

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成24年5月30日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011

課題番号：23651192

研究課題名（和文）MICA 遺伝子多型と血中分泌型 MICA の慢性 C 型肝炎予後予測因子としての検討

研究課題名（英文）Evaluation of *MICA* variations and serum MICA as prognostic factors for Chronic hepatitis C patients

研究代表者

松田 浩一 (Matsuda Koichi)

東京大学・医科学研究所・准教授

研究者番号：90401257

研究成果の概要（和文）：今回 HCV 陽性肝硬変患者 1618 名、慢性 C 型肝炎患者 4854 名を用いて慢性 C 型肝炎から肝硬変への進行と関連する遺伝因子を検討した所、MHC 領域の 2 つの遺伝子多型が肝硬変の発症リスクと関連する事が明らかとなった ($P_{\text{combined}} = 9.15 \times 10^{-11}$ and 1.45×10^{-10})。さらに MICA 遺伝子プロモーター領域の 15SNP をスクリーニングした結果、上流 2.8Kb に存在する SNP rs2596538 がアレル特異的な転写因子 SP1 の結合を示し、MICA の高値を示す G アレルで高い転写活性をしめした。これらの成果によって、MICA の制御機構やその HCV 感染経路における意義が明らかとなり、予後マーカーや治療応用に結びつくと期待できる。

研究成果の概要（英文）：Here we conducted a genome-wide association study using 1618 HCV-induced liver cirrhosis (LC) cases and 4,854 CHC patients. We found that two SNPs within the major histocompatibility complex (MHC) region, rs910049 and rs3135363, and were significantly associated with the progression from CHC to LC ($P_{\text{combined}} = 9.15 \times 10^{-11}$ and 1.45×10^{-10}). We also screened 15 candidate SNPs at the promoter region and found that SNP rs2596538 located at 2.8 kb upstream of the *MICA* gene altered the binding of transcription factor SP1 to the genomic region including this SNP. Moreover, higher transcriptional activity of G allele was observed in vitro by luciferase reporter assay, concordant with higher soluble MICA (sMICA) level among HCV-induced HCC patients with G allele. In summary, we identified the crucial roles of multiple genetic variations within the MHC region as prognostic/predictive biomarkers for CHC patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学、ゲノム医科学

キーワード：ゲノムワイド関連解析 C型肝炎

1. 研究開始当初の背景

肝癌の原因の 70%以上を占める C 型肝炎ウイルスのキャリアーは 200 万人いると推測されている。これまで慢性 C 型肝炎に対する治療方針はウイルス側の因子を基に決定されていたが、近年疾患の予後や薬剤応答性に関連する遺伝子が次々と明らかとなってきた。今回我々のグループは、MICA 遺伝子上の SNP が慢性 C 型肝炎から肝癌への進

展に関わる事を解明した。また MICA の遺伝子型と血中 MICA 濃度が強く相関する事より、血中 MICA 濃度の測定で遺伝子検査が代用可能である事と MICA が癌治療の標的となる可能性を示した。

2. 研究の目的

以上の知見を基に、MICA 以外の予後予測因子の解明と、MICA の発現制御機構の解明、分泌型 MICA と予後について検討を行った。

これらの解析によって、MICA のバイオマーカーと及び治療標的因子として有用性を検証することを目的とする。

3. 研究の方法

研究では、具体的に以下の3つを行う。

1. 全ゲノム関連解析による HCV 陽性肝硬変感受性遺伝子の探索

対象：慢性 C 型肝炎 4500 症例、HCV 陽性肝硬変 1500 を用いて全ゲノム関連解析を行い、新規の予後予測因子の探索を行った。

2. HBV 陽性肝癌患者における MICA の予後因子としての検証

HBV 陽性肝癌及び慢性 B 型肝炎患者の検体を用いて、MICA の遺伝子多型と発症リスクの関連について検証する。また血中 MICA レベルと肝癌患者の予後との関連について検討する。

