

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

L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした肝細胞癌のサーベイランスの有用性に関する研究

平成 17 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 青柳 豊

平成 18 (2006) 年 4 月

目次

I. 総括研究報告

- L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした肝細胞癌の
サーベイランスの有用性に関する研究 ————— 1
主任研究者 青柳 豊 新潟大学大学院医歯学総合研究科消化器内科学教授

II. 分担研究報告

1. L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした肝細胞癌の
サーベイランスの有用性に関する研究 ————— 7
分担研究者 恩地 森一 国立大学法人愛媛大学消化器内科教授
2. L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした肝細胞癌の
サーベイランスの有用性に関する研究 ————— 11
分担研究者 田中 榮司 国立大学法人信州大学消化器内科助教授
3. L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした肝細胞癌の
サーベイランスの有用性に関する研究 ————— 15
分担研究者 高木 均 国立大学法人群馬大学病態制御内科助教授

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ————— 18

IV. 研究成果の刊行物・別刷 ————— 24

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

AFP-L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした
肝細胞癌のサーベイランスの有用性に関する研究

主任研究者 青柳 豊 新潟大学大学院医歯学総合研究科 消化器内科学分野 教授

研究要旨

本研究においては、本邦における年間 34,000 人余りの肝癌患者の約 70%を占める AFP 産生性肝癌に対して、治療前後の AFP-L3 分画ならびに血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の動きに基づき治療法を選択し、肝癌患者の予後改善を図ることを目的とする。本方式による肝癌治療のアルゴリズムの確立は、肝癌の予後改善に寄与するとともに、これらを基盤とした適切な治療程度の確保と治療回数の減少は、結果として在院日数の短縮や医療費削減に寄与すると考えられる。平成 17 年度は肝細胞癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きに治療前後の AFP-L3 分画および PIVKA-II の多寡により生命予後を比較検討した。その結果、治療前 AFP-L3 分画および PIVKA-II が有意な予後規定因子であることが確認された。また、治療後、AFP-L3 分画陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 分画陰性化を得ることが重要であることが示唆された。一方、血流中癌細胞のテロメラーゼ活性とそれが肝癌患者予後に与える影響に関しては、新潟大学で行った約 70 症例の pilot study において、予後規定因子として重要であることが示唆されており、各分担研究施設においても前向きに症例の蓄積を行っている。

分担研究者

青柳 豊 : 新潟大学大学院医歯学総合研究科
消化器内科学 教授
恩地 森一 : 国立大学法人愛媛大学
消化器内科 教授
田中 榮司 : 国立大学法人信州大学
消化器内科 助教授
高木 均 : 国立大学法人群馬大学
病態制御内科 助教授

A. 研究目的

肝細胞癌の生物学的悪性度の指標である血清 AFP-L3 分画、血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の推移による肝癌患者の予後推定を確立する。これら 2 種の生物学的悪性度の指標を加えた新しい治療アルゴリズムの構築により、適切な治療程度の確保と治療回数の減少を指向し、肝癌患者の治療入院期間の短縮、結果としての在院日数の短縮や医療費削減への寄与を計る。

B. 研究方法

1) 今後の治療アルゴリズム樹立の指針とすべく、肝癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きにデータを集積し、治療前後の AFP-L3 分画の多寡による生命予後の差異を Kaplan-Meier 法で計算し、Log rank 検定で群間比較を行った。また、tumor stage や治療法と AFP-L3 分画との関連について検討を行った。

2) 1999 年 9 月から 2004 年 5 月までに新潟大学医学部附属病院で治療を受けた肝癌患者のうち、末梢血中癌細胞の有無を検索し予後追跡可能であった 67 例の生命予後を解析した。各症例は治療前に採血を行い、抗体付き磁気 beads で細胞を分離した後、RNA 抽出を行い cDNA を合成し β actin、*IL-2r*、*hTERT* の発現を PCR で確認した。*hTERT* および *IL-2r* 発現の有無により末梢血中癌細胞陽性群、非陽性群の 2 群に分け、累積生存率を Kaplan-Meier 法で計算し、Log rank 検定で群間比較を行った。更に Cox 比例ハザードモデルを用いて予後規定因子を検討した。

