

総 説

肝細胞癌発症をうながすB型肝炎ウイルスならびにC型肝炎ウイルスの役割分子機構への展望：セントロメア領域アルファサテライトDNAやレトロトランスポゾン変異を見逃す国際がんゲノムコンソーシアム解析の難点（腫瘍ウイルスインテグレーションを含めて）

Perspectives on the Molecular Mechanistic Roles of Hepatitis B Virus and Hepatitis C Virus in the Development of Hepatocellular Carcinoma: A Drawback of Analyses by the International Cancer Genome Consortium Overlooking Mutations of Centromeric Alpha Satellite DNA or Retrotransposons. (Including Tumor Virus Integration)

小 方 則 夫
Norio OGATA

要 旨

肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma: HCC) の疫学上B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus: HBV) とC型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) の関与は確実である。前者は複製中に染色体へ組み込まれドライバー変異とみなされる。後者は複製中に核内には存在しない。HCC全体では数種のコアドライバー遺伝子が同定されたが多くはHBV・HCVの関与は不明である。

自験例を含め旧来よりHBV DNAが高頻度に反復配列に組み込まれ、また染色体再編成を起こすことが知られていた。これら知見は、短鎖リード型シーケンサーの普及により長年看逃されてきたが、長鎖リード型シーケンサーの登場により最近注目されるようになった。染色体セントロメアを構成するアルファサテライトDNAやレトロトランスポゾンがHBV組み込みの好標的であることも発見された。これら反復配列の重要性について、腫瘍ウイルス学を俯瞰しつつ概説したい。国内では初めての論点であろう。

病院の近未来のがんゲノム研究・診療の方向性を示唆する参考となれば幸甚である。

はじめに

1970年代後期から始まったヒトウイルス感染と腫瘍の分子生物学的研究の先鞭をつけた分野が、肝炎ウイルスと肝細胞癌 (hepatocellular carcinoma: HCC) 並びにヒトパピローマウイルス (human papilloma virus: HPV) と子宮頸癌であった。

時代が下り、1989年にヒトゲノム計画 (Human Genome Project: HGP) 構想発表、2008年に国際がんゲノムコンソーシアム (International Cancer Genome

Consortium: ICGC)、次いで全ゲノムがん種横断的解析プロジェクト (Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes: PCAWG) が発足した。本邦はHCCを対象に国立がん研究センターや理化学研究所等による大規模研究が展開中である。日本肝臓学会の役割は、かつては熱気のある新しいゲノム変異発見の方向は消失した。HGP終了宣言後も、解読が技術的に困難だったセントロメア等のヘテロクロマチン領域は未解析であった。したがってPCAWGが“whole genome”と謳っても正確でない。もちろんその功

新潟県立がんセンター新潟病院 臨床検査部, 内科

Key words : B型肝炎ウイルス (Hepatitis B Virus), C型肝炎ウイルス (Hepatitis C Virus), 肝細胞癌 (Hepatocellular Carcinoma), アルファサテライトDNA (Alpha Satellite DNA), レトロトランスポゾン (Retrotransposons), 腫瘍ウイルスインテグレーション (Tumor Virus Integration)

績ははかりしれないが、今後は発生や発癌への関与が明白な反復配列の研究が本格化しよう。

これら背景を踏まえ、B型肝炎ウイルス (hepatitis B virus: HBV) やC型肝炎ウイルス (hepatitis C virus: HCV) のHCC発症機構について、ウイルス腫瘍学の基本を俯瞰しつつ、junk DNAとまでいわれた反復配列が新しい技術の登場により主役となりつつある過程を概説したい。

本稿が、新潟県立がんセンター新潟病院 (以下、当院) の方向として、既知遺伝子を対象とする現在のゲノム医療を充実させつつ、別方向から進展するウイルス腫瘍学および近未来の研究・臨床の中心となる可能性がある反復配列の発癌機構に思いを馳せる参考となれば幸甚である。

I 経緯と背景

筆者が考える悪性腫瘍研究におけるmilestonesとなる発見・契機は下記のとおりである。

1 がん遺伝子の発見

1) 動物腫瘍ウイルスと動物がん遺伝子

1904年にニワトリ白血病ウイルス、1911年にはニワトリ肉腫ウイルスが発見され、後者は発見者の名からRaus sarcoma virus (RSV) と命名された¹⁾。ゲノムに存在する腫瘍の原因遺伝子、がん遺伝子 (oncogene) は、肉腫の意味からsrcと命名された。

2) RNA依存性DNAポリメラーゼ、逆転写酵素

1970年、RSVにおいてRNAをDNAへ転写する酵素が発見された^{2, 3)}。以降、RNA腫瘍ウイルスはレトロウイルスと呼称されるようになった。

3) 動物・ヒト細胞に存在するがん原遺伝子

1979年、上記、RSVのがん遺伝子src (v-src) が正常なニワトリ細胞染色体DNAに存在することが発見された (c-src)⁴⁾。がん原遺伝子 (protooncogene) の端緒である。

4) ヒトがん遺伝子としてのrasの登場

1982年に至り、ヒト膀胱癌や肺癌^{5, 6)} のDNAを断片化し、培養細胞に導入することにより細胞が悪性化した。この事象に伴う遺伝子変異がprotooncogeneであるc-Ha-ras (HRAS) やc-Ki-ras (KRAS) の1個の塩基置換であることが見出され、科学者たちに衝撃を与えた。同時に、別個の潮流をたどってきた動物レトロウイルス研究とヒト腫瘍研究とが結びついた瞬間でもあった。

筆者らは世界的にヒト固形癌での検索報告が乏しかった時代にHCC組織におけるHRAS変異を検索した⁷⁻⁹⁾。結果はnegative dataであったが、現在の悪性腫瘍RAS群変異頻度データの基礎となっている。

以降、多くのがん遺伝子・がん抑制遺伝子が発見され、細胞内分子カスケードが解明されていった。

2 ヒト腫瘍ウイルスの発見

1) Epstein Barrウイルス (Epstein-Barr virus: EBV)

1964年、最初に発見されたヒトDNAウイルスである。バーキットリンパ腫細胞に発見された¹⁰⁾。

2) ヒトTリンパ好性ウイルス (human T-lymphotropic virus: HTLV)

1980年、最初に発見されたヒトRNAウイルス (レトロウイルス) である¹¹⁾。

3 ヒトゲノム計画とその後のゲノム完全解読

1) HGP構想

1989年に米国が打ち出した。1990年代に進展し2003年にはユークロマチン領域の95%、全配列の92%を解読し、終了した¹²⁾。

2) ICGC・PCAWG発足

2008年にがんのゲノム変異の包括的カタログを作成する目的で発足した。

3) ヒトゲノム完全解読

ヘテロクロマチン領域の、i) セントロメア、ii) テロメア、iii) リボソーム、がすべて解読されたのはつい最近、2022年5月のことである¹³⁾。

4 がんゲノム診療

1) 精密医療戦略 (Precision Medicine Initiative)

2015年、米国から100万人以上のゲノム情報等を収集し、生活習慣病、がん、等の精密医療につなげる計画が宣言された^{14, 15)}。

2) 米国FDAの承認

2017年5月、マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability: MSI) 高度の悪性腫瘍患者に臓器横断的にpembrolizumabを承認した。同年11月には遺伝子パネル検査FoundationOne[®] CDx等を承認した¹⁶⁾。

II 感染症と悪性腫瘍

WHOはすべての悪性腫瘍の原因の15%以上が未知なものを含む感染症であり、うち10%がウイルス感染症であるとしている¹⁷⁾。

1 腫瘍ウイルスの条件

下記が参考となる¹⁸⁾。

- 疫学的エビデンスが存在する。
- 腫瘍細胞内にウイルスゲノムが持続的に存在する。染色体へのウイルスゲノム組込みの形態をもつことが多い。
- ウイルスゲノムが細胞増殖促進活性を保有するモデルが存在する。
- ウイルスが持続的に、自身が持つがん遺伝子を発現する、または、宿主遺伝子に対して、がん遺伝子の活性化・がん抑制遺伝子の不活化、細胞増殖や細胞周期に関与する遺伝子・蛋白を修飾する、等の影響を与える。