3. 遺伝子多型による MICA の発現制御機構の解明

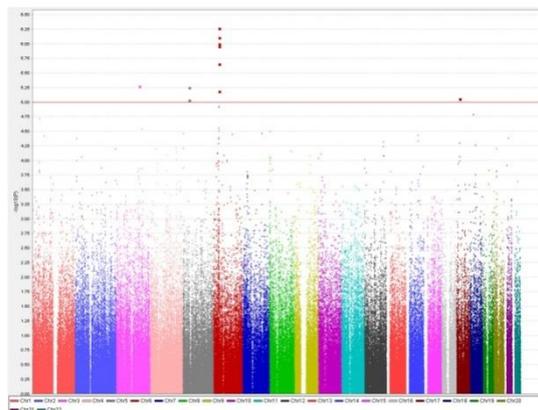
分子生物学的な手法により HCV 感染による MICA の発現誘導機構の解明と遺伝子多型の影響を検討する。

(倫理面への配慮)

本研究に参加される患者の方は全員インフォームドコンセントを取得済みであり、また研究計画は各医療機関において倫理審査委員会の承認済みである。

4. 研究成果

1) 慢性 C 型肝炎から肝硬変への進展と関連する遺伝因子を探索する目的で、HCV 陽性肝硬変患者 682 名、慢性 C 型肝炎患者 943 名を用いて約 60 万箇所の遺伝子型を決定し、相関解析を行った。その結果、10 箇所の SNP が肝硬変の発症リスクと強く関連することが明らかとなった。さらにこれらの SNP について、肝硬変 936 症例、慢性 C 型肝炎 3786 症例で検討した結果、MHC 領域上の 5 SNP が強い関連を示した。またこれまで肝障害、肝組織の線維化との関連が報告されている HLA 遺伝子についても検討を進めた所、複数の HLA アレルが肝硬変のリスクとなることが明らかとなった。多変量解析の結果、最終的に 3 つの遺伝子多型が肝硬変の発症リスクと独立して関連することを明らかとし、これらの遺伝子多型を用いた肝硬変発症リスク予測システムを構築した (論文投稿中)。

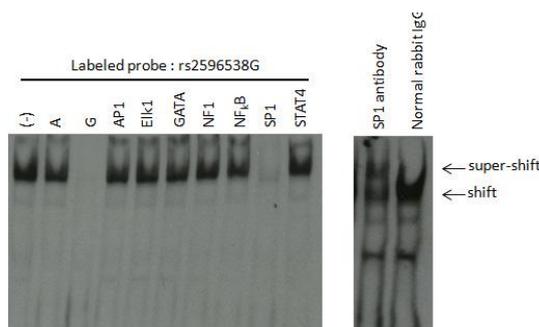


2) HBV 陽性肝癌における、MICA の意義についても同様の検討を行なった。HBV-陽性肝癌患者 407 名、慢性 B 型肝炎患者 699 名、健常者 5657 名について MICA の遺伝子型を決定した。その結果、MICA の遺伝子多型が、HBV 陽性肝癌の発症リスクにも関与することを明らかとした。また HCV 陽性肝癌患者と同様、MICA の遺伝子型と血清 MICA 値とは相関を示した。さらに分泌型 MICA が高値の肝癌症例では予後が不良となることも明らかとした (論文投稿中)。

また慢性 B 型肝炎の新規疾患感受性遺伝子として HLA-DQ を同定した。

中国人で HBV 陽性肝癌との関連が報告された KIF1B について、日本人 HBV 陽性肝癌症例では関連が無いことを明らかとした (論文投稿中)。

3) さらにゲノム創薬へ向けた研究として、MICA の創薬ターゲットとしての検証を進めている。



MICA 遺伝子の転写制御機構の解明を目的として、プロモーター領域の多型について検討した所、SP1 の結合に変化をきたす SNP が同定された (上図)。この SNP は marker SNP と強い連鎖不平衡 ($r^2=0.82$) にあったことから、この領域に対する SP-1 の affinity が変化することによる遺伝子の転写量の変化が癌の発症に寄与することが示唆された。これらの成果によって、MICA の制御機構やその HCV 感染経路における意

義が明らかとなり、予後マーカーや治療応用に結びつくこと期待できる。

4) 結論

今回の解析によって、MICA を含む複数の遺伝子多型が HCV 陽性肝癌・肝硬変の発症と関連することが示された。さらに HCV 陽性肝癌だけでなく慢性 C 型肝炎患者において、MICA の遺伝子多型と分泌型 MICA 値が関連を示したことより、MICA の測定でも慢性 C 型肝炎患者の予後予測が可能となる事が示唆された。今後は MHC 慢性 C 型肝炎患者において分泌型 MICA の測定を進め、肝癌発症との関係を検討する。また分泌型 MICA 値と MICA 遺伝子型のどちらが有用な予後因子となるかについて、多変量解析を元に検討する。