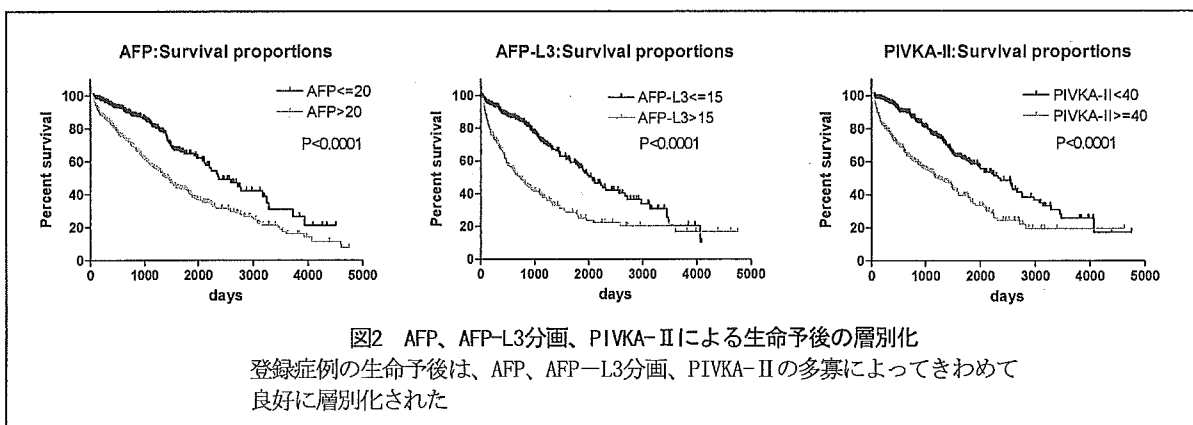
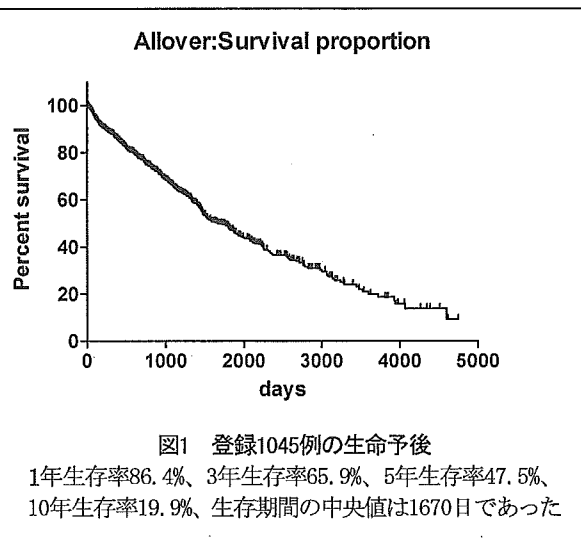
3) 2005 年 5 月からは前向きに肝癌症例を登録し、治療前および治療 2 ヶ月後の血清 AFP-L3 分画、血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の測定を開始した。

(倫理面への配慮)

対象症例のデータは連結可能匿名化を行った上で解析を行っており、本研究に関する倫理面への配慮については、本学の遺伝子倫理委員会の審議を経てその指針を受けている。

C. 研究結果

1) 登録された 1,045 例の生存率は、1 年生存率 86.4%、3 年生存率 65.9%、5 年生存率 47.5%、10 年生存率 19.9%、生存期間の中央値は 1670 日であった(図 1)。登録症例の生命予後は、Child-Pugh score、腫瘍 stage、JIS score 等できわめて良好に層別化されるとともに、AFP、AFP-L3 分画、PIVKA-II の多寡によって良好に層別化された(図 2)。

