

課題番号 : 28指1302
 研究課題名 : HLA遺伝子によるHBV関連疾患の発症機序解明を目指す研究
 主任研究者名 : 西田 奈央
 分担研究者名 : 大橋 順

キーワード : B型肝炎、肝細胞癌、HLA 遺伝子、GWAS、高速シーケンス

研究成果 1 :

日本人におけるB型肝炎患者群 1,033例と健常対照群 942例を対象としたゲノムワイド関連解析およびHLA関連解析の結果から、B型慢性肝炎との関連が明らかとなっていた5つのHLA-DPB1アレルのうち、DPB1*04:01とDPB1*09:01は連鎖不平衡にあるDRB1-DQB1ハプロタイプ(DRB1*13:02-DQB1*06:04、DRB1*15:02-DQB1*06:01)が第一義的な関連を示すことを明らかとした(Nishida et al. Sci Rep 2016)。

研究成果 2 :

DPB1*04:01と、DPB1*09:01の代わりに、DRB1*13:02-DQB1*06:04、DRB1*15:02-DQB1*06:01を用いて組み合わせ効果を検証したところ、DPB1(表1)よりもDRB1-DQB1ハプロタイプ(表2)を用いた個別Genotype解析の結果の方がより確かな関連を示した。

表1 DPB1を用いた個別Genotypeの関連解析

DPB1		HBV patients		Healthy Controls		X ²	OR	95% CI	
		(n=805)		(n=2,278)				lower	upper
		count	%	count	%				
04:01	09:01	2	0.2	28	1.2	1.48E-02	0.20	0.05	0.84
	04:01	1	0.1	10	0.4	1.98E-01	0.28	0.04	2.21
09:01	09:01	16	2.0	23	1.0	3.28E-02	1.99	1.05	3.78

表2 DRB1-DQB1ハプロタイプを用いた個別Genotypeの関連解析

DRB1-DQB1		HBV patients		Healthy Controls		X ²	OR	95% CI	
		(n=805)		(n=2,278)				lower	upper
		count	%	count	%				
13:02-06:04	15:02-06:01	3	0.4	33	1.4	1.46E-02	0.25	0.08	0.83
	13:02-06:04	1	0.1	12	0.5	1.30E-01	0.23	0.03	1.81
15:02-06:01	15:02-06:01	24	3.0	25	1.1	2.39E-04	2.77	1.57	4.88

研究成果 3 :

B型肝炎患者群の中で肝発がんのある症例と肝発がんのない症例を、それぞれ健常群と比較したところ、B型慢性肝炎との関連が明らかとなっていた5つのDPB1アレルのうち、2つのDPB1アレルは肝発がんのある群においてのみ有意な関連を示した。一方で、別の1つのDPB1アレルは肝発がんのない群においてのみ有意な関連を示した。

Subject No. : 28-Shi-1302
 Title : Understanding of roles of HLA in HBV-related diseases
 Researchers : Nao Nishida, Jun Ohashi
 Key word : Hepatitis B infection, hepatocellular carcinoma, HLA, GWAS, NGS

Abstract 1 :

In comparisons of 1,043 HBV patients and 931 healthy individuals, the association of two *DPB1* alleles (*DPB1*09:01*, and **04:01*) had come from linkage disequilibrium (LD) with *HLA-DR-DQ* haplotypes, *DRB1*15:02-DQB1*06:01* and *DRB1*13:02-DQB1*06:04*, respectively, among the five previously reported *HLA-DPB1* susceptibility and protective alleles.

Abstract 2 :

Association tests using the above-mentioned *DRB1-DQB1* genotypes infection showed more convincing association with susceptibility to and protection from CHB than ones using the corresponding *DPB1* genotypes, i.e. *DPB1*09:01*, and **04:01* (Table 1 for *DPB1* allele, Table 2 for *DRB1-DQB1* haplotype).

Table 1 Association of *DPB1* genotypes with CHB infection

DPB1		HBV patients		Healthy Controls		X ²	OR	95% CI	
		(n=805)		(n=2.278)				lower	upper
		count	%	count	%				
04:01	09:01	2	0.2	28	1.2	1.48E-02	0.20	0.05	0.84
	04:01	1	0.1	10	0.4	1.98E-01	0.28	0.04	2.21
09:01	09:01	16	2.0	23	1.0	3.28E-02	1.99	1.05	3.78

Table 2 Association of *DRB1-DQB1* genotypes with CHB infection

DRB1-DQB1		HBV patients		Healthy Controls		X ²	OR	95% CI	
		(n=805)		(n=2.278)				lower	upper
		count	%	count	%				
13:02-06:04	15:02-06:01	3	0.4	33	1.4	1.46E-02	0.25	0.08	0.83
	13:02-06:04	1	0.1	12	0.5	1.30E-01	0.23	0.03	1.81
15:02-06:01	15:02-06:01	24	3.0	25	1.1	2.39E-04	2.77	1.57	4.88

Abstract 3 :

In comparisons of *DPB1* allele frequencies between HCC positive and negative HBV patients and healthy individuals, two *DPB1* alleles showed to be associated only with HCC positive patients. Moreover, one other *DPB1* allele showed to be associated only with HCC negative patients.