表1 悪性腫瘍発症に因果関係がある病原微生物

微生物	十分なエビデンス	有限のエビデンス	
ウイルス	Human papilloma virus		
	Type 16	口腔癌・咽頭癌・舌癌 肛門癌 女性器癌・男性器癌 子宮頸癌	喉頭癌
	Type 18	子宮頸癌	口腔癌 喉頭癌 肛門癌 女性器癌・男性器癌
	Type 31	子宮頸癌	
	Type 33	子宮頸癌	肛門癌 女性器癌・男性器癌
	Type 1		皮膚癌
	Types 5, 8		皮膚癌
	Types 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	子宮頸癌	
	Types 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73, 82		子宮頸癌
	Hepatitis B virus	肝細胞癌	胆管細胞癌 非ホジキンリンパ腫
Hepatitis C virus	肝細胞癌 非ホジキンリンパ腫	胆管細胞癌	
Epstein-Barr virus	鼻咽頭癌 ホジキンリンパ腫 非ホジキンリンパ腫 ・バーキットリンパ腫 ・免疫抑制関連リンパ腫 ・リンパ節外 NK/T細胞リンパ腫	胃癌 子宮頸癌 Lymphoepithelioma- like carcinoma (LELC)	
Human immunodeficiency virus 1	肛門癌 カポジ肉腫 子宮頸癌 眼腫瘍 非ホジキンリンパ腫	肝細胞癌 皮膚癌 女性器癌・男性器癌	
Human gammaherpesvirus 8	カポジ肉腫 Primary effusin lymphoma		
Human polyoma virus 5		メルケル細胞癌	
Human T-lymphotropic virus 1	成人T細胞白血病/ リンパ腫	皮膚癌	
細菌	<i>Helicobacter pylori</i>	胃癌 低分化型B細胞リンパ腫 MALTリンパ腫	
吸虫	<i>Schistosoma japonicum</i>		大腸癌・ 肝細胞癌・胆管細胞癌
	<i>Schistosoma haematobium</i>	膀胱癌	

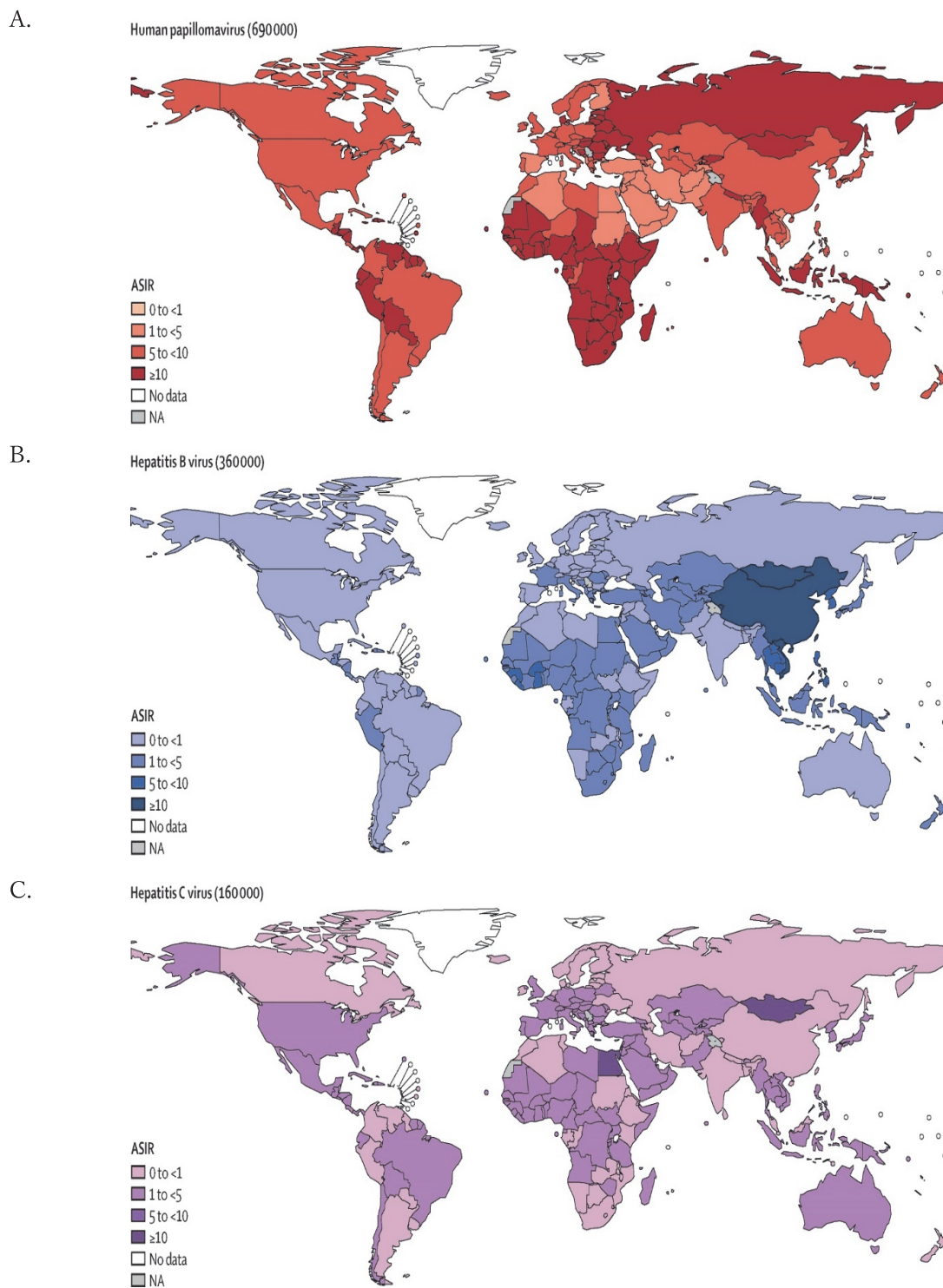


図1 2018年の感染症関連癌の人口10万人あたり年齢調整罹患率，上位3ウイルスの世界地理的分布

A. Human papilloma virus, B. Hepatitis B virus, C. Hepatitis C virus.

(文献17) を改変して引用)

2 悪性腫瘍の原因となる病原微生物 (表1)

国際がん研究機関 (International Agency for Research on Cancer: IARC) により認定されている11種類の病原微生物と悪性腫瘍をウイルス別に改変して表1に提示する¹⁹⁾。

3 HPV, HBV, HCVが関連する癌の世界地理的な頻度 (図1)

2018年の年齢調整罹患率 (Age-standardized incidence rates: ASIR) は, i) *Helicobacter pylori*, ii) HPV, iii) HBV, iv) HCVの順に高い。これらのうちウイルス関連癌の世界地理的分布を図1に示す¹⁷⁾。

Ⅲ HCC発症に関連するウイルス

IARCが認定していないウイルスも記載する。

肝炎ウイルス発見以前から“病原微生物”による肝炎発症とその後のHCC発症は気づかれていた²⁰⁾。

1 血液媒介型ウイルス

1) HBV

1968年にHBVが発見され²¹⁾、血清マーカーが開発された。1973年、本邦でのWHO会合において、新潟大学・金沢大学、等からHCC患者血清にHBs抗原が高率に発見されることが発表された。世界的には台湾からの報告²²⁾が圧巻である。

2) HCV

1989年にHCVが発見され^{23, 24)}、血清マーカーが開発された。1990年、いまだ特異性に問題はあったが国立感染症研究所、等からHCC患者血清にHCV抗体が高率に発見されることが発表された。世界的には南アフリカからの報告²⁵⁾が最初である。

3) デルタ/D型肝炎ウイルス (delta / hepatitis D virus: HDV)

HBVのヘルパー作用で複製する特殊なウイルスである²⁶⁾。

B型慢性肝炎重症化の一因であり^{27, 28)}、重症肝炎から肝硬変へ移行する頻度は高いため、HCC関連の可能性はある。

4) GB/G型肝炎ウイルス (GB virus-C / hepatitis G virus: GBV-C/HGV)

哺乳類霊長目タマリン (*Saguinus Oedipus*等) に継代感染が可能で、歴史上最初に肝炎ウイルス候補に挙げられていた²⁹⁾。

筆者らがゲノムの一部を単離し日本に初めて紹介した³⁰⁾。その後、全ゲノムがクローニングされた³¹⁾。肝炎患者血清に存在することは判明し^{32, 33)}、HCC患者血清でも検索されたが陰性結果であった³⁴⁾。現在では「肝炎ウイルスではない」という結論に達している。

2 アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus: AAV)

非常に弱い免疫反応しか引き起こさず病原性なしとされ、遺伝子治療においてベクターとして利用されてきた。

ところが2015年にAAV-2がHCC染色体に組込まれていることが判明し³⁵⁾、その後も追認されている。

余談ながら、2022年以降、本邦を含め35カ国で原因不明の小児肝炎が1000例以上報告され、少数ながら死亡例も存在した。最近、米国と英国とから論文が発表され、本ウイルスの関与が示唆された³⁶⁻³⁸⁾。発症時期が、新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus Disease 2019 : COVID-19) 対策の緩和時期と一致することから、本来は無害なウイルスとはいえ、ロッ