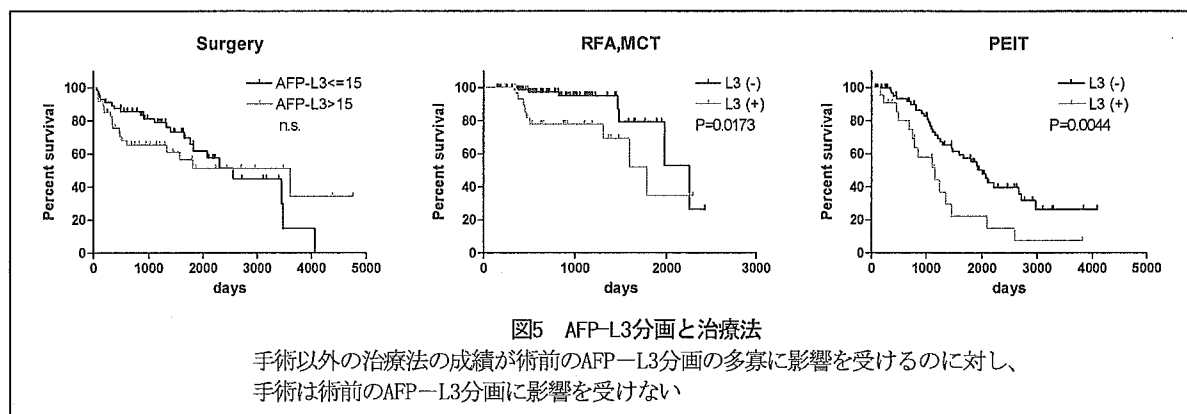
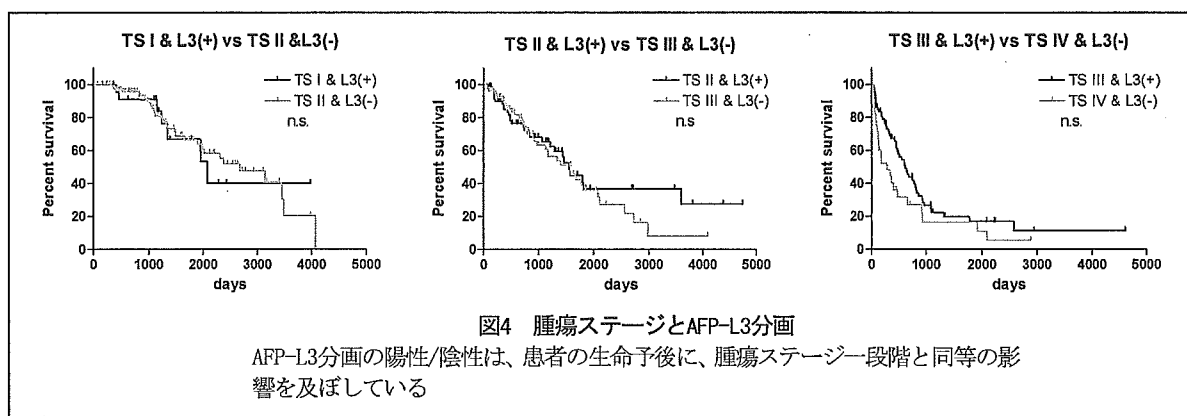
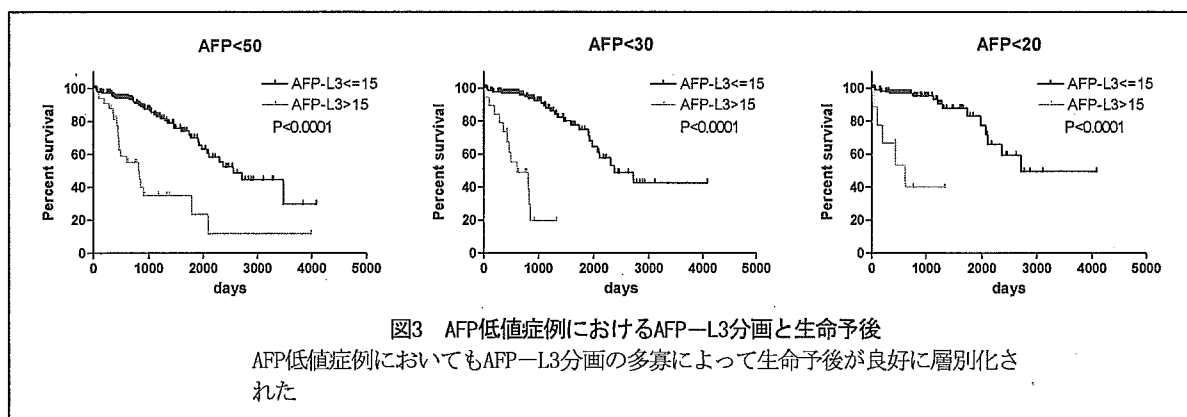


