

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：ゲノム網羅的解析による B 型肝炎ウイルス感染の病態関連遺伝子の同定と新規診断法の開発
2. 研究開発代表者：徳永 勝士（東京大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

①GWAS 等による、持続感染、繊維化進展、癌化に関する遺伝要因の探索

これまでに収集した検体および②により収集された検体を用いて、持続感染、繊維化進展、癌化に起因する遺伝要因を同定する事を目的とし、GWAS を実施した。Replication Study には、GWAS に用いた検体とは独立の日本人検体の他に、アジア各国の検体を使用した。

- a. 持続感染：HBV 感染群に対する HLA 層別化 GWAS を実施し、新規遺伝要因候補を見出した。Replication study の為の検体収集を②により実施した。
- b. 繊維化進展：HBV 肝硬変患者群 211 検体と、無症候キャリア及び慢性肝炎患者群 523 検体を用いて GWAS を実施し、59SNP が関連候補 SNP として選ばれた。Replication study の為の検体収集を②により実施した。
- c. 癌化：HBV 陽性肝癌 473 検体と、慢性肝炎および無症候性 HBV キャリア 516 検体を用いた GWAS 及び海外検体を用いた Replication study を実施し、HLA 領域に新規遺伝要因を同定した。また、HBV 陽性肝癌患者 184 名、慢性 B 型肝炎患者 1092 名を用いて GWAS を実施した。全ゲノム関連解析及びゲノムワイド imputation の結果、新規の疾患感受性遺伝子が見出された。更に、肝癌組織における候補遺伝子の発現を免疫組織染色にて検討し、高発現する腫瘍部では CD3、CD4、CD8 陽性 T 細胞の浸潤低下が認められた。
- d. HLA 多型解析：HBV 患者群 1,357 例および健常対照群 1,225 例を対象として HLA-DPB1 タイピングを実施し、DPB1 遺伝子型と B 型慢性肝炎の関連解析を実施した。また、HBV 患者群および健常対照群の合計 1,975 例のゲノムワイド SNP タイピングデータを用いて、HLA imputation 解析により 6 座位の HLA アリルを推定し、B 型慢性肝炎に関連する HLA アリルおよびハプロタイプを決定した。

②臨床情報・検体収集および関連解析の実施

HBV 感染に伴う各病態の検体収集および臨床情報の収集を行った。具体的な病態としては、a. 持続感染、b. 繊維化進展、c. 癌化、d. 薬剤応答性（ウイルス側の因子を同定するために、核酸アナログ投与例の HBV 全遺伝子決定を進行中）、e. ワクチン応答性（Non responder が 6.8%、Low responder が 27.1%、Responder が 66.1%）、f. 再活性化（リツキシマブ＋ステロイド併用化学療法を施行し、HBV 再活性化した症例および非再活性化症例）、g. 劇症化、h. 家族内感染等を対象とした。

④HLA 等機能解析

疾患感受性・抵抗性 HLA-DP 分子が提示する B 型肝炎ウイルス由来ペプチドの探索を行った。まず、HLA 結合ペプチドを同定するために構築した二種類の新たな測定系を用い、抵抗性分子 HLA-DP0402、DP0201 が結合する抗原ペプチド探索を実施し、B 型肝炎ウイルス表面抗原 (HBs) 、コア抗原 (HBc) 中に、HLA-DP0402、DP0201 アリル産物と強く相互作用する抗原ペプチド領域を複数箇所、見出した。また、短鎖ペプチドを用いた結合解析を行い、これらのウイルス抗原ペプチド配列と HLA-DP との間の強い相互作用に関わるアミノ酸残基を推定した。