クダウン中に小児の免疫系が訓練されなかったため発症した可能性が挙げられている。

Ⅳ HCCをHBV関連またはHCV関連とする根拠の問題点

多くの統計は、HBV関連HCCはHBs抗原陽性者 (持続感染者)、HCV関連HCCはHCV抗体陽性者 (持続・既往感染者)、とする。

1 血清HBs抗原陰性HCC組織におけるHBV DNAの存在

欧州グループから血清HBs抗原陰性HCC染色体に100% HBV DNAの組込みが存在するという報告がなされ世界を驚かせた³⁹⁾。真相は不明のままである。

筆者らの検討では、血清HBVマーカーがすべて陰性のHCC16例には全例に検出されなかった。しかし血清HBs抗原陰性・Hbc抗体陽性HCC 8例中3例には検出された。HBs抗原陽性HCC21例には全例に検出された^{40, 41)}

2 血清Hbc抗体 (図2)

血清HBs抗原陰性・Hbc抗体陽性者はHBV既往感染者とされ、HCC発症がHBV関連か否か、という問題がつかまとう。

1) 陽性頻度の概略 (図2A)

かつてHbc抗体測定は凝集法 (IAHA法) が普及していたがWHO基準法 (EIA法・CLIA法) に変更後⁴²⁾は国内データが乏しいため、病院受診者のうち血清HBs抗原陰性者、各年代10年刻みで100名ずつ計700名を調査した⁴³⁾。

結果は広島県赤十字血液センター調査研究とほぼ同様であった。日本人は、1920年代生まれの人々がほぼ40%の高い感染率であり、驚きであった。同時に、HBV既往感染者をすべてHCC発症高危険群とみなす道理はないと考える。

2) 力価判定の功罪 (図2B)

凝集法 (IAHA法) では、HBs抗原陰性でもHbc抗体が高力価陽性 (凝集価 2^{12} 以上) で200倍希釈血清でも陽性者は、HBV持続感染者であるとされた。WHO基準法は定量検査ではないため厳密な力価判定はできない⁴²⁾。

筆者らの成績では、200倍希釈血清でS/CO値10.0以上者はHBV持続感染者であるかもしれない⁴⁴⁾。HBV免疫刺激が持続しているためと考えている。

3) 偽陰性の問題

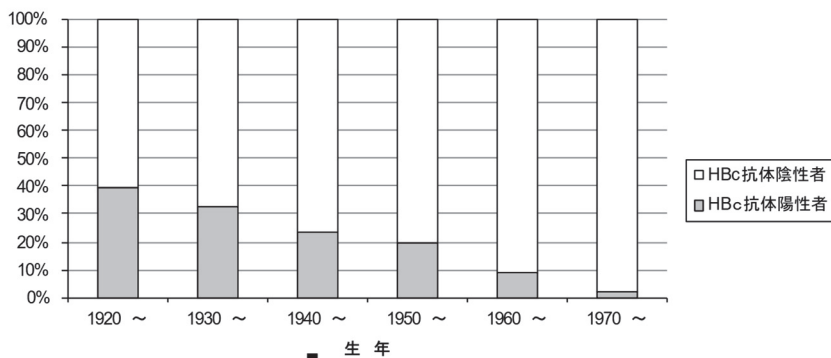
Hbc抗体検査は偽陰性を示すことがある⁴⁵⁾。

4) 血清HCV抗体陽性HCC例における意義

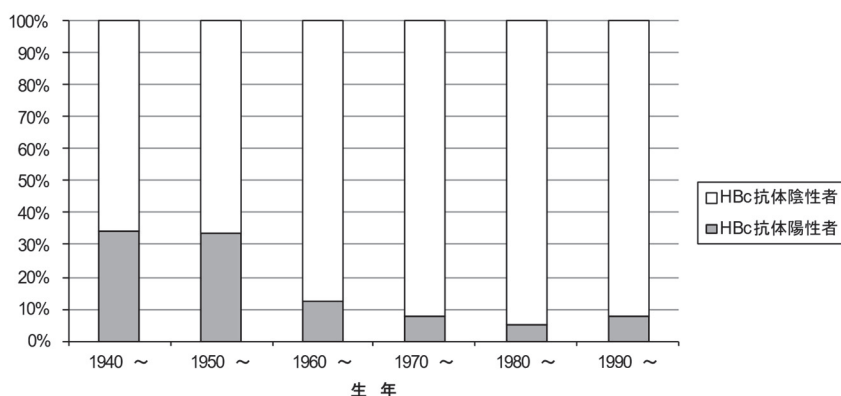
Hbc抗体陽性がHBVの一過性感染を示すのか持続性感染を示すのかで病的意義は異なる。多数の論文があるが、定説はない^{46, 47)}。

A.

病院受診者における血清 HBc 抗体陽性率 新潟県 2010 年 (Architect)



■ 生年
■ 献血センターにおける血清 HBc 抗体陽性率 広島県 2006 年 (AxSYM)



B.

血清HBs抗原陰性・HBc抗体10 S/CO以上者の検査所見 (Architect)

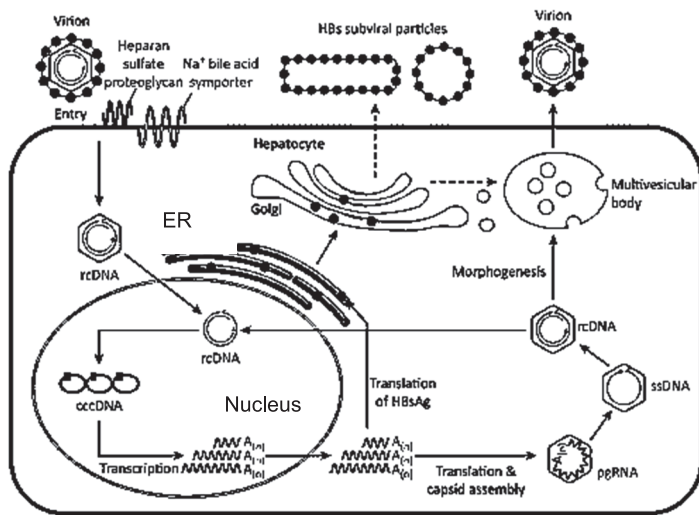
原検体 (S/CO)	200倍希釈 (S/CO)	HBs抗体 (mIU/mL)	HBs抗原	HBV DNA (LC/mL)
11.80	1.11	113.7	(-)	< 1.8
* 12.01	11.65	< 9.9	(-)	< 1.8
12.30	2.39	23.3	(-)	< 1.8
13.08	4.53	< 9.9	(-)	< 1.8
14.25	1.83	42.2	(-)	< 1.8
* 14.29	12.46	< 9.9	(-)	< 1.8
* 14.31	18.58	< 9.9	(-)	2.1
14.34	1.43	989.8	(-)	< 1.8
14.48	2.01	88.7	(-)	< 1.8
14.72	1.94	114.9	(-)	< 1.8
15.30	1.87	153.6	(-)	< 1.8
15.91	2.41	< 9.9	(-)	< 1.8
15.99	3.06	125.9	(-)	< 1.8
15.99	7.85	< 9.9	(-)	< 1.8
16.00	5.14	< 9.9	(-)	< 1.8
16.13	2.76	46.4	(-)	< 1.8
16.33	2.51	< 9.9	(-)	< 1.8
16.58	9.64	< 9.9	(-)	< 1.8
16.94	5.40	33.9	(-)	< 1.8
17.81	3.52	14.9	(-)	< 1.8

* 過去にHBs抗原持続陽性

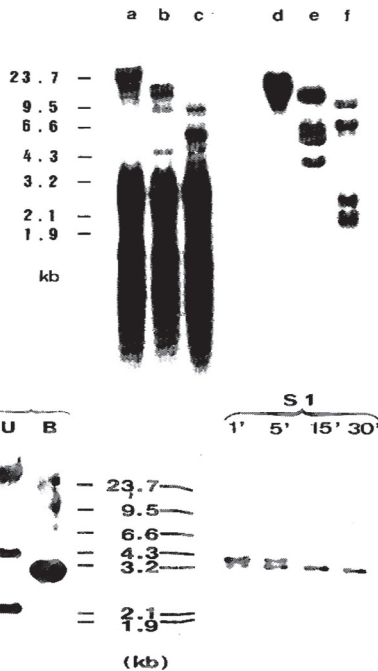
図 2 血清HBc抗体

- A. 生年別血清HBc抗体陽性頻度 (文献43) の公表内容
- B. 原血清・200倍希釈血清とHBs抗原・HBV DNAとの関連 (文献44) の公表内容

A.



B.



C.

