

20021376

厚生労働科学研究研究費補助金

肝炎等克服緊急対策研究事業（肝炎分野）
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 門田 守人

平成 15 (2003) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書

進行肝がんに対する集学的治療に関する研究	1
門田 守人	

II. 分担研究報告

1. 進行肝がんに対するインターフェロン併用肝動注化学療法	7
金子 周一	
2. 門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌の治療戦略の確立	9
山岡 義生	
3. (5-Fu+Interferon- α による肝癌細胞の増殖抑制作用に関する基礎的研究)	12
神代 正道	
4. シグナル伝達からみた作用機序に関する研究	14
小俣 政男	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)

進行肝がんに対する集学的治療に関する研究

総括研究報告書

進行肝がんに対する集学的治療に関する研究

主任研究者 門田守人 大阪大学大学院医学系研究科病態制御外科 教授

研究要旨：国民病と言われているウイルス性肝炎の終末像である肝細胞癌は極めて予後不良である。特に、脈管侵襲、多発病巣、遠隔転移などをともなう高度進行肝細胞癌は治療の対象外とされ、標準的な治療が全く無く、また新しい治療の開発も積極的にはなされていないのが現状である。このような既存の治療が奏功しない、高度進行肝癌に対する新しい治療法の開発は、肝細胞癌全体の予後向上に寄与することは間違いない。

われわれは、数年前より高度進行肝細胞癌(Vp3以上)に対しインターフェロン- α (IFN- α)併用5-fluorouracil(5FU) 動注化学療法を施行し、その有効性(約6割の奏効率)について報告してきた。今後この治療を進展させるためには、適切な評価法に基づく本療法の有効性の裏付けが必要であるとともに、それに併行して本療法の作用機序の詳細について解明することが重要課題となる。

本年度の分担研究者らの報告でも、①進行肝細胞癌は仮に切除可能であっても残肝再発予防のための何らかの補助療法を含めた集学的治療が不可欠であること、②肝細胞癌に対してはIFNが何らかの抗腫瘍活性を持ち、さらにその腫瘍効果はCDDPではなく、5FUにより増強される可能性があることなど、われわれが報告してきた臨床成績を裏付ける知見を得ている。

そこで、本研究ではまず、進行肝細胞癌に対するIFN併用化学療法の有効性について、Randomized Controlled Trial (以下RCT)を行いその治療効果について検討することとした。そして、その一方で本療法の作用機序を、分子生物学的手法や免疫組織学的手法などの方法を用いて、①IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構、②血管新生因子との関係、③IFN- α の免疫学的機序、特にT細胞、NK細胞における各種Death Ligandとそのレセプターの関与、について検討した。

臨床研究については、分担研究施設と十分に協議し、対象となる進行肝細胞癌の設定、動注化学療法の手技等を含めたIFN併用化学療法の方法論の確認などをおこない、各施設での倫理委員会への申請・承認など現在進行中である。

基礎的検討については、①IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構：本併用療法時の細胞周期関連分子の遺伝子・蛋白発現に関して、IFN- α →IFN- α receptor→JAK kinase→STATなどといった細胞内シグナル伝達分子の発現が本療法の効果に関与するかどうかをWestern blot法にて検討したところ、STAT、Bcl-XI等が関与していることが明らかになった。②抗血管新生作用関連分子：nude mouse ヒト腫瘍移植モデルを使用し、固形癌での血管新生について、蛋白レベルでの発現評価(免疫組織染色)を施行したところ、IFN/5FU併用の方がIFNや5FUの単剤投与より、腫瘍内のMVD (microvessel-density)を有意に減少することが分かった。③免疫作用関連分子：本併用療法時のTリンパ球上のTRAIL発現や腫瘍細胞上のTRAIL receptor (TRAIL-R)の発現を、mRNAレベル(RT-PCR法)や蛋白レベル(Flowcytometry法)で評価し、培養肝腫瘍細胞傷害能を検討した。その結果、5FUやIFNはTRAIL-RやTRAILの発現を増強し、さらにIFN/5FU併用の方がIFNや5FUの単剤投与より、培養肝腫瘍細胞傷害能を有意に増強させることが明らかになった。

以上の結果より、本研究によって“治療抵抗性”の高度進行肝細胞癌に対する新しい治療法が開発が示される可能性が高い。現時点においては、基礎的検討による有用性についてのみ証明されたところではあるが、臨床試験の結果によっては、肝癌治療の“breakthrough”となることが十分に期待される。最近の肝炎ウイルス感染の世界的な広がりを考えると、本研究の成果は本邦のみならず世界的にも極めて重要なものとなると期待される。

A. 研究目的

本邦のウイルス肝炎（B型、C型肝炎）はその罹患者数は数百万人とも予測され、国民病と言われている。一方、肝細胞癌はウイルス肝炎より発生し、その終末像と言える。本邦における肝細胞癌の年間死亡者数は約5万人で、癌死亡の第3位である。また、就労男性に好発し、社会的にも極めて影響の大きい癌の一つである。ウイルス肝炎罹患者は全世界的に認められ、増加傾向にある。特に、従来少ないとされていた米国においてもC型肝炎罹患者数の増加は著しく、約4百万人とも予測されている。従って、近い将来において急増するであろう、肝細胞癌の克服は本邦のみならず、世界的にみても重要課題と言える。

肝細胞癌に対する治療は手術の他、肝動脈塞栓療法やアルコール注入、熱凝固療法など、数多く開発されてきたが、その多くは比較的早期の癌のみが対象となる治療法であった。このような初期の段階に対する治療のみでは、仮に切除が可能であった症例でもその5年生存率は約50%、無再発生存率ともなれば25%前後と、その根治性に関してははなはだ不十分である。さらなる予後の向上には、既存の治療が効果を示さない、所謂、“治療抵抗性”高度進行肝細胞癌に対して、十分な注意が払われなければならない。

このような状況下で、我々は、予後が数ヶ月と思われる門脈腫内瘍栓（Vp3以上）合併肝細胞癌などの高度進行肝癌に対してインターフェロン・α（IFN・α）の皮下注と5-fluorouracil(5FU)の動注化学療法をパイロットスタディーとして施行し、その有効性（約6割の奏効率）を報告した。現在までの検討から、他の消化器癌とは異なり、肝細胞癌では特異的にIFN・αの効果が認められ、5-FUと併用することにより、さらなる予後の改善が期待できるのではないかと考えられる。

分担研究者よりの報告においても、①進行肝細胞癌は仮に切除可能であっても残肝再発予防のための何らかの補助療法を含めた集学的治療が不可欠であること、②肝細胞癌に対してはIFNが何らかの抗腫瘍活性を持ち、さらにその腫瘍効果はCDDPではなく、5FUにより増強される可能性があることなど、われわれの臨床成績を裏付けるような知見を得ている。

そこで本研究においては、まず、肝細胞癌治療の経験豊富な施設を中心に、IFN併用の有無によるRCTを計画し、その有効性を確認する。と同時に本療法の作用機序

に関する基礎的検討を施行する。そして、その機序解明に基づき、分子標的治療、免疫治療、遺伝子治療を視野に入れた治療抵抗性肝癌に対する新しい治療法へと展開する。このことは今後の肝癌治療の“breakthrough”となる可能性が極めて高い。

B. 研究方法

本年度は、まず治療抵抗性の進行肝細胞癌（IM3, Vp0, 1, 2）の症例に対して、5-FUによる動注化学療法を行い、IFNの有無によるRCTを施行し、IFN併用化学療法の有効性について確認することを開始した。

さらに基礎的研究として、本療法の作用機序を分子生物学的手法を用いて、主としてIFN・αレセプター及びそのシグナル伝達機構、抗血管新生作用関連分子に関する検討、免疫学的機序としてTRAILおよび同レセプター発現の基礎的臨床的検討の3点より検討した。

臨床的検討

<高度進行肝細胞癌におけるIFN・α併用化学療法のRCT>

十分なインフォームドコンセントのもと、積極的に治療抵抗性の進行肝細胞癌（IM3, Vp0, 1, 2）に対して、IFN・αの皮下注の有無による5-FUの動注化学療法の有効性の確認の意味で、RCTを施行する。

対象症例の選択基準：

- (1)進行肝細胞癌（IM3, Vp0, 1, 2）
- (2)年齢は20歳以上、70歳未満
- (3)骨髄、肝、腎、心肺機能が十分に保たれ、全身状態（Performance Status：PS）が0、1
（白血球 $\leq 4,000/\text{mm}^3$ 、血小板 $\geq 80,000/\text{mm}^3$ 、血清T.Bil $\leq 1.5\text{mg/dl}$ 、血清AST $< 100\text{IU/l}$ 、血清ALT $< 100\text{IU/l}$ 、血清Crnn $\leq 1.5\text{mg/dl}$ ）

治療方法：

4週間を1クールとする。全症例において、2週間（第1、2週）、5FU $300\text{mg/m}^2/\text{日}\cdot\text{週}$ 5日間を24時間かけて持続動注する。IFN・α併用群においては、4週間の間、IFN・αを週3回皮下注する。非併用群においては、投与しない。

観察項目：

2クール施行前後における、抗腫瘍効果：

画像診断として、造影CT（multi-detector CT）を、腫瘍マーカーとしてAFP、PIVKA-IIを測定し抗腫瘍効果について検

討する。

いずれの症例も、治療効果がないと判定した時点で、他治療への変更は可能である。

基礎的検討

＜IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構に対する検討＞

本併用療法時の細胞周期関連分子の遺伝子・蛋白発現をさらに詳細に検討した上で、IFN- α \rightarrow IFN- α receptor \rightarrow JAK kinase \rightarrow STAT といった細胞内シグナル伝達分子の発現の多寡等が本療法の効果に関与するかどうかを Western blot 法にて検討した。

＜抗血管新生作用関連分子に関する検討＞

nude mouse ヒト腫瘍移植モデルを使用し、固形癌での血管新生の評価及び各種の血管新生因子(angiopoietin など)の mRNA レベル(定量的 RT-PCR 法)及び蛋白レベルでの発現量の評価(免疫組織染色)を行った。＜免疫学的機序として TRAIL および同レセプター発現の基礎的臨床的検討＞

本併用療法時の T リンパ球上の TRAIL の発現や腫瘍細胞上の TRAIL receptor (TRAIL-R) の変化について、mRNA レベル (RT-PCR 法)、蛋白レベル (Flowcytometry 法)で評価した。さらにその抗腫瘍活性について、培養肝癌細胞傷害能を Killing-Assay をもちいて検討した。

C. 研究結果

臨床的検討

＜高度進行肝細胞癌における IFN- α 併用化学療法の RCT＞

治療抵抗性の進行肝細胞癌 (IM3, Vp0, 1, 2) の症例において、IFN 併用化学療法の有効性について確認するための臨床第 II 相試験としての RCT (多施設共同臨床試験) を、上記のプロトコールに従い現在施行中である。

基礎的研究

＜IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構に対する検討＞

IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構については、STAT、Bel-XI 等が関与していることが明らかになった。

＜抗血管新生作用関連分子に関する検討＞

nude mouse ヒト腫瘍移植モデルにおいては、5FU/IFN 併用により、5FU や IFN の単剤投与より、腫瘍内の MVD

(microvessel-density) を有意に減少させることが分かった。各種の血管新生因子 (angiopoietin など) の mRNA レベル(定量的 RT-PCR 法)及び蛋白レベルでの発現評

価(免疫組織染色)については現在検討中である。

＜免疫学的機序として TRAIL および同レセプター発現の基礎的検討＞

5FU は腫瘍細胞上の TRAIL-R の発現を、IFN は、T リンパ球上の TRAIL 発現を増強させることが mRNA レベル(RT-PCR 法)や蛋白レベル(Flowcytometry 法)で証明された。さらに、5FU/IFN 併用使用は、5FU や IFN の単剤投与と比較して、有意に培養肝癌細胞傷害能を増強させることが明らかになった。

D. 考察

既存の治療法により治療効果の認められない進行肝細胞癌に対する 5FU/IFN 併用化学療法の有用性については、われわれや分担研究者により、パイロットスタディーとしてその有用性が報告されてきた。さらに、本研究による多施設第 II 相臨床試験により、その有用性が証明される可能性は大いにある。

その根拠の一つとして、基礎的解析ではあるが、IFN- α レセプター及びそのシグナル伝達機構に対する検討、抗血管新生作用関連分子に関する検討、免疫学的機序として TRAIL および同レセプター発現の基礎的検討の 3 つの異なる検討により、それぞれ 5FU/IFN 併用化学療法の有用性を支持する結果が導かれた。このことは、分担研究者らの基礎的検討により得られた結果とも合致し本療法の可能性について十分に指示される結果であると思われる。

これらの結果をふまえて、臨床試験を施行しその結果を得るのみならず、さらなる作用機序の解明を行うことで、本療法の可能性や有用性を証明するとともに、さらに発展させていくことが可能であると考えられる。

E. 結論

以上の結果より、5FU/IFN 併用化学療法が本研究によって“治療抵抗性”の高度進行肝細胞癌に対する新しい治療法として証明される可能性はきわめて高い。現時点においては、基礎的検討においてのみ証明されたところではあるが、臨床試験の結果によっては、肝癌治療の“breakthrough”となることが十分に期待される。

F. 健康危険情報

現時点においては特にないが、本年度より開始した多施設共同第 II 相比較臨床試験により、肝動注もしくは IFN 皮下注による有害事象が明らかになる可能性はある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakon M., Nagano H., Dono K., Nakamori S., Umeshita K., Yamada A., Kawata S., Imai Y., Iijima S., Monden M: Combined intraarterial 5-Fluorouracil and Subcutaneous interferon- α therapy advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* 94(2):435-442, 2002
- 2) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 特集/肝疾患におけるインターフェロン治療の新たな展開. 肝細胞癌進行癌の治療(化学療法との併用) 肝胆膵 45(6):1053-1061, 2002
- 3) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: インターフェロン- α 併用動注化学療法による肝細胞癌の治療. 医学と薬学 47:77-80, 2002
- 4) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 当科における肝細胞癌の診療方針. 肝胆膵 43(11):524-526, 2002
- 5) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 肝細胞癌に対する新治療法の開発研究. 日本臨床 60(11):2237-2244, 2002
- 6) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌に対する動注化学療法. *Practical Oncology* 15(4):2002

2. 学会発表

口頭発表

- 1) Yamamoto T., Nagano H., Sakon M., Kondo M., Arai I., Morimoto O., Bazarragcha D., Ota H., Nakamura M., Hiraoka N., Wada H., Dono K., Dono K., Nakamori S., Yagita H., Monden M.: Involvement of TRAIL/TRAIL-receptor pathway in a combination therapy with fluorouracil and interferon-alpha for advanced hepatocellular carcinoma. twelfth International Symposium of the Hiroshima Cancer Seminar .2002. 11.10-11.10. (広島市)
- 2) 新井 勲, 永野浩昭, 平岡伸章, 山本浩文, 近藤 礎, 森本修邦, 山本為義, 太田英夫, 梅下浩司, 堂野恵三, 中森正二, 左近賢人, 門田守人: 皮下腫瘍モデルを用いた肝細胞癌に対する IFN/5FU 併用化学療法の抗腫瘍効果の検討. 第 102 回日本外科学会定期学術集会 2002. 4. 11-4. 13. (京都市)
- 3) Arai I., Nagano H., Sakon M., Yamamoto H., Hiraoka N., Eguchi H., Miyamoto A., Kondo M., Morimoto O., Umeshita K., dono K., Wakasa K., Nakamori S., Monden M: Expression of MT-MMPs and MMP-2 in hepatocellular carcinomas. 5th world congress of the international Hepato-Pancreato-Biliary association 2002. 4.25-4.29. (Tokyo)
- 4) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 近藤礎, 新井 勲, 森本修邦, 太田英夫, 平岡伸章, 和田 尚, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 高度進行肝細胞癌に対する IFN- α /5-FU 併用療法における TRAIL の関与の検討. 第 102 回日本外科学会定期学術集会 2002. 4. 11-4. 13. (京都市)
- 5) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 近藤礎, 新井 勲, 森本修邦, 太田英夫, 平岡伸章, 和田 尚, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 八木田秀雄, 門田守人: 難治性肝細胞癌に対する IFN- α /5-FU 併用療法における TRAIL の関与の検討. 第 23 回癌免疫外科研究会 2002. 6. 7-6. 8. (東京都)
- 6) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 新井勲, 森本修邦, 太田英夫, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 肝細胞癌(vp4)に対し、IFN/5FU 療法後肝切除を施行し、腫瘍マーカーの陰転化を認めた一例. 第 57 回日本消化器外科学会総会 2002. 7. 28-7. 30. (京都市)
- 7) 山本為義, 永野浩昭, 左近賢人, 新井勲, 森本修邦, 太田英夫, 和田 尚, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 肝細胞癌に対する IFN- α /5-FU

- 併用療法における TRAIL の関与の検討.
第 6 回日本肝臓学会大会 2002.
10. 24-10. 25. (横浜市)
- 8) Damdinsuren B., Nagano H., Kondo M., Arai I., Morimoto O., Yamamoto T., Ota H., Kashiwazaki H., Marubashi S., Umeshita K., Dono K., Nakamori S., Sakon M., Monden M.: Comparison study of antiproliferative effects of IFN- α and - β in combination with anticancer drugs department of surgery and clinical oncology graduate school of medicine, Osaka University. 第 38 回日本肝癌研究会 2002. 5. 23-5. 24. (Tokyo)
- 9) Damdinsuren B., Nagano H., Arai I., Yamamoto T., Ota H., Umeshita K., Nakamori S., Sakon M., Monden M.: Effects of IFN- α and - β in combination with anti-cancer drugs in HCC cell lines. 第 57 回日本消化器外科学会総会 2002. 7. 28-7. 30. (京都市)
- 10) Damdinsuren B., 永野浩昭, 新井 勲, 森本修邦, 山本為義, 太田英夫, 梅下浩司, 堂野恵三, 中森正二, 左近賢人, 門田守人: antiproliferative effects of IFN α and β in combination with anti-cancer drugs in HCC cell lines . 第 40 回日本癌治療学会総会 2002. 10. 16-10. 18. (東京都)
- 11) 太田英夫, 永野浩昭, 左近賢人, 近藤 礎, 新井 勲, 森本修邦, 山本為義, Bazarragchaa D., 中村将人, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: IFN 併用化学療法を念頭に置いた IFN-R 発現と外科的治療. 第 6 回 IFN レセプター研究会 2002. 11. 8-11. 8. (長崎県大村市)
- 12) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 高度進行肝細胞に対する術後 interferon α (IFN) 併用化学療法の有用性. 第 76 回日本消化器病学会近畿支部例会 2002. 2. 16. (大阪市)
- 13) 永野浩昭, 左近賢人, 近藤 礎, 新井 勲, 森本修邦, 山本為義, 太田英夫, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 門脈内腫瘍栓をともなう進行肝細胞癌に対する術後 interferon α (IFN) 併用化学療法の有用性. 第 102 回日本外科学会定期学術集会 2002. 4. 11-4. 13. (京都市)
- 14) 永野浩昭, 左近賢人, 近藤 礎, 新井 勲, 森本修邦, 山本為義, 太田英夫, 柏崎正樹, 丸橋 繁, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 門脈内腫瘍栓をともなう進行肝細胞癌に対する肝切除の適応拡大. 第 38 回日本肝癌研究会 2002. 5. 23-5. 24. (東京都)
- 15) Nagano H., Sakon M., Sekimoto M., Takiguchi S., Umeshita K., Dono K., Nakamori S., Monden M.: The hepatic resection by the small incision (2 inches) and laparotomy under the laparoscopic support for malignant tumor. 5th world congress of the international Hepato-Pancreato-Biliary association 2002. 4. 25-4. 29. (Tokyo)
- 16) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: 当科における肝細胞癌の治療方針. 第 38 回日本肝臓学会総会 2002. 6. 13-6. 14. (大阪市)
- 17) 永野浩昭: 進行肝癌に対するインターフェロン併用化学療法の効果・適応・限界. 肝癌再発予防研究会. 第 5 回学術講演会 2002. 5. 10. (豊中市)
- 18) 永野浩昭, 左近賢人, 堂野恵三, 梅下浩司, 中森正二, 門田守人: 肝細胞癌症例に対する治療戦略. 第 57 回日本消化器外科学会総会 2002. 7. 28-7. 30. (京都市)
- 19) 永野浩昭, 左近賢人, 門田守人: Interferon α (IFN) 併用化学療法を用いた進行肝細胞癌に対する外科治療. 第 77 回日本消化器病学会近畿支部例会 2002. 9. 7. (京都市)
- 20) 永野浩昭, 左近賢人, 近藤 礎, 新井 勲, 森本修邦, 山本為義, 太田英夫, 堂野恵三, 梅下浩司, 門田守人: 肝細胞癌に対する外科的治療戦略. 第 64 回日本臨床外科学会総会 2002. 11. 13-11. 15.

(東京都)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

進行肝がんに対するインターフェロン併用肝動注化学療法

分担研究者 金子周一 金沢大学大学院医学系研究科がん制御学 助教授

研究要旨：われわれは進行肝がんに対するインターフェロン併用多剤動注化学療法の成果を報告してきたが、今回シスプラチン肝動注化学療法に対するインターフェロン (IFN) 併用効果を検討するため無作為コントロール試験をした。症例 25 例を同意取得後封筒法にて無作為に CDDP 単独群 11 例、CDDP・IFN 併用群 14 例に振り分け、化学療法を施行し、奏効率、生存期間、副作用について検討しところ、CR は得られず、MR まで含めた奏効率は CDDP 単独群 27%、CDDP・IFN 併用群 30% で有意差は認めず (P=0.70)、生存期間についても有意差は認めなかった。CDDP による動注化学療法では奏効率は低く、IFN 併用による効果は認めなかった。脱落例・投与延期が約半数に認め、CDDP 投与量、他の抗がん剤使用を含めた検討が必要と考えられた。

A. 研究目的

進行肝がんに対するシスプラチン (CDDP) 肝動注化学療法におけるインターフェロン (IFN) 併用の効果は無作為コントロール試験にて明らかにする。

B. 研究方法

他の治療が無効と考えられる進行肝がん症例 25 例を同意取得後封筒法にて無作為に CDDP 単独群 11 例、CDDP・IFN 併用群 14 例に振り分け、化学療法を施行し、奏効率、生存期間、副作用について検討した。

C. 研究結果

1 クール以上可能であった症例は 21 例であり、CR は得られず、MR まで含めた奏効率は CDDP 単独群 27%、CDDP・IFN 併用群 30% で有意差は認めず (P=0.70) 生存期間についても有意差は認めなかった。

D. 考察

CDDP による動注化学療法では奏効率は低く、IFN 併用による効果は認めなかった。脱落例・投与延期が約半数に認め、CDDP 投与量を含めた検討が必要と考えられた。

E. 結論

CDDP 動注化学療法における IFN 併用の効果は乏しく、また CDDP 単独での抗腫瘍効果は低い。

F. 健康危険情報

進行肝がんに対する肝動注化学療法での CDDP 75mg/m² 投与は約半数に腎・骨髄毒性がみられ投与中止や延期を要した。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Tomoya Tsuchiyama, Shuichi Kaneko, Yasunari Nakamoto, Yoshio Sakai, Masao Honda, Naofumi Mukaida, and Kenichi Kobayashi. Enhanced anti-tumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma. Cancer Gene Therapy (in press).
- 2) Makoto Kurachi, Shin-ichi Hashimoto, Aya Obata, Shigenori Nagai, Tomoyuki Nagahata, Hedekuni Inadera, Hideko Sone, Chiharu Yohyama, Shuichi Kaneko, Ken-ichi Kobayashi, and Kouji Matsushima. Identification of

- 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin-responsive genes in mouse liver by serial analysis of gene expression. Biochemical and Biophysical Research Communications 292(2): 368-377, 2002.
- 3) Tomoya Tsuchiyama, Shuichi Terasaki, Shuichi Kaneko, Kyosuke Kaji, Kenichi Kobayashi, and Osamu Matsui. Tiny staining spots liver cirrhosis associated with HCV infection observed by computed tomographic hepatic arteriography: follow-up study. Journal of Gastroenterology 37(10): 807-814, 2002.
- 4) Yasunari Nakamoto, Shuichi Kaneko, Hong Fan, Takashi Momoi, Hiroko Tsutsui, Kenji Nakanishi, Kenichi Kobayashi, and Takashi Suda. Prevention of hepatocellular carcinoma development associated with chronic hepatitis by anti-fas ligand antibody therapy. Journal of Experimental Medicine 196(8): 1105-1111, 2002.
- 5) Kenkichi Masutomi, Shuichi Kaneko, Mami Yasukawa, Kuniaki Arai, Seishi Murakami, and Kenichi Kobayashi. Identification of serum anti-human telomerase reverse transcriptase (hTERT) auto-antibodies during progression to hepatocellular carcinoma. Oncogene 21(38): 5946-5950, 2002.
- 6) Keiji Minouchi, Shuichi Kaneko, and Kenichi Kobayashi. Mutation of p53 gene in regenerative nodules in cirrhotic liver. Journal of Hepatology 37(2): 231-239, 2002.
- 7) Kuniaki Arai, Kenkichi Masutomi, Shilagardy Khurts, Shuichi Kaneko, Kenichi Kobayashi, and Seishi Murakami. Two independent regions of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) are important for its oligomerization and telomerase activity. The Journal of Biological Chemistry 277(10): 8538-8544, 2002.

学会発表

- 1) 第 89 回日本消化器病学会総会パネルディスカッション (平成 15 年 4 月)

H. 知的財産権の出願・登録状況

- 予定なし
- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし。
- 3.その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌の治療戦略の確立

分担研究者 山岡義生 京都大学大学院医学系研究科器官外科学 教授

研究要旨：近年の肝細胞癌に対する内科的治療の進歩により、外科的治療の役割は進行肝細胞癌にシフトしてきている。肝切除の安全性の確立と共に、その適応は拡大され、特に従来予後不良であった門脈腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌に対して肝切除、腫瘍栓摘出を行った後、肝動脈注入化学療法を付加することにより生存期間の延長が期待される。今回門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌症例の当科における治療成績を検討した結果、非切除例に比べ切除例で良好な予後が得られた。門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌の治療戦略の確立のため surgery vs. surgery + 肝動注の第 III 相比較臨床試験を開始した。

A. 研究目的

大血管侵襲を伴う進行肝癌の予後は不良である。門脈腫瘍栓を伴う進行肝癌 (Vp3, Vp4) 症例の当科における治療成績を検討したうえで、患者の生存率の向上、QOLの改善を図るための治療手段を確立することを目的とする。

B. 研究方法

検討1 1985年から2000年における当科での肝細胞癌初回切除例のうち肝外転移例を除いた796例を対象にし retrospective に検討。検討2 最近、一般化されつつある腹水、血清総ビリルビン値、ICG 15分値を用いた肝切除適応基準(幕内基準)は、肝切除の限界といえるかどうかを明らかにするために、我々の肝切除症例を幕内基準に当てはめて retrospective に検討。

C. 研究結果

検討1 Vp3, Vp4, Vv2, Vv3 例は全部で100例(12.6%)。その高度脈管侵襲例での標準術式は2区域以上の肝切除プラス腫瘍栓摘出。Vp3, Vp4の3年生存率は18%と6%と、Vp1, Vp2の44%、39%と比べ予後不良。但しVp3, Vp4, Vv2, Vv3症例の全体の1年生存率は38%で、同時期の非切除例(1年生存率4%)に比べ明らかに予後は良好。更なる

予後改善のため、門脈腫瘍栓を伴う高度進行肝細胞癌に対する術後肝動注療法(低用量 CDDP+5FU)の再発予防効果に関する第 III 相比較臨床試験を開始した。検討2 1999年2000年の肝細胞癌肝切除症例121例のうち stage IVB 4例を除いた117例を対象。幕内基準を満たす症例を適応群(64例)、適応基準を超えて肝切除を行った症例を適応外群(53例)に分け比較検討。適応外群は肝障害がやや高度(有意差なし)で切除量が多いにもかかわらず、術後合併症、手術死亡に差はなく、また高度進行肝癌症例が多いにもかかわらず短期生存率は同等。門脈腫瘍栓(Vp3, Vp4)症例18例のうち幕内基準で11例が適応外とされ、さらに幕内らの門脈腫瘍栓症例での切除基準で更に4例が適応外と判断される。適応基準を厳しく設定することにより切除例での生存率は向上するが、適応外と判断された場合の予後は著しく不良と考えられる。

D. 考察

進行肝細胞癌に対して敢えて明確な肝切除の適応制限を設けず、可能な限り外科的切除を迫及した上で、再発予防を行うことが患者の予後を改善する可能性がある。

E. 結論

予後不良であった門脈腫瘍栓を伴う進行肝細胞癌に対して肝切除、腫瘍栓摘出を行った後、肝動脈注入化学療法を付加することにより生存期間の延長が期待される。肝細胞癌の根治的治療が肝切除と考えれば、肝切除量の適応基準を厳格にするよりむしろ進行肝細胞癌に対する肝切除の適応拡大を目指すことが重要である。

F. 健康危険情報

今回スタートした第 III 相比較臨床試験により肝動注による有害事象が明らかになる可能性がある。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Yasuchika K, Hirose T, Fujii H, Oe S, Hasegawa K, Fujikawa T, Azuma H, Yamaoka Y. : Establishment of a highly efficient gene transfer system for mouse fetal hepatic progenitor cells. *Hepatology* Dec;36(6) 1488-97. 2002
- 2) Sugimoto S, Mitaka T, Ikeda S, Harada K, Ikai I, Yamaoka Y, Mochizuki Y. : Morphological changes induced by extracellular matrix are correlated with maturation of rat small hepatocytes. *J Cell Biochem.* 87(1) 16-28. 2002
- 3) Katsura N, Ikai I, Mitaka T, Shiotani T, Yamanokuchi S, Sugimoto S, Kanazawa A, Terajima H, Mochizuki Y, Yamaoka Y. : Long-term culture of primary human hepatocytes with preservation of proliferative capacity and differentiated functions. *J Surg Res.* Jul;106(1) 115-23. 2002
- 4) Yoshida M, Yamamoto N, Uehara T, Terao R, Nitta T, Harada N, Hatano E, Iimuro Y, Yamaoka Y: Kupffer cell targeting by intraportal injection of the HVJ cationic liposome. *Eur Surg Res.* May-Jun;34(3): 251-9, 2002
- 5) Uchinami H, Yamamoto Y, Kume M, Yonezawa K, Ishikawa Y, Taura K, Nakajima A, Hata K, Yamaoka Y. : Effect of heat shock preconditioning on NF-kappaB/I-kappaB pathway during I/R injury of the rat liver. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* Jun;282(6): G962-71, 2002
- 6) Yamagami K, Yamamoto Y, Toyokuni S, Hata K, Yamaoka Y. : Heat shock preconditioning reduces the formation of 8-hydroxy- 2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy- 2-nonenal modified proteins in ischemia-reperfused liver of rats. *Free Radic Res.* Feb;36(2): 169-76. 2002
- 7) Fujii H, Hirose T, Oe S, Yasuchika K, Azuma H, Fujikawa T, Nagao M, Yamaoka Y. : Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice. *J Hepatol.* May;36(5): 653-9. 2002
- 8) Uyama N, Shimahara Y, Kawada N, Seki S, Okuyama H, Iimuro Y, Yamaoka Y. : Regulation of cultured rat hepatocyte proliferation by stellate cells. *J Hepatol.* May;36(5): 590-9. 2002
- 9) Tanaka A, Takeda R, Mukaihara S, Hayakawa K, Takasu K, Terajima H, Yamaoka Y, Chiba T. : Tumor thrombi in the portal vein system originating from gastrointestinal tract cancer. *J Gastroenterol.* 37(3): 220-8. 2002
- 10) Nishida N, Fukuda Y, Komeda T, Ito T, Nishimura T, Minata M, Kuno M, Katsuma H, Ikai I, Yamaoka Y, Nakao K. : Prognostic impact of multiple allelic losses on metastatic recurrence in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Oncology.* ; 62(2): 141-8, 2002
- 11) Shimahara Y, Yamamoto N, Uyama N, Okuyama H, Momoi H, Kamikawa T, Terajima H, Iimuro Y, Yamamoto Y, Ikai I, Kushihata F, Kiyochi H, Kobayashi N, Yamaoka Y. : Significance of serum type IV collagen level of hepatectomized

- patients with chronic liver damage.
World J Surg. Apr;26(4): 451-6. 2002
- 12) 宇山直樹, 河田則文, 奥山裕照, 寫原康行, 山岡義生: 星細胞による肝細胞増殖制御: 炎症・再生: 22 巻 5 号, 481-487, 2002
 - 13) 藤井英明, 山岡義生, 廣瀬哲朗: What's New in SURGERY FRONTIER 新しい薬剤耐性因子 HIF: Surgery Frontier, 9 巻 2 号, 147-149, 2002.
 - 14) 山本雄造, 猪飼伊和夫, 波多野悦朗, 寺嶋宏明, 山本成尚, 寫原康行, 山岡義生: 【肝離断法を考える】 各種器械による肝離断 CUSA と水流滴下式パイポラによる肝離断: 外科, 64 巻 5 号 530-534, 2002
 - 15) 山本雄造, 山岡義生: 【消化器外科専門医であるために必要な標準手術手技アトラス】 肝・胆・膵・脾の手術 肝右 3 区域切除術: 消化器外科, 25 巻 7 号, 1101-1109, 2002
 - 16) 波多野悦朗, BradhamCynthia, 上原徹也, 吉田真規, 新田隆士, 原田信子, 小泉直樹, 山本成尚, BrennerDavid, 山岡義生: 肝臓外科における JNK 活性化抑制の意義: 肝臓, 43 巻 Suppl. 1, PageA68(.05), 2002

学会発表

- 1) 波多野悦朗、猪飼伊和夫、寺嶋宏明、山本成尚、山本雄造、寫原康行、山岡義生: 肝細胞癌に対する肝切除適応の検討: 第 38 回日本肝癌研究会シンポジウム, 2002
- 2) 波多野悦朗、猪飼伊和夫、寺嶋宏明、山本成尚、山本雄造、寫原康行、山岡義生: 進行肝細胞癌に対する肝切除の適応拡大: 第 38 回日本消化器病学会近畿支部例会シンポジウム、2002

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

- 1.特許取得
なし
- 2.実用新案登録
なし
- 3.その他
なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
進行肝がんに対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

(5-Fu+Interferon- α による肝癌細胞の増殖抑制作用に関する基礎的研究)

分担研究者 神代正道 久留米大学医学部病理学 (教授)

【研究要旨】今回二つの項目に関して検討を加えた。まず、IFN- α 単独の *in vivo* における肝細胞癌細胞の増殖抑制効果について検討を加えた結果、IFN- α は、アポトーシスの誘導による直接的な作用と血管新生阻害などによる間接的な作用により肝癌の増殖を抑制することが明らかとなった。今後、5-Fu との併用によりどのような効果が生じるか更に検討する必要があると思われる。次に、I 型 IFN receptor の IFNAR-2 鎖の発現を免疫化学的に検討するための最適な染色方法の確立について検討した。IFNAR-2 鎖の発現は、IFN- α と 5-Fu による肝細胞癌の治療においてその治療効果予測に有用である可能性が考えられる。検討の結果、パラフィン切片を前処理としてクエン酸 buffer に浸透し電子レンジ処理を 10 分間行なった後に、polyclonal anti-human IFN-AR2 抗体とニチレイの免疫染色キット (Histofine SAB-PO[R]) と最も良好な染色性が得られた。

A. 研究目的

- ① 肝細胞癌に対する 5-Fu と IFN- α の増殖抑制効果を検討する前に、まず IFN- α による *in vivo* で増殖抑制効果を肝細胞癌の細胞株とヌードマウスを使用し検討した。
- ② IFN- α による肝細胞癌治療反応性の予測に、ヒト肝細胞癌組織における I 型 IFN receptor の IFNAR-2 鎖の発現検討が有用である可能性がある。今回、その発現をパラフィン切片で免疫組織化学的に検討する最も適切な染色法の確立を検討した。

B. 研究方法

- ① ヌードマウス皮下に肝細胞癌細胞株の HAK-1B を 1000 万個/site 接種し、腫瘍形成後に 14 日間連続で IFN- α Con1 (0.01, 0.1, 1 μ g/mouse/day) あるいは PBS を皮下に接種し、腫瘍の大きさをモニターした。
- ② polyclonal あるいは monoclonal anti-human IFN-AR2 抗体 (大塚製薬株式会社 x800)、Histofine SAB-PO[R] 免疫染色キット (ニチレイ) あるいは CSA 免疫染色 kit (DAKO) を用いてヒト肝細胞癌の生検組織における IFNAR-2 鎖の免疫染色を行った。また、トリプシン処理あるいは電子レンジ処理などを前処置として行った。

C. 研究結果

- ① IFN- α Con1 を皮下に注射すると PBS 注射時と比べ腫瘍体積が徐々に減少し、15 日目では 0.01 μ g/mouse で 60%前後、0.1 μ g/mouse で 25%前後の大きさまで縮小し、1 μ g/mouse では、腫瘍が消失した。IFN- α Con1 投与により濃度依存性に有意に apoptotic cell が増加し、更に腫瘍内の血管数も低下する傾向を認めた。
- ② 前処理としては、標本をクエン酸 buffer に浸透し電子レンジ処理を 10 分間行うと最も良好な染色性が得られた。また、polyclonal anti-human IFN-AR2 抗体と Histofine SAB-PO[R] 免疫染色キット (ニチレイ) の組み合わせが最適であった。

D. 考察

- ① IFN- α 自体にも肝細胞癌の増殖抑制効果があることがヌードマウスをもちいた *in vivo* の実験で明らかとなった。その増殖抑制の機序としてはアポトーシスの誘導や血管新生の阻害の可能性が考えられた。
- ② パラフィン切片における IFNAR-2 鎖の発現を検討する最適な方法が確認され、今後 IFN- α と 5-Fu の治療を行う前の肝癌部の IFNAR-2 鎖の発現を検討し治療成績など

との関連性の検討が可能となるであろう。

E. 結論

① IFN- α は直接的あるいは間接的に肝癌の増殖を抑制する可能性が考えられる。今後 5-Fu との併用効果についても検討する価値がある。

② IFNAR-2 鎖の発現をパラフィン切片で検討可能でありその応用は治療の適応決定に応用可能であるかもしれない。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

- 1) 矢野博久, 神代正道: IFN の代謝-抗腫瘍作用. 肝胆臓. 45: 1001-1006, 2002.
- 2) 矢野博久, 神代正道: インターフェロンは培養肝癌細胞増殖を抑制する. 医学と薬学. 47, supplement: 69-74, 2002.

学会発表

- 1) 久下 亨、矢野博久、桃崎征也、小笠原幸子、山口 倫、神代正道: IFN- α Con1 の *in vitro* 及び *in vivo* における肝癌細胞の増殖抑制作用. 第 39 会肝臓学会総会
- 2) 桃崎征也、矢野博久、小笠原幸子、秋葉 純、神代正道: 肝細胞癌細胞株に対する Interferon- α subtype 別の増殖抑制効果と signal transducer の活性化について. 第 39 会肝臓学会総会

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
進行肝臓に対する集学的治療に関する研究
分担研究報告書

シグナル伝達からみた作用機序に関する研究

分担研究者 小俣政男 東京大学大学院医学系研究科器官病態内科学 教授

研究要旨：かつて予後不良であった門脈腫瘍塞栓を伴う進行肝臓に対し、5-FU と IFN α 併用化学療法が有効であることが報告されてきている。8種の肝臓細胞株を用いて5-FU、IFNの添加実験を行ったところ、IFN単独では抗腫瘍効果は観察されず、5種においてIFNの併用により5-FUの効果の増強が観察された。マイクロアレイによる8細胞株の遺伝子発現解析を行い、併用有効株、無効株で発現量に差のある遺伝子を抽出した。この遺伝子群のみを用いてクラスター解析、主成分分析を行ったところ感受性の明瞭な分類が可能であった。現在、相関ネットワーク解析にて抽出された遺伝子群の情報を利用し、作用機序の解析をすすめるとともに、臨床検体への本手法の適応についての検討を行っている。

A. 研究目的

門脈腫瘍塞栓を伴う進行肝臓の予後は非常に不良であったが、近年、これらの進行肝臓に対し、5-FU 肝動注と IFN α 皮下注の併用化学療法が有効なことが報告されてきている。当科でも現在まで約 50 例への投与で 50% 強の奏効率が得られているが、奏効例の識別は難しく、作用機序についても不明の点が多い。今回、肝臓細胞株をモデルとして、遺伝子発現情報をもとに 5-FU、IFN α 併用療法の感受性の分類及び感受性関連遺伝子の抽出を行った。

B. 研究方法

肝臓細胞株 8 種を用い、3800 既知遺伝子を収載した cDNA マイクロアレイで遺伝子発現解析を行った。5-FU 単独、IFN α 単独、及び 5-FU+IFN α の各組み合わせで細胞株に薬剤を添加し、MTT アッセイにて抗腫瘍効果を評価、比較した。また、Type1 IFN レセプターの発現を RT-PCR にて検討した。

C. 研究結果

IFN 単独の投与では、20000U/ml まで増量しても明らかな抗腫瘍効果は認められなかった。5-FU 単独と比較して IFN α との併用で感受性が増強する細胞が 5 株認められた。

感受性増強株と不変株で発現差のある遺伝子を抽出し、クラスター解析、主成分分析を行ったところ、感受性の分類が可能であり、特に無効例の識別能に優れていた。IFN レセプターは 8 株にほぼ同等の発現がみられ、感受性増強株と不変株で大きな差は認められなかった。

D. 考察

細胞株を用いた今回の検討で、約半数に 5-FU と IFN の併用による相乗効果が観察された。IFN 単独での抗腫瘍効果が認められなかったことから、IFN の添加は 5-FU の作用、感受性を改変している可能性が考えられた。IFN レセプターの発現はほぼ同等であったことから、併用による効果の増強は、レセプター下流のシグナル伝達系、あるいは IFN レセプターを介さない経路によるものである可能性も考えられた。

E. 結論

抽出した遺伝子のみでの発現プロファイルを用いたクラスター解析により感受性の分類が可能であり、有効例の識別や、無効な副作用の回避を実現できる可能性が考えられた。現在、遺伝子相関ネットワーク解析を行っており、これにて抽出された遺伝子

群の情報を利用し、併用療法の作用機序の解析をすすめている。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Moriyama M, Hoshida Y, Otsuka M, Nishimura S, Kato N, Goto T, Taniguchi H, Shiratori Y, Seki N, Omata M. Relevance Network Between Chemosensitivity and Transcriptome in Human Hepatoma Cells. *Mol Cancer Ther* 2003; Vol. 2: 199-205.
2. Hoshida Y, Moriyama M, Otsuka M, Kato N, Goto T, Taniguchi H, Shiratori Y, Seki N, Omata M. Identification of Genes Associated with Sensitivity to 5-fluorouracil and Cisplatin in Hepatoma Cells. *J Gastroenterol* 2002; 37: 92-95.
3. 森山 優、星田有人、大塚基之、加藤直也、関直彦、小俣政男：肝癌細胞における抗癌剤感受性に関連する遺伝子の解析。ゲノム医学、Vol.2 No.3 2002、71-77

学会発表

1. 森山 優、星田有人、大塚基之、小尾俊太郎、加藤直也、小俣政男。肝癌に対する 5-FU、IFN α 併用のテーラーメイド化学療法に向けて。第13回日本消化器癌発生学会（2002年9月 大阪）
2. 森山 優、星田有人、大塚基之、小尾俊太郎、加藤直也、小俣政男。遺伝子発現プロファイルを利用した肝癌に対する 5-FU、IFN α 併用化学療法の感受性関連因子の検討。DDW-Japan 2002（2002年10月 横浜）
3. Hoshida Y, Moriyama M, Otsuka M, Kato N, Goto T, Taniguchi H, Shiratori Y, Seki N, Omata M. Genetic pharmacology of anticancer drugs by transcriptional profiling in human hepatoma cells. 53rd Annual Meeting of the AASLD (Boston, USA, 2002. 11)

4. Hoshida Y, Moriyama M, Otsuka M, Nishimura S, Kato N, Shiratori Y, Omata M. Relevance network between transcriptome and chemosensitivity in hepatoma cells. 6th annual meeting of Research for Computational Molecular Biology (Washington DC, USA, 2002)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻(号)	ページ	出版年
1) Sakon M, et al.	Combined intraarterial 5-Fluorouracil and Subcutaneous interferon- α therapy advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches	Cancer	94. (2)	435-442,	2002
2) 山本為義、他	特集/肝疾患におけるインターフェロン治療の新たな展開. 肝細胞癌 進行癌の治療 (化学療法との併用)	肝胆膵	45. (6)	1053-1061	2002
3) 永野浩昭、他	インターフェロン- α 併用動注化学療法による肝細胞癌の治療.	医学と薬学	47	77-80	2002
4) 永野浩昭、他	当科における肝細胞癌の診療方針.	肝臓	43. (11)	524-526	2002
5) 永野浩昭、他	肝細胞癌に対する新治療法の開発研究.	日本臨牀	60(11)	2237-2244	2002
6) 山本為義、他	門脈内腫瘍栓を伴う肝細胞癌に対する動注化学療法.	Practical Oncology	15(4)		2002
7) Tsuchiyama T, et al.	Enhanced anti-tumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma.	Cancer Gene Therapy			(in press)
8) Kurachi M et al.	Identification of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin-responsive genes in mouse liver by serial analysis of gene expression.	Biochemical and Biophysical Research Communications	292(2)	368-377	2002
9) Tsuchiyama T, et al.	Tiny staining spots liver cirrhosis associated with HCV infection observed by computed tomographic hepatic arteriography: follow-up study.	Journal of Gastroenterology	37(10)	807-814	2002
10) Nakamoto Y, et al.	Prevention of hepatocellular carcinoma development associated with chronic hepatitis by anti-fas ligand antibody therapy.	Journal of Experimental Medicine	196(8)	1105-1111	2002
11) Masutomi K, et al.	Identification of serum anti-human telomerase reverse transcriptase (hTERT) auto-antibodies during progression to hepatocellular carcinoma.	Oncogene	21(38)	5946-5950	2002
12) Minouchi K, et al.	Mutation of p53 gene in regenerative nodules in cirrhotic liver.	Journal of Hepatology	37(2)	231-239	2002
13) Arai K, et al.	Two independent regions of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) are important for its oligomerization and telomerase activity.	The Journal of Biological Chemistry	277(10)	8538-8544	2002

14) Yasuchika K, et al.	Establishment of a highly efficient gene transfer system for mouse fetal hepatic progenitor cells.	<u>Hepatology</u>	Dec;36(6)	1488-97	2002
15) Sugimoto S, et al.	Morphological changes induced by extracellular matrix are correlated with maturation of rat small hepatocytes.	<u>J Cell Biochem.</u>	87(1)	16-28.	2002
16) Katsura N, et al.	Long-term culture of primary human hepatocytes with preservation of proliferative capacity and differentiated functions.	<u>J Surg Res.</u>	Jul;106(1)	115-23.	2002
17) Yoshida M, et al.	Kupffer cell targeting by intraportal injection of the HVJ cationic liposome.	<u>Eur Surg Res.</u>	May-Jun;34(3):.	251-9	2002
18) Uchinami H, et al.	Effect of heat shock preconditioning on NF-kappaB/I-kappaB pathway during I/R injury of the rat liver.	<u>Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.</u>	Jun;282(6):.	G962-71	2002
19) Yamagami K, et al.	Heat shock preconditioning reduces the formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy-2-nonenal modified proteins in ischemia-reperfused liver of rats.	<u>Free Radic Res.</u>	Feb;36(2):	169-76.	2002
20) Fujii H, et al.	Contribution of bone marrow cells to liver regeneration after partial hepatectomy in mice.	<u>J Hepatol.</u>	May;36(5):	653-9.	2002
21) Uyama N, et al.	Regulation of cultured rat hepatocyte proliferation by stellate cells.	<u>J Hepatol.</u>	May;36(5):	590-9.	2002
22) Tanaka A, et al.	Tumor thrombi in the portal vein system originating from gastrointestinal tract cancer.	<u>J Gastroenterol.</u>	37(3):	220-8.	2002
23) Nishida N, et al.	Prognostic impact of multiple allelic losses on metastatic recurrence in hepatocellular carcinoma after curative resection.	<u>Oncology.;</u>	62(2):.	141-8	2002
24) Shimahara Y, et al.	Significance of serum type IV collagen level of hepatectomized patients with chronic liver damage.	<u>World J Surg.</u>	Apr;26(4):	451-6.	2002
25) 宇山直樹、他	星細胞による肝細胞増殖制御	<u>炎症・再生</u>	22巻5号	481-487	2002
26) 藤井英明、他	What's New in SURGERY FRONTIER 新しい薬剤耐性因子 HIF	<u>Surgery Frontier</u>	9巻2号	147-149	2002.06
27) 山本雄造、他	【肝離断法を考える】 各種器械による肝離断 CUSAと水流滴下式パイポラによる肝離断	<u>外科</u>	64巻5号	530-534	2002
28) 山本雄造、他	【消化器外科専門医であるために必要な標準手術手技アトラス】 肝・胆・膵・脾の手術 肝右3区域切除術	<u>消化器外科</u>	25巻7号	1101-1109	2002.06
29) 波多野悦朗、他	肝臓外科におけるJNK活性化抑制の意義	<u>肝臓</u>	43 巻 Suppl. 1)	PageA68(.05)	2002
30) 矢野博久, 神代正道	IFNの代謝-抗腫瘍作用	<u>肝胆膵</u>	45	1001-1006	2002
31) 矢野博久, 神代正道	インターフェロンは培養肝癌細胞増殖を抑制する	<u>医学と薬学</u>	47	69-74	2002

32) Moriyama M, et al.	Relevance network between chemosensitivity transcriptome in human hepatoma cells.	<u>Molecular Cancer Therapeutics</u>	2	199-205	2003
33) 森山優、他	肝癌細胞における抗癌剤感受性に関連する 遺伝子の解析	<u>ゲノム医学</u>	2	71-77	2002