

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：B型肝炎の慢性化・ウイルス排除に関連する遺伝要因について、HLA アリルおよび免疫関連遺伝子群を網羅的に探索する研究

2. 研究開発代表者：澤井 裕美（東京大学大学院医学系研究科）

3. 研究開発の成果

①持続感染・ウイルス排除に関連するHLA-DPアリの同定

(1) 日本人 HBV 患者群 (CH, LC, HCC 含む) 489 検体、HBV 既往感染者群 335 検体、健常者群 467 検体 (計 1,291 検体) に対して、*HLA-DPA1* および *HLA-DPBI* の HLA タイピングを実施した。また、韓国集団計 586 検体、香港集団計 661 検体、およびタイ集団計 629 検体についても HLA タイピングを実施した。

(2) 日本人集団の HBV 患者群と健常者群の *HLA-DPBI* アリの関連解析を実施した。既報の *HLA-DPBI*04:02* (抵抗性)、*DPBI*05:01* (感受性) での有意な関連に加え、これまでに報告されていない 2 つの抵抗性アリ (*DPBI*02:01*, *DPBI*04:01*) と 1 つの感受性アリ (*DPBI*09:01*) で新たに関連が示された。*HLA-DPA1* と *-DPBI* のハプロタイプ解析を実施したが、特定のハプロタイプで関連が相加的に強まる事はなく、*HLA-DPBI* の特定のアリが、HBV 持続感染に対する感受性および抵抗性に重要である事が示唆された。

(3) 韓国集団、香港集団、タイ集団において HLA 関連解析を実施し、韓国集団では日本集団と共通のアリが感受性・抵抗性に関連し、香港集団およびタイ集団では、日本集団とは異なるアリが関連する事が示された。

(4) B 型慢性肝炎患者群及び無症候性キャリア群 261 検体と肝硬変及び肝癌患者群 207 検体で HLA 関連解析を実施し、*HLA-DPBI*02:01* が病態進展に関連するアリとして同定された。

(5) (2) で示された感受性・抵抗性アリの解析結果について、独立の日本人検体を用いて再検性を検定した。また、抵抗性アリのホモで有する場合とヘテロで有する場合を比較し、ヘテロで有する方がより有意な関連を示すことを明らかにした。感受性アリについても同様の検討を行い、ヘテロでより有意な関連を示した。

②持続感染・病態進展に関連する遺伝要因の網羅的探索

(1) B 型肝炎の慢性化に関連する新規の遺伝要因探索を目的として、B 型肝炎患者群および無症候性 HBV キャリア群 (計 523 検体) をケース群、健常者群 (計 640 検体) をコントロール群として GWAS を実施した。 $P < 10^{-4}$ を示す SNP は 529 か所見られ、そのうち既報の *HLA-DP* 領域が位置する HLA 領域に位置する SNP は 471 か所にのぼった。

(2) B 型肝炎の癌化に関連する新規の遺伝要因探索を目的として、HBV 陽性肝癌患者群 (473 検体) をケース群、B 型肝炎患者群および無症候性 HBV キャリア群 (計 516 検体) をコントロール群として GWAS を実施した。 $P < 10^{-5}$ を示す SNP は 53 か所見られ、そのうち HLA 領域の SNP は 49 か所にのぼった。49 か所の連鎖不平衡を考慮して 4SNP を選択し、独立の日本人検体およびアジア 3 集団の検体を用いて再現性を検証した。メタ解析の結果、4SNP 中 3SNP でゲノムワイド有意水準に達した。

(3) GWAS で癌化との関連が見られた HLA 領域の詳細な検討を目的とし、HLA imputation を実施した。GWAS で使用したゲノムワイド SNP タイピングデータを用い、HLA 遺伝子 5 座位を推定した。推定 HLA アリを用いて関連解析を実施し、特定の HLA アリが癌化に関連している事が示された。

(4) HBV 持続感染および癌化における新規遺伝要因の同定を目的とし、パスウェイ解析を実施した。各病態の GWAS で取得した統計値を対象とし、DAVID Bioinformatics Resources 6.7、i-GSEA4GWAS、ICSNPathway の 3 種類を用いて解析を実施した。いずれの病態についても、2 種の方法で共通の遺伝子群がリストされてきた。