

課題番号 : 24指107

研究課題名 : HLAアレルでの層別解析によるB型慢性肝炎の発症およびB型肝炎ウイルス排除に関わる宿主因子の探索

主任研究者名 : 西田奈央

分担研究者名 : 大橋順

キーワード : ゲノムワイド関連解析、B型慢性肝炎、B型肝炎ウイルス、HLA、次世代シーケンシング

#### 研究成果 1 :

Affymetrix 社や Illumina 社のゲノムワイド SNP タイピングデータを用いて、StaGen 社と共同で HLA 遺伝子の Tagging SNP の選択を行った結果、5つの HLA クラス(*HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DPB1*)について 95.2%-99.5%の精度で Imputation が可能となった。この成果について、論文報告した (Seik-Soon Khor et al. *The Pharmacogenomics Journal*, in press)。

#### 研究成果 2 :

日本人の B 型肝炎患者群 892 名と健常対照群 761 名から収集したゲノム DNA を用いて、*HLA-DPB1* タイピングを実施し、*HLA-DPB1* アレルと B 型肝炎慢性化の関連解析を実施した。2014 年に論文報告した結果 (文献 8) と合わせた関連解析を実施したところ (B 型肝炎患者群 1,380 名、健常対照群 1,225 名)、B 型肝炎慢性化に対して抵抗性の関連を示す 3 つの *DPB1* アレル (*DPB1\*02:01*, *DPB1\*04:01*, *DPB1\*04:02*)、および進行性の関連を示す 2 つの *DPB1* アレル (*DPB1\*05:01*, *DPB1\*09:01*) の関連がより確かとなることが明らかとなった。この成果について、現在論文投稿中である。

#### 研究成果 3:

B 型肝炎患者群 1,380 名および健常対照群 1,225 名について、抵抗性アレル *DPB1\*02:01* を有する症例における B 型肝炎慢性化との関連解析を実施したところ、*DPB1\*02:01* をホモで持つ症例よりも *DPB1\*04:02* とのヘテロの症例でより抵抗性が増すことが明らかとなった ( $P=0.019$ 、図 1A 参照)。同様に進行性アレル *DPB1\*05:01* を有する症例における B 型肝炎慢性化との関連解析を実施したところ、*DPB1\*05:01* をホモで持つ症例よりも *DPB1\*09:01* とのヘテロ症例でより進行性の関連が強くなることが明らかとなった ( $P=0.011$ 、図 1B 参照)。この成果について、現在論文投稿中である。

#### 研究成果 4:

2012 年以降、新たに収集した B 型慢性肝炎患者および健常対照群の合計 844 例について、Affymetrix AXIOM ASI プラットフォームによるゲノムワイド SNP タイピングを実施した。これまでに取得済みのタイピングデータ (Nishida N et al. *PLoS One* 2012) と共に GWAS を実施し、加えて *HLA-DPB1* アレルで層別化した GWAS を実施した。全群を用いた GWAS で検出された遺伝子領域が、*HLA-DPB1* アレルで層別化した GWAS において、より強い関連を示すことが明らかとなった (Gene B、 $P=7.04 \times 10^{-8}$ 、図 2 参照)。現在、Gene B 上の SNP を対象として Replication 解析を進行中である。

#### 研究成果 5:

約 60kb の *HLA-DPA1/DPB1* 遺伝子領域に対して 5 つのプライマーを設計し、高速シーケンサー (NGS、MiSeq) を用いて Target sequencing を実施するためのプロトコルを確立した。B 型肝炎慢性化に関連する 5 つのアレルをホモで有する 192 症例を対象とした塩基配列を決定し、*HLA-DP* 遺伝子領域をカバーする Target sequencing が実施できることを確認した (図 3 参照)。また、192 症例の NGS による HLA 遺伝子型の判定結果と、従来法 (PCR-Luminex 法) による判定結果が 100%一致することを確認した。

#### 研究成果 6:

NGS による塩基配列結果から *HLA-DPB1* 遺伝子のアミノ酸配列をもとに近隣結合法を用いて系統樹を作成した結果、感受性リネージと抵抗性リネージに分かれることを明らかとした (図 4 参照)。

#### 研究成果 7:

ゲノムワイド SNP タイピングデータから SNP imputation を実施するためのソフトウェアの開発を株式会社ダイナコムと連携して実施した。Imputation 解析用のソフトウェアとして知られる IMPUTE2 をベースとしたプロトタイプソフトウェアを作成した。

### 研究成果 8:

B型肝炎慢性化との関連が明らかとなっている *HLA-DP* 遺伝子 (rs9277535) について、アジア人集団 (中国、韓国、タイ) から報告された関連解析結果をメタ解析したところ、 $P = 1.10 \times 10^{-14}$ 、 $OR = 0.63$  (0.56-0.71)となることを明らかとした (Nishida N et al. Journal of Clinical and Translational Hepatology 2013)。

### 研究成果 9:

アジア人集団 (日本、韓国、タイ、香港) の合計 3,136 例を対象として、*HLA-DPA1*、*DPB1* タイピングを実施した。*HLA-DPB1* 関連解析の結果、B型肝炎慢性化に対して進行性の関連を示す *HLA-DPB1* アリルを 2 種類 (*DPB1\*05:01*、*DPB1\*09:01*)、また抵抗性の関連を示す *HLA-DP* アリルを 3 種類 (*DPB1\*02:01*、*DPB1\*04:01*、*DPB1\*04:02*) 同定した (Nishida N et al. PLoS One 2014)。

### 研究成果 10:

GWAS により *HLA-DPA1/DPB1* 遺伝子上の SNP (rs3077、rs9277535) が、日本人を含めたアジア人集団 (韓国、香港、タイ) において B 型慢性肝炎と有意な関連を示すことを明らかとした (Nishida N et al. PLoS One 2012)。

### 研究成果 11:

ゲノムワイド SNP タイピングで使用する Affymetrix SNP6.0 および Array、Affymetrix AXIOM ASI Array に搭載されている SNP と同一の SNP について、HapMap データベース日本人 45 人の SNP 遺伝子型データを抽出し、先行研究によって調べられてある *HLA* 遺伝子型を併せて、各 *HLA* アリルと周辺 SNP とのペアワイズ連鎖不平衡係数 ( $r^2$ ) を求めた。次に、*HLA* アリルと  $r^2 > 0.8$  の関係にある全 SNP を用いて、90 本の最尤推定ハプロタイプ (*HLA* アリルと SNP アリルからなる) を求めた。最後に、SNP アリルのみからなるハプロタイプ情報を用いて、*HLA* アリルを推定する決定木 (分類木) を作製した (ID3 アルゴリズムを利用)。本アルゴリズムを日本人健常群 420 検体の SNP 遺伝子型情報に適用したところ、約 8 割の検体の *HLA* 遺伝子型を正確に予測することができた (Kawashima M et al. PLoS One 2012)。

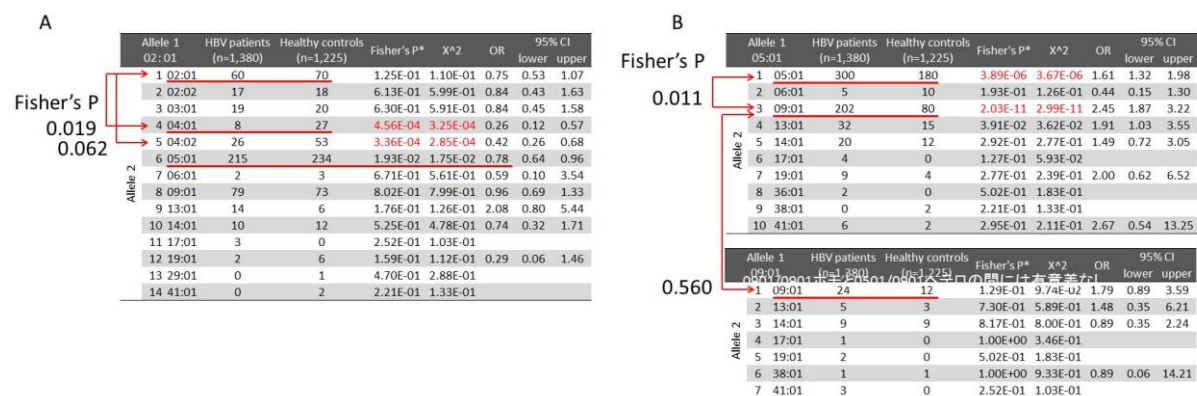


図 1 HLA-DPB1 アリルと B 型慢性肝炎との関連. A. 抵抗性アリル *DPB1\*02:01* を有する症例、B. 進行性アリル *DPB1\*05:01* および *DPB1\*09:01* を有する症例

