

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：肝疾患患者における肝がん発症に寄与する宿主遺伝要因の同定・遺伝子機能解析を目指す研究

2. 研究開発代表者： 西田 奈央（国立国際医療研究センター 肝炎・免疫研究センター）

3. 研究開発の成果

### 【当該年度成果概要】

約 2,000 例の HBV 患者および健常者の GWAS データから *HLA* genotype を *HLA* imputation 法により推定し、*HLA* genotype と B 型慢性肝炎との関連を解析した。その結果、B 型肝炎になりやすい *HLA-DPB1* アリルまたはなりにくい *DPB1* アリルを 1 つ有する症例よりも 2 つ有する症例で B 型慢性肝炎との関連が相加的に強くなることを明らかとした（Nishida et al. *Tissue Antigens* 2015）。さらに B 型慢性肝炎と *HLA* class II 遺伝子の関連を詳細に解析したところ、これまでに報告した 5 つの *DPB1* アリルのうち、*DPB1\*04:01* と *DPB1\*09:01* は *HLA-DR/DQ* との連鎖不平衡で検出された 2 次的な関連であったことが明らかとなった（Nishida et al. *Scientific Reports* 2016）。HBV 関連肝発がんについても、*HLA-DPB1\*02:01* が肝発がんに対して抵抗性（肝がんになりにくい）の関連を示すことを明らかにしていたが、*HLA class I* 遺伝子が肝発がんに対して感受性（肝がんになりやすい）の関連を示すことを明らかとした。肝発がんに関連する *DPB1\*02:01* を有する 22 症例を対象として、HBV-DNA の塩基配列決定が完了しており、今後さらに症例数を増やした解析を行うことで、肝発がんに関連するウイルス変異の同定を目指す。

循環がん細胞（Circulating Tumor Cell, CTC）の検出系確立を目指して、肝切除によって得られたがん細胞を培養液に懸濁し、CTC 解析装置で検出可能性を検討した。具体的には、CD45 陽性の白血球分画を磁気細胞分離装置（MACS）によって排除し、細胞濃度の希釈系列を用意し、CD45 陰性細胞を On-Chip Sort で採取した。得られた細胞の表現型により肝がん細胞の検出感度と特異度の評価を実施した。また、肝切除片からシングルセル解析装置を用いて、肝細胞を選別処理し、肝がん細胞に特徴的な細胞表面マーカーの探索を行った。肝がん細胞に特徴的な細胞表面マーカーを同定することで、CTC 検出効率が飛躍的に向上することが期待される。

非ウイルス性の肝発癌に関して、平成 25-26 年度に収集した全 696 例の糖尿病を背景とする肝臓病症例を対象として、51 種の糖尿病関連 SNP について関連解析を実施し、糖尿病を背景とする肝発がんに関与する *PNPLA3* 遺伝子、*JAZF1* 遺伝子に存在する SNP が有意な関連を示すことを論文報告した（Ueyama, Nishida et al. *J Gastroenterol* 2016）。

### 【活動総括概要】

B 型肝炎や非ウイルス性肝発がんに関連する宿主因子について、以下の成果報告を行った。

- 1) 感受性 *HLA-DPB1* アリルまたは抵抗性 *DPB1* アリルを 1 つ有する症例よりも 2 つ有する症例で B 型慢性肝炎との関連が相加的に強くなることを明らかとした。
- 2) *HLA* 遺伝子と B 型慢性肝炎との関連を正確に解釈するためには、SNP-based GWAS では十分でなく、*HLA* genotype-based 関連解析が必要であることを明らかとした。
- 3) *HLA* imputation 解析の結果、HBV 由来肝発がんには *HLA class II* 遺伝子だけでなく *HLA class I* 遺伝子が関連することを明らかとした。
- 4) 糖尿病を背景とする肝発がんに関与する *PNPLA3* 遺伝子、*JAZF1* 遺伝子に存在する SNP が有意な関連を示すことを明らかとした。

4. その他

該当なし