また、登録された症例のうち AFP 濃度の低い症例を抽出し、それぞれの AFP-L3 分画の多寡と生命予後との関連を検討したところ、AFP<50、AFP<30、AFP<20 のいずれの設定値においても、L3 陽性例の方が有意に ($p<0.0001$) 生命予後が悪かった (図 3)。

tumor stage II、IIIにおいては AFP-L3 分画の多寡が有意に生命予後に影響を及ぼしていた。一方 tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった。同様に tumor stage II かつ L3

陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった (図 4)。

治療法別に検討すると、手術以外の治療法の成績が術前の AFP-L3 分画の多寡に影響を受けるのに対し、手術は術前の AFP-L3 分画に影響を受けないことが明らかとなった (図 5)。また治療法にかかわらず、治療前の AFP-L3 分画が高値であっても、術後に AFP-L3 分画が低下した例では生命予後が改善することが分かった。



2) 67 症例中、末梢血中癌細胞陽性群は 29 例、非陽性群は 38 例 (治療後陰性化した 3 例を含む) であった。両群間の背景因子では年齢、性別、HBs 抗原陽性率、HCV 抗体陽性率、Child-Pugh 分類、および TNM 分類、治療法に有意差は認められなかった。全症例の累積生存率は末梢血中癌細胞陽性群、非陽性群の両群間で有意な差 ($p=0.012$) を認めた。TNM 分類による層別では tumor stage I-II 症例で両群間の生存率に有意差 ($p=0.018$) を認めたが、tumor stage III-IVb の進行した症例では有意差は認められず、両群は同様の累積生存率を示していた。Cox 比例ハザードモデルを用いた単変量解析では生存に寄与する因子として末梢血中癌細胞の有無 ($p=0.013$)、AFP 濃度 ($p=0.03$) と PIVKA-II 濃度 ($p=0.002$) および TNM 分類 ($p<0.0001$) が挙げられた。

3) 新潟大学医学部における 2006 年 3 月までの登録患者は 59 名であるが、治療前 AFP-L3 分画測定値と血流中肝細胞の有無には一定の傾向は認められていない。また、治療 2 ヶ月後にも両マーカーを測定した患者は 59 名中 33 名であるが、治療後のマーカーの陰性化と再発、生存率との比較検討については経過観察期間が短いためまだ行われていない。

D. 考察

今年度集積された 1,045 例のデータ解析から、治療前 AFP-L3 分画の多寡は肝細胞癌の治療予後を規定しており、有意な生命予後既定因子である事が示された。この結果は、新潟大学での予備的なデータと考え方を支持するものである。

さらに、同一症例群における tumor stage 別の生存率は tumor stage II、III、IV の間には明らかな生存率の差を認めているにもかかわらず、

3 群間の生存率に、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子を加味すると、以下の興味深い結果が得られた。すなわち、tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった事実である。同様に tumor stage II かつ L3 陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。この事は、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子が Tumor stage の一段階の進展と同等であると評価出来ることを示している。

また、今回の解析では治療後 AFP-L3 陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 陰性化を得ることが重要であることが示唆された。更に治療法別に詳しく検討すると、外科的切除のみが AFP-L3 分画の多寡に影響されない治療成績を残していることが明らかとなった。この事実は極めて重要であり、現在肝細胞癌治療の主流となりつつある RFA を含む経皮的局所療法やその他の動脈塞栓療法などでは、AFP-L3 分画陽性症例に対して十分な腫瘍制御が行えなかった事を示している。すなわち、治療前の腫瘍の評価 (腫瘍の局在、進展度) と制御予測に誤りがあった可能性が予想される。言い換えると、AFP-L3 分画陽性という

malignant biological behavior の評価と各種画像による腫瘍進展度の評価と治療選択に再考の余地が残されているものと考えられる。

一方、もう一つの生物学的悪性度の指標として着目したテロメラゼ発現の有無に基づく末梢血中癌細胞の検出に関しても、新潟大学での検討では末梢血中癌細胞陽性群、非陽性群の両群間で生命予後に有意な差を認め、特に stage I-II の比較的早期症例の生命予後予測に有用である可能性が示唆された。末梢血中癌細胞の

検出については解析症例数が少なく、今後の前向き検討において、その臨床的意義を再度確認する必要があるが、これら AFP-L3 分画を中心とした生物学的悪性度の指標を加味した新しい scoring system の確立は、画像診断中心の現在の肝細胞癌診断の弱点を補完する点で有意義であると考えられる。更にその scoring system を基盤とした肝癌患者の弁別と、それに基づく治療アルゴリズムを構築し妥当性を検証していく必要があると考えられる。