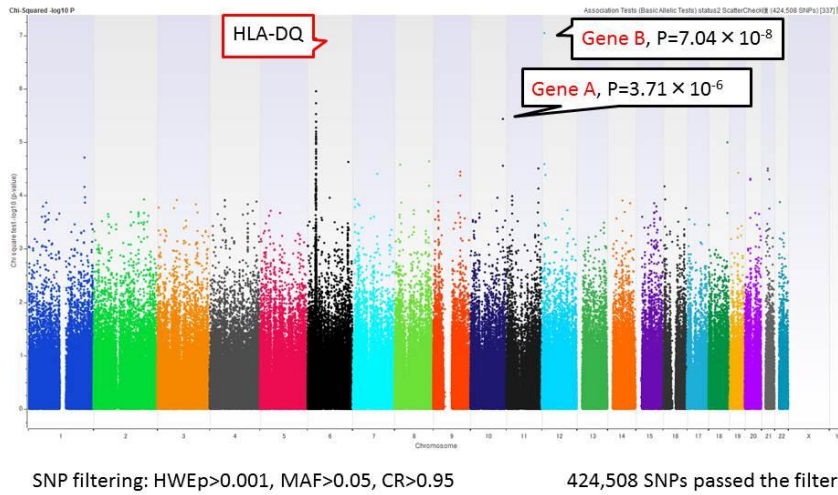


図 2 抵抗性アリル (*DPB1\*02:01*、*\*04:01*、*\*04:02*) を有する B 型肝炎患者群と健常対照群での層別化 GWAS

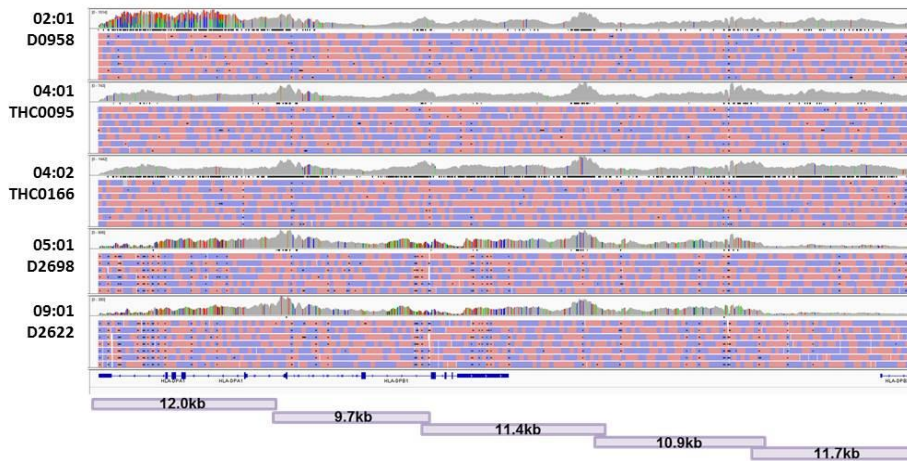


図 3 B 型肝炎慢性化に関連する 5 つの *DPB1* アリルをホモで有する症例の NGS シーケンシングの結果

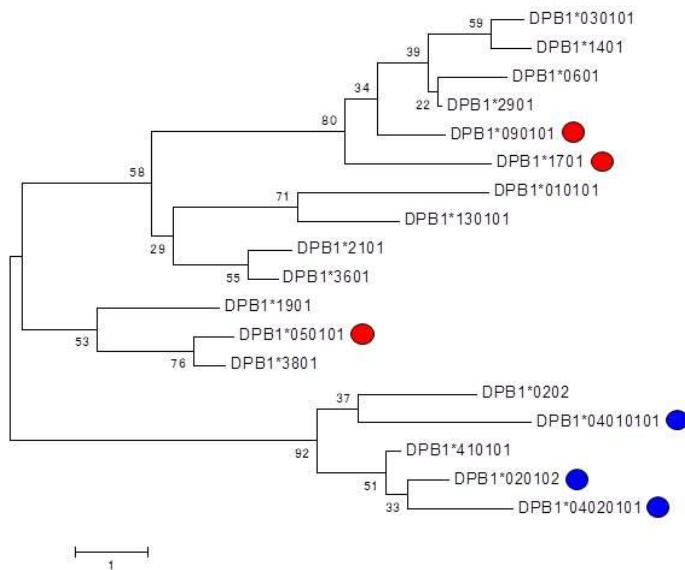


図 4 アミノ酸配列をもとにした *DPB1* 系統樹

Subject No. : 24SHI107  
Title : Screening of host genetic factors associated with chronic hepatitis B and viral clearance by means of stratified analysis with HLA alleles  
Researchers : Jun Ohashi  
Key word : Genome-wide association studies, Chronic hepatitis B, Hepatitis B virus, HLA, Next generation sequencing

Abstract 1:

Two data sets, each comprising data from healthy Japanese individuals of difference sample sizes, were used to build custom classifiers for HLA imputation using HIBAG R package. HLA imputation accuracy in five HLA classes (HLA-A, HLA-B, HLA-DRB1, HLA-DQB1 and HLA-DPB1) increased from the 82.5-98.8% obtained with the original HIBAG references to 95.2-99.5% with our custom classifiers (Seik-Soon Khor et al. The Pharmacogenomics Journal, in press)

Abstract 2:

Significant associations between CHB infection and five *DPB1* alleles (two susceptibility alleles, *DPB1\*05:01* and *\*09:01*, and three protective alleles, *DPB1\*02:01*, *\*04:01*, and *\*04:02*) were confirmed in a population comprising 2,605 Japanese individuals.

Abstract 3:

Odds ratios for CHB were higher for those with both *DPB1* susceptibility alleles than for those with only one susceptibility allele; therefore, effects of susceptibility alleles were additive for risk of CHB infection (P = 0.019, Figure 1A). Similarly, protective alleles showed an additive effect on protection from CHB infection (P = 0.011, Figure 1B).

Abstract 4:

Genome-wide SNP typing was performed for 844 Japanese individuals. The following GWAS was carried out using a total of 1,975 Japanese individuals, which comprised 844 newly and 1,131 previously acquired samples. GWAS with all 1,975 samples and stratified GWAS with samples harboring protective *DPB1* alleles identified a new susceptible locus (Gene B, P =  $7.04 \times 10^{-8}$ , Figure 2).

Abstract 5:

For target capturing of HLA-DP region, we designed five primer pairs and validated the feasibility of these primer pairs (Figure 3). Target capture sequencing of HLA-DP region using 192 Japanese individuals were carried out and revealed that identified HLA-DP genotype by NGS was 100% concordant with the one by the traditional PCR-Luminex method.

Abstract 6:

Phylogenetic tree, based on amino acid sequence of HLA-DPB1 identified by NGS sequencing, showed different branches of susceptible lineage and protective lineage (Figure 4).

Abstract 7:

We developed the software which support to execute SNP imputation using IMPUTE2 software, in collaboration with DYNACOM Co., Ltd..

Abstract 8:

Researchers には、分担研究者を記載する。

Meta-analysis of HLA-DPB1 SNP rs9277535 using six independent studies together with our study showed that a significant association with CHB infection was replicated in Asian populations ( $P = 1.10 \times 10^{-14}$ ,  $OR = 0.63 (0.56-0.71)$ ) (Nishida N et al. Journal of Clinical and Translational Hepatology 2013).

