

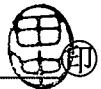
財団法人日中医学協会  
2007年度共同研究等助成金－調査・共同研究－報告書

年 月 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料： 研究報告書

受給者氏名： 田中 靖人   
所属機関名： 名古屋市立大学大学院医学研究科  
所属部署： 臨床分子情報医学分野 職名： 准教授  
〒 467-8601  
所在地： 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1  
電話： 052-853-8292 内線： 直通

1. 助成金額： 1,000,000 円

2. 研究テーマ

HBV genotype C/D hybridの臨床的・ウイルス学的特徴の解析

3. 成果の概要 (100字程度)

中国側の共同研究者である南方病院、王 戦会先生が平成19年7月23日に来日した。当研究室にて1.2倍長の複製クローン作成方法およびサザンブロット法を教授し、帰国後は別紙報告書の様に研究を実施しHBV genotype/subgenotypeや特異的変異を決定する事で、肝病態進展を予測できる可能性が示唆された。

※発表論文等

1. Wang Z, Tanaka Y, Mizokami M, et al. Distribution and characteristics of hepatitis B virus genotype C Subgenotypes in China. J Viral Hepat. 14(6):426-34. 2007.

2. Wang Z, Tanaka Y, Mizokami M, et al. Clinical and Virological characteristics of hepatitis B virus subgenotypes Ba, C1 and C2 in China. J Clin Microbiol. 45(5):1491-6. 2007.

4. 研究組織

日本側研究者氏名： 田中 靖人 職名： 准教授

所属機関： 名古屋市立大学大学院医学研究科 部署： 臨床分子情報医学分野

中国側研究者氏名： 王 戦会 職名： 研究員

所属機関： 南方病院 部署： 感染症科

## HBV genotype C/D hybrid の臨床的・ウイルス学的特徴の解析

研究者氏名	田中 靖人
所属機関	名古屋市立大学大学院医学研究科
役職	准教授
共同研究者氏名	王 戦会
所属機関	中国南方病院
役職	研究員

### 要旨

我々がすでに王先生らと行った研究結果から、HBV Subgenotype C1 は主に海南省や広東省といった中国南部に分布し、C2 は中国全土に広く分布しており、チベットに隣接した青海省や甘肅省には S 領域が genotype D に遺伝子組換えを起こした C/D hybrid が存在した事が既に分かっていた。今回は C1、C2、C/D hybrid の臨床像の違いを明らかにする事と、中国に存在する C1、C2、C/D hybrid の 1.2 倍長の複製クロンを作成し、in vitro 複製系を用いて genotype/subgenotype によるウイルス学的違いを明らかにする事を目的とした。今回の検討結果からは中国広東省で、HBV/Ba, HBV/C1, HBV/C2 を広く認め、それぞれ異なる遺伝子変異パターンが存在した事、HBV genotype/subgenotype や特異的変異を決定する事により、肝病態進展の予測が可能となる事が示唆された。

Key Words B型肝炎ウイルス、genotype、subgenotype

### 背景

B型肝炎ウイルス(HBV)は、現在まで A から H の 8 つの遺伝子型(genotype)が報告されている。アジアには genotype B と C が存在し、予後不良とされる HBV genotype C には主に 2 つの subgenotype が存在する。最近我々は PCR-RFLP 法を用いた簡便な分類法を開発し、Dr. Wang らとの共同研究により、中国全土から集められた HBV genotype C 陽性 534 検体の解析を行った。HBV/C1 112 例(21%)、C2 397 例(74%)であり、C1 は主に海南省や広東省といった中国南部に分布し、C2 は中国全土に広く分布した。さらに、チベットに隣接した青海省や甘肅省には S 領域が genotype D に遺伝子組換えを起こした C/D hybrid が存在した(約 5%) (文献 1)。こうした中国に存在する異なる genotype/subgenotype の臨床像及びウイルス学的特徴は明確にされていない。