E. 結論

肝癌症例 1045 例の解析により肝癌患者の予後規定因子としての AFP-L3 分画の重要性が確認された。テロメラーゼ発現を指標とした末梢血中癌細胞の検出についても、新潟大学で行われた pilot study において予後規定因子としての重要性が示唆された。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tamura Y, Maruyama M, Mishima Y, Fujisawa H, Obata M, Kodama Y, Yoshikai Y, **Aoyagi Y**, Niwa O, Schaffner W and Kominami R. Predisposition to mouse thymic lymphomas in response to ionizing radiation depends on variant alleles encoding metal-responsive transcription factor-1 (*Mtf-1*), *Oncogene* 24, 399-406, 2005.
- 2) Kubota T, Yoshikai Y, Tamura Y, Mishima Y, **Aoyagi Y**, Niwa O, Kominami R. Comparison of properties of spontaneous and radiation-induced mouse thymic lymphoma:

role of Trp53 and radiation. *Radiation Res.*, 11:315-22, 2005.

- 3) Tsuchiya A, Heike T, Fujino H, Shiota M, Umeda K, Yoshimoto M, Matsuda Y, Ichida T, **Aoyagi Y**, Nakahata T. Long-term extensive expansion of mouse hepatic stem/progenitor cells in a novel serum-free culture system. *Gastroenterology*, 128(7):2089-104, 2005.
- 4) Soga K, Shibasaki K, **Aoyagi Y**, Effect of interferon on incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Hepato-Gastroenterology* 52:1154-1158, 2005.
- 5) Matsuda Y, Yamagiwa S, Takamura M, Honda Y, Ishimoto Y, Ichida T, **Aoyagi Y**. Overexpressed Id-1 is associated with a high risk of hepatocellular carcinoma development in patients with cirrhosis without transcriptional repression of p16. *Cancer* 104(5):1037-44, 2005.
- 6) Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, Okoshi S, Ichida T, **Aoyagi Y**. Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus-induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations. *J Gastroenterol Hepatol.* 20(3):441-9, 2005.
- 7) Sato Y, Yamamoto S, Oya H, Nakatsuka H, Kobayashi T, Takeishi T, Hirano K, Hara Y, Watanabe T, Waguri N, Suda T, Ichida T, **Aoyagi Y**, Hatakeyama K. Preoperative human-telomerase reverse transcriptase mRNA in peripheral blood and tumor recurrence in living-related liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*, 52(65):1325-1388, 2005.

- 8) Honma T, Sugimura K, Asakura H, Matsuzawa J, Suzuki K, Kobayashi M, Aoyagi Y. Leukocytapheresis is effective in inducing but not in maintaining remission in ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol*, 39(10):886-90, 2005.
 - 9) Tsubata S, Ebe K, Kawamura T, Ishimoto Y, Tomiyama-Miyaji C, Watanabe H, Sekikawa H, Aoyagi Y, Abo T. Protection against malaria by anti-erythropoietin antibody due to suppression of erythropoiesis in the liver and at other sites. *Immunol Cell Biol*. 2005;83(6):638-42
 - 10) 青柳 豊, 肝癌の腫瘍マーカー, 労働衛生管理 16:45-52, 2005.
 - 11) 青柳 豊, 肝細胞癌の腫瘍マーカー, “アルファフェトプロテイン(AFP)”その量から質への評価の変遷, *Frontiers in Gastroenterology* 10:14-29, 2005.
 - 12) 青柳 豊, 窪田智之, 肝癌の腫瘍マーカー, 広範囲血液・尿化学検査免疫学的検査—その数値をどう読むか—, 日本臨床 63 巻増刊号 8, 625-628, 2005.
 - 13) 青柳 豊, 肝細胞癌の腫瘍マーカー, 1. AFP と L3 分画, 臨床検査 49, 1211-1217, 2005.
2. 学会発表
 - 1) 見田 有作、五十嵐 正人、川合 弘一、小林 真、福原 康夫、須田 剛士、渡辺 雅史、大越 章吾、野本 実、青柳 豊：肝細胞癌(HCC)の予後階層下の因子としてのアルファフェトプロテイン(AFP)L3 分画ならびに PIVKA-II の臨床的意義. 日本消化器病学会総会. 2005.4.15.
 - 2) 五十嵐 正人、青柳 豊、見田 有作、川合 弘一、小林 真、福原 康夫、須田 剛士、渡辺 雅史、大越 章吾、野本 実：腫瘍マーカーによる肝細胞癌(HCC)の予後階層化、Biological staging の試み. 日本肝臓学会総会. 2005.6.16
 - 3) 野本 実、青柳 豊：肝生検組織像による肝細胞癌発癌危険度予測の検討. 日本消化器病学会大会. 2005.10.5
 - 4) 五十嵐 正人、須田 剛士、川合 弘一、見田 有作、福原 康夫、小林 真、青柳 豊、野本 実、(第一外科)白井 良夫、若井 俊文：肝細胞癌の肝内局在から見た治療成績の検討. 日本消化器関連学会週間. 2005.10.4
 - H. 知的財産権の出願・登録状況
 1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