**Abstract 9:**

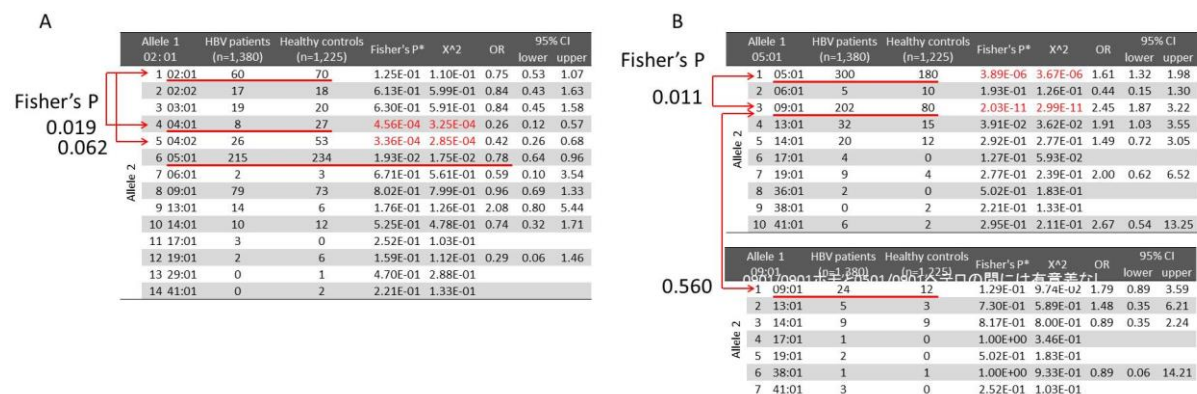
HLA-DPA1/DPB1 genotyping in 3,167 samples including Japanese, Korean, Hong Kong, and Thai populations identified a new risk allele HLA-DPB1\*09:01 ( $P = 1.36 \times 10^{-6}$ ,  $OR = 1.97 (1.50-2.59)$ ) and a new protective allele DPB1\*02:01 ( $P = 5.22 \times 10^{-6}$ ,  $OR = 0.68 (0.58-0.81)$ ) to chronic hepatitis B infection, in addition to the previously reported alleles (Nishida N et al. PLoS One 2014).

**Abstract 10:**

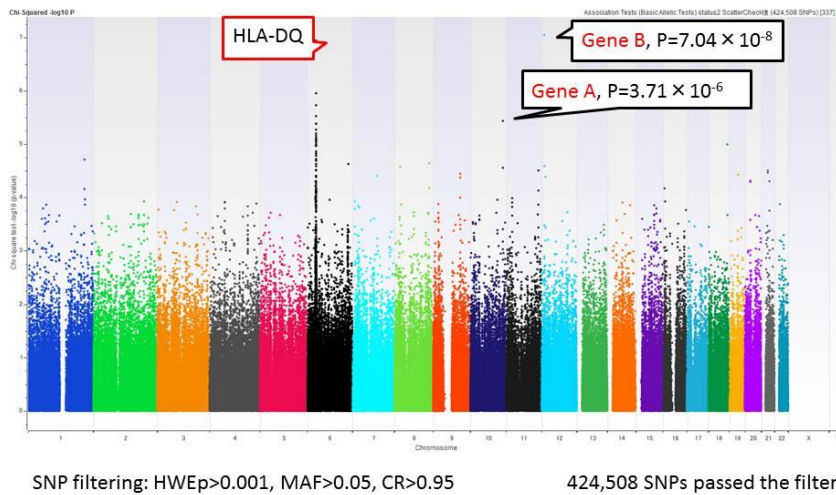
The association of variations on HLA-DPA1/DPB1 gene with CHB infection was identified by GWAS using Japanese HBV patients and healthy controls, and was replicated in independent set of Japanese samples together with samples from Korean, Hong Kong, and Thai (Nishida N et al. PLoS One 2012).

**Abstract 11:**

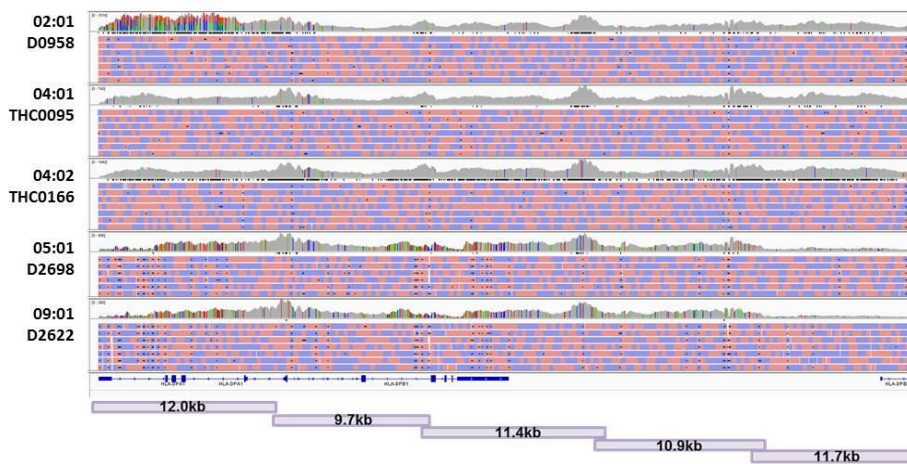
Six HLA loci, including HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DQB1, and HLA-DPB1, were genotyped to detect the signature of recent positive selection in 418 Japanese subjects, and then assessed the haplotype homozygosity (HH) of each HLA allele. Among the 80 HLA alleles with frequencies of more than 1%, we identified that DPB1\*04:01 has recently undergone strong positive selection in Japanese population.



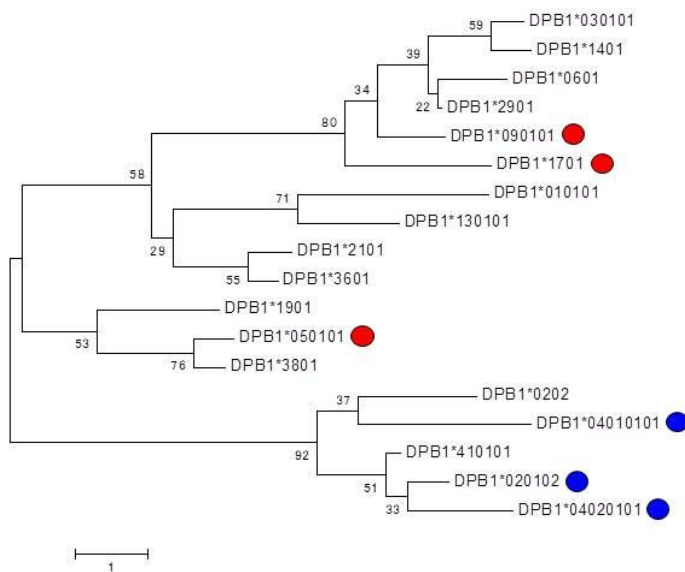
**Figure 1. Associations of HLA-DPB1 allele with chronic hepatitis B infection. A. in patients harboring DPB1\*02:01, B. in patients harboring DPB1\*05:01 and/or \*09:01.**



**Figure 2. Manhattan plot of stratified GWAS in patients with protective HLA-DPB1 alleles (DPB1\*02:01, \*04:01, and\*04:02)**



**Figure 3. Deep-sequencing of HLA-DP region in CHB patients who is homozygote with one of five DPB1 alleles.**



**Figure 4. Phylogenetic tree based on amino acid sequence of HLA-DPB1**

Researchers には、分担研究者を記載する。

# 研究のマイルストーン(HLA層別解析研究)

## 【平成24年度】

日本人健常群420検体の  
ゲノムワイドSNP解析

(感受性・抵抗性に関わる)HLA  
アレルのTagging SNP選択

## 日本人健常群420検体のゲノムワイドSNP解析

| Platform             | # marker  | データ取得状況        |
|----------------------|-----------|----------------|
| Illumina Omni2.5-8   | 2,379,855 | 2012.10データ取得完了 |
| Affymetrix SNP6.0    | 909,622   | データ取得済         |
| Affymetrix AXIOM ASI | 600,307   | データ取得済         |

## 【平成25年度】

HBV患者群1,345検体のゲノム  
ワイドSNP解析

HLAアレルによる層別解析

日本人HBV患者群のHLAアレル  
追加解析

Imputation解析における日本人referenceを作成

## (感受性・抵抗性に関わる)HLAアレルのTagging SNP選択

HBV研究: 感受性・抵抗性に関わるHLAアレルを決定するためのSNPタイピングをDigiTag2法もしくは他の安価で簡便な手法で実施する

(Seik-Soon Khor et al. The Pharmacogenomics Journal, in press)

➡ 治療対象群の囲い込みが可能となる

(共同研究先の候補: SRL、MBL、G&Gサイエンスなど)

## 【平成26年度】

候補遺伝子を対象とした  
Replication解析

疾患感受性遺伝子の同定

次世代シーケンスによる  
遺伝子機能解析

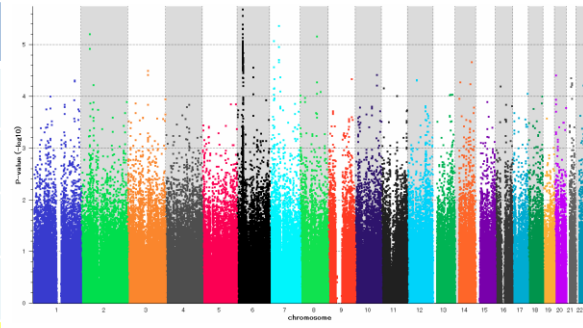
その他の研究:

Tagging SNPによるHLAアレル層別解析が可能となる

# 研究のマイルストーン(HLA層別解析研究)

## HBV患者群1,345検体のゲノムワイドSNP解析 (H25.9完了)

|                             |        |
|-----------------------------|--------|
| Total number of samples     | 1,345  |
| Re-analysis                 | 23     |
| Scan error                  | 0      |
| Dish QC error (< 0.82)      | 1      |
| Call rate error (< 0.97)    | 22     |
| Overall call rate (average) | 99.41% |



がん患者群(n=400) vs. 慢性肝炎患者群(n=515)

⇒ 新規の疾患関連候補遺伝子の選択・Replication解析へ

## HLAアレルによる層別解析

HLA遺伝子のTagging SNPを用いてHLA imputationを実施し、特定のHLAアレルを有する症例を用いた層別解析を行う

⇒ 新規の疾患関連候補遺伝子の選択・Replication解析へ

## 日本人HBV患者群のHLAアレル追加解析

徳永班で収集した1,307例のHBV患者群を対象としたHLA-DPB1アレルタイピングを湧永製薬で実施した(H25.11、H26.3完了)

(Nishida N et al. PLoS One 2014)

⇒ HLA-DPB1アレルを揃えたHBV患者群における血清を用いて、ウイルス因子の解析へ

### 【平成24年度】

日本人健常群420検体のゲノムワイドSNP解析  
(感受性・抵抗性に関わる)HLAアレルのTagging SNP選択

### 【平成25年度】

HBV患者群1,345検体のゲノムワイドSNP解析

HLAアレルによる層別解析

日本人HBV患者群のHLAアレル追加解析

### 【平成26年度】

候補遺伝子を対象としたReplication解析

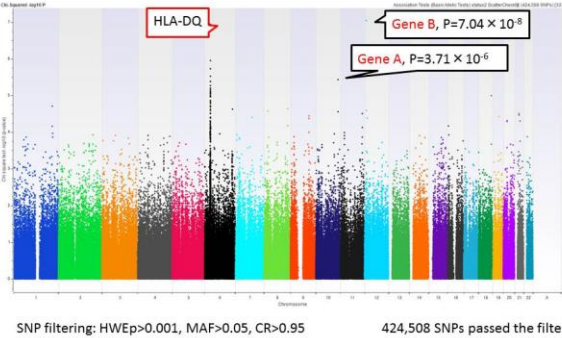
疾患感受性遺伝子の同定

次世代シーケンスによる遺伝子機能解析



# 研究のマイルストーン(HLA層別解析研究)

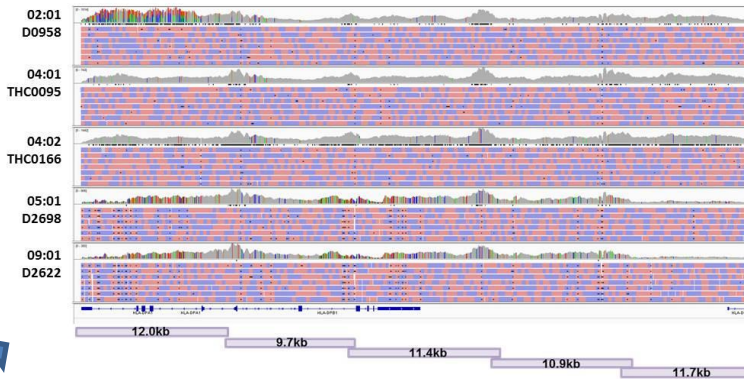
## 疾患感受性遺伝子の同定: HLA層別化GWAS



HLA-DPB1\*02:01、\*04:01、\*04:02を有するB型慢性肝炎患者群429名、健常対照群403名でのゲノムワイド関連解析を実施した

- ⇒ 疾患関連候補遺伝子に対するImputation解析を実施する (東北メディカルメガバンクとの共同研究)
- ⇒ Replication解析の実施する

## 次世代シーケンスによる遺伝子機能解析



HLA-DPA1、DPB1をカバーする遺伝子領域(約60kb)を高速シーケンサー(MiSeq)によりTarget sequencingするプロトコルを確立した

B型肝炎慢性化に関連する5つのDPB1アレルをホモで有する症例の塩基配列決定を実施した(合計192例)

- ⇒ HBV-DNAのNGS解析結果との統合的解析を実施する

### 【平成24年度】

日本人健常群420検体のゲノムワイドSNP解析

(感受性・抵抗性に関わる)HLAアレルのTagging SNP選択

### 【平成25年度】

HBV患者群1,345検体のゲノムワイドSNP解析

HLAアレルによる層別解析

日本人HBV患者群のHLAアレル追加解析

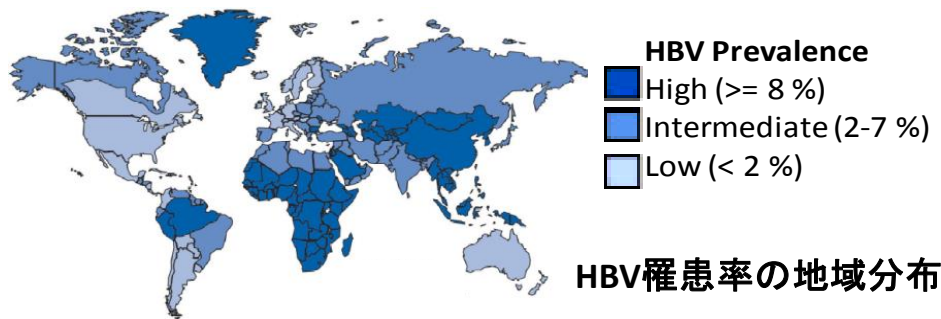
### 【平成26年度】

候補遺伝子を対象としたReplication解析(進行中)

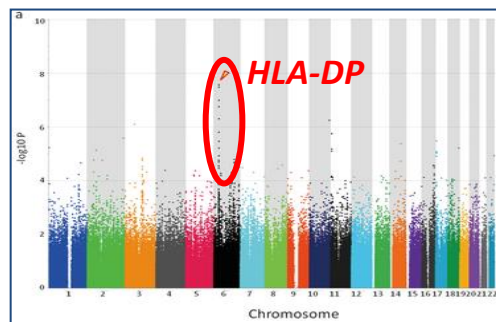
疾患感受性遺伝子の同定

次世代シーケンスによる遺伝子機能解析

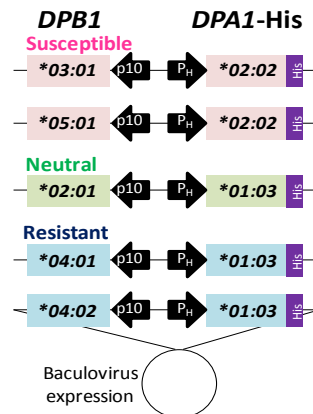
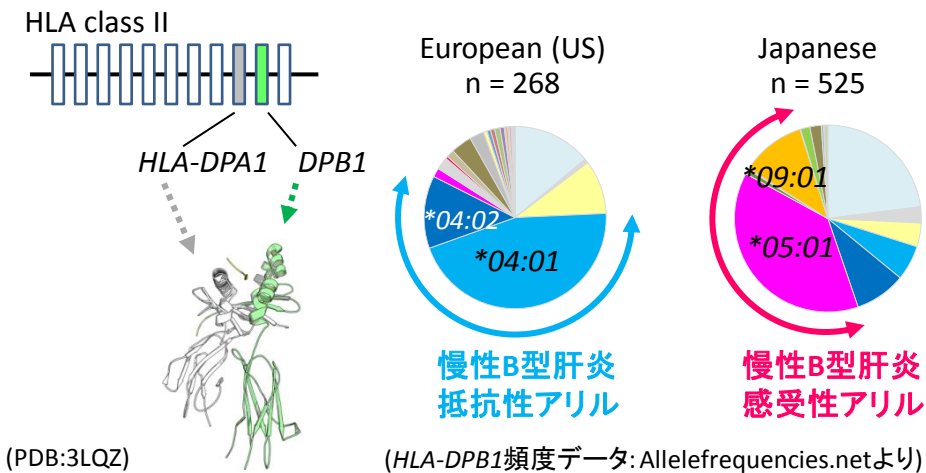
# B型肝炎ウイルス関連疾患と関連する宿主因子、ウイルス因子の解明