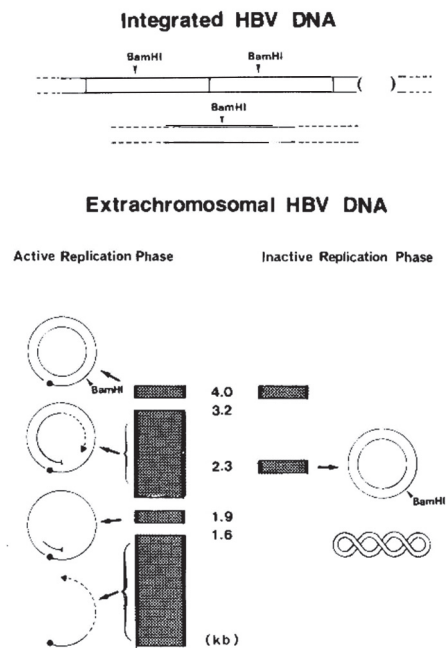


図3 HCC細胞内におけるHBVゲノムの存在様態

A. HBV複製環

B. HBVゲノムの検出, 上覧: 宿主DNAのSouthern blot法, バンドは組込み体・スミアは複製中間体を示す (a, d: 制限酵素処理なし, b, e: *Hind*III処理, c, e: *Bam*HI処理), 下欄: 複製中間体の特徴付け (U: 制限酵素処理なし, B: *Bam*HI処理, S1: S1 nuclease処理)

C. 模式図

(A, B: 文献41, 49, 51, 53) より転載, C: 自作)

V B型肝炎 (図3)

腫瘍ウイルスの条件であるHCC細胞内のHBVの存在が検索された。

1 HBV複製環 (図3A)

HBVゲノムは部分2本鎖DNAであり, 複製環は

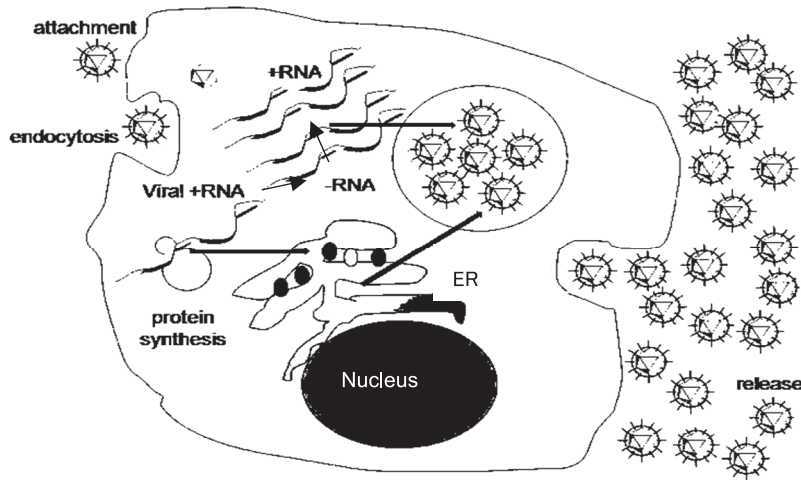
図3Aに示すとおりである。

2 HBVゲノム存在様態 (図3B, 3C)

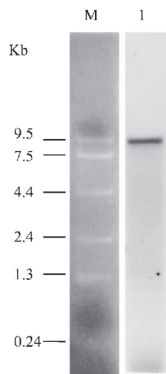
1) 組込み体

Southern blot法によりHBV DNAは染色体に組込まれて存在すると判断できる。症例間で共通するパターンはない^{41, 48, 49)}。

A.



B.



C.

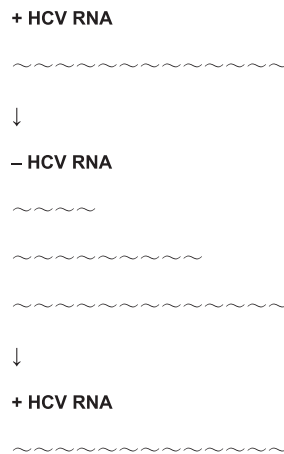


図4 HCC細胞内におけるHCVゲノムの存在様態

- A. HCV複製環
 - B. HCVゲノムの検出. 左欄: 宿主RNAのNorthern blot法, バンドがゲノム長+RNAを示す, 右欄: 複製中間体である-RNA検出 (RT-PCR産物)
 - C. 模式図
- (A, B: 文献54, 55) より引用, C: 自作)

同一症例, 同時発症した複数のHCCでも組込みパターンは異なる。多中心性発症を示す^{50, 51)}。

2) 複製中間体

複製中間体の証明は, Southern blot法による各DNA形態の検出^{41, 48-51, 53)} やNorthern blot法によるRNAの検出⁵²⁾ を根拠とする。

VI C型肝炎 (図4)

腫瘍ウイルスの条件であるHCC細胞内のHCVの存在が検索された。

1 HCV複製環 (図4A)

ゲノムはプラス鎖1本鎖RNAであり, 複製環は図4Aに示すとおりである。

2 HCVゲノム存在様態 (図4B, 4C)

1) 組込み体

染色体への組込みはない。

2) 複製中間体

複製中間体の証明は, 転写過程のマイナス鎖RNAであり, ウイルス量が少ないためNorthern blot法では検出が困難であるため⁵⁴⁾ RT-PCR法による検出⁵⁵⁾ を根拠とする。

表2 腫瘍組織におけるウイルスゲノム・トランスクリプトの存在

	腫瘍	ウイルス ゲノム／組込み	ウイルス トランスクリプト	組込みに伴う 高発現遺伝子	腫瘍との 関連
高頻度のウイルス（属）					
Human papilloma virus					
Types 16, 18, 33	頭頸部癌	+ / +	+	<i>STX17</i> <i>TEX10</i> <i>DOLPP1</i> <i>NR4A2</i> <i>LINC00111</i> <i>ETS2</i> <i>PHLDB2</i> <i>PLGRKT</i>	あり
Types 18, 33	子宮頸癌	+ / +	+	<i>ERBB2</i> <i>PVT1</i> <i>CEACAM5</i> <i>MAMLD1</i>	あり
Types 6, 45	膀胱癌	+ / ?	?		N/A
Hepatitis B virus					
	肝細胞癌	+ / +	+	<i>TERT</i> <i>CCNA2</i> <i>TEKT3</i> <i>THRB</i> <i>CDK15</i>	あり
Epstein-Barr virus (Human herpes virus 4)					
	胃癌	+ / +	+		あり
	食道癌	+ / ?			N/A
	大腸癌	+ / ?			N/A
	頭頸部癌	+ / ?			N/A
	リンパ腫	+ / ?			N/A
Roseolovirus属					
Human herpesvirus 6A, 6B, 7	脾癌, 等	- § / -	-		なし
Cytomegalovirus属					
Human herpesvirus 5	胃癌	+ / -	-		なし
要注意のウイルス（属）					
Adeno-associated virus 2	肝細胞癌	+ / +	?		N/A
Human endogenous retrovirus					
Type 1	腎細胞癌	+ / + § §	?		あり
	慢性 リンパ球性 白血病	+ / + § §	?		あり

§ 血液細胞に存在

§ § germ lineから存在

N/A: not applicable: 記載なし

VII 腫瘍ウイルスインテグレーション (表2)