### 目的

1. C1、C2、C/D hybrid の臨床像の違いを明らかにする。
2. 中国に存在する C1、C2、C/D hybrid の 1.2 倍長の複製クロンを作成し、in vitro 複製系を用いて genotype/subgenotype によるウイルス学的違いを明らかにする。

### 対象と方法

1. 中国広東省の慢性 B 型肝炎患者のコホート 211 人(慢性肝炎 132 人、肝硬変 32 人、肝細胞癌 47 人)から同意取得後、血清を採取。DNA を抽出した後、HBV genotype/subgenotype や病態進展に寄与するとされている enhancer II/core promoter/precore 領域の遺伝子配列を決定した。
2. Dr. Wang を日本に招聘し、我々の過去の報告(Sugiyama M, Tanaka Y, et al., Hepatology 2006)に基づいた 1.2 倍長の複製クロン作成方法およびサザンブロット法を教授した。中国に帰国後、上記患者血清から DNA を分離し、C1、C2、C/D hybrid の 1.2 倍長の複製クロンを作成した。

## 結果

1. 慢性B型肝炎患者のコホート211人中、HBV/Ba:108人(51.2%),HBV/C1:71人(33.6%),HBV/C2:32人(15.2%)で、C/D hybridは認めなかった(文献2)。
2. CH, LCにおいて、Baが有意であったが(それぞれ、59.8%、56.3%)、HCC患者ではgenotype Cの割合が有意に高くなった(76.6%; C1 55.3%, C2 23.3%)。
3. 各genotype/subgenotype毎の変異パターンは異なり、C1では1762T/1764A変異が多く(77.5%)、Baは1896A変異(41.7%)、C2は中間的な変異パターンで1762T/1764A変異53.1%、1896A変異31.3%認めた。さらに、1653T変異はC2、1753V変異はC1に有意に多い結果であったが、多変量解析では1653T変異、1753V変異、1762T/1764A変異及び年齢がHCCに寄与する因子となった。
4. C1、C2、C/D hybridの1.2倍長の複製クローンを作成した。ウイルス複製は、サザンブロット法により確認した。

## 結語

中国広東省では、HBV/Ba, HBV/C1, HBV/C2を広く認め、それぞれ異なる遺伝子変異パターンが存在した。HBV genotype/subgenotypeや特異的変異を決定することにより、肝病態進展を予測することが可能かもしれない。今後は、今回作成した1.2倍長の複製クローンを用いた細胞培養系により、ウイルス学的特徴を明確にしたい。

## 論文発表

1. Wang Z, Hou J, Zeng G, Wen S, **Tanaka Y**, Mizokami M, Naoumov NV, Qi Y. Distribution and characteristics of hepatitis B virus genotype C Subgenotypes in China. *J Viral Hepat.* 14(6):426-34. 2007.
2. Wang Z, **Tanaka Y**, Huang Y, Kurbanov F, Chen J, Zeng G, Zhou B, Mizokami M, Hou J. Clinical and Virological characteristics of hepatitis B virus subgenotypes Ba, C1 and C2 in China. *J Clin Microbiol.* 45(5):1491-6. 2007.

## 学会発表

1. Wang Z, **Tanaka Y**, Huang YH, Kurbanov F, Chen JJ, Zeng GB, Zhou B, Mizokami M, Hou JL. Subgenotypes BA, C1 and C2 of hepatitis B virus in china: Clinical and virological characteristics. 41st Annual Meeting of the European Association for the Study of The Liver (EASL 2006) April 26-30, 2006, Vienna, Austria. [JOURNAL OF HEPATOLOGY. 46:S161.2007.]
2. Wang Z, **Tanaka Y**, Huang Y, Kurbanov F, Chen J, Zeng G, Zhou B, Mizokami M, Hou J. Clinical and virological characteristics of hepatitis B virus subgenotypes Ba, C1 and C2 in China. [Abstract P-0249, 17th APASL Conference. March 27-30 2007. Kyoto, Japan.] *Hep Intl* 2007 Mar;1(1):117