

に報告のないHBV断片の組み込み部位が同定可能であった。さらに、組み込まれたHBV断片および周囲ヒトゲノムのCG配列部位におけるシトシンメチル化をパイロシーケンス法により定量解析した結果、宿主側及びウイルス側のメチル化には一定の傾向があることが判明した(*Genome Res.* 2015)。本研究結果が今後の発がん診断、治療への応用が期待できると思われるので報告する。(図1)

結 果

1. HBV遺伝子断片は様々なヒトゲノム部位に組み込まれていた。

我々の開発したG-NaVIシステムを用いることでHBV陽性肝がん細胞株およびHBV陽性肝細胞がん組織の両方でヒトゲノム内へのHBV組み込み部を効率よく同定することに成功した。組み込み部位は細胞株および臨床検体において様々であったが、共通してexon領域への組み込みが極めて少ない結果であったことは非常に興味深く、次世代シーケンサーを利用した全エクソン解析のような従来の手法では、下図のような組み込み部位の同定は困難といえた。(図2)

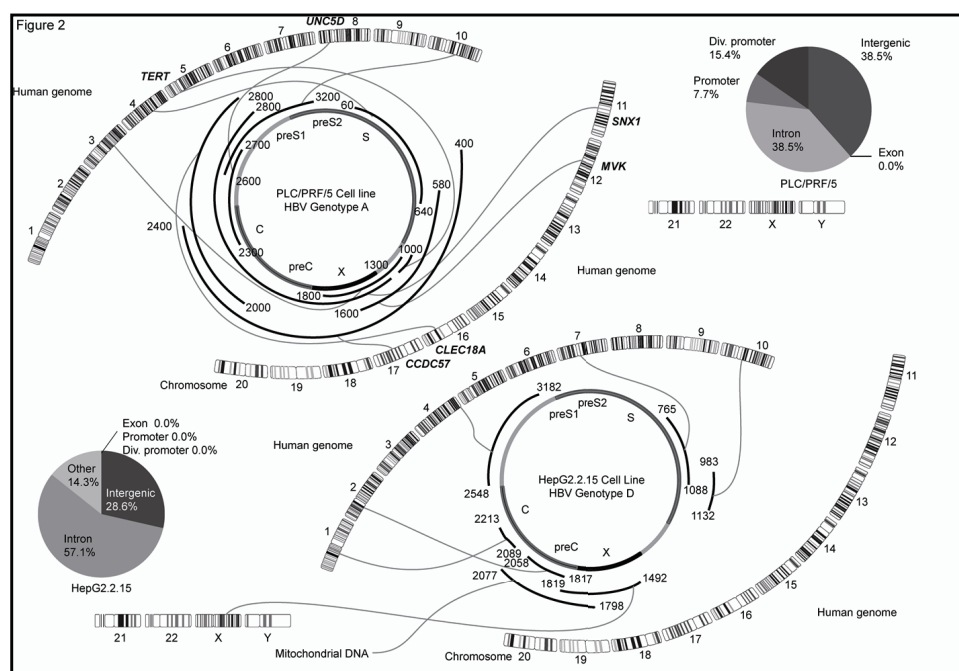


図2：肝がん細胞株「PLC/PRF/5, HepG2215」における
HBVゲノム断片のヒトゲノム内への組み込み解析

2. 組み込み部位におけるCG配列部シトシンのメチル化は「ヒトゲノム側」と「ウイルスゲノム側」で共通のメチル化レベルにある傾向であった。さらに、メチル化はヒトゲノム側とウイルスゲノム側のどちらのほうから発生してくるのかを検証すべく、組み込み部位にお

ける対側アレルのメチル化を解析した結果、組み込み部位のヒトゲノムが高メチル化の部位（通常Gene body領域）であった場合には組み込まれたウイルスゲノム断片もメチル化が起き、ヒトゲノムが低メチル化（通常promoter領域）の部位にウイルスが組み込まれた場合にて低メチル化のままにあることが判明した（図3）。