PCAWGにおいて2658症例を解析, 356症例(13%)に23ウイルス属が検出された¹⁸⁾。その一部

を表2に示す。

1 高頻度のウイルス

1) HPV

HPV18は複数検体に共通して*TALDOI*への組込みを認めた。

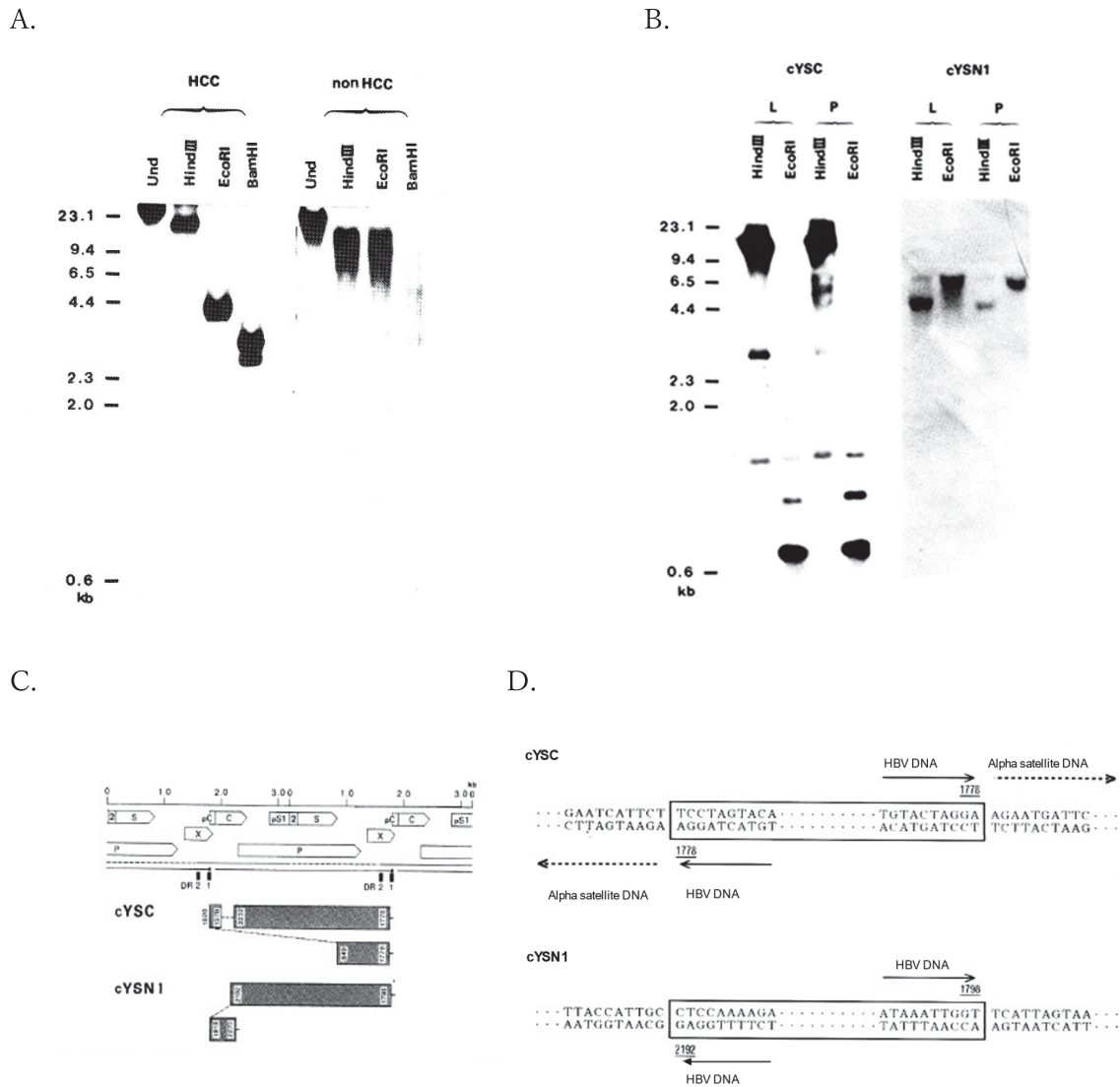


図5 若年無症候性HBVキャリアに発症したHCCのHBV DNAと細胞DNAの解析

- HBV DNA probeによるHCC組織・非癌部肝組織Southern blot法,
- HBV DNA組込みクローン (HCCはcYSC・非癌部肝組織はcYSN1) probeによる正常胎盤組織Southern blot法 (cYSC probeにより約170塩基対倍数ladderを認める),
- cYSCとcYSN1のHBV DNA変異構造 (両者とも断裂・逆位を示す),
- cYSCとcYSN1のHBV DNA-細胞DNA接合部の塩基配列 (前者は α -Satを巻き込んで逆位重複構造をとる) (文献58) より転載)

HPV16は複数検体に共通する遺伝子への組込みは認めなかった。長鎖ノンコーディングRNAのうち発癌に関係するLINC00111やPVT1への組込みと高発現が認められた。

2) HBV

複数検体に共通して認められた遺伝子は, TERT, KMT2B等であり, 組込みにより高発現する遺伝子はTERT等であった。

3) EBV

学名はhuman herpes virus 4である。

最も多種の腫瘍組織に存在する。胃癌・大腸 (結腸・直腸) 癌・頭頸部癌・リンパ腫とは因果関係ありとする見解が多い。

4) Roseolovirus属

学名はhuman herpes virus 6 A, 6 B, 7である。

膀胱癌・胃癌・大腸癌, 等多くの組織に検出されるが, 非癌部やリンパ球にも検出され, またゲノム組込みやトランスクリプトは検出されず, 腫瘍の原因とは考え難い。

5) Cytomegalovirus 属

学名はhuman herpesvirus 5である。

胃粘膜病変を引き起こすが, 腫瘍の原因とは考え難い。

2 要注意のウイルス

1) AAV

前述したように, HCC染色体に組込みが検出さ

表3 ヒトゲノム計画終了以前に発表されたHCCゲノムへのHBV DNA組込み (統合)

	検体数	報告者 (発表年) *
<u>遺伝子</u> §		
<i>c-erb B1 or B2</i>	1	Zhang X-K. (1992)
<i>p53 (TP53)</i>	3	Zhou Y-Z. (1988), Meyer M. (1992), Becker SA. (1996)
<i>cyclin A2 (CCNA2)</i>	1	Wang J. (1990)
<i>retinoic acid receptor gene (RARA or RARB)</i>	1	Dejean A. (1986)
<u>反復配列</u>		
ミニサテライトDNA	2	Berger I. (1987)
サテライト3 DNA	2	Shaul Y. (1986), Nagaya T. (1987)
アルファサテライト DNA	4	Shih C. (1987), <u>Ogata N. (1990)</u> , Meyer M. (1992), Tsuei DJ. (1994)
レトロトランスポゾンLINE †	1	Quade K. (1992)
レトロトランスポゾンSINE ††	4	Nagaya T. (1987), Chen J-Y. (1994)
ARS †††	1	Zhou Y-Z. (1988)
<u>染色体再編成</u>		
逆位重複	7	Mizusawa H. (1985), Tokino T. (1987), Shih C. (1987), Zhao Y-Z. (1988), <u>Ogata N. (1990)</u>
欠失	5	Rogler CE. (1985), Hino O. (1986), Tokino T. (1990)
転座	6	Hino O. (1986), Tokino T. (1987), Meyer M. (1992), Pineau P. (1996), Becker SA. (1996)

* 文献60) の表2 を改変して引用。

§ () 内は現在の名称

† LINE: Long interspersed nuclear elements: 長鎖反復配列

†† SINE: Short interspersed nuclear elements: 短鎖反復配列

††† ARS: Autonomously replicating sequences: ヒト自律複製配列

れた。

2) ヒト内在性レトロウイルス (human endogenous retrovirus: HERV)

数百万年前にgermline cellに感染し逆転写酵素によりDNAに変換, 染色体に組込まれ, ヒトゲノムの10%近くを占める。

HERVに似たERV1が最も発現しており, i) 慢性リンパ球性白血病細胞に強発現, ii) 腎細胞癌の予後に相関する, とされる。

Ⅷ HBV DNAのHCC細胞染色体への組込み様態

1 自験症例でのアルファサテライトDNAへの組込み (図5)

1) 症例

27歳女性, 血清HBs抗原陽性・HBe抗原陰性, ALT/AST値正常で, 近医にて「無症候性HBVキャリアなので受診の必要なし」と言われてきた。「右季肋部の張る感じ」を主訴に初診, CTにて肝右葉に径40mm腫瘍, AFP 10,000ng/mL超で, HCCの診断のもと肝右葉切除を施行した。非癌部肝組織の病理所見は非特異的所見のみであった。

2) HBV DNA組込みと分子クローニング, 構造決定 (図5)

HCC組織・非癌部組織からHBV組込みを有する染色体DNAを分子クローニングして解析した。結果, HCC細胞へのHBV組込み部位はアルファサテライトDNA (alpha satellite DNA: α -Sat) でありHBVとともに逆位重複を生じていた。非癌部肝組織ではunique配列であった⁵⁶⁻⁵⁸⁾。

2 HCC染色体へのHBV DNA組込み報告総覧

1) ヒトゲノム計画終了以前のまとめ (表3)

大阪大学・Matsubara研究室が世界をリードしていた。

当時は塩基配列の特徴づけが困難であったため, 遺伝子への組込みは少ない。 α -Sat等サテライトDNA群・長鎖反復配列 (long interspersed nuclear element: LINE)・短鎖反復配列 (short interspersed nuclear element: SINE) 等への組込みが多く, また染色体再編成も多い^{59, 60)}。

2) ヒトゲノム計画終了以降のまとめ (表4)

通覧して, i) *TERT*・*TERT*プロモーター, ii) *KMT2B*への組込みが共通して高頻度で, iii) サイクリン遺伝子群への組込みも共通する。他は, 多数の

