

機関番号：82610

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010年度～2011年度

課題番号：22790679

研究課題名(和文) 次世代シーケンサーによるB型急性肝炎慢性化成立機序の解明

研究課題名(英文) Investigation the mechanisms of chronicity from acute hepatitis B using a next generation sequencer

研究代表者

伊藤清顕 (ITO KIYOAKI)

独立行政法人国立国際医療研究センター

研究者番号：50551420

研究成果の概要(和文)：B型急性肝炎の慢性化に関連すると考えられる宿主側因子、ウイルス側因子双方から解析を行った。B型慢性肝炎に関連する rs3077 および rs9277535 を我々の開発した Invader 法により測定した。その結果 HLA-DP locus と成人での B 型急性肝炎の慢性化との関連は認められなかった。また、ウイルス側の要因として B 型急性肝炎のシリーズ血清を次世代高速シーケンサーにより解析を行った。急性肝炎後に遷延化した症例において HBV の population に継時的な変化を認め、次世代シーケンサーにより多数 clone の解析が可能となったことにより特徴的な所見を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：We have investigated the both host and viral factors associated with chronicity from acute hepatitis B. Rs3077 and rs9277535 were genotyped by the invader method which we have developed. However, these SNPs were not associated with chronicity from acute hepatitis B in adults. We have analyzed the viral factor using a next generation sequencer, and could obtain the specific findings to analyze the number of clones.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計			

研究分野：消化器内科学

科研費の分科・細目：

キーワード：B型急性肝炎 (2) 慢性化 (3) SNPs
 (4) HBV (5) 次世代シーケンサー (6) GWAS
 (7) HLA-DP (8) ジェノタイプ

1. 研究開始当初の背景

最近、本邦の B 型急性肝炎において欧米型である genotype A の占める割合が急速に増加していることが報告されている。Genotype A による急性肝炎は他の genotype と異なり 10%程度が慢性化することが知られており、臨床上重要な問題である。

2. 研究の目的

ウイルス側と Genome-wide association study (GWAS) による宿主側のファクターの双方を解析することにより、genotype A による急性肝炎の慢性化に関わる因子を明らかにすることを旨とした。さらには、ゲノムの SNPs 周辺を次世代高速シーケンサーを用いて解析することにより、慢性化成立機序を明らか

にし、今後の慢性化予防、新規治療薬の開発の基礎とした。

3. 研究の方法

全国からの急性 B 型肝炎症例（前向きおよび後ろ向き調査）を収集し、その中での慢性化率を調査する。急性 B 型肝炎症例中で慢性化群と非慢性化群とを群別し、HBV の genotype、遺伝子変異等のウイルス側のファクターを解析した。また両群間で、これまでに GWAS により判明した既報の慢性 B 型肝炎関連 SNPs の関与および新規 SNPs の関連の有無を調査した。これらのウイルス側および宿主側の両側面から解析することにより急性 B 型肝炎の慢性化の予測を試みた。さらには、慢性化の危険群に関しては早期治療介入等の措置をとり、慢性化阻止を目指したテーラーメイド医療の実践を目指した。後期には GWAS により判明した SNPs の周辺を次世代高速シーケンサーで解析することにより慢性化の機序を研究し、慢性化阻止の方法探索および新規治療薬の開発を目指した。

4. 研究成果

最近、本邦の B 型急性肝炎において欧米型である genotype A の占める割合が急速に増加していることが報告されている。Genotype A による急性肝炎は、他の genotype と異なり 10% 程度が慢性化することが知られており、臨床重要問題である。本研究においては、ウイルス側と宿主側の双方のファクターを解析することにより、genotype A による急性肝炎の慢性化に関わる因子を明らかにした。全国より収集した 643 例の B 型急性肝炎症例において、ウイルス側の因子である HBV ジェノタイプの測定を完了した。宿主 DNA に関しては、B 型急性肝炎 27 例、B 型慢性肝炎 20 例を収集した。宿主側のファクターとして報告されている HLA-DPA1 および HLA-DPB1 に関連する SNPs である rs3077 および rs9277535 (Kamatani Y. et al., Nat Genet, 2009) を我々の開発した Invader 法により測定した。その結果、genotype A の B 型急性肝炎に関しては、major homozygotes 2/27(7.4%)、hetero 13/27 (48.1%)、minor homozygotes 12/27(44.4%)であり、genotype A による B 型慢性肝炎では major homozygotes 0、hetero 10/20 (50.0%)、minor homozygotes 10/20(50.5%) と HLA-DP locus と成人での B 型急性肝炎の慢性化との関連は認められなかった。今後さらに症例数を増やして解析を行い、GWAS による網羅的な解析も行う予定である。また、ウイルス側の要因として、B 型急性肝炎のシリーズ血清を次世代高速シーケンサーにより解析を行った。急性肝炎後に遷延化した症例において HBV の population に継時的な変化を認め、次世代シーケンサー

により多数 clone の解析が可能となったことにより特徴的な所見を得ることができた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 2 件）

①Ito K, Qin Y, Guarnieri M, Garcia T, Kwei K, Mizokami M, Zhang J, Li J, Wands JR, Tong S. Impairment of hepatitis B virus virion secretion by single-amino-acid substitutions in the small envelope protein and rescue by a novel glycosylation site. 査読有
Journal of Virology.2010;84(24):12850-61

②Yano k, Tamada Y, Yatsushashi H, Komori A, Abiru S, Ito K, Masaki N, Mizokami M, Ishibashi H; Japan National Hospital Acute Hepatitis Study Group.
Dynamic epidemiology of acute viral hepatitis in Japan. 査読有
Intervirolgy. 2010;53(1):70-5

〔学会発表〕（計 2 件）

①Ito K et al.
Risk factors for long-term persistence of serum HBsAg following acute hepatitis B virus infection in Japan.
The 22nd Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. 2012.2..17 in Taipei, Taiwan

②伊藤清頭、正木尚彦、溝上雅史
B 型急性肝炎ジェノタイプ A に関する全国調査（中間集計）
第 47 回日本肝臓学会総会、2011 年 6 月東京

〔図書〕（計 3 件）

①伊藤清頭
肝胆膵 B 型肝炎に影響を与える個体差
2011 年

②伊藤清頭、正木尚彦
臨床消化器内科 B 型肝炎ウイルス再活性化
2011 年

③伊藤清頭、溝上雅史
総合臨床 感染症制御のための公衆衛生の役割：ウイルス型肝炎
2010 年

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

伊藤清顕 (ITO KIYOAKI)

研究者番号：50551420

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

杉山真也 (SUGIYAMA MASASYA)

研究者番号：20612427