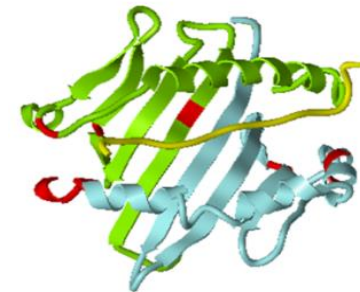
HLA-DP遺伝子多型はB型肝炎慢性化と関連する最も強い遺伝要因である



日本人を含む東アジア人集団では慢性B型肝炎感受性アレルの頻度が高い

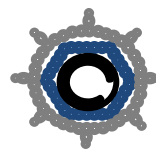


ペプチド結合測定系の確立



**HLA-DPタンパク質発現**  
(疾患関連アレルが既に準備できている)

HBV



HBs抗原

```

MENITSGFLG PLLVLQAGFF LLTRILTIPK
SLDSWWTSLN FLGGTTVCRG QNSQSPTSNH
SPTSCLPTCP GYRWMFLRRF IIFLILLIC
LIFLLVLLDY QGMLPVCPLI PGSTTSTGP
CRTCTTPAQG TSMYPSCCCT KPSDGNCTCI
PIPSSWAFGK FLWEWASARF SWLSLLVPFV
QWFVGLSPTV WLSVIWMMWY WGPSLSYLS
PFLPLLPIFF CLWVVI
    
```

疾患抵抗性・感受性HLA-DP分子が提示するHBs抗原ペプチド探索

HLA-DP HBs抗原ペプチド複合体結晶構造解析

- ・HBs抗原排除機構の解明
- ・低分子化合物による感受性アレルへのHBs抗原提示増強

東アジア人集団での慢性B型肝炎治療・予防法確立へ

課題番号 : 24指107  
 研究課題名 : (分担研究課題名) 遺伝統計学的解析の実施  
 主任研究者名 : 西田奈央  
 分担研究者名 : 大橋順  
 キーワード : ゲノムワイド関連解析、B型慢性肝炎、B型肝炎ウイルス、HLA、次世代シーケンス

研究成果 1 :

B型肝炎ウイルス感染と関連する HLA-DPB1 アリルを 5 種同定し (感受性アリルとして DPB1\*05:01 と DPB1\*09:01、抵抗性アリルとして DPB1\*02:01、DPB1\*04:01、DPB1\*04:02)、それらを揃えた層別解析により、新たな関連遺伝子・多型の同定を目指している。HLA-DPB1 をケース・コントロール間で揃えた層別解析では、HLA 領域以外と HLA 領域内の双方の関連遺伝子を探索する。HLA 領域に新たな関連多型を同定するためには、感受性もしくは抵抗性を示す各 HLA-DPB1 アリルの進化的背景を把握する必要がある。そこで、コーディング領域の塩基配列をもとに、日本人で高頻度に観察される HLA-DPB1 アリルの分子系統樹を作製した (図 1)。ここでは、非同義置換と同義置換のそれぞれに対し、Jukes-Cantor 法によりアリル間遺伝距離行列を求め、近隣結合法を用いて樹系図を作成した。非同義置換をもとに系統樹を作製した場合は、B型肝炎感受性アリル (赤丸) と B型肝炎抵抗性アリル (青丸) との明瞭なリネージが観察されないが (図 1(A))、同義置換をもとに系統樹を作製した場合は、感受性アリル (赤丸) と抵抗性アリル (青丸) との明瞭なリネージが観察された (図 1(B))。HLA 遺伝子座は、その進化過程において非同義置換に対する正の自然選択を受けてきたため、進化経路を推定するには同義置換の方が適していると思われる。図 1(B)において、DPB1\*05:01 アリルを除くと、同一リネージ内のアリル間遺伝距離が短く、このことから、同一リネージ内では、アリルの分岐が比較的最近起ったことがわかる。また、最も興味深いことに、感受性アリルのリネージに含まれる DPB1\*14:01、DPB1\*03:01、DPB1\*13:01 の各アリルは、統計学上有意差はないものの、B型肝炎ウイルス感染に対して OR は 1 より大きく (感受性傾向)、抵抗性アリルのリネージに含まれる DPB1\*02:02 アリルも有意差は検出されないものの、OR は 1 より小さく (抵抗性傾向)、感受性と抵抗性のアリルリネージが明瞭に区別された。

次に、感受性と抵抗性のアリルリネージを区別するアミノ酸置換を同定するため、多重アラインメントを行った (図 2)。113~116 番目、125 番目、200 番目のアミノ酸残基がリネージ間で異なっていることが確認された。これらの部位は、HLA 分子が抗原を提示する際に重要な抗原認識部位 (ペプチド結合部位) ではないが、HLA 分子の構造に影響を与えている可能性がある。なお、125 番目と 200 番目のアミノ酸置換は SNP によって規定されており、アリルを区別するのではなく、感受性アリルリネージと抵抗性アリルリネージの区別を目的とするならば、これらの SNP は有用なマーカーといえる。

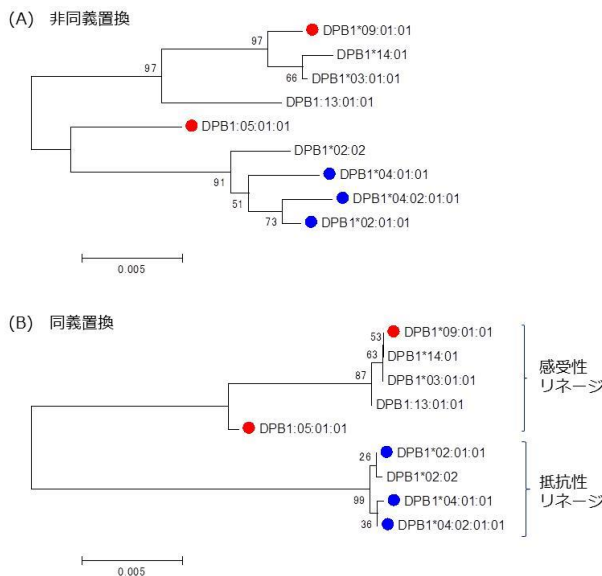


図 1 DPB1アリルの系統樹とB型肝炎感受性・抵抗性。同義置換のみを用いた系統樹 (A) と非同義置換のみを用いた系統樹 (B)。感受性アリルを●で、抵抗性アリルを●で示す。

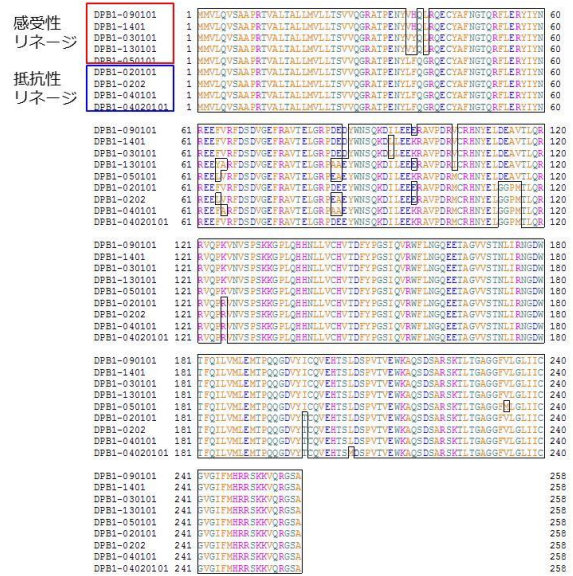


図 2 感受性アリルリネージと抵抗性アリルリネージのアミノ酸配列比較。

さらに、NGS による塩基配列結果から *HLA-DPB1* 遺伝子のアミノ酸配列をもとに近隣結合法を用いて系統樹を作成した結果、感受性リネージと抵抗性リネージに分かれることを明らかとした（図 3 参照）。

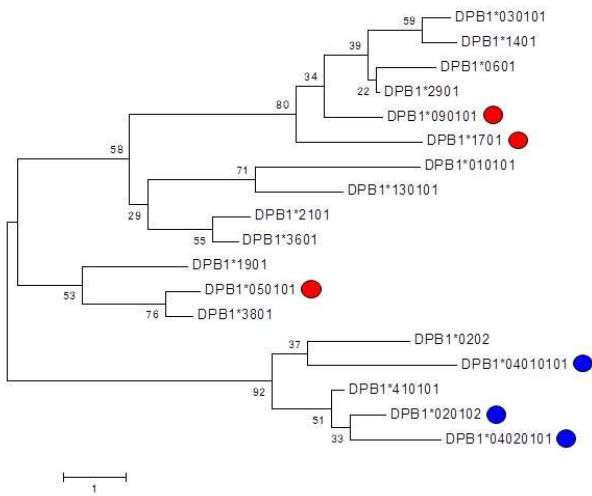


図 3 アミノ酸配列をもとにした *HLA-DPB1* アリルの系統樹

研究成果 2 :