表4 ヒトゲノム計画終了以降に発表されたHCCゲノムへのHBV DNA組込み (統合) またはHBV RNA融合

報告者 (発表年)	Totoki Y. (2014) *	Fujimoto A. (2016) **	Zhao L-H. (2016) ***	Chang Y-S. (2023) ****	Wheeler DA. (2017) †	Alvarez EG. (2021) ††
対象例国籍	日本・米国	日本	中国	台湾	世界 (ICGC)	世界 (ICGC)
解析検体数	503	300	426	254	196	296
内訳						
HCC	408	268	426	254	196	296
ICC †	15	24	0	N/A	N/A	0
combined	0	8	0	N/A	N/A	0
HBV関連	117	82	426	106	44	51
HCV関連	212	159	0	82	35	N/A
HBV+HCV関連	0	4	0	19	0	N/A
非B非C	150	55	0	28	0	N/A
遺伝子/ プロモーター						
(共通)						
<i>TERT</i>	17	14	101	11	2	11
<i>KMT2B</i>	6	4	31	15	5	4
<i>CCNE1</i>	1	1	7	4	1	2
<i>CCND1</i>	0	0	0	1	1	0
<i>CCNA2</i>	0	1	8	4	1	0
(独自)						
	<i>ALOX5</i>	<i>SOX5</i>	<i>PTPRD</i>	<i>CC2</i>	<i>GLI2</i>	N/A
	<i>ZFPM2</i>	<i>SLC1A7</i>	<i>UNC5D</i>	<i>MGAT4C</i>	<i>ST8SIA1</i>	
	<i>SENP5</i>	<i>MARK1</i>	<i>NRG3</i>	<i>RP11-25H12.2</i>	<i>RRBP1</i>	
	<i>MYO19</i>	<i>SLC35F3</i>	<i>CCNND2</i>	<i>CH507-513H4.1</i>	<i>KCNH1</i>	
	<i>RGS22</i>	<i>EML4</i>	<i>AHRR</i>	<i>FN1</i>	<i>BPTF</i>	
	ほか	<i>KIF26B</i>	<i>FAM157A</i>	<i>LINCO1885</i>	<i>ZFPM2</i>	
		<i>PFTK</i>	<i>ANKRD30BL</i>	ほか	<i>NF1</i>	
		<i>XRCC5</i>	<i>DDX11L1</i>		<i>NPAS3</i>	
		<i>NIRD2</i>	<i>DDX11L5</i>		<i>NCOR2</i>	
		<i>ANKRD17</i>	<i>DDX11L9</i>		ほか	
		ほか	ほか			
反復配列	ペリセント ロメア §	N/A	遺伝子間 領域 §	N/A	N/A	N/A
染色体再編成						
順列・逆位重複	N/A	+ ¶	N/A	N/A	N/A	0
欠失	N/A	+ ¶	N/A	N/A	N/A	23
転座	N/A	+ ¶	N/A	N/A	N/A	7

* 文献61) より引用, ** 文献62) より引用, *** 文献63) より引用, **** 文献64) より引用。

† 文献65) より引用, †† 文献66) より引用。

† ICC: Intrahepatic Cholangiocarcinoma: 肝内胆管細胞癌

§ 特定塩基配列の記載なし。

¶ HBV DNA組込みとの関係は記載なし。

N/A: not applicable: 記載なし。

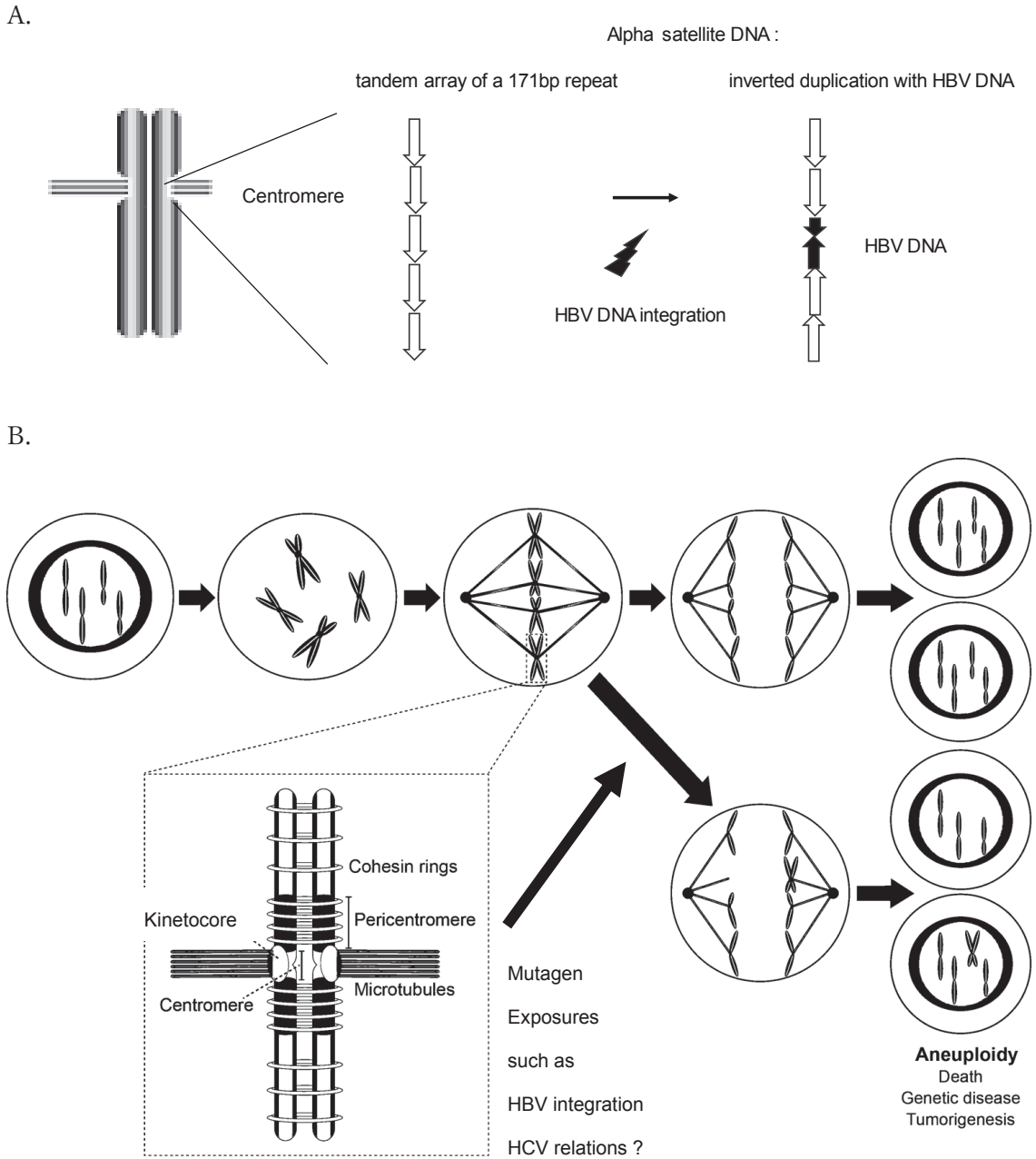


図6 HBV DNAの α -Satへの組み込みとHCC発症仮説

- A. 自験例で検出したHBV DNA組み込みを起点とする α -Sat逆位重複
- B. セントロメア変異が原因となる染色体再配分の異常が誘導するaneuploidy

遺伝子・プロモーターに組込まれる⁶¹⁻⁶⁵⁾。TERTは、染色体末端のテロメア短縮を修飾する。KMT2Bは、ヒストンのリジンメチル化を媒介しゲノム安定性・細胞周期・核構造調節、等に機能する。

Illumina社等の多種の短鎖リード型“次世代”シーケンサーを使用した論文では、反復配列の塩基特徴の記載はなく、またHBV DNA組込みに伴う染色体再構築の報告も現れなかった⁶¹⁻⁶⁵⁾。理由は、原理上この方法では、反復配列の解析は困難であり、また長大なDNAは切断されてしまうためである⁶¹⁻⁶⁵⁾。

Oxford Nanopore Technologies (ONT) 社の長鎖リード型“新世代”シーケンサーを使用した論文は2021年に登場した⁶⁶⁾。HBV DNA組込みに伴う染色体再構築が高頻度に検出された⁶⁶⁾。しかしDNA抽出技術の問題か、十分解析できたのはわずか9例であった⁶⁶⁾。

3 新技術によるウイルスDNAの反復配列への高頻度組込みの発見

2021年、その名もrepeat-aware virus integration callerと称されるSurVirus[®]による解析の結果、HPVとHBVとが高頻度に各癌細胞の α -SatやLINEに組み込まれていることが発見された⁶⁷⁾。

本論文は重要性と正当性を謳うため、30年の時間を超えて筆者らの論文⁵⁸⁾を引用している。

4 α -Sat, 反復配列の変異による発癌機序

1) α -Sat (図6)

染色体セントロメアは、細胞分裂時の正常な染色体配分に機能し、その障害はaneuploidyを引き起こす。 α -SatはそのDNA要素で171塩基の順列反復からなり数メガ塩基対に及ぶ。ループ構造をとりfragileである^{68, 69)}。セントロメア不安定をもたらす α -Sat変異は様々な原因で起こり、そのひとつにmutagen曝露がある。HBVはmutagenと考えてよい。