さらに HBV 陽性肝癌の発症リスクにも MICA の遺伝子多型が関与すること、また分泌型 MICA が高値の症例では、予後不良であることが明らかとなり、MICA が HBV 関連疾患の予後因子となる事が示された。

MICA は HCV 陽性肝癌、HBV 陽性肝癌共に高発現していることから、MICA に対する抗体を用いることによって、分泌型 MICA の中和活性、及び膜型 MICA に対する ADCC 活性を介して、抗腫瘍効果が期待できると考えられる。今後、monoclonal 抗体の作成と抗腫瘍活性の検討を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

1. J.C. Chambers, W. Zhang, J. Sehmi, X. Li, M.N. Wass, P. Van der Harst, H. Holm, S. Sanna, M. Kavousi, S.E. Baumeister, L.J. Coin, G. Deng, C. Gieger, N.L. Heard-Costa, J.J. Hottenga, B. Kuhnel, V. Kumar, V. Lagou, L. Liang, J. Luan, P.M. Vidal, I. Mateo Leach, P.F. O'Reilly, J.F. Peden, N. Rahmioglu, P. Soininen, E.K. Speliotes, X. Yuan, G. Thorleifsson, B.Z. Alizadeh, L.D. Atwood, I.B. Borecki, M.J. Brown, P. Charoen, F. Cupca, D. Das, E.J. de Geus, A.L. Dixon, A. Doring, G. Ehret, G.I. Eyjolfsson, M. Farrall, N.G. Forouhi, N. Friedrich, W. Goessling, D.F. Gudbjartsson, T.B. Harris, A.L. Hartikainen, S. Heath, G.M. Hirschfield, A. Hofman, G. Homuth, E. Hypponen, H.L. Janssen, T. Johnson, A.J. Kangas, I.P. Kema, J.P. Kuhn, S. Lai, M. Lathrop, M.M. Lerch, Y. Li, T.J. Liang, J.P. Lin, R.J. Loos, N.G. Martin, M.F. Moffatt, G.W. Montgomery,

P.B. Munroe, K. Musunuru, Y. Nakamura, C.J. O'Donnell, I. Olafsson, B.W. Penninx, A. Pouta, B.P. Prins, I. Prokopenko, R. Puls, A. Ruukonen, M.J. Savolainen, D. Schlessinger, J.N. Schouten, U. Seedorf, S. Sen-Chowdhry, K.A. Siminovitch, J.H. Smit, T.D. Spector, W. Tan, T.M. Teslovich, T. Tukiainen, A.G. Uitterlinden, M.M. Van der Klauw, R.S. Vasan, C. Wallace, H. Wallaschofski, H.E. Wichmann, G. Willemsen, P. Wurtz, C. Xu, L.M. Yerges-Armstrong, G.R. Abecasis, K.R. Ahmadi, D.I. Boomsma, M. Caulfield, W.O. Cookson, C.M. van Duijn, P. Froguel, **K. Matsuda**, M.I. McCarthy, C. Meisinger, V. Mooser, K.H. Pietilainen, G. Schumann, H. Snieder, M.J. Sternberg, R.P. Stolk, H.C. Thomas, U. Thorsteinsdottir, M. Uda, G. Waeber, N.J. Wareham, D.M. Waterworth, H. Watkins, J.B. Whitfield, J.C. Witterman, B.H. Wolfenbutter, C.S. Fox, M. Ala-Korpela, K. Stefansson, P. Vollenweider, H. Volzke, E.E. Schadt, J. Scott, M.R. Jarvelin, P. Elliott, J.S. Kooner, Genome-wide association study identifies loci influencing concentrations of liver enzymes in plasma. *Nature genetics* 43 (2011) 1131-1138. doi:10.1038/ng.970

2. J. Li, D. Yang, Y. He, M. Wang, Z. Wen, L. Liu, J. Yao, **K. Matsuda**, Y. Nakamura, J. Yu, X. Jiang, S. Sun, Q. Liu, Q. Song, M. Chen, H. Yang, F. Tang, X. Hu, J. Wang, Y. Chang, X. He, Y. Chen, J. Lin, Associations of HLA-DP variants with hepatitis B virus infection in southern and northern Han Chinese populations: a multicenter case-control study. *PloS one* 6 (2011) e24221. doi:10.1371/journal.pone.0024221

