

者内あるいは患者間で変動幅が大きく蓄積性はないと考えられた。

血中 HCV 動態は、主に初期の 24 hr で急速に血清 HCV RNA 量が下降する“第 1 相”とその後に引き続き緩徐な低下傾向を示す“第 2 相”が認められた。治療開始 24 hr 及び 48 hr では各々 0.15-1.63 log (中央値 1.01 log) 及び 0.11-2.14 log (中央値 1.00 log) の低下がみられ、開始 7 日では -0.13-2.32 log (中央値 0.84 log) の低下がみられた。“第 1 相”では治療効果の相違による患者間の有意な差はみられなかった(完全著効例の低下が大きい傾向はあった)が、“第 2 相”では完全著効例で有意に低下傾向が強かった。血中消失半減期は“第 1 相”が 3.6-12.5 hr (中央値 7.9 hr)、“第 2 相”が 12.7-794.0 hr (中央値 95.1 hr) で、治療中血清 HCV RNA 非陰性化例で有意に長かったが、その他の治療反応性との関連性は認められなかった。

副作用は従来のインフルエンザ様症状等と同程度に認められ、特に Ribavirin との併用療法で特徴的あるいは高頻度と思われたものに筋肉痛、眩暈、皮膚症状(湿疹、掻痒感)等があった。溶血性貧血による Hb 低下は全例に認められ、うち 5 例で Ribavirin を 600 mg/日に減量(Hb 値 10 g/dL 以下)している。副作用による脱落例は 1 例で、高度の筋肉痛、食欲不振、嘔吐、全身倦怠感がみられた。

D. 考察

日本人を含むアジア人(黄色人種)についての Ribavirin 血中薬物動態の報告は極めて少ない。今回の検討では海外の報告とほぼ同様の結果が得られており、人種間(少なくとも日本人と英国人)で大きな差異はないと考えられる。しかし Ribavirin の投与量、検体採取の方法や測定に使用した matrix の違いなど付帯条件が違うため、厳密には結論付けられない。ただし IFN α -2b の投与方法(1 回投与量、連日・間歇等)が本邦とは違う海外との比較で、Ribavirin 血中薬物動態に相当の相違がなかったことは、Ribavirin と IFN α -2b との間に薬理的な相互作用がないことを支持するものである。

Ribavirin 血中薬物動態では、複数回最終投与における Cmax、AUC (0-12 hr) あるいは RAUC が完全著効例に有意に高値を示した。また治療中の経時的な血中薬物濃度は、時間とともに上昇し 4 週から 8 週で plateau (頭打ち状態)に達していた。それ以降は各症例においてほぼ一定の濃度を維持・推移しており、“定常期”が観察された。興味あることは、完全著効例において定常期の血中濃度が高いことであり、いずれも 3,000 ng/mL 以上の濃度を示していた。以上のことは、1) Ribavirin の蓄積性が確認された、2) 完全著効を達成するには、ある一定の Ribavirin による曝露、あるいは蓄積が必要である、3) 治療開始から一定の時期に血中濃度は plateau に達し、その濃度の高低が治療効果に有意な関連性をもっている、などを示している。

IFN α -2b 血中薬物動態では、治療中を通じて半減期の短さや clearance の高さが維持されており、Ribavirin とは違い蓄積性がないことが確認された。また IFN α -2b に関連する薬物動態学的指標においては、治療効果に影響を及ぼす因子を見出すことができない

かった。

IFN α -2b+Ribavirin 併用療法では HCV に関連する従来のウイルス学的因子：血清 HCV RNA 量や HCV NS5A/ISDR におけるアミノ酸変異数は、genotype 1b かつ高ウイルス量に限定すると、治療効果に影響を与える有意な因子とはなりえないようである。逆に言えば、従来の IFN 単独療法では完全著効が皆無であった NS5A/ISDR : wild type かつ超高ウイルス量(10 MEq/mL 以上)症例でも Ribavirin との併用療法が有効であることを示している。

E. 結論

従来の Interferon (IFN) 単独療法に難治性とされる HCV genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対する IFN α -2b+Ribavirin 併用療法において、血清 Ribavirin 濃度を測定することは治療効果を予測するうえで有用であると考えられた。このことは今後、治療の向上を目指すうえでも参考になると思われる。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Tsubota A, Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, Someya T, Kobayashi M, Arase Y, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Viral dynamics and pharmacokinetics in combined interferon alfa-2b and ribavirin therapy for patients infected with hepatitis C virus of genotype 1b and high pretreatment viral load. *Intervirolgy* (in press).

2) Tsubota A, Kumada H, et al. (in submission).

3) 坪田昭人、鈴木文孝、荒瀬康司、松田真理恵、小林万利子、佐藤純子、高木公子、斎藤聡、鈴木義之、染谷貴志、芥田憲夫、小林正宏、池田健次、熊田博光。新たに開発された血中 ribavirin 濃度測定法(HPLC法)の有用性に関する検討。(投稿中)。

2. 学会発表

1) 坪田昭人、芥田憲夫、鈴木文孝、荒瀬康司、染谷貴志、小林正宏、鈴木義之、斎藤聡、池田健次、熊田博光。[ワークショップ1：C 型慢性肝炎難治例の治療戦略]。WK1-1：HCV genotype 1b かつ高ウイルス量の C 型慢性肝炎患者における interferon α -2b+ribavirin 併用療法の検討。第 37 回日本肝臓学会総会(横浜、2001 年 5 月 17 日)。肝臓 第 37 回日本肝臓学会総会講演要旨 A23, Vol.42 Suppl(1), 2001。

2) 坪田昭人。[サテライトシンポジウム：C 型慢性肝炎に対する新しい併用療法の有効性(座長：熊田博光)]。ウイルス学的及び薬物動態学的側面から。第 5 回日本肝臓学会大会/DDW-Japan 2001 Kyoto (京都、2001 年 10 月 17 日)。Nikkei Continuing medical Education, 5-6, Jan.2002。

H. 知的財産権の出願・登録状況

今回の研究内容については特になし。

分担研究報告書

B型肝炎ウイルス・コアプロモーター変異とその臨床的意義についての検討

研究協力者 折戸悦朗 名古屋市立大学第二内科講師

研究要旨

B型肝炎ウイルス(HBV)において、HBe 抗原・抗体はウイルスの活動性の重要な指標として重要な指標であり、その生成と pre-C 領域(preC)の変異、およびコアプロモーター領域(CP)の変異が大きく関与しているとされる報告が多く出されている。しかし、CP の変異の臨床的意義は不明である。そこで 283 例の慢性 B 型肝炎患者について CP 変異と臨床像とを検討したところ、genotype B 型では HBe 抗原とは無関係であり、genotype C 型では HBe 抗原時期におけるその titer と関連することが示された。

A. 研究目的

B型肝炎ウイルス(HBV)は、ウイルスの活動性が活発な状態と、不活発な状態とが存在し、ウイルスの活動性が高い状態が長く続くと肝疾患の病態の進展も進むことが知られている。特に、HBe 抗原・抗体はウイルスの活動性を知るひとつの重要な指標であり、HBe 抗原陽性であれば、かなりウイルス量も多く、活発に増殖している状態であると理解されている。最近その HBe 抗原の生成と pre-C 領域(preC)の変異、およびコアプロモーター領域(CP)の変異が大きく関与しているとされる報告が多く出されている。しかし、preC の変異との関係はかなり明確であるのに対し、CP の変異は直接的な関係は明瞭でなく、その臨床的意義は疑問されている。そこで今回特に CP の変異と HBe 抗原との関連について検討することを目的とした。

B. 研究方法

HBs 抗原陽性の無症候性キャリア(ASC)、慢性肝炎(CH)、肝硬変(LC)、肝細胞癌(HCC)の総計 283 例(平均年齢 41.7 才、男:女=163:120)を対象とした。CP 変異は、スマイテストの core promoter mutation detection kit を使用して、1762 番、1764 番の 2 重変異の有無を判定した。そして CP の変異と、年齢、性別、疾患、genotype、HBe 抗原の陽性・陰性、さらに HBe 抗原の titer とを比較し、どのような臨床的意義があるかを検討した。

C. 研究結果

CP の変異と genotype との関係を検討したところ、genotype B 型(HBV/B)では年齢・性別・疾患ほとんど関係なく wild 型が大部分を占めた。しかし、genotype C 型(HBV/C)では、若年では wild 型であるが、中年以後 mutant 型が増加し、加

齢、疾患の進展とともにその割合が増加する傾向がみられた。HBe 抗原陽性・陰性との関連は、両 genotype とも明らかではなかった。そこで、中年以後 CP の変異が起きてくる HBV/C の例で HBe 抗原の量との関連を検討したところ、HBe 抗原陽性時期に CP に変異が起きると HBe 抗原量が有意に低下することが観察された。

D. 考案

CP の変異は、HBV/B と HBV/C の症例における case-control study にて、両群間に大きな差が見られることが既に報告されている。すなわち、HBV/B 症例では、ほとんどの例が若年者から中高年者まで wild 型のままで HBe 抗原から HBe 抗体へと seroconversion を起こしており、CP の変異は臨床的には加齢とともに増大傾向がみられるが、それ以外の所見との関連は見られなかった。一方 HBV/C 症例では、早い年齢から CP は変異して mutant 型となり、年齢、疾患の進展などに関連することが示されていた。今回のさらに多数例での検討で、HBV/B ではやはり CP の変異に関係なく seroconversion が起きること、また HBV/C では加齢とともに CP の変異が増大し、それとともに HBe 抗原の titer が低下し、やがて preC の変異をきたして seroconversion することが示された。

E. 結論

CP の変異は HBV/C では、HBe 抗原の生成量に関係することが示されたが、HBV/B 症例はまったく別のメカニズムであり、HBV 感染では、その genotype の違いによって、臨床的、ウイルス学的

特徴が大きく異なることが示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Michitaka K, Ishikawa K, Ichida T, Okanoue T, Yotsuyanagi H, Iino S. A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B virus of genotypes B and C. *Hepatology* 33(1): 218-223, 2001.

Nakano T, Lu L, Hu X, Mizokami M, Orito E, Shapiro CN, Hadler SC, Robertson BH. Characterization of Hepatitis B Virus Genotypes Among Yucpa Indians in Venezuela. *J Gen Virol* 82: 359-365, 2001.

Lu L, Nakano T, Orito E, Mizokami M, Robertson BH. Evaluation of HCV mutation in a chronically infected chimpanzee: comparison of core, E1, HVR1 and NS5b regions. *Journal of Virology* 75:3004-3009, 2001.

Sugauchi F, Mizokami M, Orito E, Ohno T, Kato H, Suzuki S, Kimura Y, Ueda R, Butterworth LA, Cooksley WGE. A novel variant genotype C of hepatitis B virus identified in isolates from Australian Aborigines: complete genome sequence and phylogenetic relatedness. *J Gen Virol* 82: 883-892, 2001.

Ding X, Mizokami M, Yao G, Xu B, Orito E, Ueda R, Nakanishi M. Hepatitis B Virus Genotype Distribution among

Chronic Hepatitis B Virus Carriers in Shanghai, China. *Intervirol* 44(1):43-7, 2001.

Orito E, Ichida T, Sakugawa H, Sata M, Horiike N, Hino K, Okita K, Okanoue T, Iino S, Tanaka E, Suzuki K, Watanabe H, Hige S, Mizokami M. Geographic distribution of hepatitis B virus genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34: 590-594, 2001.

Kato H, Orito E, Sugauchi F, Ueda R, Gish RG, Usuda S, Miyakawa Y, Mizokami M.

Determination of hepatitis B virus genotype G by polymerase chain reaction with hemi-nested primers. *J Virol Methods* 98: 153-159, 2001.

Kato H, Orito E, Gish RG, Bzowej N, Newsom M, Sugauchi F, Suzuki S, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Hepatitis B e antigen in sera from individuals infected with hepatitis B virus of genotype G. *Hepatology* (in press)

2. 学会発表

管内文中、溝上雅史、折戸悦朗、大野智義、加藤秀章、鈴木誠司、木村吉秀、上田龍三

ワークショップ「B型肝炎ウイルスのゲノタイプ・変異と臨床」
オーストラリア先住民族から分離されたB型肝炎ウイルスの系統樹解析
第37回日本肝臓学会総会、平成13年5月17日～18日、横浜

加藤秀章、折戸悦朗

シンポジウム「B型肝炎ウイルスにおける genotype とその臨床」

B型肝炎ウイルス genotype G にみられた preC 領域の塩基配列と HBeAg/Ab phenotype の discrepancy に関する検討
第5回日本肝臓学会大会、平成13年10月17日～18日、京都

Nakano T, Lu L, Robertson BH, Orito E, Mizokami M.

Convergent evolution of hepatitis C virus observed in hypervariable region 1 among a chronically infected chimpanzee.

The 52nd Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases, Dallas, USA, Nov 9-13, 2001.

Sugauchi F, Orito E, Ohno T, Kato H, Suzuki S, Ueda R.

Naturally occurring pre-S1/S2 deletion mutants are associated with hepatitis B virus genotype.

The 52nd Annual Meeting of The American Association for the Study of Liver Diseases, Dallas, USA, Nov 9-13, 2001.

折戸悦朗、溝上雅史、大野智義、飯島祥彦、加藤秀章、管内文中、鈴木誠司、吉岡健太郎、福田吉秀、豊田英徳、神谷忠、石川哲也、各務伸一

HBs 抗原陽性肝疾患患者と供血者における HBV genotype 分布とその臨床的背景の検討

第34回日本肝臓学会西部会、平成13

年 12 月 7 日～8 日、高知

加藤秀章、折戸悦朗、管内文中、鈴木誠
司、長谷川泉、桜井万弓、溝上雅史

B 型肝炎ウイルス genotype G 型の検出
法の開発と本邦における検討

第 34 回日本肝臓学会西部会、平成 13
年 12 月 7 日～8 日、高知

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特許出願番号 2001-246141

整理番号 011941

平成 13 年 8 月 14 日出願

発明者：谷中昭子、越坂卓也、溝上雅史、
加藤秀章、折戸悦朗、上田龍三

発明の名称：B 型肝炎ウイルスの遺伝子
型分類方法ならびにそのためのプライマ
ーおよびプローブ

B 型慢性肝炎に対する Lamivudine 中断療法

主任研究者 飯野四郎 聖マリアンナ医科大学 教授

研究要旨 Lamivudine 中断療法後に起こるウイルスの急激な増殖、それに対する生体の免疫応答の結果としての肝炎の増悪、引き続く、ウイルスの増殖力低下と肝炎の寛解に期待する Lamivudine 6 ヶ月間中断療法を試みたが、期待通りの肝炎の急性増悪はみられず、本療法が B 型慢性肝炎の画期的な治療法とはなりえないと判断された。

A. 研究目的

B 型慢性肝炎の自然経過ではウイルスの増殖後に ALT の上昇をみる肝炎の急性増悪をみて、その後にウイルス量の減少を伴って自然寛解することがあることから、Lamivudine を短期間投与し、その中止後に起こるウイルスの増殖、引き続く、肝炎の急性増悪を人為的に起こさせ、肝炎の寛解を誘導できるかどうかを検討した。

B. 研究方法

B 型慢性肝炎 7 例に対して、予め Lamivudine を 6 ヶ月間投与し、中止後に起こる急性増悪、それに続く、肝炎の寛解に期待する治療法であることを十分に説明し、同意を得た上で、1 日 1 回 100mg の Lamivudine を経口投与した。投与開始から中止後にかけて 4 週ごとに HBV DNA 量を TMA 法にて測定した。また、ALT を含む一般生化学検査も同時に行った。

C. 研究結果

1. HBV DNA の推移

全例 3 ヶ月で HBV DNA は検出限界

の 3.7 LGE/ml まで低下したが、4 ヶ月目に 2 例で陽性となった（うち 1 例は持続陽性）。中止後全例で再陽性化し、rebound の後にやや低値化して持続する例も多いが、高値に戻ってしまった例もみられる（図 1）。

2. ALT の推移

投与開始直後に急性増悪をみた例が 1 例みられたが、3 ヶ月目では全例ほぼ正常化し、中止後 1 ヶ月まで持続した。中止後 3 ヶ月目をピークとする急性増悪が 4 例でみられた。高値を示した例は投与後急性増悪した例であった。いずれにしても激しい急性増悪はみられなかった（図 2）。

D. 考察

B 型慢性肝炎の自然経過では、HBV の増殖、次いで ALT の上昇、結果としての血中 HBV 量の減少、ALT の低下という経過を繰り返し、経過良好な例では、この肝炎の急性増悪の後に、HBV DNA の陰性化、ALT の正常化が得られ、それが持続する。

ステロイド離脱療法、インターフェロン(IFN)1 ヶ月療法も同じことで、人

為的に、これら薬剤投与・投与後に起こる HBV 増殖、ALT 上昇、結果としての HBV DNA 陰性化、ALT 正常化に期待する治療法である。

Lamivudine についても IFN と同様の結果となるかどうかを試みたが、これまで Lamivudine 投与中止で起こると懸念される肝炎の激しい急性増悪はみられなかった。今回の試みが、Lamivudine 投与期間が6ヶ月と短かったためか、激しい急性増悪が予測されるような、増悪・寛解を繰り返している症例を除外しているためか、これだ

けの試みでは判断することはできない。いずれにしても、Lamivudine 中断療法が画期的な B 型慢性肝炎の治療法とは成り得ないと考えられた。

E. 結論

中間段階ではあるが、6ヶ月間 Lamivudine 中断療法は予測されたような肝炎の急性増悪を引き起こす力はなく、結果として、HBV DNA の陰性化、ALT の正常化は誘導できない可能性が高いと考えられた。

図 1

(単位:LGE/ml)

Zefix中断例のHBV DNAの推移

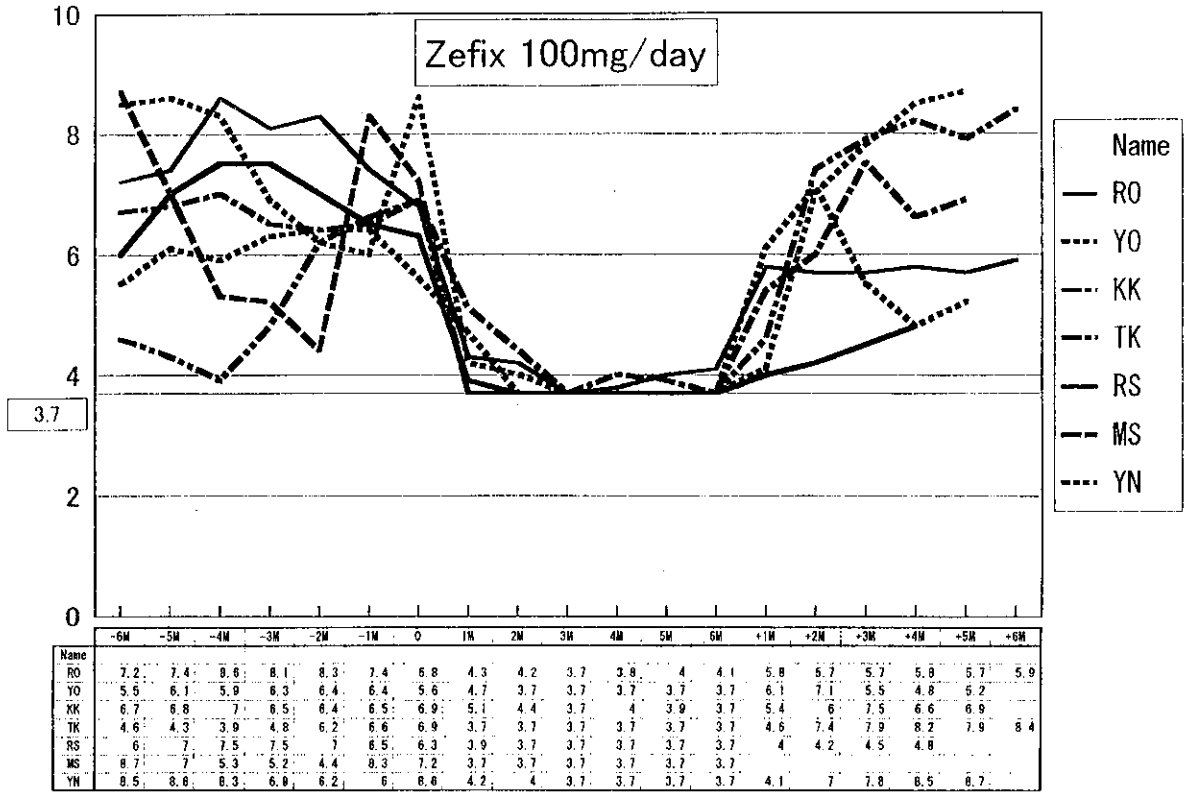
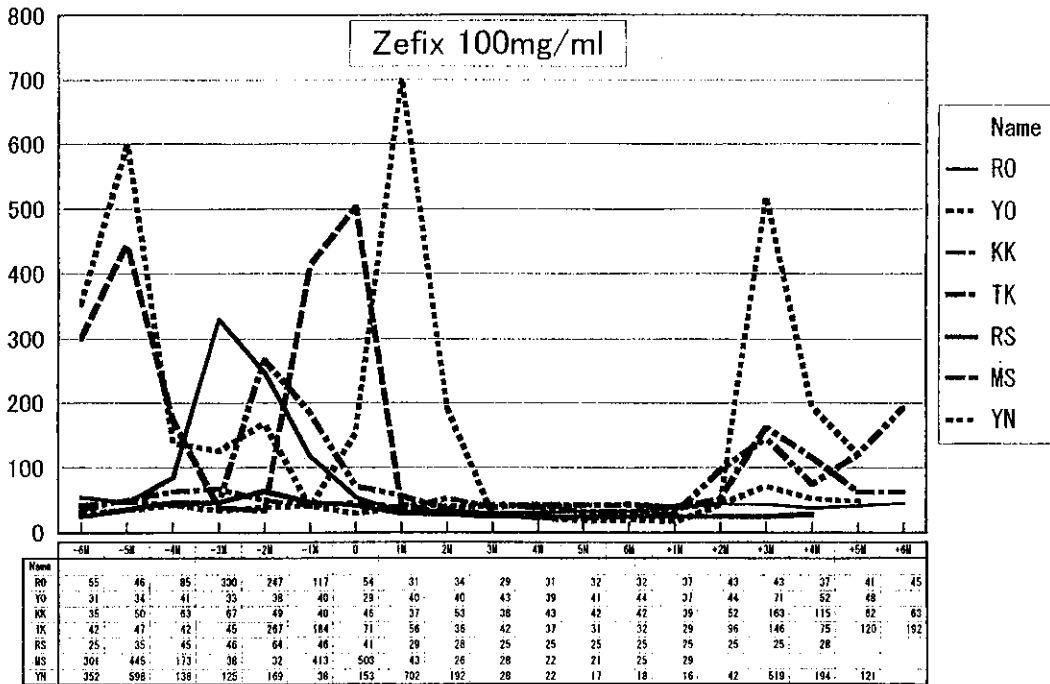


図 2

(単位: IU/l)

Zefix中断例のALTの推移



厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
分担研究報告書

B 型慢性肝炎・肝硬変に対する lamivudine 治療—YMDD motif mutant
高感度検出系を用いた検討

研究協力者 岡上 武 京都府立医科大学第三内科学教室 助教授

共同研究者 桐島寿彦、大門由紀子、森 康二郎、南 祐仁
京都府立医科大学第三内科学教室

研究要旨：B 型慢性肝炎に核酸誘導体の lamivudine が使用され、一部の施設では長期投与の経験がある。本剤の長期投与により DNA polymerase の塩基配列に変異のある耐性ウイルス（YMDD motif mutant）が出現し、mutant virus の増殖により（break through）肝炎の再燃をきたすことが本剤の治療で大きな問題である。安全かつ有効に本剤を使用するには、YMDD motif mutant の早期検出法の開発が必要であり、またその増殖メカニズムを明らかにすることも重要である。我々は YMDD motif mutant の高感度検出系（PNA mediated PCR-clamping with RFLP）を開発した。その検出感度は従来の conventional RFLP のおよそ 1,000～10,000 倍である。この高感度検出系は lamivudine 長期投与中の患者のモニタリング、および投与前の患者のスクリーニングに非常に有効である。

A. 研究目的

核酸誘導体の lamivudine は平成 12 年に保険適応になり、B 型慢性肝炎に広く使用されている。しかし長期投与により DNA polymerase の塩基配列に変異のある耐性ウイルス（YMDD motif mutant）が出現、増殖し（break through）肝炎の再燃をきたすことが報告されており、耐性ウイルスの早期検出およびその増殖メカニズムを検討することが重要である。

本年度の研究目的は耐性ウイルスの高感度検出系を開発し、lamivudine 投与中の B 型慢性肝炎・肝硬変患者における耐性ウイルスの動態を解析す

ることである。

B. 研究方法

今回我々は YMDD motif mutant の高感度検出系として PNA（peptide nucleic acids）をもちいた PCR clamping 法に RFLP（restriction fragment length polymorphism）を組み合わせた方法（PNA mediated PCR-clamping with RFLP）を試みた。

方法は大きく分けて三つの step からなり、その概要は以下のとおりである。

まず 1st step として、lamivudine を投与中の B 型慢性肝炎・肝硬変の患者血清より抽出した HBVDNA を用いて wild type のみに制限酵素 Nde I の認識配列が導入されるようにプラ

イマーを設定し 1st PCR を行う。生成産物を Nde I で処理すると wild type からの産物のみが切断され、mutant の割合が増加する。

次に 2nd step として、wild type の塩基配列に一致させた 17 塩基よりなる PNA を用いて PCR clamping 法を行う。PNA は一塩基でも異なると親和性が低下するため wild type のみに結合し PCR での増幅を妨げる。このため mutant のみが増幅される。

最後に 3rd step として、mutant のうち YVDD には制限酵素 Nla III、YIDD には制限酵素 Ssp I の認識部位が導入されるようにそれぞれプライマーを設定して nested PCR を施行し、RFLP にて mutant の存在を確認し type を判別した。

また wild type および mutant type の塩基配列をそれぞれ含むプラスミドベクターをクローニングし、様々な割合で混合したものをを用いてこの高感度検出法の感度および特異度を検証した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は既に京都府立医科大学における人間を対象とする医学研究審査委員会において承認されている。本研究においては、協力者（患者）に研究の目的、医学的意義、侵襲の程度を十分に説明する。さらに、研究結果の匿名性のみならず、いつでも同意を撤回できること、研究への同意は診療内容には一切関係しないこと、研究終了後は検体を破棄することについても説明し、予め同意書に署名・捺印を得た後研究をはじめることとしている。

C. 研究結果

wild type の塩基配列をもつプラス

ミド $10^5 \sim 10^9$ コピーに対し mutant virus の塩基配列をもつプラスミド $10^1 \sim 10^6$ コピーを段階的に加えたものを用いて検出感度を検討した。なお、対照として従来より用いられている conventional RFLP と比較した。

この PNA mediated PCR-clamping with RFLP では 10^9 コピーの wild type 中の 10^4 コピーの mutant を、また 10^5 コピーの wild type 中の 10^1 コピーの mutant を検出することが可能であった。その検出限界は 0.01~0.001% であり、対照とした conventional RFLP の検出限界である約 10% と比較し、およそ 1,000~10,000 倍高感度であった。

さらに、2 年以上 lamivudine を投与中し、投与 14 カ月後に HBVDNA の break through をきたした肝硬変患者（57 歳、女性）の血清を用いて mutant virus の検出を行った。PNA mediated PCR-clamping with RFLP では break through の 7 カ月前に mutant virus を検出できたのに対し、conventional RFLP では 1 カ月前にしか検出できなかった。またこの患者では YIDD motif と YVDD motif の共存する期間を経て、YVDD 優位となっていたことも判明した。

D. 考案

B 型慢性肝炎の有効な治療薬である lamivudine の最大の問題点は長期投与により耐性ウイルスが出現し、それが増殖して肝炎の再燃をきたす例があることである。mutant virus は投与後 6~8 カ月頃より出現することが報告されているが mutant virus による肝機能の増悪への治療を講じるうえでより高感度な検出系を確立し、早期に mutant を検出することは

極めて有用である。

今回我々の開発した方法は、RFLP based PCR にヒトゲノムの mutation 検出に応用されていた PCR clamping 法を組み合わせた画期的な手法であり、0.01~0.001%の割合で含まれる mutant virus を検出することが可能である。従来より用いられている conventional RFLP のおよそ 1,000~10,000 倍の感度である。実際の患者血清における検討では、約 6 カ月早く検出することが可能であった。

また、B 型肝炎 13 例のうち 1 例に lamivudine 投与前の血清より mutant virus が検出されており、break through を起こすハイリスク群のスクリーニングに応用できるかもしれない。

次年度の研究においては、この高感度検出系を用いて lamivudine 投与中の B 型肝炎・肝硬変患者における mutant virus の動態について解析し、その有効な投与方法および break through への対策を検討する予定である。また、DNA polymerase の B-domain における L528M の mutation が加わると virus の増殖力が増すとの報告もあり、これらも合わせて検出できる方法の開発も検討中である。

E. 結論

1) lamivudine 長期投与中に出現する YMDD motif mutant の高感度検出系 (PNA mediated PCR-clamping with RFLP) を開発した。その検出感度は従来の conventional RFLP のおよそ 1,000~10,000 倍である。

2) この高感度検出系は lamivudine 長期投与中の患者のモニタリング、および投与前の患者のスクリーニングに非常に有効である。

F. 研究発表

1 論文発表

1) Kirishima T, Okanoue T, Daimon Y, et al.

A novel sensitive method for the detection of lamivudine-resistant hepatitis B virus polymerase gene variants using peptide nucleic acids (PNA)-mediated PCR-clamping with RFLP. (submitted)

2 学会発表

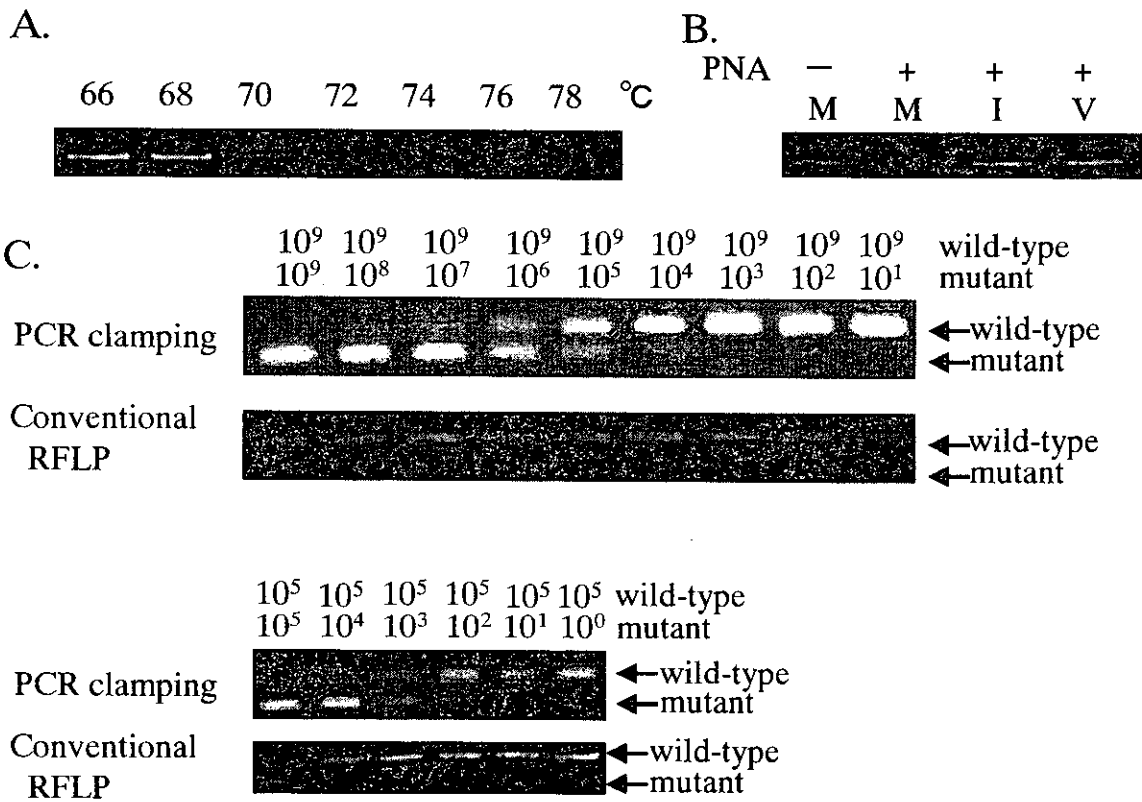
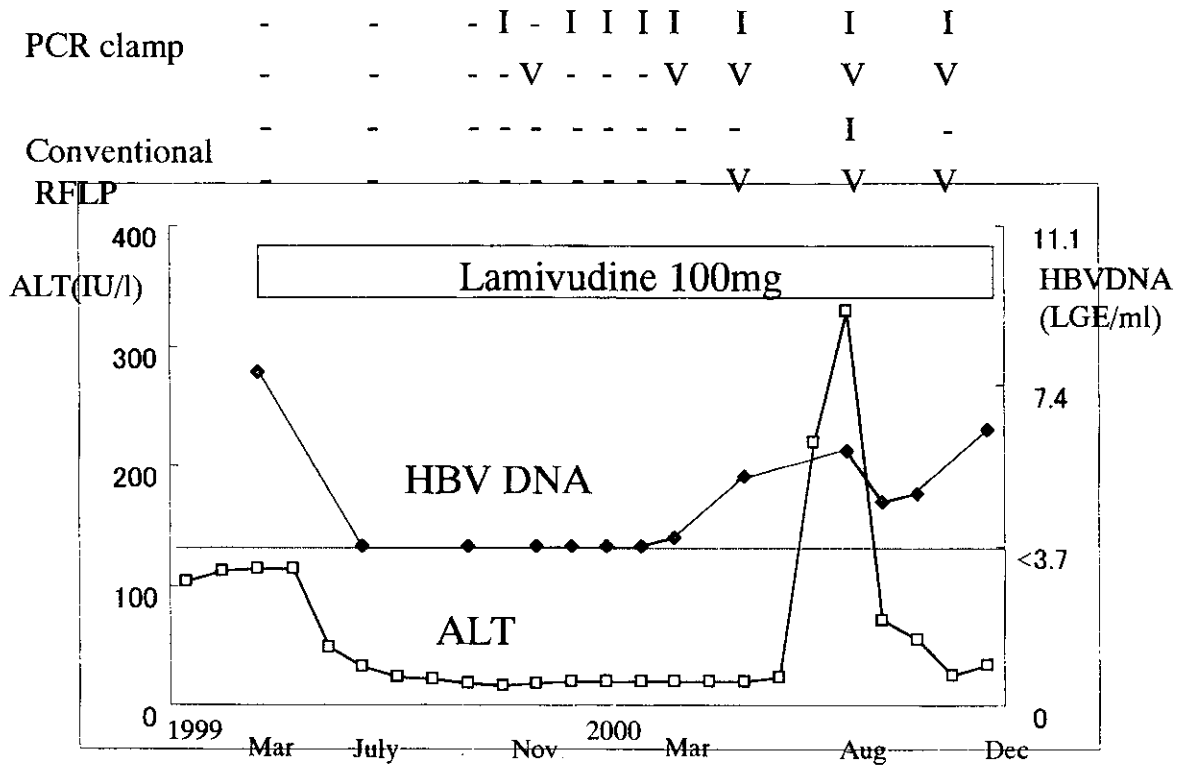
1) Minami M, Kirishima T, Daimon Y, Mori K, Itoh Y, Okanoue T.

A novel sensitive method for the detection of lamivudine-resistant HBV mutants using peptide nucleic acids-mediated PCR clamping and restriction fragment length polymorphism.

53th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease(AASLD). 2001. Nov10-13 ; Dallas, USA

G. 知的所有権の取得状況

なし



分担研究報告書

「B型慢性肝炎へのラミブジン+HBワクチン併用療法」に関する研究
分担研究者 各務 伸一 愛知医科大学第一内科 教授

研究要旨 B型慢性肝炎患者において、ラミブジン治療へのHBワクチン併用の効果を検討した。解析可能症例数は少ないが、ラミブジン単独治療群とHBワクチン併用群との比較では、併用群においてHBV-DNAの消失率が高い傾向がみられ、HBワクチン併用の有用性が示唆された。

A. 研究目的

B型慢性肝炎患者におけるラミブジン治療へのHBワクチン併用の効果を検討する。

B. 研究方法

対象はB型慢性肝炎患者で、現在までに68例を登録した（HBe抗原陽性47例、HBe抗原陰性21例）。登録はHBe抗原陽性、HBe抗原陰性患者に分け、それぞれランダムにラミブジン単独群、ラミブジン+HBワクチン併用群に振り分けた。単独群は通常通り100mg/日を内服、併用群においては、ラミブジン内服2ヶ月後より、ラミブジン継続の上、HBs抗原ワクチン（PreSを含む）10μgを1ヶ月毎に計6回皮下注した。ラミブジン投与前、投与後2ヶ月（併用群ではワクチン投与前）、5ヶ月（同投与後3ヶ月）、8ヶ月（同終了1ヶ月）の各ポイントで、ウイルス量など臨床検査値、HBV特異的免疫応答などの解析を行った。

C. 研究結果

解析可能症例の数は限られているが、解析可能であったHBe抗原陽性群では、ラミブジン投与2ヶ月後（ワクチン投与前）のウイルス消失率が、ラミブジン単独群、ワクチン併用群で同程度であったのに対し（それぞれ36%、40%）、ラミブジン投与5ヶ月後（ワクチン投与3ヶ月後）では単独群で45%、併用群で80%と、併用群において早期にウイルスの排除がもたらされる傾向がみられた。また、

HBs抗原、HBe抗原量の減少の程度も、併用群において強い傾向がみられた。

D. 考察

B型慢性肝炎へのラミブジン治療は、長期投与の必要性、それに伴うラミブジン耐性株の出現、肝炎の再燃などが問題となる。これらの問題点を克服する手段として、HBワクチンの併用は有用である可能性が示唆された。ただし最終的な評価にはまだ時間を要する。

E. 結論

B型慢性肝炎へのラミブジン+HBワクチン併用療法の有用性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

当該研究に関するものはなし。

2. 学会発表

「B型慢性肝炎患者におけるエピソード解析とワクチン療法」第87回消化器病学会総会-パネルディスカッション

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし

Ⅲ. 発表論文リスト

飯野

- 1) H Yotsuyanagi, K Yasuda, K Moriya, Y Shintani, H Fujie, T Tsutsumi, N Nojiri, T Juji, H Hoshino, K Shimoda, K Hino, S Kimura, S Iino, K Koike : Frequent presence of HBV in the sera of HbsAg-negative, anti-HBc-positive blood donors. *Transfusion* 41:1093-1099, 2001
- 2) E Orito, T Ichida, H Sakugawa, M Sata, N Horiike, K Hino, K Okita, T Okanoue, S Iino, E Tanaka, K Suzuki, H Watanabe, S Hige, M Mizokami : Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34:590-594, 2001
- 3) S Iino, T Tango, T Matsushima, G Toda, K Miyake, K Hino, H Kumada, K Yasuda, T Kuroki, C Hirayama, H Suzuki : Therapeutic effects of stronger neo-minophagen C at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol. Res.* 19:31-40, 2001
- 4) E Orito, M Mizokami, H Sakugawa, K Michitaka, K Ishikawa, T Ichida, T Okanoue, H Yotsuyanagi, S Iino, for the Japan HBV Genotype Research Group : A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. *Hepatology* 33:218-223, 2001
- 5) H Yotsuyanagi, Y Shintani, K Moriya, H Fujie, T Tsutsumi, T Kato, K Nishioka, T Takayama, M Makuuchi, S Iino, S Kimura, Koike K : Virologic analysis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. *J. Inf. Dis.* 181:1920-1923, 2001

熊田

- 1) Y Arase, K Ikeda, K Chayama, N Murashima, A Tsubota, Y Suzuki, S Saitoh, Masa Kobayashi, Mari Kobayashi, F Suzuki, H Kumada : Efficacy of IFN therapy based on duration period of negative HCV-RNA during IFN administration. *Hepatology Research* 19:22-30, 2001
- 2) T Someya, Y Suzuki, Y Arase, Masa Kobayashi, F Suzuki, A Tsubota, S Saitoh, K Chayama, N Murashima, K Ikeda and H Kumada : Interferon Therapy for Flare-up of hepatitis B virus interferon after emergence of Lamivudine-induced YMDD motif mutant. *J. Gastroenterology* Vol.36/:133-136.2001
- 3) A Tsubota, Y Arase, S Saitoh, Masa Kobayashi, Y Suzuki, F Suzuki, K Chayama, N Murashima, K Ikeda and H Kumada : Lamivudine Therapy for Spontaneously Occurring Severe Acute Exacerbation in Chronic Hepatitis B Virus Infection; A Preliminary Pilot Study. *Am. J. Gastroenterology* Vol.96No.2:557-562, 2001
- 4) F Suzuki, K Chayama, A Tsubota, Masa Kobayashi, Y Suzuki, Y Arase, N Murashima, K Ikeda, H Kumada : Twice-daily administration of interferon-beta for chronic hepatitis C is not superior to once daily regimen. A randomized control study. *J. Gastroenterology and Hepatology* Vol.36 ; 242-247, 2001
- 5) M Izumi, H Kumada, N Hashimoto, H Harada, M Imawari, M Zeniya, G Toda : Rapid decrease of plasma HCV RNA in the early phase of twice daily administration of 3 MU doses versus daily 6 MU doses of beta interferon in patients with high plasma levels of HCV RNA and the genotype 1b hepatitis C infection a multi center randomized study. *Dig. Dis. Sci.* Vol.46 No.3 ; 516-523, 2001
- 6) K Ikeda, S Saitoh, Masa Kobayashi, Y Suzuki, F Suzuki, A Tsubota, Y Arase, N Murashima, K Chayama, and H Kumada : Long-term interferon therapy for 1 year or longer in reduces the hepatocellular carcinogenesis rate in patients with liver cirrhosis caused by hepatitis C virus : A pilot study. *J. Gastroenterology and Hepatology* Vol.16: 406-415, 2001
- 7) N Akuta, K Chayama, F Suzuki, T Someya, Masa Kobayashi, A Tsubota, Y Suzuki, S Saitoh, Y Arase, K Ikeda, and H Kumada : Risk factors of Hepatitis C virus-related liver cirrhosis in young adults: Positive family history of liver disease and Transporter associated with antigen processing 2(TAP2)0201 allele. *J. Med. Virology* Vol:64 p.109-116. 2001
- 8) N Murashima, K Ikeda, Masa Kobayashi, S Saitoh, K Chayama, A Tsubota, Y Suzuki, F Suzuki, Y Arase, and H Kumada : Incidence of the appearance of the red color sign on esophageal varices and its predictive factors: A long-term prospective observation of 359 patients with cirrhosis. *J. Gastroenterology* Vol.36: 368-374, 2001

9) Y Arase, K Cyayama, K Ikeda, A Tubota, Y Suzuki, S Saitoh, Masa Kobayashi, F Suzuki, N Akuta, T Someya, Mari Kobayashi, H Kumada : Randomized Controlled Clinical Trial of Lymphoblastoid Interferon- α for Chronic Hepatitis C . *Hepatology Research* 21(1):p55-60 ,2001

10) F Suzuki, K Chayama, A Tsubota, N Akuta, T Someya, Masa Kobayashi, Y Suzuki, S Saitoh, Y Arase, K Ikeda, and H Kumada : Pathogenic significance and organic virus levels in patients infected with TT virus. *Intervirology* 44:291-297,2001

11) S Iino, T Tango, T Matsushima, G Toda, K Miyake, K Hino, H Kumada, K Yasuda, T Kuroki, C Hirayama, H Suzuki : Therapeutic effects of stronger neo-minophagen C at different doses on chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Hepatol. Res.* 19:31-40, 2001

清澤

1) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Kojiro M, Ishikawa K, Ichida T, Okanoue T, Yotsuyanagi H, Iino S, Japan HBV genotype research group: A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotype B and C. *Hepatology* 33: 218-223, 2001

2) Tanaka E, Takeeda N, Li TC, Orii K, Ichijo T, Matsumoto A, Yoshizawa K, Iijima T, Takayama T, Miyamura T, Kiyosawa K: Seroepidemiological study of hepatitis E virus infection in Japan using a newly developed antibody assay. *J Gastroenterol* 36: 317-321, 2001

3) Hosaka S, Kawa S, Aoki Y, Tanaka E, Yoshizawa K, Karasawa Y, Hosaka N, Kiyosawa K: Hepatocarcinogenesis inhibition by caffeine in ACI rats treated with 2-acetylaminofluorene. *Food Chem Toxicol* 39: 557-561, 2001

4) Orito E, Ichida T, Sakugawa H, Sata M, Horike N, Hino K, Okita K, Okanoue T, Iino S, Tanaka E, Suzuki K, Watanabe H, Hige S, Mizokami M: Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34: 590-594, 2001

5) Gad A, Tanaka A, Orii K, Rokuhara A, Noonan Z, Serwah AH, Shoair M, Yoshizawa K, Kiyosawa K: Relationship between hepatitis C virus infection and schistosomal liver disease: not simply an additive effect. *J Gastroenterol* 36: 753-758, 2001

6) Kiyosawa K, Tanaka E: Strategy for lamivudine-resistant YMDD mutant-associated chronic hepatitis B. *J Gastroenterol* 36: 139-141, 2001

小林

1) Honda M, Kaneko S, Kawai H, Shirota Y, Kobayashi K. : Differential gene expression between chronic hepatitis B and C hepatic lesion. *Gastroenterology* 2001; 120:955-66.

2) Nakamoto Y, Kaneko S, Kobayashi K. : Monocyte-dependent cell death of T lymphocyte subsets in chronic hepatitis C. *Immunol Lett* 2001; 78:169-74.

3) Yamashita T, Kaneko S, Hashimoto S, Sato T, Nagai S, Toyoda N, Suzuki T, Kobayashi K, Matsushima K. : Serial analysis of gene expression in chronic hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 282:647-54.

各務

1) Fukuzawa K, Takahashi K, Furuta K, Tagaya T, Ishikawa T, Wada K, Omoto Y, Koji T, Kakumu S : Expression of fas/fas ligand (fasL) and its involvement in infiltrating lymphocytes in hepatocellular carcinoma (HCC). *J Gastroenterol.* 2001 Oct;36(10):681-8.

2) Sobue S, Nomura T, Ishikawa T, Ito S, Saso K, Ohara H, Joh T, Itoh M, Kakumu S : Th1/Th2 cytokine profiles and their relationship to clinical features in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol.* 2001 Aug;36(8):544-51.

3) Okumura A, Ishikawa T, Yoshioka K, Yuasa R, Fukuzawa Y, Kakumu S : Mutation at codon 130 in hepatitis B virus (HBV) core region increases markedly during acute exacerbation of hepatitis in chronic HBV carriers. *J Gastroenterol.* 2001 Feb;36(2):103-10.

4) Kishimoto H, Yoshioka K, Yano M, Ukai K, Ito H, Watanabe K, Kawamata O, Kakumu S : Real-time detection system for quantitation of hepatitis C virus RNA: a comparison with the other three methods. *Hepatol. Res.* 19:12-21, 2001

5) Yoshioka K, Kobayashi M, Orito E, Watanabe K, Yano M, Sameshima Y, Kusakabe A, Hirofuji H, Fuji A, Kurikij, Arao M, Murase K,

Mizokami M, Kakumu S, the IFN Treatment Group of Affiliated Hospitals of the Third Department of Internal Medicine at Nagoya university School of medicine : Biochemical response to interferon therapy correlates with interferon sensitivity-determining region in hepatitis C virus genotype 1b infection. *J. Viral Hepatitis* 8:421-429, 2001

恩地

- 1) Onji M, Akbar SMF, Horiike N : Dendritic cell-based immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol* 2001; 36:794-797
- 2) Akbar SMF, Abe M, Murakami H, Tanimoto K, Kumagi T, Yamashita Y, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Macrophage migration inhibitory factor in hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis; relevance to pathogenesis. *Cancer letters* Vol 171 : 125-132, 2001
- 3) Akbar SMF, Yamamoto K, Miyakawa H, Ninomiya T, Abe M, Hiasa Y, Masumoto T, Horiike N, and Onji M : Peripheral blood T-cell responses to pyruvate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis: role of antigen-presenting dendritic cells. *Eur J of Clin Invest* Vol 31: 639-646, 2001
- 4) Akbar SMF, Horiike N, Onji M, and Hino O : Dendritic cells and chronic hepatitis virus-carriers. *Intervirolgy* Vol 44: 199-208, 2001
- 5) Hirata M, Akbar SMF, Horiike N, and Onji M : Noninvasive diagnosis of the degree of hepatic fibrosis using ultrasonography in patients with chronic liver diseases due to hepatitis C virus. *Eur J of Clin Invest* Vol 31 : 528-535, 2001
- 6) Ikeda Y, Akbar SMF, Matsui H, Onji M : Characterization of antigen-presenting dendritic cells in the peripheral blood and colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology* Vol 13 No.7 : 841-850, 2001
- 7) Inoue G, Horiike N, and Onji M : The CD81 expression in liver in hepatocellular carcinoma. *Int J of Mol Med* Vol 7 : 67-71, 2001
- 8) Oka Y, Akbar SMF, Horiike N, Joko K, Onji M : Mechanism and therapeutic potential of DNA-based immunization against the envelope proteins of hepatitis B virus in normal and transgenic mice. *Immunology* Vol 103 : 90-97, 2001
- 9) Murakami H, Akbar SMF, Matsui H, Onji M : Macrophage migration inhibitory factor in the sera and at the colonic mucosa in patients with ulcerative colitis ; clinical implications and pathogenic significance. *Eur J of Clin Invest* Vol 31 : 337-343, 2001
- 10) Abe M, Akbar SMF, Horiike N, and Onji M : Induction of cytokine production and proliferation of memory lymphocytes by murine liver dendritic cell progenitors : role of these progenitors as immunogenic resident antigen-presenting cells in the liver : *Journal of Hepatology* Vol 34 : 61-67, 2001
- 11) Abe M, Hiasa Y, Masumoto T, Kumagi T, Akbar SMF, Ninomiya T, Matsui H, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Clinical characteristics of autoimmune hepatitis with histological features of acute hepatitis : *Hepatology Research* Vol 21: 213-219, 2001
- 12) Matsubara H, Michitaka K, Horiike N, Kihana T, Yano M, Mori T, Onji M : Existence of TT virus DNA and TTV-like mini virus DNA in infant cord blood; mother to neonatal transmission. *Hepatology Research* Vol 21: 280-287, 2001
- 13) Kumagi T, Akbar SMF, Horiike N, and Onji M : Increased serum levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) at the sera in alcoholic liver diseases and their expression in liver tissues. *Clinical Biochemistry* Vol 34 : 189-193, 2001
- 14) Tanimoto K, Akbar SMF, Michitaka K, Horiike N, Onji M : Antigen-presenting cells at the liver tissue in patients with chronic viral liver diseases : CD83-positive mature dendritic cells at the vicinity of focal and confluent necrosis : *Hepatology Research* Vol 21: 117-125, 2001

佐田

- 1) M Harada, S Sakisaka, K Terada, R Kimura, T Kawaguchi, H Koga, M Kin, E Taniguchi, S Hanada, T Suganuma, K Furuta, T Sugiyama, M Sata : A mutation of Wilson disease protein, ATP7B, is degraded in the proteasomes and forms protein aggregates. *Gastroenterology* 120: 967-974, 2001
- 2) T Kawaguchi, M Tanaka, S Itano, N Ono, Y Shiranuchi, H Nagamatsu, S Sakisaka, M. D. Dake, K Tanikawa, M Sata : Successful treatment for bronchial bleeding from invasive pulmonary metastasis of hepatocellular carcinoma: a case report. *Hepato-Gastroenterology* 48: 851-853, 2001
- 3) T Ueno, T Ide, O Hashimoto, Y Uchimura, T Torimura, R Kumashiro, S Inuzuka, M Sata : Long-term follow up of interferon-

treated chronic hepatitis C and serum hepatic fibrosis markers. *Hepato-Gastroenterology* 48: 1124-1128, 2001

4) H Koga, S Sakisaka, M Harada, T Takagi, S Hanada, E Taniguchi, T Kawaguchi, K Sasatomi, R Kimura, O Hashimoto, T Ueno, H Yano, M Kojiro, M Sata : Involvement of p21WAF1/Cip1, p27Kip1, and p18INK4c in troglitazone- induced cell-cycle arrest in human hepatoma cell lines. *Hepatology* 33: 1087-1097, 2001

5) T Torimura, T Ueno, M Kin, R Harada, T Nakamura, T Kawaguchi, M Harada, R Kumashiro, H Watanabe, R Avraham, M Sata : Autocrine motility factor enhances hepatoma cell invasion across the basement membrane through activation of β 1 integrins. *Hepatology* 34: 62-71, 2001

6) T Kawaguchi, S Sakisaka, M Harada, S Hanada, E Taniguchi, H Koga, K Sasatomi, K Tanikawa, M Sata : Endotoxin increases paracellular permeability of isolated rat hepatocyte couplets. *Hepatology Research* 20: 144-154, 2001

7) T Ide, R Kumashiro, T Hirno, S Murashima, K Ogata, Y Koga, M Sata : Transcription-mediated amplification is more useful in the follow-up of patients with chronic hepatitis B treated with lamivudine. *Hepatology Research* 21: 76-84, 2001

8) M Sata, Y Nagao : Hepatitis virus and extrahepatic manifestations - skin, mucosa, muscle, and hematopoietic organs -. *Internal Medicine* 40: 185-189, 2001

9) T Ueno, O Hashimoto, R Kimura, T Torimura, T Kawaguchi, T Nakamura, R Sakata, H Koga, M Sata : Relation of type II transforming growth factor- β receptor to hepatic fibrosis and hepatocellular carcinoma . *International Journal of Oncology* 18: 49-55, 2001

10) T Oono, Y Fukui, S Masuko, O Hashimoto, T Ueno, T Santui, A Inayoshi, M Noda, M Sata, T Sasazuki : Organ-specific autoimmunity in mice whose T cell repertoire is shaped by a single antigenic peptide. *Journal of Clinical Investigation* 108: 1589-1596, 2001

11) S Kobayashi, T Ide, M Sata : Detection of YMDD motif mutations in some lamivudine-untreated asymptomatic hepatitis B virus carriers. *Journal of Hepatology* 34: 584-586, 2001

12) M Sakamoto, T Ueno, T Nakamura, O Hashimoto, R Sakata, M Kin, R Ogata, T Kawaguchi, T Torimura, M Sata : Estrogen upregulates nitric oxide synthase expression in cultured rat hepatic sinusoidal endothelial cells. *Journal of Hepatology* 34: 858-864, 2001

13) E Orito, T Ichida, H Sakugawa, M Sata, N Horiike, K Hirno, K Okita, T Okanoue, S Iino, E Tanaka, K Suzuki, H Watanabe, S Hige, M Mizokami : Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34:590-594, 2001

14) Torimura T, Ueno T, Kin M, Harada R, Nakamura T, Sakamoto M, Kumashiro R, Yano H, Kojiro M, Sata M : Laminin deposition to type IV collagen enhances haptotaxis, and adhesion of hepatoma cells through β 1-integrins. *J. Hepatol.* 35:245-253, 2001

15) Yutani S, Shichijo S, Inoue Y, Kawagoe N, Okuda K, Kurohiji T, Tanaka M, Sata M, Itoh K : Expression of the SART1 tumor-rejection antigen in hepatocellular carcinomas. *Oncology Rep.* 8:369-372, 2001

16) Ando E, Tanaka M, Yamashita F, Kuromatsu R, Shimauchi Y, Fukunori K, Yutani S, Sumie S, Okuda K, Kumashiro R, Sata M : Hepatic arterial infusion chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma. *Res. Adv. in Cancer* 1:129-137, 2001

17) Kawaguchi T, Sata M, Ono N, Sakisaka S, Koga H, Ijuin H, Mitsuyama K, Ueno T, Kage M, Tanikawa K : Budd-Chiari syndrome complicated by hepatocellular carcinoma with no evidence of hepatitis virus infection. *The Schering-plough J. Hepatitis* 3:13-14, 2001

18) Nagao Y, Sata M, Noguchi S, Tajiri N, Ono C, Fukuda T, Kameyama T, Ueno T : Various extrahepatic manifestations caused by hepatitis C virus infections. *The Schering-plough J. Hepatitis* 3:15-16, 2001

19) Taniguchi E, Sakisaka S, Matsuo K, Tanikawa K, Sata M : Expression and role of vascular endothelial growth factor in liver regeneration after partial hepatectomy in rats. *J. Histochem. Cytochem.* 49:121-129, 2001

赤羽

1) Tsuda F, Takahashi M, Nishizawa T, Akahane Y, Konishi K, Yoshizawa H, Okamoto H : IgM-class antibodies to TT virus (TTV) in

patients with acute TTV infection. *Hepatol Res* 19: 1-11, 2001

2) Okada S, Kojima Y, Morozumi A, Ainota T, Miyazaki Y, Akahane Y: Multiple hepatic peribiliary cysts discovered incidentally at a medical examination. *J Gastroenterol Hepatol* 16: 1167-1169, 2001

西口

1) S. Kubo, S. Nishiguchi, K. Hirohashi, H. Tanaka, T. Shuto, H. Kinoshita, T. Kuroki: Reactivation of viral replication after liver resection in patients infected with hepatitis B virus. *Annal Surgery* 2001; 233: 139-145.

2) D. Habu, S. Shiomi, C. Lee, H. Kadoya, H. Morikawa, M. Enomoto, A. Tamori, H. Sakaguchi, S. Nishiguchi, S. Seki, T. Kuroki: Trends in causes and outcome of liver cirrhosis diagnosed by laparoscopy in Osaka, Japan during the past 3 decades. *Dig Endoscopy* 2001; 13: 13-16.

3) S. Seki, H. Sakaguchi, H. Kadoya, H. Morikawa, T. Kitada, D. Habu, A. Tamori, S. Nishiguchi, S. Shiomi: Laparoscopic wedge biopsy of the liver with use of an ultrasonically-activated scalpel. *Dig Endoscopy* 2001; 13: 17-20.

4) S. Nishiguchi, S. Shiomi, S. Nakatani, T. Takeda, K. Fukuda, A. Tamori, D. Habu, T. Tanaka: Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 2001; 357: 196-197.

5) S. Kubo, S. Nishiguchi, K. Hirohashi, H. Tanaka, T. Shuto, S. Takemura, T. Yamamoto, T. Ikebe, K. Wakasa, S. Shiomi, H. Kinoshita: Influence of previous interferon therapy on recurrence after resection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Jpn. J. Cancer Res.* 2001; 92: 59-66.

6) S. Kubo, K. Hirohashi, H. Tanaka, T. Tsukamoto, T. Shuto, I. Higaki, S. Takemura, T. Yamamoto, S. Nishiguchi, H. Kinoshita: Virologic and biochemical changes and prognosis after liver resection for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Dig. Surgery* 2001; 18: 26-33.

7) K. Fukuda, K. Tsuchihara, M. Hijikata, S. Nishiguchi, T. Kuroki, K. Shimotohno: Hepatitis C virus core protein enhances the activation of the transcription factor Elk1 in the response to mitogenic stimuli. *Hepatology* 2001; 33: 159-165.

8) S. Nishiguchi, T. Ueda, M. Enomoto, M. Tanaka, N. Tsumi, K. Fukuda, A. Tamori, D. Habu, T. Takeda, S. Otani, S. Shiomi: Methods to detect substitutions in the interferon-sensitivity-determining region of hepatitis C virus 1b for prediction of response to interferon therapy. *Hepatology* 2001; 33: 241-247.

9) N. Koh, T. Fujimori, S. Nishiguchi, A. Tamori, S. Shiomi, T. Nakatani, K. Sugimura, T. Kishimoto, S. Kinoshita, T. Kuroki, Y. Nabeshima: Severely reduced production of Klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res. Commun* 2001; 280: 1015-1020.

10) M. Nishikawa, S. Nishiguchi, S. Shiomi, A. Tamori, N. Koh, T. Takeda, S. Kubo, K. Hirohashi, H. Kinoshita, E. Sato, M. Inoue: Somatic mutation of mitochondrial DNA in cancerous and noncancerous liver tissue in individuals with hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 1843-1845.

11) Y. Moriyama, S. Nishiguchi, A. Tamori, N. Koh, Y. Yano, S. Kubo, K. Hirohashi, S. Otani: Tumor-suppressor effect of interferon regulatory factor-1 in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1293-1298.

12) K. Kubo, S. Nishiguchi, K. Hirohashi, H. Tanaka, T. Shuto, O. Yamazaki, S. Shiomi, A. Tamori, T. Kuroki, H. Kinoshita: Effects of long-term postoperative interferon- α on intrahepatic recurrence after resection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Annals Internal Med* 2001; 134: 963-967.

13) S. Fujimoto, Y. Yano, S. Nishiguchi, N. Koh, A. Tamori, S. Shiomi, T. Kuroki, S. Ohtani: Identification of genes differentially expressed by putrescine in HepG2 hepatoblastoma cells. *Hepatol Res* 2001; 20: 207-215.

14) S. Shiomi, S. Nishiguchi, H. Ishizu, Y. Iwata, N. Sasaki, A. Tamori, D. Habu, T. Tanaka, S. Kubo, H. Ochi: Usefulness of positron emission tomography with fluorine-18-fluorodeoxyglucose for predicting outcome in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 1877-1880.

15) S. Nishiguchi, S. Shiomi, H. Kurooka, A. Tamori, D. Habu, T. Takeda, H. Ochi: Randomized pilot trial of vitamin K2 for bone loss in patients with primary biliary cirrhosis. *J. Hepatol* 2001; 35: 543-545.

- 16) S. Shiomi, H. Ishizu, E. Kawamura, Y. Iwata, A. Tamori, D. Habu, T. Takeda, S. Nishiguchi, J. Kawabe, H. Ochi : Effect of Nizatidine on gastric emptying in patients with cirrhosis of the liver. *Jpn. Phar. Ther.* 2001; 29; 762-765.
- 17) T. Tanaka, Y. Hirota, M. Kuriyama, S. Nishiguchi, S. Otani : Time course of change in glutathione S-transferase positive foci and ornithine decarboxylase activity after cessation of long-term alcohol administration in rats. *Asia Pac J Cancer Prev* 2001; 2; 131-134.
- 18) S. Kubo, A. Tamori, K. Ohba, T. Shuto, T. Yamamoto, H. Tanaka, S. Nishiguchi, K. Wakasa, K. Hirohashi, H. Kinoshita : Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis virus-associated hepatocellular carcinoma without hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci* 2001; 46; 2408-2414.
- 19) S. Nishiguchi, S. Shiomi, S. Ofuji, H. Ishizu, Y. Iwata, N. Sasaki, S. Minamitani, H. Ochi. M : Leiomyosarcoma of the liver detected by high F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomographic uptake. *Clin. Nucl. Med.* 2001; 26; 798-799.
- 20) H. Morikawa, S. Nishiguchi, S. Shiomi, K. Kaneda, M. Tanigawa : Expression of connective tissue growth factor in patients with IPH. *Cell of the Hepatic Sinusoid* 2001; 8; 229-230.

沖田

- 1) Korenaga M, Hino K, Katoh Y, Yamaguchi Y, Okuda M, Yoshioka K, Okita K : A possible role of hypervariable region 1 quasispecies in escape of hepatitis C virus particles from neutralization. *J Viral Hepat* 2001; 8: 331-340.
- 2) Hino K, Katoh Y, Vardas E, Sim J, Okita K, Carman WF : The effect of introduction of universal childhood hepatitis B immunization in South Africa on the prevalence of serologically negative hepatitis B virus infection and the selection of immune escape variants. *Vaccine* 2001; 19: 3912-3918.
- 3) Shiraishi K, Okita K, Sasaki K, et al : A comparison of DNA copy number changes detected by comparative genomic hybridization in malignancies of the liver, biliary tract and pancreas. *Oncology* 2001; 60: 151-161.
- 4) Shiraishi K, Okita K, Harada T, Kusano N, Furui T, Kondoh S, Oga A, Kawauchi S, Fukumoto Y, Sasaki K : Comparative genomic hybridization analysis of genetic aberrations associated with development and progression of biliary tract carcinomas. *Cancer* 2001; 91: 570-577.
- 5) Yamasaki T, Korokawa F, Shirahashi H, Kusano N, Hironaka K, Okita K : Percutaneous radiofrequency ablation therapy with combined angiography and computed tomography assistance for patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 1342-1348.
- 6) Suzuki C, Kayano K, Uchida K, Sakaida I, Okita K : Characteristics of the cell proliferation profile of activated rat hepatic stellate cells in vitro in contrast to their fibrogenesis activity. *J Gastroenterol* 2001; 36: 322-329.
- 7) Takeo S, Arai H, Kusano N, Harada T, Furuya T, Kawauchi S, Oga A, Hirano T, Yoshida T, Okita K, Sasaki K : Examination of oncogene amplification by genomic DNA microarray in hepatocellular carcinomas: comparison with comparative genomic hybridization analysis. *Cancer Genet Cytogen* 2001; 130: 127-132.
- 8) Maruyama S, Nagasue N, Kumar Khar D, Yamanoi A, El-Assal ON, Satoh K, Okita K : Preventive effect of FK143, a 5 α -reductase inhibitor, on chemical hepatocarcinogenesis in rats. *Clin. Can. Res.* 7: 2096-2104, 2001
- 9) E Orito, T Ichida, H Sakugawa, M Sata, N Horiike, K Hino, K Okita, T Okanoue, S Iino, E Tanaka, K Suzuki, H Watanabe, S Hige, M Mizokami : Geographic distribution of hepatitis B virus (HBV) genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34: 590-594, 2001

岡上

- 1) Nakagawa Y, Yamane Y, Okanoue T, Tsukita Sho, Tsukita Sac : Outer dense fiber 2 is a widespread centrosome scaffold component preferentially associated with mother centrioles: its identification from isolated centrosomes. *Molec. Biol. Cell* 12: 1687-1697, 2001
- 2) Orito E, Ichida T, Sakugawa H, Sata M, Horiike N, Hino K, Okita K, Okanoue T, Iino S, Tanaka E, Suzuki K, Watanabe H, Hige S, Mizokami M : Geographic distribution of hepatitis B virus genotype in patients with chronic HBV infection in Japan. *Hepatology* 34:

590-594, 2001

- 3) Sumida Y, Nakashima T, Yoh T, Kakisaka Y, Nakajima Y, Ishikawa H, Mitsuyoshi H, Okanoue T, Nakamura H, Yodoi J : Serum thioredoxin elucidates the significance of serum ferritin as a marker of oxidative stress in chronic liver diseases. *Liver* 21:295-299, 2001
- 4) Okanoue T, Daimon Y, Kirishima T, Ohnishi N, Nakamura H, Nagao Y, Minami M, Itoh Y : Retreatment with interferon- α at dosages or period increased by 1.3 times is effective for treatment for transient responders and non-responders in chronic hepatitis C patients. *Hepatol. Res.* 20:348-358, 2001
- 5) Nishioji K, Okanoue T, Itoh Y, Narumi S, Sakamoto M, Nakamura H, Morita A, Kashima K : Increase of chemokine interferon-inducible protein-10 (IP-10) in the serum of patients with autoimmune liver diseases and increase of its mRNA expression in hepatocytes. *Clin. Exp. Imm.* 123:271-279, 2001
- 6) Itoh Y, Morita A, Nishioji K, Narumi S, Toyama T, Daimon Y, Nakamura H, Kirishima T, Okanoue T : Clinical significance of elevated serum interferon-inducible protein-10 levels in hepatitis C virus carriers with persistently normal serum transaminase levels. *J. Viral Hepatitis* 8:341-348, 2001
- 7) Okanoue T, Murakami Y, Minami M, Itoh Y : Factors related to the development of hepatocellular carcinoma from chronic liver diseases type B and C. *Liver Cirrhosis* (Ed., K. Okita, Springer-Verlag Tokyo 2001):65-72, 2001
- 8) Itoh Y, Morita A, Nishioji K, Fujii H, Nakamura H, Kirishima T, Toyama T, Yamauchi N, Nagao Y, Narumi S, Okanoue T : Time course profile and cell-type-specific production of monokine induced by interferon- γ in concanavalin a-induced hepatic injury in mice: comparative study with interferon-inducible protein-10. *Scand. J. Gastroenterol.* 36:1344-1351, 2001
- 9) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Michitaka K, Ishikawa K, Ichida T, Okanoue T, Yotsuyanagi H, Iino S : A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B virus of genotypes B and C. *Hepatology* 33(1): 218-223, 2001.
- 10) Gozuacik D, Murakami Y, Saigo K, Chami M, Mugnier C, Lagorce D, Okanoue T, Urashima T, Brechot C, Paterlini-Brechot P : Identification of human cancer-related genes by naturally occurring hepatitis B virus DNA tagging. *Oncogene* 20:6233-6240, 2001

笠原

- 1) Ito A., Kanto T., Kuzushita N., Tatsumi T., Sugimoto Y., Miyagi T., Takehara T., Katayama K., Mochizuki K., Hiramatsu N., Kasahara A., Yoshiya I., Sasaki Y., Hori M., Hayashi N : Generation of hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocytes from healthy individuals with peptide-pulsed dendritic cells. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 16: 309-316, 2001
- 2) Katayama K., Kasahara A., Sasaki Y., Kashiwagi T., Naito M., Masuzawa M., Katoh M., Yoshihara H., Mukuda T., Hijioka T., Hori M., Hayashi N : Immunological response to interferon- γ priming prior to interferon- α in refractory chronic hepatitis C in relation to viral clearance. *J Viral Hepatitis* 8: 180-185, 2001
- 3) Ohkawa K., Hiramatsu N., Mochizuki K., Mita E., Yoshihara H., Kato M., Masuzawa M., Kasahara A., Sasaki Y., Hori M., Hayashi N : Significance of serum soluble Fas antigen level in chronic hepatitis C patients treated with interferon: Relationship to the therapeutic response. *J Gastroenterol Hepatol* 16: 1009-1014, 2001
- 4) Tatsumi T., Takehara T., Kanto T., Miyagi T., Kuzushita N., Sugimoto Y., Jinushi M., Kasahara A., Sasaki Y., Hori M., Hyashi N : Administration of interleukin-12 enhances the therapeutic efficacy of dendritic cell-based tumor vaccines in mouse hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 61: 7563-7567, 2001

折戸

- 1) Orito E, Mizokami M, Sakugawa H, Michitaka K, Ishikawa K, Ichida T, Okanoue T, Yotsuyanagi H, Iino S : A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B virus of genotypes B and C. *Hepatology* 33(1): 218-223, 2001.
- 2) Nakano T, Lu L, Hu X, Mizokami M, Orito E, Shapiro CN, Hadler SC, Robertson BH : Characterization of Hepatitis B Virus Genotypes Among Yuca Indians in Venezuela. *J Gen Virol* 82: 359-365, 2001.
- 3) Lu L, Nakano T, Orito E, Mizokami M, Robertson BH : Evaluation of HCV mutation in a chronically infected chimpanzee: comparison