Researchers には、分担研究者を記載する。

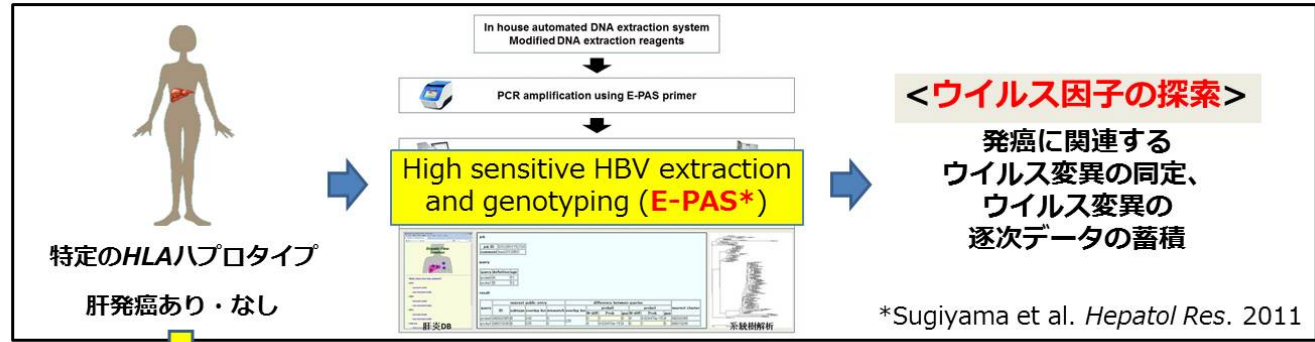
研究のマイルストーン(28指1302: HLA遺伝子によるHBV関連疾患の発症機序解明を目指す研究)

【平成28年度】

HLA imputationおよび
HLA関連解析の実施

HBV genotype判定、HBV-DNA
塩基配列決定

HLA層別解析の実施



【平成29年度】

HLAリスク症例のゲノム解析

HBV変異関連解析

ハプロタイプ内多様性解析

1. 簡易シート

HLA	DRB1	DQB1	DRB3	DQB2	DRB4	DQB3	DRB5	DQB4	DRB6	DQB5
DRB1*01:01	DQB1*03:01	DRB3*01:01	DQB2*02:01	DRB4*01:01	DQB3*02:01	DRB5*01:01	DQB4*03:01	DRB6*01:01	DQB5*01:01	

2. 詳細シート

HLA imputationの実施

<臨床的特徴の探索>
290項目の調査表を基に肝疾患に関連する臨床的特徴を同定

GWAS: HBV患者群1,033例と健常者942例の比較

Genome-wide SNP imputation (ToMMo-1,070例の日本人Referenceデータを使用)

候補遺伝子の機能予測プラットフォームの構築

<宿主因子の探索>
慢性肝炎や肝発がんに関連する宿主因子の同定

HLA imputation (Khor SS, Nishida N et al. Pharmacogenomics J 2015)

Posterior probability	A	C	B	DRB1	DQB1	DPB1
0	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
0-0.25	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.8%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
0.25-0.50	5 (1.2%)	0 (0.0%)	5 (1.2%)	1 (0.2%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
0.50-0.75	50 (12.0%)	102 (24%)	44 (10.5%)	15 (3.8%)	6 (1.4%)	12 (2.9%)
0.75-1	362 (86.8%)	407 (97.6%)	368 (88.2%)	400 (95.9%)	411 (98.6%)	405 (97.1%)

【平成30年度】

疾患感受性遺伝子の同定

肝癌関連ウイルス変異の同定

予後予測モデルの構築

宿主因子、ウイルス因子と共に詳細な臨床情報を統合的に解析

慢性肝炎や肝発がんのリスク診断や予後予測アルゴリズムを構築

【平成28年度 実施内容】

日本人におけるB型肝炎患者群1,033例と健常対照群942例を対象としてHLA imputationおよびHLA関連解析を実施

➡ B型慢性肝炎との関連が明らかとなっていた5つのHLA-DPB1アレルのうち、DPB1*04:01とDPB1*09:01は連鎖不平衡にあるDRB1-DQB1ハプロタイプ(DRB1*13:02-DQB1*06:04、DRB1*15:02-DQB1*06:01)が第一義的な関連を示すことを明らかとした(Nishida et al. Sci Rep 2016)