*HLA* アリルをケース・コントロール間で揃えた層別解析を行うためには、各 *HLA* アリルを規定する SNP アリルの組合せ (Tagging SNP) をあらかじめ求めておく必要がある。申請者は、Tagging SNP 選択アルゴリズムの開発を現在までに行った。まず、ゲノムワイド SNP タイピングで使用する Affymetrix SNP6.0 および Array, Affymetrix AXIOM ASI Array に搭載されている SNP と同一の SNP について、HapMap データベース日本人 45 人の SNP 遺伝子型データを抽出し、先行研究によって調べられてある *HLA* 遺伝子型を併せて、各 *HLA* アリルと周辺 SNP とのペアワイズ連鎖不平衡係数 ( $r^2$ ) を求めた。次に、*HLA* アリルと  $r^2 > 0.8$  の関係にある全 SNP を用いて、90 本の最尤推定ハプロタイプ (*HLA* アリルと SNP アリルからなる) を求めた。最後に、SNP アリルのみからなるハプロタイプ情報を用いて、*HLA* アリルを推定する決定木 (分類木) を作製した (ID3 アルゴリズムを利用)。本アルゴリズムを日本人健常群 420 検体の SNP 遺伝子型情報に適用したところ、約 8 割の検体の *HLA* 遺伝子型を正確に予測することができた。本研究に関連して、Affymetrix SNP6.0 によるゲノムワイド SNP 解析データから、日本人集団において *HLA-DPB1\*04:01* アリルが Positive selection を受けた形跡があることを明らかにし、論文報告をした (M Kawashima, et al. PLoS One 2012) (図 4)。

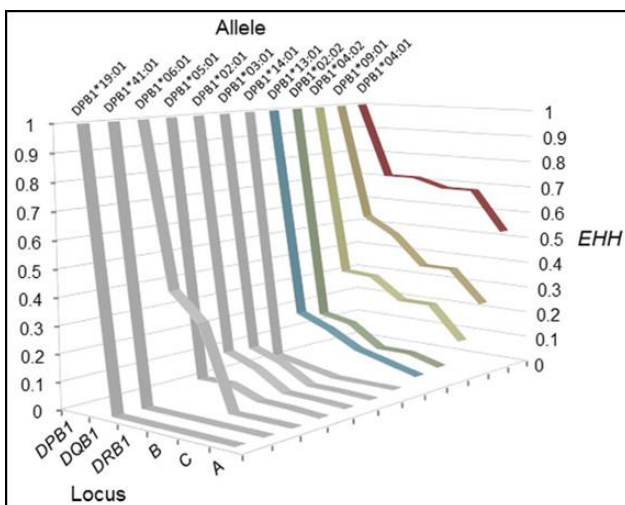


図 4 日本人における *HLA-DPB1* アリルの extended haplotype homozygosity

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：24指107

研究課題名：HLAアレルでの層別解析によるB型慢性肝炎の発症およびB型肝炎ウイルス排除に関わる宿主因子の探索

主任研究者名：西田奈央

論文発表

| 論文タイトル  | 著者  | 掲載誌                                    | 掲載号            | 年    |
|---|---|--|----------------|------|
| High-accuracy imputation for HLA class I and II genes based on high-resolution SNP data of population-specific references.  | Seik-Soon Khor, Woosung Yang, Minae Kawashima, Shigeo Kamitsuji, Xiuwen Zheng, <b>Nao Nishida</b> , Hiromi Sawai, Hiromi Toyoda, Taku Miyagawa, Makoto Honda, Naoyuki Kamatani, and Katsushi Tokunaga   | The Pharmacogenomics Journal           | in press       | 2015 |
| Human primary biliary cirrhosis-susceptible allele of rs4979462 enhances TNFSF15 expression by binding NF-1.  | Hitomi Y, Kawashima M, Aiba Y, <b>Nishida N</b> , Matsuhashi M, Okazaki H, Nakamura M, Tokunaga K.  | Hum Genet.                             | 134(7):737-47. | 2015 |
| Genome-wide association study identifies a PSMD3 variant associated with neutropenia in interferon-based therapy for chronic hepatitis C                              | Etsuko Iio · Kentaro Matsuura · <b>Nao Nishida</b> · Shinya Maekawa · Nobuyuki Enomoto · Mina Nakagawa · Naoya Sakamoto · Hiroshi Yatsushashi · Masayuki Kurosaki · Namiki Izumi · Yoichi Hiasa · Naohiko Masaki · Tatsuya Ide · Keisuke Hino · Akihiro Tamori · Masao Honda · Shuichi Kaneko · Satoshi Mochida · Hideyuki Nomura · Shuhei Nishiguchi · Chiaki Okuse · Yoshito Itoh · Hitoshi Yoshiji · Isao Sakaida · Kazuhide Yamamoto · Hisayoshi Watanabe · Shuhei Hige · Akihiro Matsumoto · Eiji Tanaka · Katsushi Tokunaga · Yasuhito Tanaka | Hum Genet.                             | 134(3):279-89. | 2015 |
| IL28B polymorphisms and clinical implications for hepatitis C virus infection in Uzbekistan.  | Khudayberganova D, Sugiyama M, Masaki N, <b>Nishida N</b> , Mukaide M, Sekler D, Latipov R, Nataliya K, Dildora S, Sharapov S, Usmanova G, Raxmanov M, Musabaev E, Mizokami M.  | PLoS One                               | 24;9(3):e93011 | 2014 |
| New susceptibility and resistance HLA-DP alleles to HBV-related diseases identified by a trans-ethnic association study in Asia.                                      | <b>Nishida N</b> , Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M.   | PLoS One.                              | 10;9(2):e86449 | 2014 |
| Impact of a single nucleotide polymorphism upstream of the IL28B gene in patients positive for anti-HCV antibody in an HCV hyperendemic area in Japan.                | Oda K, Uto H, Kumagai K, Ido A, Kusumoto K, Shimoda K, Hayashi K, Stuver SO, Tanaka Y, <b>Nishida N</b> , Tokunaga K, Tsubouchi H.  | J Med Virol.                           | 86(11):1877-85 | 2014 |
| The interaction of a single-nucleotide polymorphism with age on response to interferon- $\alpha$ and ribavirin therapy in female patients with hepatitis C infection. | Nishino J, Sugiyama M, <b>Nishida N</b> , Tokunaga K, Mizokami M, Mano S.   | J Med Virol                            | 86(7):1130-3.  | 2014 |
| Systemic and local expression levels of TNF-like ligand 1A and its decoy receptor 3 are increased in primary biliary cirrhosis.                                       | Aiba Y, Harada K, Komori A, Ito M, Shimoda S, Nakamura H, Nagaoka S, Abiru S, Migita K, Ishibashi H, Nakanuma Y, <b>Nishida N</b> , Kawashima M, Tokunaga K, Yatsushashi H, Nakamura M.   | Liver Int                              | 34(5):679-88   | 2014 |
| B型肝炎、C型肝炎ウイルス由来肝疾患に関わる感受性遺伝子の集団差  | <b>西田奈央</b>   | 医学のあゆみ                                 | 250(2):171-175 | 2014 |
| Genome-wide association study of atypical psychosis.  | Kanazawa T, Ikeda M, Glatt SJ, Tsutsumi A, Kikuyama H, Kawamura Y, <b>Nishida N</b> , Miyagawa T, Hashimoto R, Takeda M, Sasaki T, Tokunaga K, Koh J, Iwata N, Yoneda H.  | Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. | 162B(7):679-86 | 2013 |
| DNA polymorphism in the FKBP5 gene affects impulsivity in intertemporal choice.   | Kawamura Y, Takahashi T, Liu X, <b>Nishida N</b> , Tokunaga K, Ukawa K, Noda Y, Yoshikawa A, Shimada T, Umekage T, Sasak T.   | Asia Pac Psychiatry.                   | 5(1):31-8      | 2013 |
| A low-frequency GLIS3 variant associated with resistance to Japanese type 1 diabetes.   | Awata T, Yamashita H, Kurihara S, Morita-Ohkubo T, Miyashita Y, Katayama S, Kawasaki E, Tanaka S, Ikegami H, Maruyama T, Shimada A, Takahashi K, Kawabata Y, Kobayashi T, <b>Nishida N</b> , Mawatari Y.  | Biochem Biophys Res Commun.            | 437(4):521-5.  | 2013 |
| Evidence for shared genetic risk between methamphetamine-induced psychosis and schizophrenia.   | Ikeda M, Okahisa Y, Aleksic B, Won M, Kondo N, Naruse N, Aoyama-Uehara K, Sora I, Iyo M, Hashimoto R, Kawamura Y, <b>Nishida N</b> , Miyagawa T, Takeda M, Sasaki T, Tokunaga K, Ozaki N, Ujike H, Iwata N.   | Neuropsychopharmacology.               | 38(10):1864-70 | 2013 |