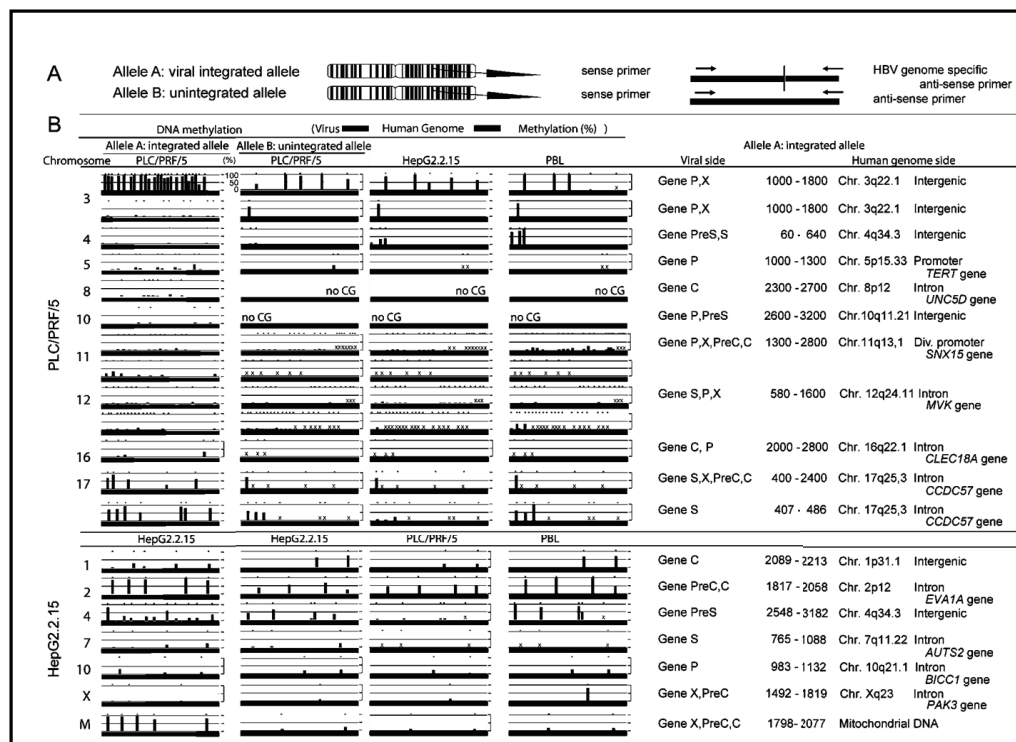


図 3

考 察

我々が開発したG-NaVI法は、ヒトゲノム内へのウイルスゲノム組み込み解析として検体の種類にかかわらず効率かつ高感度に解析を行う優れた方法と思われた。また、HBVの組み込み部位に関しては既存の報告と同じくランダムと思われたが、HBVゲノム組み込み部位ごとに一定の共通した変化があることに気付いた。

組み込まれたHBVゲノム断片のメチル化は、ヒトゲノム側（宿主側）のシトシンメチル化レベルに影響される傾向にあることが判明した。

要 約

本研究はヒトゲノム内へのHBVゲノム断片の組み込み現象からみた肝発がんメカニズム研究である。本法は、組み込み部位を網羅的に解析できる画期的な手法であり、HBV治療前後、治療抵抗性研究等、幅広く応用が可能と思われた。

文 献

1. Watanabe Y, Yamamoto H (co-first) , Oikawa R, Toyota M, Yamamoto M, Kokudo N, Tanaka S, Arii S, Yotsuyanagi H, Koike K, Itoh F. DNA methylation at hepatitis B viral integrants is associated with methylation at flanking human genomic sequences. *Genome Res*, 25: 328-337, 2015.
2. Morita R, Yamamoto H, Watanabe Y. Suppressive effects of EB virus infection on HER2 expression in gastric cancer cells. *Integr Mol Med*, 1:57-60, 2014.
3. Yoshida Y, Yamamoto H, Watanabe Y. Detection of DNA methylation of gastric juice-derived exosomes in gastric cancer. *Integr Mol Med*, 1:17-20, 2014.
4. Yamamoto H, Watanabe Y, Taniguchi H, Nosho K. An updated review of gastric cancer in the next-generation sequencing era: insights from bench to bedside and vice versa. *World J Gastroenterol*, 20:3927-3937, 2014.
5. Watanabe Y, Itoh F. Aberrant DNA methylation status of DNA repair genes in breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy. *Genes Cells*, 18: 1120-1130, 2013.
6. Oishi Y, Watanabe Y. Hypermethylation of Sox17 gene is useful as a molecular diagnostic application in early gastric cancer. *Tumor Biol*, 33: 383-393, 2012.
7. Watanabe Y, Kim HS. Sensitive and specific detection of early gastric cancer with DNA methylation analysis of gastric washes. *Gastroenterology*, 136: 2149-2158, 2009.