Haplotype frequency		P value	OR	DRB1-DQB1-DPB1 haplotype
HBV patients	Healthy controls			
1.0%	1.9%	1.56×10^{-2}	0.52	0406 0302 0201
4.5%	5.2%	0.235	0.85	0901 0303 0201
1.4%	2.4%	2.43×10^{-2}	0.60	0405 0401 0201
1.6%	2.0%	0.219	0.76	0803 0601 0201
1.4%	1.3%	0.776	1.07	1502 0601 0201
2.4%	3.3%	7.50×10^{-2}	0.72	1501 0602 0201
<hr/>				
1.9%	4.1%	2.73×10^{-5}	0.44	1302 0604 0401
<hr/>				
0.9%	1.3%	0.203	0.69	0405 0401 0402
2.0%	4.2%	5.99×10^{-5}	0.47	0101 0501 0402

B型慢性肝炎になりにくいDPB1アレル(*02:01, *04:01, *04:02)を含むハプロタイプの関連解析

Haplotype frequency		P value	OR	DRB1-DQB1-DPB1 haplotype
HBV patients	Healthy controls			
1.0%	1.3%	0.376	0.78	1101 0301 0501
1.7%	1.3%	0.232	1.32	1201 0301 0501
1.6%	1.6%	0.891	0.97	0802 0302 0501
11.6%	7.7%	1.76×10^{-6}	1.57	0901 0303 0501
8.6%	7.6%	0.193	1.15	0405 0401 0501
6.3%	3.5%	2.24×10^{-6}	1.84	0803 0601 0501
3.4%	2.4%	4.98×10^{-2}	1.39	1501 0602 0501
<hr/>				
14.7%	8.3%	1.13×10^{-13}	1.91	1502 0601 0901

B型慢性肝炎になりやすいDPB1アレル(*05:01, *09:01)を含むハプロタイプの関連解析

課題番号 : 28指1302
 研究課題名 : HLA遺伝子によるHBV関連疾患の発症機序解明を目指す研究
 (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 : B型肝炎、肝細胞癌、HLA 遺伝子、GWAS、高速シーケンス

研究成果 :

日本人におけるB型肝炎患者群 1,033 例 (表 1) と健常対照群 942 例 (表 2) における HLA class II 遺伝子の連鎖不平衡解析を実施した (Nishida, Ohashi et al. Sci Rep 2016)。

表 1 B型肝炎患者群における HLA class II 遺伝子の連鎖不平衡解析

A. HBV patients	DRB1											DQB1					
	*01:01	*04:03	*04:06	*08:03	*09:01	*11:01	*13:01	*13:02	*14:03	*14:06	*15:02	*03:02	*03:03	*05:01	*06:01	*06:03	*06:04
DQB1*03:02	0.00	0.27	0.33	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00						
DQB1*03:03	0.01	0.00	0.00	0.03	0.90	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06						
DQB1*05:01	0.86	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01						
DQB1*06:01	0.01	0.00	0.00	0.29	0.10	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.54						
DQB1*06:03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00						
DQB1*06:04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.95	0.00	0.00	0.01						
DPB1*02:01	0.00	0.00	0.02	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
DPB1*04:01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.63	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.67
DPB1*04:02	0.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.20	0.02	0.00	0.00
DPB1*05:01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00	0.12	0.00	0.04	0.01	0.05	0.00	0.02
DPB1*06:01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DPB1*09:01	0.01	0.00	0.00	0.02	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.69	0.00	0.04	0.01	0.38	0.00	0.00

表 2 日本人健常対照群における HLA class II 遺伝子の連鎖不平衡解析

B. Healthy controls	DRB1											DQB1						
	*01:01	*04:03	*04:06	*04:07	*08:03	*09:01	*11:01	*13:01	*13:02	*14:03	*14:06	*15:02	*03:02	*03:03	*05:01	*06:01	*06:03	*06:04
DQB1*03:02	0.01	0.25	0.35	0.04	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01						
DQB1*03:03	0.01	0.00	0.01	0.00	0.02	0.91	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.02						
DQB1*05:01	0.93	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01						
DQB1*06:01	0.02	0.01	0.01	0.00	0.37	0.04	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.52						
DQB1*06:03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.96	0.00	0.00	0.00	0.00						
DQB1*06:04	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.93	0.00	0.00	0.01						
DPB1*02:01	0.01	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	
DPB1*04:01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.48	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.52	
DPB1*04:02	0.30	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.29	0.01	0.00	0.00
DPB1*05:01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.05	0.00	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02
DPB1*06:01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
DPB1*09:01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.61	0.01	0.02	0.01	0.32	0.00	0.01

