

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：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

2. 研究開発代表者：田中 靖人（公立大学法人名古屋市立大学 大学院医学研究科）

3. 研究開発の成果

1. **検体及び付帯情報の収集**：全国 65 施設から約 6,500 検体の肝疾患患者からのゲノム DNA、血清（血漿、PBMC）及び付帯情報を保有しており、引き続き有効活用する。肝組織（凍結、パラフィン）及び付帯情報の収集：肝癌・非癌部組織。HCV ステージ別の肝組織、NASH 組織を収集した。

2. **ゲノムワイド関連解析 (GWAS) 及び機能解析**：C型肝炎病態進展に関わる住民/病院コホートを対象とした宿主因子の探索：(a) 肝癌に関連する遺伝要因の同定：年齢あるいは感染期間など背景を揃えた複数の住民コホートを対象として、GWAS により発癌に関連する遺伝要因を同定した。(b) IFN 治療に伴う好中球減少 (Iio E et al. Hum Genet, 2015)、うつ病 (Matsunami K et al. Hum Mol Genet, revised)、扁平苔癬 (投稿中) に関連した SNP をそれぞれ同定した。(c) **IFN 著効後の肝癌 (HCC) に関連する候補 SNP を同定した**。すなわち、IFN 治療により HCV を排除した患者 (n=942) を対象とした GWAS によって、その後の HCC (SVR-HCC) 発症に強く関連する SNP014 を同定した (OR=2.37, $P=2.66 \times 10^{-8}$)。多変量解析の結果、この SNP014 は独立した SVR-HCC の危険因子であり、さらに肝線維化進展例と非進展例に分けて行った解析の結果、SNP014 の遺伝子型と既報の危険因子を組み合わせた、それぞれの SVR-HCC 予測モデルを構築した。SNP014 が位置する Gene X は、線維化関連遺伝子であり、ヒト星細胞株、肝線維化動物モデル、ヒト肝組織 (CHC および正常肝) における mRNA は、星細胞活性化あるいは肝線維化進展に伴って強く誘導され、SVR-HCC 患者検体においては、癌部 < 非癌部の傾向であった。(d) IL28B で特異的に誘導される LECT2 の自然免疫活性化機構の解明。(e) C型慢性肝炎で複数回肝生検を施行した 176 症例を対象として、肝線維化や Steatosis に関連する PNPLA3 遺伝子多型は、肝線維化ステージや経時的な線維化進行速度と有意な関連性を示した (Tamaki N et al. PLoS One, 2015)。(f) 難治性腹水患者におけるトルバプタン治療効果に関与する遺伝要因を解明するために、多施設共同研究でゲノム DNA を収集し、1 回目の GWAS を実施した。

3. **エピゲノム解析を含むオミックス解析**：(a) **癌部および非癌部肝組織を用いた統合解析による肝癌の宿主要因の同定**：非 B 非 C 型肝炎癌部と非癌部において網羅的メチル化解析及び miRNA 解析を実施：癌部においてメチル化レベルの低下が顕著な領域として、miRNA コーディング領域があり、クラスター化している領域ではその傾向が顕著であった (Nojima M et al. Mol Cancer, 2016)。(b) **HCV 除去後の発癌増悪因子の解明**：SVR 後発癌例の癌部・非癌部における miRNA、CAGE 解析を実施した。(c) 発癌母地としての **非癌部肝組織あるいは末梢血単核球 (PBMC) でのオミックス解析**：病態進展に伴う miRNA を同定。さらに、約 20 年前の C 型慢性肝炎患者の凍結肝組織 (発癌した例 vs. 非発癌例) を用いた miRNA 解析を実施した。同時に、背景肝における HCV ゲノムの多様性を NGS にて解析した。(d) 非アルコール性脂肪肝炎 (NASH) での線維化促進の遺伝的背景因子を同定し、*PARVB* 遺伝子のメチル化異常が線維化と強い相関が見られた (Kitamoto T et al. J Hepatol, 2015)。(e) 解析パイプラインの整備及びホスト因子探索のためのデータ解析を進めた。

4. その他

なし