研究発表及び特許取得報告について

|  |   |  |                |      |
|--|---|--|----------------|------|
| SORL1 is genetically associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese, Koreans and Caucasians.   | Miyashita A, Koike A, Jun G, Wang LS, Takahashi S, Matsubara E, Kawarabayashi T, Shoji M, Tomita N, Arai H, Asada T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Hanyu H, Higuchi S, Ikeuchi T, Nishizawa M, Suga M, Kawase Y, Akatsu H, Kosaka K, Yamamoto T, Imagawa M, Hamaguchi T, Yamada M, Moriaha T, Takeda M, Takao T, Nakata K, Fujisawa Y, Sasaki K, Watanabe K, Nakashima K, Urakami K, Ooya T, Takahashi M, Yuzuriha T, Serikawa K, Yoshimoto S, Nakagawa R, Kim JW, Ki CS, Won HH, Na DL, Seo SW, Mook-Jung I; Alzheimer Disease Genetics Consortium, St George-Hyslop P, Mayeux R, Haines JL, Pericak-Vance MA, Yoshida M, <b>Nishida N</b> , Tokunaga K, Yamamoto K, Tsuji S, Kanazawa I, Ihara Y, Schellenberg GD, Farrer LA, Kuwano R.   | PLoS One.  | 8(4):e58618    | 2013 |
| Genetic influences on prefrontal activation during a verbal fluency task in adults: a twin study based on multichannel near-infrared spectroscopy.                               | Sakakibara E, Takizawa R, Nishimura Y, Kawasaki S, Satomura Y, Kinoshita A, Koike S, Marumo K, Kinou M, Tochigi M, <b>Nishida N</b> , Tokunaga K, Eguchi S, Yamasaki S, Natsubori T, Iwashiro N, Inoue H, Takano Y, Takei K, Suga M, Yamasue H, Matsubayashi J, Kohata K, Shimojo C, Okuhata S, Kono T, Kuwabara H, Ishii-Takahashi A, Kawakubo Y, Kasai K.   | Neuroimage.                                      | 85 Pt 1:508-17 | 2014 |
| Genome-Wide Association Study Reveals Host Genetic Factors for Liver Diseases  | <b>Nao Nishida</b> , Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami  | Journal of Clinical and Translational Hepatology | 1: 45-50       | 2013 |
| 高密度マイクロアレイによるゲノムワイド関連解析 (GWAS) の実際   | <b>西田奈央</b> 、徳永勝士、溝上雅史  | 肝胆膵  | 67(1): 7-14    | 2013 |
| Model incorporating the ITPA genotype identifies patients at high risk of anemia and treatment failure with pegylated-interferon plus ribavirin therapy for chronic hepatitis C. | Kurosaki M, Tanaka Y, <b>Nishida N</b> , Sakamoto N, Enomoto N, Matsuura K, Asahina Y, Nakagawa M, Watanabe M, Sakamoto M, Maekawa S, Tokunaga K, Mizokami M, Izumi N.  | J Med Virol.                                     | 85(3):449-58   | 2013 |
| Evolutionary Analysis of Classical HLA Class I and II Genes Suggests That Recent Positive Selection Acted on DPB1*04:01 in Japanese Population.                                  | Kawashima M, <b>Ohashi J</b> , <b>Nishida N</b> , Tokunaga K.   | PLoS One   | 7(10):e46806   | 2012 |
| Genome-wide Association Study Identifies TNFSF15 and POU2AF1 as Susceptibility Loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese Population.                                    | Nakamura M, <b>Nishida N</b> , Kawashima M, Aiba Y, Tanaka A, Yasunami M, Nakamura H, Komori A, Nakamuta M, Zeniya M, Hashimoto E, Ohira H, Yamamoto K, Onji M, Kaneko S, Honda M, Yamagiwa S, Nakao K, Ichida T, Takikawa H, Seike M, Umemura T, Ueno Y, Sakisaka S, Kikuchi K, Ebinuma H, Yamashiki N, Tamura S, Sugawara Y, Mori A, Yagi S, Shirabe K, Taketomi A, Arai K, Monoe K, Ichikawa T, Taniai M, Miyake Y, Kumagi T, Abe M, Yoshizawa K, Joshita S, Shimoda S, Honda K, Takahashi H, Hirano K, Takeyama Y, Harada K, Migita K, Ito M, Yatsushashi H, Fukushima N, Ota H, Komatsu T, Saoshiro T, Ishida J, Kouno H, Kouno H, Yagura M, Kobayashi M, Muro T, Masaki N, Hirata K, Watanabe Y, Nakamura Y, Shimada M, Hirashima N, Komeda T, Sugi K, Koga M, Ario K, Takesaki E, Maehara Y, Uemoto S, Kokudo N, Tsubouchi H, Mizokami M, Nakanuma Y, Tokunaga K, Ishibashi H. | Am J Hum Genet.                                  | 91(4):721-728  | 2012 |
| No association for Chinese HBV-related hepatocellular carcinoma susceptibility SNP in other East Asian populations.  | Sawai H, <b>Nishida N</b> , Mbarek H, Matsuda K, Mawatari Y, Yamaoka M, Hige S, Kang JH, Abe K, Mochida S, Watanabe M, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Honda M, Kaneko S, Tanaka E, Matsuura K, Itoh Y, Mita E, Korenaga M, Hino K, Murawaki Y, Hiasa Y, Ide T, Ito K, Sugiyama M, Ahn SH, Han KH, Park JY, Yuen MF, Nakamura Y, Tanaka Y, Mizokami M, Tokunaga K.  | BMC Medical Genetics                             | 13(1):47       | 2012 |
| Genome-Wide Association Study Confirming Association of HLA-DP with Protection against Chronic Hepatitis B and Viral Clearance in Japanese and Korean.                           | <b>Nishida N</b> , Sawai H, Matsuura K, Sugiyama M, Ahn SH, Park JY, Hige S, Kang JH, Suzuki K, Kurosaki M, Asahina Y, Mochida S, Watanabe M, Tanaka E, Honda M, Kaneko S, Orito E, Itoh Y, Mita E, Tamori A, Murawaki Y, Hiasa Y, Sakaida I, Korenaga M, Hino K, Ide T, Kawashima M, Mawatari Y, Sageshima M, Ogasawara Y, Koike A, Izumi N, Han KH, Tanaka Y, Tokunaga K, Mizokami M.   | PLoS One   | 7(6):e39175    | 2012 |

研究発表及び特許取得報告について

|   |   |          |                |      |
|---|---|----------|----------------|------|
| Highly Parallel and Short-Acting Amplification with Locus-Specific Primers to Detect Single Nucleotide Polymorphisms by the DigiTag2 Assay. | Nishida N, Mawatari Y, Sageshima M, Tokunaga K. | PLoS One | 7(1):e29967    | 2012 |
| ゲノム解析技術のHBVへの臨床応用   | 西田奈央  | 医学のあゆみ   | 242(5):473-479 | 2012 |