2) レトロトランスポゾン

RNAに転写後、逆転写酵素によりDNAに複写されゲノムを移動する。ヒトゲノムの、LINEは17%、SINEは10%をそれぞれ占める^{70, 71)}。

LINE変異は、PCAWGの2954例の解析で、全悪性腫瘍の35%に存在し、移動(組込み)に際して、染色体の欠失や転座・増幅を引き起こし、がん抑制遺伝子の喪失またはがん遺伝子の活性を誘導する⁷²⁾。i) 食道癌, ii) 頭頸部癌, iii) 肺癌, iv) 胃癌・大腸(結腸・直腸)癌、に高頻度である。本論文は、短鎖リード型シーケンサー使用の結果であるため、「真実はもっと高頻度のはず」と言及している。

SINE変異は、遺伝性非ポリポーシス大腸癌においてMSH2・MLH1変異を誘導する組換えが最初の報告である⁷³⁾。

IX HCC遺伝子変異の総覧とゲノム医療

おおよそ下記のようにまとめることができる。

1 遺伝子・経路の変異

高頻度の変異は、i) テロメア維持の変異、すなわちTERT・TERTプロモーター変異が約60%、ATRX変異を加えると約70%、ii) WNT経路変異(CTNNB1・AXINI・APC等)が約70%、iii) PIK3CA経路変異(NF1等)が45%、iv) TP53変異が約30%、v) クロマチン修飾の変異(ARID1A・ARID2等)が約10%である^{61, 62)}。

HBV関連HCCではHBV DNAのTERTへの組込みとTERTプロモーター変異は相互排他的である。またATRX変異が多い。

HCV関連HCCではTERTプロモーター変異が多い。CTNNB1・ARID1A変異も多い。

2020年のPCAWGによる総括でHCCでは、i) TP53, ii) CTNNB1, iii) ARID1A, iv) TERT, 等がドライバー遺伝子とされる⁷⁴⁾。

2 ゲノム医療への展望

1) druggableな遺伝子変異は、KIT・FGFR3・FGFR1・JAK1・EGFR・METに検出されたが、各0.5~1.5%とごく低頻度である⁶¹⁾。

2) 肝臓学領域で先端的病院は上記に対するパネル検査を展開している。変異遺伝子に対応するマルチキナーゼ阻害薬の選択治療が良好な効果をあげている⁷⁵⁾。

おわりに

ICGCは、がんに関わるエクソームカタログを完成したと思う。遺伝子領域はヒトゲノムのわずか1.5%である。反復配列は再検討されるべきで、やり直すとヒトゲノムのおよそ50%となる。

HBV・HCV感染は、HBVの組込みはパッセンジャーではなくドライバーであることは認められているが、両ウイルスともに多種類の遺伝子変異との関連は不明のままである。

筆者らの α -Satや反復配列の論文⁵⁸⁾が、30年を経て海外から、まさに時空を超えて注目されることは心躍ることであり、今後の展開が楽しみである。

HCCのみならず悪性腫瘍と α -Sat・反復配列の関連の論点は国内では初めてであろう。本稿が、当院の近未来のがん診療・研究の方向を示唆する参考となれば幸甚である。

参考文献

- 1) Rous P. A sarcoma of the fowl transmissible by an agent separable from the tumor cells. J Exp Med 13 (4): 397-411. 1911.
- 2) Baltimore D. RNA-dependent DNA polymerase in virions of

- RNA tumour viruses. *Nature* 226 (5252): 1209-1211. 1970.
- 3) Temin HM and Mizutani S. RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature* 226 (5252): 1211-1213. 1970.
 - 4) Stehelin D, Varmus HE, Bishop JM, et al. DNA related to the transforming gene (s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* 260 (5547): 170-173. 1976.
 - 5) Parada LF, Tabin CJ, Shih C, et al. Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus ras gene. *Nature* 297 (5866): 474-478. 1982.
 - 6) Der CJ, Krontiris TG, and Cooper GM. Transforming genes of human bladder and lung carcinoma cell lines are homologous to the ras genes of Harvey and Kirsten sarcoma viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 79 (11): 3637-3640. 1982.
 - 7) 小方則夫, 上村朝輝, 朝倉 均 他. 肝細胞癌症例における細胞遺伝子変異 - c-Ha-ras 遺伝子体細胞変異の検討 -. *肝臓*30 (12): 1742-1743. 1989.
 - 8) 小方則夫, 上村朝輝, 朝倉 均 他. 肝細胞癌症例における細胞遺伝子変異 - c-Ha-ras 遺伝子制限酵素断片長多型の検討 -. *肝臓*31 (3): 355-356. 1990.
 - 9) Ogata N, Kamimura T, and Asakura H. Point mutation, allelic loss and increased methylation of c-Ha-ras gene in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 13 (1): 31-37. 1991.
 - 10) Epstein MA, Achong BG, and Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1 (7335): 702-703. 1964.
 - 11) Poiesz BJ, Ruscetti FW, Gazdar AF, et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 77 (12): 7415-7419. 1980.
 - 12) National Human Genome Research Institute. The human genome project. <http://www.genome.gov/human-genome-project> [引用2023-9-30]
 - 13) Altermose N, Logsdon GA, Bzikadze AV, et al. Complete genomic and epigenetic maps of human centromeres. *Science* 376 (6588): eabl 4178. 2022.
 - 14) The White House. The precision medicine initiative. <https://www.obamawhitehouse.archives/precision-medicie> [引用2023-9-30]
 - 15) Collins FS and Varmus H. A new initiative on precision medicine. *N Eng J Med* 372 (9): 793-795. 2015.
 - 16) Goldberg KB, Blumenthal GM, and Pazdur R. The first year of the Food and Drug Administration Oncology Center of excellence: Landmark approvals in a dynamic regulatory environment. *Cancer J* 24 (3): 131-135. 2018.
 - 17) Martel C, Georges D, Bray F, et al. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis. *Lancet Glob Health* 8 (2): e180-e190. 2020.
 - 18) Zapotka M, Borozan I, Brewer DS, et al. The landscape of viral associations in human cancers. *Nat Genet* 52 (3): 320-330. 2020.
 - 19) International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. <https://www.monographs.iarc.who.int/> [引用2023-9-30]
 - 20) Sheldon WH and James DF. Cirrhosis following infectious hepatitis; a report of five cases, in two of which there was superimposed primary liver cell carcinoma. *Arch Intern Med* 81 (5): 666-689. 1948.
 - 21) Blumberg BS, Alter HJ, and Visnich S. A "new" antigen in leukemia sera. *JAMA* 191 (7): 541-546. 1965.
 - 22) Beasley RP, Hwang L-Y, Lin C-C, et al. Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus. A prospective study of 22 700 men in Taiwan. *Lancet* 2 (8256): 1129-1133. 1981.
 - 23) Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 244 (4902): 359-362. 1989.
 - 24) Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 244 (4902): 362-364. 1989.
 - 25) Kew MC, Houghton M, Choo QL, et al. Hepatitis C virus antibodies in southern African blacks with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 335 (8694): 873-874. 1990.
 - 26) Rizzetto M, Canese MG, Arico S, et al. Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated to hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. *Gut* 18 (12): 997-1003. 1977.
 - 27) 小方則夫. デルタ (D型) 肝炎ウイルスゲノム: 特異な構造・複製と病原性との関連. *日本臨床* 61 (増刊3): 634-639. 2003.
 - 28) 小方則夫. デルタ (D型) 肝炎ウイルス感染症: 疫学・感染様態・臨床病像の概略. *日本臨床* 62 (増刊8): 406-411. 2004.
 - 29) Deinhardt F, Holms AW, Capps RB, et al. Studies on the transmission of human viral hepatitis to marmoset monkeys. *J Exp Med* 125 (4): 673-688. 1967.
 - 30) Ogata N, Miller RH, and Purcell RH. The GB hepatitis agent is not hepatitis C virus. *日本消化器病学会雑誌* 92 (81sokai): 423. 1995.
 - 31) Simons JN, Pilot-Matias TJ, Leary TP, et al. Identification of two flavivirus-like genomes in the GB hepatitis agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 92 (8): 3401-3405. 1995.
 - 32) 小方則夫. GB肝炎: GBウイルスはヒト非ABCDE型肝炎ウイルスか. *内科診療Q and A* 追録第29号, 永野 充, 原田 尚, 藤沢 冽, 他 編. p1008-1011. 六法出版社. 1996.
 - 33) 小方則夫, 藤井久一, 市田隆文 他. 日本における肝疾患とGBV-C/HGV感染病因的意義. *肝疾患研究の新しい展開*第II巻. p57-63. メディカルレビュー社. 1997.
 - 34) Brechot C, Jaffredo F, Lagorce D, et al. Impact of HBV, HCV and GBV-C/HGV on hepatocellular carcinomas in Europe: results of a European concerted action. *J Hepatol* 29 (2): 173-183. 1998.
 - 35) Nault J-C, Datta S, Imbeaud S, et al. Recurrent AAV2-related insertional mutagenesis in human hepatocellular carcinomas. *Nat Genet* 47 (10): 1187-1193. 2015.
 - 36) Ho A, Orton R, Tayler R, et al. Adeno-associated virus 2 infection in children with non-A-E hepatitis. *Nature* 617 (7961): 555-563. 2023.
 - 37) Morfopoulou S, Buddle S, Montaguth OET, et al. Genomic investigations of unexplained acute hepatitis in children. *Nature* 617: (7961) 564-573. 2023.
 - 38) Servellita V, Gonzalez AS, Lamson DM, et al. Adeno-associated virus type 2 in US children with acute severe hepatitis. *Nature* 617: (7961) 574-580. 2023.
 - 39) Brechot C, Pourcel A, Louise A, et al. Persistence of integrated hepatitis B virus DNA sequences in cellular DNA of human hepatocellular carcinoma. *Nature* 286 (5772): 533-535. 1980.
 - 40) 小方則夫, 芦田雅彦, 本間 明 他. 肝癌細胞および慢性肝疾患症例の肝細胞におけるHBV-DNAの存在様式. *日本消化器病学会雑誌*. 81 (70sokai): 513. 1984.
 - 41) 小方則夫. 肝細胞癌症例の癌組織および非癌部肝組織におけるB型肝炎ウイルスDNAの存在様態. *肝臓*29 (1):