3. Y.J. Kim, M.J. Go, C. Hu, C.B. Hong, Y.K. Kim, J.Y. Lee, J.Y. Hwang, J.H. Oh, D.J. Kim, N.H. Kim, S. Kim, E.J. Hong, J.H. Kim, H. Min, Y. Kim, R. Zhang, W. Jia, Y. Okada, A. Takahashi,

M. Kubo, T. Tanaka, N. Kamatani, **K. Matsuda**, T. Park, B. Oh, K. Kimm, D. Kang, C. Shin, N.H. Cho, H.L. Kim, B.G. Han, Y.S. Cho, Large-scale genome-wide association studies in east Asians identify new genetic loci influencing metabolic traits. *Nature genetics* 43 (2011) 990-995.

[doi:10.1038/ng.939](https://doi.org/10.1038/ng.939)

4. V. Kumar, N. Kato, Y. Urabe, A. Takahashi, R. Muroyama, N. Hosono, M. Otsuka, R. Tateishi, M. Omata, H. Nakagawa, K. Koike, N. Kamatani, M. Kubo, Y. Nakamura, **K. Matsuda**, Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma. *Nature genetics* 43 (2011) 455-458.

[doi:10.1038/ng.809](https://doi.org/10.1038/ng.809)

5. H. Mbarek, H. Ochi, Y. Urabe, V. Kumar, M. Kubo, N. Hosono, A. Takahashi, Y. Kamatani, D. Miki, H. Abe, T. Tsunoda, N. Kamatani, K. Chayama, Y. Nakamura, **K. Matsuda**, A genome-wide association study of chronic hepatitis B identified novel risk locus in a Japanese population. *Human molecular genetics*. 20 (2011) 3884-3892.

[doi:10.1093/hmg/ddr301](https://doi.org/10.1093/hmg/ddr301)

〔学会発表〕（計 8 件）

1) ゲノムワイド関連解析による癌感受性遺伝子の探索 **松田浩一** 文科省がん支援活動・厚労省対がん 10 カ年研究合同公開シンポジウム 東京 2012

2) Impact of genetic variations on disease susceptibility and various quantitative traits. **Koichi Matsuda** The 18th East Asia Joint Symposium on Biomedical Research Shanghai, 2011.

3) 癌における個別化医療の現状と今後の展望 **松田浩一** 第 61 回日本体質学会 東京, 2011

4) Genome-wide association study identifies *MICA* variant as a susceptibility locus for HCV-induced hepatocellular carcinoma **Koichi Matsuda**, Vinod Kumar, Yusuke Nakamura 第 56 会日本人類遺伝学会 幕張 2011.

5) A genome-wide association study identified novel susceptible loci for HCV-induced Liver cirrhosis.

Yuji Urabe, **Koichi Matsuda**, Naoya Kato, Kazuaki Chayama, Yusuke Nakamura, 第 56 会日本人類遺伝学会 幕張 2011.

6) A Genome-Wide Association Study of Chronic Hepatitis B Identified Novel Risk Locus in a Japanese Population Hamdi Mbarek, Hidenori Ochi, Yuji Urabe, Yusuke Nakamura, **Koichi Matsuda** 第 56 会日本人類遺伝学会 幕張 2011.

7) A genome-wide association study identified novel susceptible loci for HCV-induced Liver cirrhosis.

Yuji Urabe, **Koichi Matsuda**, Naoya Kato, Kazuaki Chayama, Yusuke Nakamura 第 70 回 日本癌学会学術総会 名古屋 2011.

8) Genome Wide Association Study of HCV-induced Hepatocellular carcinoma. **Koichi Matsuda**, Vinod Kumar, Yusuke Nakamura 102th American association of cancer research. Orland, USA 2011

〔図書〕（計 2 件）

1) GWAS による癌オーダーメイド医療の実現に向けて, 先端医学社 印刷中

2) 肝疾患 Review 2012-2013 HBV 感染の GWAS 解析 日本メディカルセンター 印刷中

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/nakamura/matsuda/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松田 浩一 (Matsuda Koichi)
東京大学・医科学研究所・准教授
研究者番号：90401257

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし