

200500721.A

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

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える  
因子に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小俣 政男

平成 18 (2006) 年 3 月

「予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究」にあたって

肝細胞癌の増加は、目を見張るものがあります。本邦においては、C型肝炎感染者の高齢化と共に、肝癌発症者の年齢も年々高くなっており、現在我々の施設では初発の癌の患者さんの年齢は70才を超えようとしております。

肝癌の診断と治療法の進歩には目覚ましいものがありますが、患者さんの高齢化と共にその治療法も変化してまいりました。殊にラジオ波焼灼療法（RFA）の導入は肝癌診療の現場に大きな変革をもたらしました。しかしながら、治療後の再発が問題となっております。

本研究班では、この肝臓癌の再発に関する基礎的並びに臨床的な研究を行ってまいりました。

本報告書はその研究成果をまとめたものであります。

平成18年3月

肝炎等克服緊急対策研究事業

「予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究」

主任研究者 小俣政男

# 目 次

I. 総括研究報告	1
主任研究者	小俣政男
II. 分担研究報告	
1.	3
東京大学医学部附属病院消化器内科	吉田晴彦、椎名秀一朗、加藤直也
2.	6
岡山大学大学院医歯学総合研究科消化器・肝臓・感染症内科	白鳥康史
3.	8
国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター	石橋大海
4.	10
東京医科歯科大学難治疾患研究所分子疫学分野	村松正明
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	12
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）  
総括研究報告書

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究

主任研究者 小俣政男 東京大学医学部附属病院消化器内科 教授

研究要旨：

再発肝癌においても腫瘍因子と肝機能が、次の再発に関する危険因子であることが示され、血管造影下CTによる肝癌検出および肝癌治療後のインターフェロン治療を介入とする無作為割付比較対照試験を実施した。また、遺伝子解析により MMP1、LTA4H などいくつかの遺伝子多型が肝発癌に関連することを示した。

分担研究者：

吉田晴彦：東京大学医学部附属病院消化器内科  
講師  
椎名秀一朗：東京大学医学部附属病院消化器内科  
講師  
加藤直也：東京大学医学部附属病院消化器内科  
助手  
白鳥康史：岡山大学大学院医歯学総合研究科  
消化器・肝臓・感染症内科 教授  
石橋大海：国立病院機構長崎医療センター  
臨床研究センター長  
村松正明：東京医科歯科大学難治疾患研究所  
分子疫学分野 教授

A. 研究目的

肝癌はわが国男性の癌死の第三位を占める疾患である。その約8割はC型肝炎ウイルス(HCV)感染に起因している。HCV 陽性肝癌は肝線維化の進行した症例に発生しやすい。すなわち、肝癌については既に高危険度群が明確化されている。健康保険制度により、C型肝炎患者をはじめとする高危険度症例では肝癌検査が定期的に行われており、診断法の進歩と相俟って早期発見が可能となった。また、ラジオ波焼灼療法の発展により、一部の手術不適症例においても根治的治療が行えるようになった。これにより、肝癌患者の予後は著明に改善した。しかしながら、その5年生存率は現在40%程度であり、決して十分とはいえない。そして、肝癌の長期予後改善を妨げている最大の原因は年率20%前後に及ぶ治療後再発である。本研究では肝癌再

発の機序を検討し、有効な対応策をたてることにより、5年生存率を70%まで向上させることを目的とする。

B. 研究方法

本年度の疫学的研究としては、分担研究者白鳥が前年度に引き続いて肝細胞癌根治的治療後の再発に関する解析をすすめた。根治的治療が施行された肝癌患者について、再発を繰り返した場合の再発率、およびそれに影響を与える因子を検討するとともに、各種因子を時間依存性共変量とした場合の再発危険因子の解析を行った。

また、発癌に関する遺伝的要因の解析としては、吉田・椎名・加藤がヒトゲノム上の171の遺伝子上にある計393部位の単塩基多型(SNP)について、C型肝炎患者206名および肝癌患者170名において横断研究および前向きコホート研究をおこない、それらSNPの肝癌との関連を検討した。また、村松はHCV抗体かつHCV抗原陰性の症例に注目し、TGF $\beta$ 遺伝子多型とHCV感染自然消滅との関連を検討した。また、石橋はいくつかの癌で発現増強が報告されている酵素mPGESについて、癌部および背景肝におけるmRNAおよびタンパク発現を比較した。

C. 研究結果

肝癌再発時間は、再発を繰り返すごとに短縮されることが確認された。各再発時における腫瘍数、肝機能が次回再発に関する有意因子であり、一方初回治療時の因子は再再発以降は有意

な関連を示さなかった。時間依存型解析では肝癌腫瘍マーカーである AFP と DCP が有意であった。

SNP 解析では肝癌と有意に関連する SNP を含む遺伝子として SCYB14、GFRA1、CRHR2 の3つ、新規発癌と関連する遺伝子として TNFRSF6、肝癌再発と関連する遺伝子として MMP1、LTA4H の2つを同定した。TGF $\beta$  遺伝子多型と HCV 感染自然緩解との関連が示唆された。mPGES 発現は肝細胞癌、特に中分化～低分化癌において増強していた。

#### D. 考察

肝癌再発に関して、再発時の腫瘍因子が次回再発に関して強い関連をもつことが示された。したがって、肝癌治療後の経過観察においても、再発癌の早期発見、早期治療が長期予後に影響を及ぼすこととなる。これに関連して、主任研究者らは肝癌検出能が高いとされる血管造影下 CT (CTA/CTAP) による病変検出、肝癌再発および生命予後に影響を与えるか否かに関する、無作為化比較対照試験を実施中である。また、肝癌発生を抑制することが知られているインターフェロン治療について、肝癌再発への効果を調べる臨床研究も開始している。

その多型や発現と肝癌との関連が示唆された遺伝子の多くは炎症、細胞増殖、発癌との関連が知られているが、肝発癌機序におけるそれらの意義は明らかでない。これらの遺伝子について、今後 *in vitro* レベルでの解析をすすめ、臨床応用の可能性を検討する予定である。

#### E. 結論

肝癌再発時間の解析によって、再発癌についても早期発見、早期治療が重要であることが示された。現在実施中の診断および治療介入の効果が期待される。また、発癌に寄与するいくつかの遺伝要因が示され、発癌機序解明に寄与すると思われる。

#### F. 健康危険情報

分担研究報告書参照

#### G. 研究発表

1. 論文発表 : 巻末に掲載
2. 学会発表 : 分担研究報告書参照

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 : 分担研究報告書参照
2. 実用新案登録 : 分担研究報告書参照
3. その他 : 分担研究報告書参照

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）  
分担研究報告書

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究

分担研究者	吉田晴彦	東京大学医学部附属病院消化器内科	講師
	椎名秀一郎	東京大学医学部附属病院消化器内科	講師
	加藤直也	東京大学医学部附属病院消化器内科	助手

研究要旨： C 型肝炎ウイルス感染から肝硬変、肝細胞癌への進展には著しい個人差がある。このような肝病態進展の個人差には SNP に代表される宿主因子が寄与している。今回、肝発癌および再発に関わる SNP につき網羅的候補遺伝子解析を試みた。肝発癌に關与する可能性のある遺伝子として、細胞の生と死、炎症に関わる遺伝子 171 遺伝子、393 SNPs を選択した。C 型肝炎患者 188 例（慢性肝炎+肝硬変 111 例、肝癌 77 例）において、上記 393 SNPs を Taqman PCR 法により解析し肝癌との関連につき検討し、29 遺伝子、31SNPs を同定した。絞り込まれた候補遺伝子、SNP を、新たに選ばれた C 型肝炎患者 188 例（慢性肝炎+肝硬変 95 例、肝癌 93 例）において同様に検討し、有意に肝癌と関連している 3 遺伝子（SCYB14, GFRA1, CRHR2）、3 SNPs を同定した。また、prospective study により、新規発癌に關連する遺伝子として、TNFRSF6 を同定した。同様に、再発に關連する遺伝子として、MMP1 および LTA4H を同定した。これら C 型肝炎における肝発癌および再発と密接に關連している遺伝子は、肝発癌メカニズムの解明に重要のみならず、肝発癌の超高危険群、超低危険群の設定を可能にすることが期待される。

A. 研究目的

本研究のコア施設の東京大学消化器内科では、過去 10 年間に 1,800 例、のべ 5,000 例の肝癌症例を経験している。これは世界的にもおそらく最も大きい数字と考えられる。30 年前の肝癌の予後が平均 6-10 ケ月であった事に比べると、明らかに肝癌患者の予後は改善しており、現在の 5 年生存率は 40%前後となっている。本研究ではその予後を 5 年生存率で 70%前後に上昇させる事を最終の目的としている。それを阻む最大の原因は年 15-20%に及ぶ肝癌の治療後再発であり、本研究ではその背景因子を明らかにし、対策を講じる。

そのために、まず要因の解析を行う。肝癌症例に關し、再発要因の解析を行う。即ち通常の臨床・病理的パラメーターに加え、癌の再発・非再発例における遺伝的背景を網羅的な SNP 解析により明らかにする。

B. 研究方法

C 型肝炎ウイルス感染から肝硬変、肝細胞癌への進展には著しい個人差がある。このような肝病態進展の個人差には SNP に代表される宿主因子が寄与していると考えられる。今回、肝病態の進展、特に肝発癌および再発に関わる SNP につき網羅的候補遺伝子解析を試みた。

肝発癌に關与する可能性のある遺伝子として、細胞の生と死、炎症に関わる遺伝子 171 遺伝子、393 SNPs を選択した。

1) “Training”：インフォームドコンセントが得られた C 型肝炎患者 188 例（慢性肝炎+肝硬変 111 例、肝癌 77 例）において、上記 393 SNPs を Taqman PCR 法により解析し肝癌との関連につき検討した。

2) “Testing”：“Training”により候補遺伝子、SNP を 29 遺伝子、31SNPs に絞り込み、新たに選ばれたインフォームドコンセントが得られた C 型肝炎患者 188 例（慢性肝炎+肝硬変 95 例、肝癌 93 例）において、同様に検討した。

3) 上記、“Training”および“Testing”の C 型肝炎患者合計 376 例中、受診時肝癌のなかった 206 例について、平均 2.7 年観察したところ、14 例、6.8%（年率 2.5%）の新規発癌が認められた。発癌のなかった 192 例と新規に発癌した 14 例において、発癌と關連する遺伝子、SNP につき“Training”により絞り込んだ 29 遺伝子、31SNPs を用いて検討した。

4) 上記、“Training”および“Testing”の C 型肝炎患者合計 376 例中、受診時肝癌を認めたのは 170 例であった。うち、根治的治療が行われた 102 例について、解析したところ、84 例に

再発を認めたと、18例には再発が認められなかった。そこで、再発と関連する遺伝子、SNPにつき、“Training”により絞り込んだ29遺伝子、31SNPsを用いてCox比例ハザード法により検討した。

#### C. 研究結果

1) “Training”により、有意( $P<0.05$ )にHCCと関連している29遺伝子、31SNPsを抽出した。

2) “Testing”により、29遺伝子、31SNPsから、有意にHCCと関連している3遺伝子 Small inducible cytokine B14 (SCYB14)、Glial cell line-derived neutrophilic factor family receptor alpha1 (GFRA1)、Corticotropin releasing hormone receptor 2 (CRHR2)の3SNPsを同定した。

Genotype頻度解析ではGFRA1 ( $P<0.001$ )が、アレル頻度解析ではSCYB14 ( $P=0.001$ )およびCRHR2 ( $P=0.005$ )が、優劣性解析ではGFRA1 ( $P<0.001$ )、SCYB14 ( $P<0.001$ )が同定された。

C型肝癌の存在に寄与する因子を多変量解析にて調べたところ、性別が男性であること(オッズ比1.84、95%信頼区間1.08-3.14)、年齢が60歳を超えること(オッズ比2.38、95%信頼区間1.39-4.10)、肝硬変があること(オッズ比6.29、95%信頼区間3.75-10.9)と共にGFRA1 genotype (C/G vs C/C、オッズ比2.31、95%信頼区間1.30-4.11)、CRHR2 genotype (C/C vs T/T、オッズ比8.55、95%信頼区間2.04-35.9)、SCYB14 genotype (C/G vs G/G、オッズ比2.17、95%信頼区間1.27-3.73)があげられた。

3) Tumor necrosis factor receptor superfamily 6 (TNFRSF6)、別名FasのSNPが発癌と有意に関連した( $P=0.029$ )。

4) Matrix metalloproteinase 1 (MMP1)、Leukotriene A4 hydrolase (LT4AH)のSNPが発癌と有意に関連した( $P=0.035$ 、 $P=0.002$ )。

#### D. 考察

Retrospective studyにより、肝癌の存在と関連した3つの遺伝子が明らかとなった。これら遺伝子は、いずれも炎症あるいは癌に関与することが知られている。SCYB14は、免疫調節、炎症に関連している。CRHR2のリガンドであるurocortinは胃粘膜上皮で発現されており、抗炎症作用があることが知られている。GFRA1遺伝子のSNPは、甲状腺髄様癌で見つかっている。

SCYB14 mRNAを3例の肝癌患者の癌部および非癌部組織において定量したところ、癌部ではほとんど発現が見られないことが判明した。SCYB14遺伝子の発現は肝癌と関連している可能性があると考えられた。すなわち、これら遺

伝子は、肝癌の高危険群の設定を可能とするのみならず、肝癌メカニズムの解明に有用と期待された。

Prospective studyにより、肝癌と関連する遺伝子として、TNFRSF6が同定された。TNFRSF6は、death domainを含むreceptorで、アポトーシスにおいて中心的役割を担っている。

また、同じくprospective studyにより、肝癌再発と関連する遺伝子として、MMP1およびLT4AHが同定された。MMP1は、間質のコラーゲンを分解する酵素であり、炎症の進展や癌の転移に関連している。LT4AHは、ロイコトリエンA4からロイコトリエンB4を作る酵素で、ロイコトリエンB4は局所に白血球を遊走、浸潤させる作用を持っている。

今後、これら遺伝子の肝癌における役割の解析が必要である。

#### E. 結論

C型肝炎における肝癌および再発と密接に関連している遺伝子および遺伝子領域を同定した。これらは肝癌メカニズムの解明に重要なのみならず、肝癌および再発の超高危険群、超低危険群の設定を可能にすることが期待される。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表

1. Omata M. Modalities of prevention of recurrence after tumor ablation/resection of HCC. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: S270-S271.
2. Omata M, Yoshida H, Shiratori Y. Prevention of hepatocellular carcinoma and its recurrence in chronic hepatitis C patients by interferon therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: S141-143.
3. Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I, McCaughan G, Kane E, Kao JH, Omata M; for the Asian-Pacific consensus update working party on chronic hepatitis B. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver Int* 2005; 25: 472-489.
4. Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, Ishikawa T, Koike Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2005; 129: 122-130.
5. Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S,

- Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 1201-1209.
6. Yamashiki N, Tateishi R, Yoshida H, Shiina S, Teratani T, Sato S, Mine N, Kondo Y, Kawabe T, Omata M. Ablation therapy in retaining extent of hepatocellular carcinoma: A simulative analysis of dropout from the waiting list for liver transplantation. *Liver Transplant* 2005; 11: 508-514.
  7. Tateishi R, Yoshida H, Shiina S, Imamura H, Hasegawa K, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Makuuchi M, Omata M. Proposal of a new prognostic model for hepatocellular carcinoma: an analysis of 403 patients. *Gut* 2005; 54: 419-425.
  8. Akamatsu M, Ishikawa T, Shiratori Y, Koike Y, Shiina S, Teratani T, Hamamura K, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, Imai Y, Yoshida H, Omata M. Factors predisposing to poorly differentiated hepatocellular carcinoma and its recurrence. *Heptogastroenterology* 2005; 52: 391-397.
  9. Kato N, Ji G, Wang Y, Baba M, Hoshida Y, Otsuka M, Taniguchi H, Moriyama M, Dharel N, Goto T, Shao RX, Matsuura T, Ishi K, Shiina S, Kawabe T, Muramatsu M, Omata M. Large-scale search of single nucleotide polymorphisms for hepatocellular carcinoma susceptibility genes in patients with hepatitis C. *Hepatology* 2005; 42: 846-853.
  10. Akamatsu M, Yoshida H, Shiina S, Teratani T, Obi S, Tateishi R, Mine N, Kondo Y, Kawabe T, Omata M. Pre- or post-tumor ablation interferon therapy prolongs the survival of patients with C viral- hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2006; (in press).

ウイルス感染に起因する肝疾患に関連する多型、およびその利用」

2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

#### 学会発表

1. 加藤直也、紀貴金、馬場昌法、大塚基之、谷口博順、森山優、ナラヤン ダレル、邵潤軒、松浦正、椎名秀一朗、川邊隆夫、村松正明、小俣政男 C型肝炎における肝発癌関連SNPの網羅的探索 第28回日本分子生物学会年会、2005/12/10、福岡 ワークショップ40、ポストゲノム時代の分子診断学～バイオマーカー探索の最前線～

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願中：特願 2004-252105 「C型肝炎



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）  
分担研究報告書

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究

分担研究者 白鳥康史 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

研究要旨：肝臓がん治療後の予後改善を目的に、肝臓がん再発・再々発に関与する因子ならびに時間依存型共変量による再発・予後因子について検討した。根治的治療が施行された肝臓がんにおいては、再発回数に従って、無再発期間は有意に短縮した。肝臓がん再発・再々発における時間固定型解析では、各再発時における腫瘍数・肝機能が有意な危険因子であり、再々発においては初回治療時における有意な因子は認められなかった。肝臓がん再発における時間依存型解析では、治療後のAFP、DCPが有意な危険因子・予後因子であり、治療の根治性が重要であることが示された。

A. 研究目的

肝細胞がんは根治的治療後においても高率に再発し、肝臓がん患者の予後を規定している。

今回肝臓がん治療後の予後改善を目的に、1) 時間固定型共変量による肝臓がん再発・再々発に関与する因子、2) 時間依存型共変量による再発・予後因子について検討した。

B. 研究方法

- 1) 当施設で局所治療あるいは肝切除にて根治的治療が施行された肝臓がん患者 225 人を対象とし、肝臓がんの再発回数ごとの再発率を検討した。さらに、再発回数ごとに、先行する治療時の因子を共変量として、肝臓がん再発に関与する危険因子について解析した。
- 2) 根治的治療が施行された肝臓がん患者 271 人を対象とし、初回治療後の各種因子（AFP、DCP、総ビリルビン、ALT、Albumin、血小板数）を時間依存型共変量として、肝臓がん再発に関与する危険因子について、Cox 比例ハザードモデルにより解析した。

(倫理面への配慮)

対象症例のデータは個人識別情報を取り除き、連結可能匿名化を行った上で解析に供した。

C. 研究結果

- 1) 肝臓がん初回治療後の無再発期間に比し、2 回・3 回治療後の無再発期間は有意に短縮していた。時間固定型解析における初回再発の危険因子は初回治療時の腫瘍数、腫瘍径であった。2 回再発では、2 回治療時における腫瘍数、血清アルブミン値が有意な危険因子であり、初回治療時における有意な因子は認められなかった。3 回再発に関する有意な危険因子は認められなかった。
- 2) 時間依存型解析では、肝臓がん治療後の AFP、DCP、ALT が再発の有意な危険因子であった。また、肝臓がんの予後については、治療後の AFP、DCP、総ビリルビン値が有意な因子であった。

D. 考察

根治的治療が施行された肝臓がんにおいては、再発回数に従って無再発期間が短縮していたことより、再発回数が肝臓がん患者の予後に影響を与えている可能性が示唆された。

初回根治的治療が施行された肝臓がんにおける再々発の時間固定型解析では、治療時における因子が有意な危険因子であり、初回治療時における有意な因子は認められなかった。こ

のことより、各再発時の治療における根治性が重要であることが示唆された。

時間依存型解析では、治療後における AFP、DCP が再発・予後の有意な因子であることより、治療後の腫瘍マーカーの陰性化、ひいては治療の根治性が重要であることが示された。

#### E. 結論

根治的治療が施行された肝臓においては、再発回数に従って、無再発期間は有意に短縮した。各再発時の腫瘍数・肝機能が有意な再発危険因子であり、再々発においては初回治療時における有意な因子は認められなかった。さらに治療後の AFP、DCP が有意な危険因子・予後因子であることより、治療の根治性が重要であることが示された。

#### F. 健康危険情報

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, Imazeki F, Nakata R, Tanaka N, Arakawa Y, Hashimoto E, Hirota K, Yoshida H, Ohashi Y, Omata M. Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival. *Ann Intern Med* 2005;142:105-114.
- 2) Tanaka H, Iwasaki Y, Nouse K, Kobayashi Y, Nakamura S, Matsumoto E, Toshikuni N, Kaneyoshi T, Ohsawa T, Takaguchi K, Fujio K, Senoh T, Ohnishi T, Sakaguchi K, Shiratori Y. Possible contribution of prior hepatitis B virus infection to the development of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:850-856.
- 3) Nouse K, Shiraga K, Uematsu S, Okamoto R, Harada R, Takayama S, Kawai W, Kimura S, Ueki T, Okano N, Nakagawa M, Mizuno M, Araki Y, Shiratori Y. Prediction of the ablated area by the spread of microbubbles during radiofrequency ablation of hepatocellular

carcinoma. *Liver Int* 2005;25:967-972.

##### 2. 学会発表

- 1) Kenji Miyoshi, Yoshiyuki Kobayashi, Shinichiro Nakamura, Hironori Tanaka, Yasuhiro Miyake, Hideki Ohnishi, Syota Iwado, Kohsaku Sakaguchi, Yasushi Shiratori: Clear recurrence profiles of hepatocellular carcinoma (HCC): multiplicity of HCC nodules and liver function are strong risk factor for HCC recurrence: *Digestive Disease Week 2005*, Chicago.
- 2) Shouta Iwadou, Yoshiyuki Kobayashi, Shinichiro Nakamura, Hironori Tanaka, Kenji Miyoshi, Hideki Ohnishi, Yasuhiro Miyake, Kazuhiro Nouse, Nobuyuki Toshikuni, Kohsaku Sakaguchi, Yasushi Shiratori: Chronological values of des-gamma-carboxy prothrombin (DCP) and alpha-fetoprotein (AFP) are predictive factors for survival, and risk factors for recurrence of hepatocellular carcinoma (HCC) with time-dependent covariate analysis. *56<sup>th</sup> Annual Meeting of AASLD*, San Francisco, 2005.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：1)特許出願中 白鳥 康史  
他 異常プロトロンビンの癌増殖効果 特許  
願 202-371166 平成 14 年 12 月 20 日出願（整  
理番号 EP02SD1201）
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）  
分担研究報告書

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究

分担研究者 石橋大海 国立病院機構 長崎医療センター 臨床研究センター長

研究要旨：肝細胞癌は治療後も高率に再発する性質を有するため、再発の影響を与える因子を明らかにし再発防止を行うことは、予後改善を目指す上で重要なことである。microsomal Prostaglandin E2 synthase (mPGES)はいくつかの癌において発現の増強がみられ、癌の進展と関係することが報告されている。しかし、肝細胞癌において検討された報告はまだなされていない。我々は、今年度の計画として、肝細胞癌の剖検例および手術摘出標本を用いて、肝細胞癌における mPGES の発現を検討した。慢性肝疾患において発現の増強がみられ、肝細胞癌で更に発現は増強していた。特に中分化癌および低分化癌で発現の増強がみられた。今回の検討では肝細胞癌の増殖と mPGES の発現に関連があることが示唆された。mPGES の特異的阻害は肝細胞癌の発育、再発の抑制に対して効果がある可能性が示唆された。

共同研究者

阿比留正剛 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
瀧井 康 九州大学大学院病態修復内科学  
右田 清志 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
伊東 正博 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
中村 稔 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
八橋 弘 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
谷口 堅 長崎医療センタ-臨床研究センタ-  
藤岡ひかる 長崎医療センタ-臨床研究センタ-

A. 研究目的

肝細胞癌は癌治療後も高率に再発する性質を有する。そのため、再発の影響を与える因子を明らかにし、それをターゲットとした再発防止策をとることは、肝癌患者の予後改善を目指す上で重要なことである。microsomal Prostaglandin E2 synthase (mPGES)はいくつかの癌において発現の増強がみられることが報告されており、癌の進展と関係することが推察される。しかし、本酵素の発現に関して肝細胞癌において検討された報告はまだなされていない。我々は、今年度の計画として、肝癌再発において chemoprevention として mPGES 阻害の可能性を探る目的で、肝癌組織での mPGES の発現を検討した。

B. 研究方法

当院での肝細胞癌の剖検例および手術で摘出された肝癌組織を用いて、mPGES の免疫化学染色を行った。さらに western blotting による mPGES タンパクの確認、real time PCR 法による mRNA の定量化を行った。

(倫理面への配慮)

検体の採取に関しては、採取前に患者からインフォームド・コンセントを得た。検体の処理にあたっては、匿名化し、患者が特定できないようにした。

C. 研究結果

免疫化学染色では背景肝組織に比し肝癌組織において発現の増強を認めた。特に中分化癌、低分化癌において発現の増強が認められた。Western blotting でも mPGES タンパクの発現がみられ、real time PCR 法では、mRNA の発現が肝細胞癌、特に中分化癌、低分化癌で増強していた。

D. 考察

COX-2 の発現は高分化肝細胞癌において最も増強し中分化、低分化癌で低下すると報告され

ていたが、mPGES はより分化度が低いほうが高発現であり、癌の増殖と mPGES の発現増強の関連が示唆された。PGE2 産生において、より下流のステップに存在する酵素の阻害を行った方がより特異的な効果を得ることができるため、より上流に位置する酵素である COX-2 を阻害した際にみられる PGI<sub>2</sub> 等の有益な産物の産生が抑制されない点、副作用が少ない、より特異的な効果を得ることができると考えられる。

#### E. 結論

肝細胞癌の増殖と mPGES 発現の関連が示唆され、mPGES の特異的阻害は、発癌そのものには効果は期待できないにしても、肝細胞癌の発育および再発の抑制に対しては効果がある可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

論文発表 未

学会発表 未

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

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)  
分担研究報告書

予後改善を目指した肝臓がん再発に影響を与える因子に関する研究

分担研究者 村松正明 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授

研究要旨：C型肝炎は長期罹患により肝硬変、肝臓がんへと進展する重篤な慢性感染症である。一方、C型肝炎ウイルス（HCV）感染の急性期には自然緩解を起こすことも知られている。形質転換成長因子（TGF $\beta$ ）はC型肝炎の慢性期における肝臓繊維化、肝臓がん発症の過程で重要な役割を担っている事が既に知られていたが、今回、感染初期における自然緩解の過程にも関係していることを示唆する結果が得られた。

A. 研究目的

C型肝炎は長期罹患により肝硬変、肝臓がんへと進展する重篤な慢性感染症である。一方、C型肝炎ウイルス（HCV）感染の急性期には、頻度は低いものの、自然緩解を起こす例がある事が知られている。自然緩解は一度慢性化したC型肝炎で起こす事はほとんどなく、感染初期に起こるとされている。自然緩解の経過を辿る要因としては、ウイルスの暴露量やその亜型など、種々の要因が考えられるが、その一つには宿主側の遺伝的背景があることが考えられる。そこで、これに関与する遺伝子多型を調査することにより、C型肝炎が成立するための分子機構に関する知見を得ることを目的とした。

B. 研究方法

（倫理面への配慮）

C型肝炎感染の既往がある、抗HCV抗体陽性の患者を収集し、その中でHCVRNA陽性群およびHCVRNA陰性群の患者を対象とした。患者は山形大学第二内科（河田教授）の協力を得て行った。本研究は山形大学および東京医科歯科大学難治疾患研究所の倫理委員会の承認を得て行われ、インフォームドコンセントを文書で得る事のできた患者を対象とした。

候補遺伝子として、今回は形質転換成長因子（TGF $\beta$ ）遺伝子を検討した。TGF $\beta$ はC

型肝炎の慢性期における肝臓繊維化、肝臓がん発症の過程で重要な役割を担っている事が既に知られている。また細胞増殖や免疫抑制作用が知られているが、HCV感染初期における自然緩解の過程にも関係しているかどうかは明らかではない。TGF $\beta$ の機能的SNPはプロモーター中にある-509C/Tおよびシグナルペプチド中にあり、アミノ酸変化を伴うLeu10Proを用いた。SNP解析はTaqman法あるいはダイレクトシーケンス法で行った。統計解析はSASver.9.1.3で行った。またTGF $\beta$ のプロモーター活性を検討するために-509Cおよび-509Tのアレルを持つルシフェラーゼレポーター遺伝子を作製し、HepG2肝臓由来細胞株に導入して検討した。

C. 研究結果

230名の抗HCV抗体陽性者のうち184名がHCVRNA陽性、46名HCVRNA陰性でTGF $\beta$ 遺伝子多型をタイピングした。-509Cのアレルおよび-509CCの遺伝子型はともにHCV抗原陰性患者に有意に多く認められた（ $p=0.01$ ）。-509C/TとLeu10Proはほぼ完全な連鎖不平衡にあった。またルシフェラーゼアッセイの結果、-509Cアレルを持つプロモーターの方が-509Tアレルを持つプロモーターより有意に転写活性が弱かった。

#### D. 考察

TGF $\beta$ の遺伝子多型-509C/TはHCV感染における自然緩解と関連する事が示された。-509Cアレルを持っている者の方が、また-509CC遺伝子型を持っている者が有意に自然緩解を起こしやすい。-509Cアレルは-509Tより転写活性が低く、-509Cアレルと連鎖不平衡にあるPro10はLeu10よりも分泌能が低いことが知られている。従って、このふたつのSNPにより、TGF $\beta$ は高発現群と低発現群に分けられる。本結果はTGF $\beta$ 低発現群の方が高発現群に比べてHCV感染の自然緩解が起こりやすい事を示している。TGF $\beta$ はリンパ球やNK細胞に働きかけて、強力な免疫細胞抑制作用を有することが知られている。HCV感染初期に起こる免疫応答がTGF $\beta$ 高発現群では、抑制されるために感染の慢性化が起こるものと予想された。

#### E. 結論

HCV感染の自然緩解がTGF $\beta$ 遺伝子多型と相関していることが明らかとなった。これはTGF $\beta$ がHCV感染の慢性期のみならず急性期にも臨床経過に影響を及ぼすことを示唆している。詳細な分子機構の解明が必要である。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表（論文発表）

Kimura T, Saito, T, Yoshimura M, Song Y, Baba M, Ji. G, Muramatsu M.\* Kawata S. Association of transforming growth factor beta1 functional polymorphism with natural clearance of hepatitis C virus (2006) J. Infect. Dis. *in press*

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得：なし

実用新案登録：なし

その他：なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Omata M.	Modalities of prevention of recurrence after tumor ablation/resection of HCC.	J Gastroenterol Hepatol	19	S270-S271	2004
Omata M, Yoshida H, Shiratori Y.	Prevention of hepatocellular carcinoma and its recurrence in chronic hepatitis C patients by interferon therapy.	Clin Gastroenterol Hepatol	3	S141-143	2005
Liaw YF, Leung N, Guan R, Lau GK, Merican I, McCaughan G, Gane E, Kao JH, Omata M; for the Asian-Pacific consensus update working party on chronic hepatitis B.	Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update.	Liver Int	25	472-489	2005
Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, Ishikawa T, Koike Y, Yoshida H, Kawabe T, Omata M.	A randomized controlled trial of radiofrequency ablation with ethanol injection for small hepatocellular carcinoma.	Gastroenterology	129	122-130	2005
Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M.	Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma.	Cancer	103	1201-1209	2005
Yamashiki N, Tateishi R, Yoshida H, Shiina S, Teratani T, Sato S, Mine N, Kondo Y, Kawabe T, Omata M.	Ablation therapy in retaining extent of hepatocellular carcinoma: A simulative analysis of dropout from the waiting list for liver transplantation.	Liver Transplant	11	508-514	2005
Tateishi R, Yoshida H, Shiina S, Imamura H, Hasegawa K, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Makuuchi M, Omata M.	Proposal of a new prognostic model for hepatocellular carcinoma: an analysis of 403 patients.	Gut	54	419-425	2005
Akamatsu M, Ishikawa T, Shiratori Y, Koike Y, Shiina S, Teratani T, Hamamura K, Obi S, Sato S, Tateishi R, Fujishima T, Imai Y, Yoshida H, Omata M.	Factors predisposing to poorly differentiated hepatocellular carcinoma and its recurrence.	Heptogastroenterology	52	391-397	2005
Kato N, Ji G, Wang Y, Baba M, Hoshida Y, Otsuka M, Taniguchi H, Moriyama M, Dharel N, Goto T, Shao RX, Matsuura T, Ishi K, Shiina S, Kawabe T, Muramatsu M, Omata M.	Large-scale search of single nucleotide polymorphisms for hepatocellular carcinoma susceptibility genes in patients with hepatitis C.	Hepatology	42	846-853	2005
Nouso K, Shiraga K, Uematsu S, Okamoto R, Harada R, Takayama S, Kawai W, Kimura S, Ueki T, Okano N, Nakagawa M, Mizuno M, Araki Y, Shiratori Y, Omata M.	Prediction of the ablated area by the spread of microbubbles during radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma..	Liver Int	258	967-972	2005
Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, Imazeki F, Nakata R, Tanaka N, Arakawa Y, Hashimoto E, Hirota K, Yoshida H, Ohashi Y, Omata M.	Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival.	Ann Intern Med	142	105-114	2005
Tanaka H, Iwasaki Y, Nouso K, Kobayashi Y, Nakamura S, Matsumoto E, Toshikuni N, Kaneyoshi T, Ohsawa T, Takaguchi K, Fujio K, Senoh T, Ohnishi T, Sakaguchi K, Shiratori Y.	Possible contribution of prior hepatitis B virus infection to the development of hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol Hepatol	20	850-856	2005
Akamatsu M, Yoshida H, Shiina S, Teratani T, Obi S, Tateishi R, Mine N, Kondo Y, Kawabe T, Omata M.	Pre- or post-tumor ablation interferon therapy prolongs the survival of patients with C viral- hepatocellular carcinoma.	Liver Int		In press	2006

## Modalities of prevention of recurrence after tumor ablation/resection of HCC

MASAO OMATA

Department of Gastroenterology, University of Tokyo, Japan

**Abstract** Hepatocellular carcinoma (HCC) is now the third cause of death in Japan. For the last 20–30 years, there has been an exponential increase of HCC and now reaching 34,000 death a year. Approximately 80% of those are due to hepatitis C virus (HCV) infection, and 10–20% due to hepatitis B virus (HBV). Thus, we need to find a better way of prevention from infection to development of HCC. By understanding the ‘natural’ course of the infection, we may find the strategies to prevent HCC (primary prevention), and also to prevent the recurrence in patients who already developed HCC (secondary prevention). This will drastically reduce the incidence of HCC, and prolong the patients’ life.  
© 2004 Blackwell Publishing Asia Pty Ltd

**Key words:** HCV, HBV, HCC, prevention.

### INTRODUCTION

In Japan, hepatitis C virus (HCV) is playing a key role in 80% and hepatitis B virus (HBV) in 10% of hepatocellular carcinoma (HCC).<sup>1</sup> It appears we can find the patients at high risk of HCC, and can be prevented by treating the virus infection.

### PRIMARY PREVENTION OF HCC

The effectiveness of interferon therapy against hepatitis C virus infection was shown in many studies including ours.<sup>2,3</sup> In Japan, by the 6-months protocol of interferon monotherapy, about 30% of the treated patients showed sustained virologic response. Factors to predict the response were now agreed and that serum low virus load and non-1b HCV genotypes were easy to be treated.<sup>4,5</sup>

In 1994, we set up a national surveillance program for HCC development among chronic hepatitis C patients and enrolled about 2900 biopsy-proven cases. Two thousand and four hundred of them received interferon treatment, showing a sustained virologic response rate of 33% on average.<sup>2,5–7</sup> The risk of HCC was reduced by half among the interferon-treated patients as a whole, and down to one-fifth among sustained virologic responders. We also confirmed histologically the resolution of cirrhosis following sustained virologic response and the calculated rate of fibrosis regression rate was 0.28 fibrosis stage per year.<sup>5</sup>

### SECONDARY PREVENTION OF HCC

Complete removal of HCC nodules can be achieved by surgical resection or by medical ablation. However, recurrence is frequent even after with curative treatment. The recurrence rate does not decline, or rather increase with time, after initial treatments.<sup>8,9,10</sup> Most cases of late-phase recurrence are thought to be *de novo*, because the non-neoplastic portion of the liver is often fibrotic and still carry the high risk of the cancer. In fact, the recurrence rate can be as high as 15–30% per year.

Liver transplantation can be a solution for this problem. Another measure could be a medical one. After the complete ablation of HCV-related HCC, we treated 49 patients with interferon.<sup>11</sup> The rate of first recurrence of HCC did not differ between the interferon-treated patients and untreated controls. The recurrence was vigorously treated with ethanol ablation in each patient. The rates of second or third recurrence were different between the two groups. The interferon-treated patients as a whole had a survival rate of 68% at 5 years and 53% at 7 years whereas untreated patients had a survival rate of 48% at 5 years and 23% at 7 years. Survival rates in sustained virologic responders were 78% at 5 years and 68% at 7 years. These results suggested that *de novo* occurrence of HCC was suppressed along with the resolution of liver fibrosis by antiviral treatment. Interferon and ribavirin therapy may facilitate better favorable prognosis if combined with curative ablation therapy or surgery.



## CHEMO PREVENTION OF HCC

Besides antiviral treatment, another approach to prevent HCC is taken in several groups. Retinoid is well known for prevention of HCC.<sup>12</sup> Recent data indicate that Vitamin K2 might prevent the development of HCC. Recently, we found that Protein Kinase A plays a key role in the action of Vitamin K.<sup>13</sup>

## CONCLUSIONS

After curative treatment of HCC, still the recurrence rate is as high as 15–30% per year. The treatment of HCC should include the appropriate measures to prevent the recurrence to improve patients' prognosis.

## REFERENCES

- 1 Shiratori Y, Shiina S, Imamura M *et al.* Characteristic difference of hepatocellular carcinoma between hepatitis-B and -C viral infection in Japan. *Hepatology* 1995; **22**: 1027–33.
- 2 Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M *et al.* Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Ann. Intern. Med.* 1999; **131**: 174–81.
- 3 Omata M, Yokosuka O, Takano S *et al.* Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991; **338**: 914–15.
- 4 Hoofnagle JH, Di Bisceglie AM. The treatment of chronic viral hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 1997; **336**: 347–56.
- 5 Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M *et al.* Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann. Intern. Med.* 2000; **132**: 517–24.
- 6 Yoshida H, Arakawa Y, Sata M *et al.* Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2002; **123**: 483–91.
- 7 Shiratori Y, Kato N, Yokosuka O *et al.* Predictors of the efficacy of interferon therapy in chronic hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 1997; **113**: 558–66.
- 8 Takano S, Yokosuka O, Imazeki F, Tagawa M, Omata M. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B and C: a prospective study of 251 patients. *Hepatology* 1995; **21**: 650–5.
- 9 Sakon M, Umeshita K, Nagano H *et al.* Clinical significance of hepatic resection in hepatocellular carcinoma: analysis by disease-free survival curves. *Arch. Surg.* 2000; **135**: 1456–9.
- 10 Shiina S, Tagawa K, Niwa Y *et al.* Percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma: results in 146 patients. *A. J. Roentogenol.* 1993; **160**: 1023–8.
- 11 Shiratori Y, Shiina S, Teratani T *et al.* Interferon therapy after tumor ablation improves prognosis in patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Ann. Intern. Med.* 2003; **138**: 299–306.
- 12 Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M *et al.* Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1996; **334**: 1561–7.
- 13 Otsuka M, Kato N, Shao RX *et al.* Vitamin K2 inhibits the growth and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells via protein kinase A activation. *Hepatology* 2004; **40**: 243–51.

## Prevention of Hepatocellular Carcinoma and Its Recurrence in Chronic Hepatitis C Patients by Interferon Therapy

MASAO OMATA, HARUHIKO YOSHIDA, and YASUSHI SHIRATORI

Department of Gastroenterology, University of Tokyo Graduate School of Medicine, Tokyo, Japan

Chronic hepatitis C is a leading cause of hepatocellular carcinoma (HCC) worldwide. Prevention of chronic hepatitis C-related HCC is one of the most important issues in current hepatology. We conducted 2 cohort studies, one among patients with chronic hepatitis C mostly without cirrhosis and another among those with compensated cirrhosis, to confirm the prevention of HCC by interferon. We also conducted a randomized controlled study among patients with HCV-related HCC treated completely by ablation to examine the effect of interferon therapy on prognosis. With the chronic hepatitis C cohort, we showed that the risk of HCC development, which was strongly associated with the stage of liver fibrosis, age, and gender, was reduced by interferon therapy to one fifth among sustained virologic responders compared with untreated patients. Life expectancy was also significantly prolonged. The benefit of interferon therapy was greater among those with the higher risk of HCC. We confirmed efficacy in HCC-prevention in the second study among patients with compensated cirrhosis who received interferon therapy. The third study among HCC patients who had received complete tumor ablation showed that interferon therapy was associated with better survival, primarily as a result of the preservation of liver function and also probably prevention of recurrence. We have shown beneficial effects of interferon therapy on HCC prevention and liver function preservation. They were the strongest in sustained virologic responders. Further improvement in prognosis may be expected in the future because the current combination therapy of pegylated interferon and ribavirin shows higher efficiency than interferon alone.

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignancies in Japan and elsewhere in the world. Currently about 80%–90% of HCC patients in Japan have HCV infection. Although no vaccine is currently available to prevent HCV infection, we can prevent acute HCV infection from becoming chronic by interferon administration.<sup>1–3</sup> However, once it becomes chronic, chronic hepatitis C progresses slowly but steadily to cirrhosis and might eventually lead to HCC. The annual incidence of HCC among HCV-positive cirrhotic patients has been reported to be 1.4%–3.3% in Europe and the

United States and 5%–7% in Japan.<sup>4–8</sup> Although the reason for the geographical difference has not been fully elucidated, certain risk factors for HCC, such as the age and gender of patients, might have played a role. Increasing incidence of HCC has been reported in European countries and the United States recently.<sup>9</sup> With the higher incidence of HCC, we have stood the better chance of evaluating the inhibitory effect of interferon therapy on HCC development. In this report, we will summarize our cohort studies conducted in Japan on the prevention of HCC by interferon therapy, including the inhibition of HCC recurrence.

### Methods

We have published several articles on HCC prevention by analyzing data obtained in 3 distinct studies. The first cohort study consisted of approximately 3000 consecutive chronic hepatitis C patients who underwent liver biopsy at 1 of the 8 institutions in Japan that participated in a national surveillance program for HCC development (University of Tokyo, Chiba University, Nihon University, Osaka City University, Kawasaki Medical College, Kumamoto University, Kurume University, and Nagasaki Medical Center). This study, conducted by the Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy Study Group, was set up in 1994 and supported by the former Ministry of Health and Welfare of Japan. About 2400 patients subsequently received interferon therapy, and a sustained virologic response was achieved in one third of them. The remaining patients were left untreated for various reasons. We have already published 4 articles based on the analyses of this cohort.<sup>4,10–12</sup>

When interferon therapy against chronic hepatitis C was licensed in 1992 in Japan, the antiviral therapy was (and still is) contraindicated for patients with cirrhosis. However, it seems obvious, at least to us, that patients with compensated cirrhosis, with the highest risk for HCC development, are the best candidates for the therapy. Thus, we conducted the second cohort study to evaluate the efficacy and safety of interferon therapy on compensated cirrhotic hepatitis C patients. We

---

Abbreviations used in this paper: HCC, hepatocellular carcinoma.  
 © 2005 by the American Gastroenterological Association  
 1542-3565/05/\$30.00  
 PII: 10.1053/S1542-3565(05)00713-5

focused on the effect of interferon therapy on HCC prevention also in this study. This study was started in 1996 as a multicenter study with 25 participating institutions, named the Tokyo-Chiba Hepatitis Research Group, enrolling 271 compensated cirrhotic patients who received interferon therapy and 74 who did not. Three articles have been published on the basis of this cohort study.<sup>13-15</sup>

The survival of HCC patients has been substantially improved recently as a result of the advances in medical and surgical treatments. Nevertheless, prognosis of HCC patients is strongly marked by frequent recurrence, even after apparently curative medical or surgical treatment. Consequently, we strongly advocate that the goal of HCC treatment should include effective prevention of recurrence. The third study was started as a randomized controlled study with HCV-positive HCC patients who received complete percutaneous ablation therapy at the Department of Gastroenterology, University of Tokyo Hospital, and subsequently underwent interferon therapy ( $n = 49$ ) or did not ( $n = 25$ , control subjects). Considering the antiviral efficacy of interferon therapy at the time, only those patients with low to moderate HCV load were selectively enrolled. We have published one article on the effect of interferon therapy on prognosis studied among this cohort.<sup>16</sup>

## Results

### Chronic Hepatitis C Cohort

In the article we published in 1999,<sup>4</sup> we demonstrated that (1) the stage of liver fibrosis (advanced > mild), age (old > young), and gender (male > female) were independent strong risk factors of HCC; (2) interferon therapy, with the observed sustained response rate of 33.5%, reduced the risk of HCC by half; and (3) the risk was further reduced, down to one fifth, when analyzed exclusively among sustained virologic responders. The risk reduction was the most prominent among patients at stage F3, followed by those at F2, at F4, and at F1, in the order of strength. Although the risk of HCC was the highest among F4 patients, they exhibited low sustained response rate and consequently low-risk reduction, showing a limitation of conventional therapy. We subsequently demonstrated that interferon therapy significantly prolonged survival by reducing the incidence of both HCC and hepatic failure.<sup>11</sup> We also showed evidence of histologic improvement of the liver in sustained virologic responders.<sup>10</sup>

### Cirrhotic Cohort

Cirrhotic patients exhibited lower sustained response rate, 64 of 271 (23.6%), compared with the Inhibition of Hepatocarcinogenesis by Interferon Therapy cohort consisting mainly of noncirrhotic patients. Nevertheless, during the mean follow up of 6.8 years, the

cumulative incidence of HCC significantly differed between the interferon-treated group as a whole and the control subjects, showing an adjusted relative risk of 0.54 (95% confidence interval, 0.33–0.89).<sup>15</sup> The effect was much stronger among sustained virologic responders with a relative risk of 0.05 (95% confidence interval, 0.006–0.34) against untreated patients. Survival was also significantly better in the interferon-treated group. There was no liver-related death (those caused by HCC, liver failure, or varix rupture) among 64 sustained responders, in contrast to the fact that 19 of 74 untreated patients died of liver-related causes.

### Hepatocellular Carcinoma Cohort

Among this cohort, 49 patients received interferon therapy after complete ablation of all HCC lesions, of whom 14 (28.6%) showed sustained virologic response and another 21 had sustained biochemical response, ie, persistent normalization of serum aminotransferase level.<sup>16</sup> During the observation period of 7.1 years on average, the cumulative HCC recurrence did not differ significantly between the interferon-treated and untreated groups, although there was a trend of divergence between the cumulative recurrence curves of the 2 groups after 2 years of treatment. However, cumulative survival did differ significantly between the 2 groups. In particular, sustained virologic responders showed excellent survival rates of 86% at 3 years, 78% at 5 years, and 68% at 7 years. The survival curves seemed to diverge further in the late phase.

## Discussion

Chronic HCV infection is the major cause of HCC in Japan and various countries in the world. Horizontal transmission of HCV passed its peak decades ago in Japan<sup>17</sup> and seems to be doing so in most countries, but it is estimated that about 170 million people worldwide have chronic hepatitis C. We have shown that interferon therapy reduces the risk of HCC among chronic hepatitis C patients. The effect was also shown among compensated cirrhotic patients, although sustained virologic response rate was low compared with noncirrhotic patients. In addition, progression to hepatic failure was also inhibited by interferon therapy. Taken together, interferon therapy led to improved life expectancy by reducing liver-related deaths, HCC, and liver failure, whereas liver-unrelated deaths remained unchanged. Interferon therapy was also shown to improve survival when administered to HCC patients after complete ablation of primary HCC by preserving liver function and probably by also inhibiting recurrence. We used conventional

interferon monotherapy in the previous studies mentioned here. Because the beneficial effect of interferon therapy was stronger by far in virologic sustained responders than in nonresponders, current antiviral therapy, namely the combination of pegylated interferon and ribavirin, can be expected to improve prognosis of patients much more.

### Conclusions

We have demonstrated that interferon therapy improves prognosis of HCV-positive patients in any of the following 3 stages, chronic hepatitis without cirrhosis, compensated cirrhosis, and complicated with HCC, through 3 successive cohort studies.

### References

1. Omata M, Yokosuka O, Takano S, et al. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural beta interferon. *Lancet* 1991;338:914-915.
2. Jaeckel E, Cornberg M, Wedemeyer H, et al. Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med* 2001;345:1452-1457.
3. Nomura H, Sou S, Tanimoto H, et al. Short-term interferon-alfa therapy for acute hepatitis C: a randomized controlled trial. *Hepatology* 2004;39:1213-1219.
4. Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, et al. Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program in Japan of cirrhotic and non-cirrhotic patients with chronic hepatitis C. *Ann Intern Med* 1999;131:174-181.
5. Nishiguchi S, Shiomi S, Nakatani S, et al. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. *Lancet* 2001;357:196-197.
6. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463-472.
7. Niederau C, Lange S, Heintges T, et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a larger, prospective cohort study. *Hepatology* 1998;28:1687-1695.
8. Serfaty L, Aumaitre H, Chazouilleres O, et al. Determinants of outcome of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology* 1998;27:1435-1440.
9. El-Serag HB, Davila JA, Petersen NJ, et al. The continuing increase in the incidence of hepatocellular carcinoma in the United States: an update. *Ann Intern Med* 2003;139:817-823.
10. Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, et al. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann Intern Med* 2000;132:517-524.
11. Yoshida H, Arakawa Y, Sata M, et al. Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology* 2002;123:483-491.
12. Yoshida H, Tateishi R, Arakawa Y, et al. Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. *Gut* 2004;53:425-430.
13. Shiratori Y, Yokosuka O, Nakata R, et al. Prospective study of interferon therapy for compensated cirrhotic patients with chronic hepatitis C by monitoring serum hepatitis C RNA. *Hepatology* 1999;29:1573-1580.
14. Shiratori Y, Moriyama M, Imazeki F, et al. A prospective study of interferon therapy modified by pre-treatment viral load in cirrhotic patients. *Liver* 2000;20:271-280.
15. Shiratori Y, Ito Y, Yokosuka O, et al. Antiviral therapy for cirrhotic hepatitis C: association with reduced hepatocellular carcinoma development and improved survival. *Ann Intern Med* 2005;142:105-114.
16. Shiratori Y, Shiina S, Teratani T, et al. Interferon therapy after tumor ablation improves prognosis in patients with hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Ann Intern Med* 2003;138:299-306.
17. Yoshizawa H. Hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus infection in Japan: projection to other countries in the foreseeable future. *Oncology* 2002;62:8-17.

---

Address requests for reprints to: Masao Omata, MD, PhD, Department of Gastroenterology, University of Tokyo Graduate School of Medicine, Hongo 7-3-1, Bunkyo-Ku, Tokyo 113-8655, Japan. e-mail: omata-2im@h.u-tokyo.ac.jp; fax: +81-3- 3815-5411 8235.

Dr Shiratori's current affiliation is Department of Gastroenterology, Hepatology, and Infectious Diseases, Okayama University Graduate School of Medicine and Dentistry.