型肝炎硬変/肝癌の感受性遺伝子の同定．第 17 回日本肝臓学会大会．東京．2013 年 10 月 9 日-10 日．

後藤 覚．GWAS における HCV-HCC 感受性遺伝子 MICA の発現誘導剤探索．肝炎ウイルス研修会 2013．東京．2013 年 12 月 18 日

H. 知的所得権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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：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 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への守秘義務、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 I128b 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. I128b 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, Shalpour 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。

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例の肝発癌、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, 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- 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

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。

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 群間で発症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症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、Genotypeing 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、発症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 関連肝臓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

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

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, 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
A. Aarnink, H.J. Garchon, Y. Okada, A. Takahashi, K. Matsuda, 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. Zauber, A.T. Collaborators, M. Kubo, K. Matsuda, 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, <u>K. Matsuda,</u>	Impact of PSCA variation on gastric ulcer susceptibility.	<i>PloS one</i>	;8(5):	e63698.	2013
C.M. O'Seaghdha, <u>K Matsida,</u> 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, <u>K. Matsuda,</u> 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, <u>K. Matsuda,</u> , 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, <u>K. Matsuda,</u> 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'Seaghda, 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, Kato N, 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
Goto K, 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, 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, <u>Kato N</u> , Tateishi R, <u>Muroyama R</u> , Kowatari N, Li W, Goto K, 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 Arteriportography as a Pretreatment Examination for Hepatocellular Carcinoma Patients: A Randomized Controlled Trial.	Am J Gastroenterol	ePub ahead of print		2013
Mikoshihita 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, 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	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

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, <u>Mizokami M</u> , 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
Watanabe T, Sugauchi F, Tanaka Y, Matsuura K, Yatsushashi H, Murakami S, Iijima S, Iio E, Sugiyama M, Shimada T, Kakuni M, Kohara M, <u>Mizokami M</u> .	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
Nao Nishida, <u>Katsushi Tokunaga</u> , Masashi Mizokami	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、 <u>徳永勝士</u> 、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