研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 28指1302

研究課題名：HLA遺伝子によるHBV関連疾患の発症機序解明を目指す研究

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
Role of HLA-DP and HLA-DQ on the clearance of hepatitis B virus and the risk of chronic infection in a multiethnic population.	Trinks J, Nishida N , Hulaniuk ML, Caputo M, Tsuchiura T, Marciano S, Haddad L, Blejer J, Bartoli S, Ameigeiras B, Frías SE, Vistarini C, Heinrich F, Remondegui C, Ceballos S, Echenique G, Charre Samman M, D'Amico C, Rojas A, Martínez A, Ridruejo E, Fernández RJ, Burgos Pratz L, Salamone H, Nuñez F, Galdame O, Gadano A, Corach D, Sugiyama M, Flichman D, Tokunaga K, Mizokami M.	Liver Int.	in press	2017
Understanding of HLA-conferred susceptibility to chronic hepatitis B infection requires HLA genotyping-based association analysis.	Nishida N , Ohashi J, Khor SS, Sugiyama M, Tsuchiura T, Sawai H, Hino K, Honda M, Kaneko S, Yatsushashi H, Yokosuka O, Koike K, Kurosaki M, Izumi N, Korenaga M, Kang JH, Tanaka E, Taketomi A, Eguchi Y, Sakamoto N, Yamamoto K, Tamori A, Sakaida I, Hige S, Itoh Y, Mochida S, Mita E, Takikawa Y, Ide T, Hiasa Y, Kojima H, Yamamoto K, Nakamura M, Saji H, Sasazuki T, Kanto T, Tokunaga K, Mizokami M.	Sci Rep	6:24767	2016

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Effects of HLA-DPB1 genotypes on HBV-related diseases in Japanese population	Nao Nishida , Jun Ohashi, Masaya Sugiyama, Takayo Tsuchiura, Mayumi Ishii, Katsushi Tokunaga, and Masashi Mizokami	第13回国際人類遺伝学会	京都	2016.4.3-7
HBV関連疾患とHLAの関連	西田奈央 、杉山真也、澤井裕美、考藤達哉、徳永勝士、溝上雅史	第52回 日本肝臓学会総会	幕張	2016.5.19-20
肝疾患研究におけるゲノム解析	西田奈央	2016年度 大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 研究会	三島	2016.6.29
Associations between HLA class II genes and chronic hepatitis B infection in the Japanese population	Masashi Mizokami, Nao Nishida , Katsushi Tokunaga	2016 International HBV Meeting	Seoul	2016.9.21-24
Comprehensive understanding of associations between HLA class II genes and chronic hepatitis B infection in Japanese individuals	Nao Nishida , Jun Ohashi, Seik-Soon Khor, Masaya Sugiyama, Hiromi Sawai, Katsushi Tokunaga, Masashi Mizokami	66th Annual ASHG Meeting	Vancouver	2016.10.18-22.

研究発表及び特許取得報告について

Comprehensive understanding of associations between HLA class II genes and chronic hepatitis B infection in the Japanese population	Nao Nishida, Jun Ohashi , Masaya Sugiyama, Hiromi Sawai, Keisuke Hino, Masao Honda, Shuichi Kaneko, Hiroshi Yatsunashi, Osamu Yokosuka, Kazuhiko Koike, Masayuki Kurosaki, Namiki Izumi, Masaaki Korenaga, Jong-Hon Kang, Eiji Tanaka, Akinobu Taketomi, Yuichiro Eguchi, Naoya Sakamoto, Kazuhide Yamamoto, Akihiro Tamori, Isao Sakaida, Shuhei Hige, Yoshito Itoh, Satoshi Mochida, Eiji Mita, Yasuhiro Takikawa, Tatsuya Ide, Yoichi Hiasa, Minoru Nakamura, Hiroh Saji, Takehiko Sasazuki, Tatsuya Kanto, Katsushi Tokunaga, and Masashi Mizokami	American Association for the study of Liver Diseases The Liver Meeting 2016	Boston	2016.11.11-15
日本人におけるB型肝炎関連疾患とHLA遺伝子の関連	西田奈央 、澤井裕美、大橋順、Seik-Soon Khor、杉山真也、土浦貴代、石井真由美、徳永勝士、溝上雅史	第39回日本分子生物学会	横浜	2016.11.30-12.
自己免疫性肝疾患の遺伝的背景	西田奈央	School of AutoImmune Liver Disease	幕張	2017.1.7-8

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

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)	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2016-204735	徳永勝士、澤井裕美、溝上雅史、 西田奈央 、杉山真也	2016年10月17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