- 60-70. 1988.
- 42) 飯田健一, 狩野吉康, 髭 修平 他. 全自動化学発光免疫測定システムARCHIRTECTによるHBc抗体及びHBs抗体測定の有用性評価. *Prog Med* 22 (4): 1037-1046. 2002.
- 43) 小方則夫, 玄間雅克. B型肝炎ウイルス (HBV) 感染指標としての血清HBc抗体: 病院受診者を対象とした年代別陽性者比率の調査・検討. *臨床病理* 58 (suppl.): 256. 2010.
- 44) 小方則夫, 玄間雅克. B型肝炎ウイルス (HBV) 感染指標としての血清HBc抗体: 病院受診者を対象とした200倍希釈血清測定の意義. *臨床病理* 59 (suppl.): 173. 2011.
- 45) 岩瀬友也, 大根久美子, 小池史泰 他. 各種HBc抗体試薬の性能評価 - 低力価試料を用いた特異性評価. *医学検査* 64 (5): 605-609. 2015.
- 46) Ikeda K, Marusawa H, Osaki Y, et al. Antibody to hepatitis B core antigen and risk for hepatitis C-related hepatocellular carcinoma: a prospective study. *Ann Intern Med* 146 (9): 649-656. 2007.
- 47) Ohki T, Tateishi R, Goto E, et al. Influence of anti-HBc seropositivity on the risk of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients after adjusting for confounding factors. *J Viral Hepat* 17 (2): 91-97. 2010.
- 48) 小方則夫, 吉川 明, 渡辺俊明 他. 肝疾患におけるHBV遺伝子の動態 - B型慢性肝炎症例における組込み様式について-. *肝臓* 26 (5): 676. 1985.
- 49) 小方則夫, 小島豊雄, 吉川 明 他. B型肝炎ウイルスキャリアーにおける肝組織内ウイルスDNAの存在様態と分子形態. *肝臓* 27 (5): 543-551. 1986.
- 50) 小方則夫, 野本 実, 吉川 明 他. 肝疾患におけるHBV遺伝子の動態 - 組み込みを有する肝細胞・肝癌細胞の多クローン性について-. *肝臓* 27 (4): 529. 1986.
- 51) Ogata N, Ichida F, Hamada C, et al. Mode of integration of hepatitis B virus DNA in chronically infected livers with indications of multiclonal growth of hepatocytes and some hepatoma cells. In: *Viral Hepatitis and Liver Disease*, Zuckerman AJ (ed), pp 746-751, Alan R. Liss, Inc., New York. 1988.
- 52) 小方則夫, 大越章吾, 吉川 明 他. 肝疾患におけるHBV遺伝子の動態 - 肝癌組織に特徴的なHBV特異 transcriptsについて -. *肝臓* 28 (11): 1531. 1987.
- 53) 小方則夫. B型肝炎ウイルスの複製・増殖機構 (第449回新潟医学会シンポジウム: 「各科領域におけるウイルス病学の進歩」). *新潟医学会雑誌* 104 (10): 823-826. 1990.
- 54) Nielsen SU, Bassendine MF, Burt AD, et al. Characterization of the genome and structural proteins of hepatitis C virus resolved from infected human liver. *J Gen Virol* 85 (6): 1497-1507. 2004.
- 55) Gerber MA, Shieh YSC, Shim K-S, et al. Detection of replicative hepatitis C virus sequences in hepatocellular carcinoma. *Am J Pathol* 141 (6): 1271-1277. 1992.
- 56) 小方則夫, 斎藤貴史, 上村朝輝 他. 肝疾患におけるHBV遺伝子の動態 - 肝癌細胞と肝細胞間の組込み構造の異同について -. *肝臓* 29 (12): 1657. 1988.
- 57) 小方則夫. B型肝炎ウイルスの肝細胞癌発症機構 (第435回新潟医学会シンポジウム: 「遺伝子工学による病因解析とその診断」). *新潟医学会雑誌* 103 (6): 466-471. 1989.
- 58) Ogata N, Tokino T, Kamimura T, et al. A comparison of the molecular structure of integrated hepatitis B genomes in hepatocellular carcinoma cells and hepatocytes derived from the same patient. *Hepatology* 11 (6): 1017-1023. 1990.
- 59) 小方則夫, 市田隆文. B型肝炎ウイルス. 肝癌 - 診断と治療. p53-61. 沖田 極, 市田隆文 編, 日本メディカルセンター, 1997.
- 60) 小方則夫. ウイルス性肝炎における肝発癌機構: 肝細胞染色体へのB型肝炎ウイルスゲノム組み込みと肝細胞癌発生. 肝疾患研究の新しい展開第III巻. p211-226. メディカルレビュー社. 1998.
- 61) Totoki Y, Tatsuno K, Covington KR, et al. Trans-ancestry mutational landscape of hepatocellular carcinoma genomes. *Nat Genet* 46 (12): 1267-1273. 2014.
- 62) Fujimoto A, Furuta M, Totoki Y, et al. Whole-genome mutational landscape and characterization of noncoding and structural mutations in liver cancer. *Nat Genet* 48 (5): 500-509. 2016.
- 63) Zhao L-H, Liu X, Yan H-X, et al. Genetic and oncogenic preference of HBV integration in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 7: 12992. 2016.
- 64) Chang Y-S, Tu S-J, Chen H-D, et al. Whole genome and RNA sequencing analyses for 254 Taiwanese hepatocellular carcinomas. *Biomark Res* 11 (1): 68. 2023.
- 65) Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive and integrative genomic characterization of hepatocellular carcinomas. *Cell* 169 (7): 1327-1341. 2017.
- 66) Alvarez EG, Demeulemeester J, Otero P, et al. Aberrant integration of hepatitis B virus DNA promotes major restructuring of human hepatocellular carcinoma genome architecture. *Nat Commun* 12 (1): 6910, 2021.
- 67) Rajaby R, Zhou Y, Meng Y, et al. SurVirus: a repeat-aware virus integration caller. *Nucleic Acids Res* 49 (6): e33, 2021.
- 68) Saha AK, Mourad M, Kaplan MH, et al. The genomic landscape of centromeres in cancers. *Sci Rep* 9: (1) 11259. 2019.
- 69) Suzuki Y, Myers EW, and Morishita S. Rapid and ongoing evolution of repetitive sequence structures in human centromeres. *Sci Adv* 6 (50): eabd9230. 2020.
- 70) Carreira PE, Richardson SR, and Faulkner GJ. L1 transposons, cancer stem cells and oncogenesis. *FEBS J* 281 (1): 63-73. 2014.
- 71) Pascarella G, Hon C-C, Hashimoto K, et al. Recombination of repeat elements generates somatic complexity in human genomes. *Cell* 185 (16): 3025-3040. 2022.
- 72) Rodriguez-Martin B, Alvarez EG, Baez-Ortega A, et al. Pan-cancer analysis of whole genomes identifies driver rearrangements promoted by LINE-1 retrotransposition. *Nat Genet* 52 (3): 306-319. 2020.
- 73) Nystrom-Lahti M, Kristo P, Nicolaidis NC, et al. Founding mutations and Alu-mediated recombination in hereditary colon cancer. *Nat Med* 1 (11): 1203-1206. 1995.
- 74) ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. Pan-cancer analysis of whole genomes. *Nature* 578 (7793): 82-93. 2020.
- 75) 寺島健志, 山下竜也, 山下太郎. 肝細胞癌および肝内胆管癌における遺伝子異常に基づく二次薬物療法の選択に関する検討. *肝臓* 64 (suppl.1): A67. 2023.

本論文内容に関連する著者の利益相反: なし