学会発表

| タイトル   | 発表者   | 学会名   | 場所   | 年月              |
|--|---|---|--|-----------------|
| DigiTag2法における断片化ゲノムDNAを用いたSNPタイピングの有効性   | 馬渡頼子・石井真由美・土浦貴代・徳永勝士・西田奈央   | 第37回日本分子生物学会年   | 横浜   | 2014.11.25-27   |
| 日本人B型慢性肝炎とHLA-DPB1アレルとの関連解析  | 西田奈央、澤井裕美、馬渡頼子、杉山真也、徳永勝士、溝上雅史   | 第37回日本分子生物学会年   | 横浜   | 2014.11.25-27   |
| 断片化ゲノムDNAを用いたDigiTag2法によりSNPタイピングの検討   | 石井真由美・馬渡頼子・土浦貴代・徳永勝士・西田奈央   | 日本人類遺伝学会第59回大会  | 東京   | 2014.11.19-22   |
| 日本人におけるB型慢性肝炎とHLA-DPB1アレルの関連解析   | 西田奈央、澤井裕美、山本健、馬渡頼子、杉山真也、笹月健彦、徳永勝士、溝上雅史  | 日本人類遺伝学会第59回大会  | 東京   | 2014.11.19-22   |
| Associations of HLA-DPB1 with CHB infection and HBV related HCC in Asia                              | Nao Nishida, Hiromi Sawai, Kouich Kashiwase, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami  | American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2014   | Boston   | 2014.11.07-11   |
| 遺伝子多型と疾患感受性—肝疾患を中心に—   | 溝上雅史、西田奈央   | 第63回日本感染症学会 東日本地方会総会学術集会  | 東京   | 2014年10月29日-31日 |
| Association of HLA-DPB1 alleles with CHB infection and HBV related HCC in Asia                       | Nao Nishida, Hiromi Sawai, Kouich Kashiwase, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami  | 62th Annual ASHG Meeting  | San Diego  | 2014年10月18日-22日 |
| B型肝炎慢性化および癌化に関連するHLA-DP遺伝子のアジア人集団における横断的解析   | 西田奈央、徳永勝士、溝上雅史  | 第50回 日本肝臓学会   | 京都   | 2014年6月5日-6日    |
| B型肝炎慢性化および病態進展に関わるHLA-DPアレルの横断的解析  | 西田奈央、澤井裕美、杉山真也、馬渡頼子、徳永勝士、溝上雅史   | 第50回 日本肝臓学会総会   | 東京   | 2014年5月29日-30日  |
| HLAアレルでの層別解析によるB型肝炎慢性化およびウイルス排除に関わる宿主遺伝子の探索  | 西田奈央  | 「Liver Forum in Kyoto」第16回学術集会  | 京都   | 2014年3月29日      |
| アジア人集団におけるB型肝炎患者を対象としたHLA-DP遺伝子の横断的解析  | 西田奈央、澤井裕美、馬渡頼子、杉山真也、川嶋実苗、大橋順、田中靖人、徳永勝士、溝上雅史   | 第36回日本分子生物学会年   | 神戸   | 2013年12月3日-6日   |
| B型肝炎慢性化および病態進展に関わるHLA-DP遺伝子のアジア人集団における横断的解析  | 西田奈央、澤井裕美、馬渡頼子、杉山真也、川嶋実苗、大橋順、田中靖人、徳永勝士、溝上雅史   | 日本人類遺伝学会第58回大会  | 仙台   | 2013年11月20日-23日 |
| Trans-ethnic analyses of HLA-DPA1, DPB1 haplotypes to be associated with hepatitis B virus infection | Nao Nishida, Hiromi Sawai, Kouichi Kashiwase, Mutsuhiko Minami, Masaya Sugiyama, Wai-Kay Seto, Man-Fung Yuen, Yong Poovorawan, Sang Hoon Ahn, Kwang-Hyub Han, Kentaro Matsuura, Yasuhito Tanaka, Masayuki Kurosaki, Yasuhiro Asahina, Namiki Izumi, Jong-Hon Kang, Shuhei Hige, Tatsuya Ide, Kazuhide Yamamoto, Isao Sakaida, Yoshikazu Murawaki, Yoshito Itoh, Akihiro Tamori, Etsuro Orito, Yoichi Hiasa, Masao Honda, Shuichi Kaneko, Eiji Mita, Kazuyuki Suzuki, Keisuke Hino, Eiji Tanaka, Satoshi Mochida, Masaaki Watanabe, Yuichiro Eguchi, Masaaki Korenaga, Yoriko Mawatari, Minae Kawashima, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami | American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2013   | Washington DC                                      | 2013年11月1日-5日   |
| Understanding of IL28B gene associated with treatment response for HCV patients                      | Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Mayumi Ishii, Chieko Haga, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami  | 61th Annual ASHG Meeting  | Boston   | 2013年10月22日-26日 |
| IL28B遺伝子によるC型肝炎の治療効果予測と、第二の関連遺伝子の探索  | 西田奈央、徳永勝士、溝上雅史  | 第17回日本肝臓学会大会  | 品川   | 2013年10月9日-12日  |
| Development of DigiTag2 for determination of human SNPs  | Nao Nishida   | International Conference in Medicine and Public Health 2013, The Symposium on SNP typing: Application in human and TB | Faculty of Medicine and Hospital, Siriraj, Bangkok | 2013年6月24日-28日  |

研究発表及び特許取得報告について

|  |  |  |               |                   |
|--|--|--|---------------|-------------------|
| C型慢性肝炎の治療効果に関連する第二遺伝要因の探索  | 西田奈央, 田中靖人, 杉山真也, 馬渡頼子, 石井真由美, 徳永勝士, 溝上雅史  | 第49回 日本肝臓学会総会  | 新宿            | 2013年6月6日-7日      |
| Genome-wide association study (GWAS)による日本人原発性肝硬変 (PBC) の疾患感受性遺伝子の同定<br>(Genome-wide Association Study identifies susceptibility loci for Primary Biliary Cirrhosis in the Japanese population) | 西田奈央, 川嶋実苗, 馬渡頼子, 相葉佳洋, 小森敦正, 徳永勝士, 中村 稔   | 第35回日本分子生物学会年  | 福岡            | 2012年12月11日 - 14日 |
| DigiTag2法におけるPCRプライマー設計パラメータの検証<br>(英文表題: Validation of PCR primer design parameters for DigiTag2 assay)   | 馬渡頼子, 西田奈央, 中伊津美, 徳永勝士, 溝上雅史   | 第35回日本分子生物学会年  | 福岡            | 2012年12月11日 - 14日 |
| 東アジア集団におけるB型肝炎慢性化、HBV排除を規定するHLA-DP遺伝子の同定<br>(英文表題: Association of HLA-DP variants with chronic hepatitis B and viral clearance in East Asian populations)                                      | 西田奈央, 田中靖人, 澤井裕美, 杉山真也, 馬渡頼子, 徳永勝士, 溝上雅史   | 第35回日本分子生物学会年  | 福岡            | 2012年12月11日 - 14日 |
| Investigating the novel host genetic factors associated with treatment response for HCV patients   | Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Masaya Sugiyama, Yoriko Mawatari, Mayumi Ishii, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami  | The 10th JSH Single Topic Conference "Hepatitis C: Best Practice Based on Science" | 東京            | 2012年11月21日 - 22日 |
| Meta-analysis identifies the association of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance widely in East-Asian populations   | Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Hiromi Sawai, Yoriko Mawatari, Megumi Yamaoka, Kentaro Matsuura, Masaya Sugiyama, Kazumoto Murata, Masaaki Korenaga, Naohiko Masaski, Kwang-Hyub Han, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami              | American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2012        | Boston        | 2012年11月9日 - 13日  |
| The associations of HLA-DP locus with chronic hepatitis B and viral clearance are widely replicated in East-Asian populations  | Nao Nishida, Yasuhito Tanaka, Hiromi Sawai, Yoriko Mawatari, Megumi Yamaoka, Asako Koike, Kentaro Matsuura, Masaya Sugiyama, Kazumoto Murata, Masaaki Korenaga, Naohiko Masaski, Kwang-Hyub Han, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami | 61th Annual ASHG Meeting   | San Fransisco | 2012年11月6日 - 10日  |
| ウイルス性肝炎にみる宿主因子とウイルス因子  | 西田奈央   | 日本人類遺伝学会 第57回大会 シンポジウム7 感染症の遺伝学: ゲノムと環境の相互作用                                       | 東京            | 2012年10月24日 - 27日 |
| 日本人および韓国人におけるB型肝炎慢性化、B型肝炎ウイルス排除を規定するHLA-DP遺伝子の同定   | 西田奈央, 田中靖人, 澤井裕美, 杉山真也, 馬渡頼子, 徳永勝士, 溝上雅史   | 第16回日本肝臓学会大会 (JDDW)  | 神戸            | 2012年10月10日 - 13日 |

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

| 発明名称             | 登録番号          | 特許権者(申請者)<br>(共願は全記載)  | 登録日(申請日)   | 出願国 |
|------------------|---------------|------------------------|------------|-----|
| B型肝炎の慢性化の素因の検出方法 | 特願2013-179634 | 徳永勝士, 澤井裕美, 溝上雅史, 西田奈央 | 2013年8月30日 | 日本  |

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。  
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。