AFP-L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした
肝細胞癌のサーベイランスの有用性に関する研究

分担研究者 恩地 森一 国立大学法人愛媛大学 消化器内科 教授

研究要旨

本研究においては、本邦における年間 34,000 人余りの肝癌患者の約 70%を占める AFP 産生性肝癌に対して、治療前後の AFP-L3 分画ならびに流血中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の動きに基づき治療法を選択し、肝癌患者の予後改善を図ることを目的とする。本方式による肝癌治療のアルゴリズムの確立は、肝癌の予後改善に寄与するとともに、これらを基盤とした適切な治療程度の確保と治療回数の減少は、結果として在院日数の短縮や医療費削減に寄与すると考えられる。平成 17 年度は肝細胞癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きに治療前後の AFP-L3 分画および PIVKA-II の多寡により生命予後を比較検討した。その結果、治療前 AFP-L3 分画および PIVKA-II が有意な予後規定因子であることが確認された。また、治療後、AFP-L3 分画陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 分画陰性化を得ることが重要であることが示唆された。

A. 研究目的

肝細胞癌の生物学的悪性度の指標である血清 AFP-L3 分画、血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の推移による肝癌患者の予後推定を確立する。これら 2 種の生物学的悪性度の指標を加えた新しい治療アルゴリズムの構築により、適切な治療程度の確保と治療回数の減少を指向し、肝癌患者の治療入院期間の短縮、結果としての在院日数の短縮や医療費削減への寄与を計る。

B. 研究方法

1) 今後の治療アルゴリズム樹立の指針とすべく、肝臓症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大

学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きにデータを集積し、治療前後の AFP-L3 分画の多寡による生命予後の差異を Kaplan-Meier 法で計算し、Log rank 検定で群間比較を行った。また、tumor stage や治療法と AFP-L3 分画との関連について検討を行った。
(倫理面への配慮)
対象症例のデータは連結可能匿名化を行った上で解析を行っており、本研究に関する倫理面への配慮については、本学の遺伝子倫理委員会の審議を経てその指針を受けている。

C. 研究結果

登録された 1,045 例の生存率は、1 年生存率 86.4%、3 年生存率 65.9%、5 年生存率 47.5%、10 年生存率 19.9%、生存期間の中央値は 1670 日であった。登録症例の生命予後は、Child-Pugh score、腫瘍 stage、JIS score 等できわめて良好に層別化されるとともに、AFP、AFP-L3 分画、PIVKA-II の多寡によって良好に層別化された。

また、登録された症例のうち AFP 濃度の低い症例を抽出し、それぞれの AFP-L3 分画の多寡と生命予後との関連を検討したところ、AFP<50、AFP<30、AFP<20 のいずれの設定値においても、L3 陽性例の方が有意に ($p<0.0001$) 生命予後が悪かった。

tumor stage II、IIIにおいてはAFP-L3分画の多寡が有意に生命予後に影響を及ぼしていた。一方 tumor stage Iかつ L3 陽性症例と tumor stage IIかつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった。同様に tumor stage IIかつ L3 陽性症例と tumor stage IIIかつ L3 陰性症例、tumor stage IIIかつ L3 陽性症例と tumor stage IVかつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。

治療法別に検討すると、手術以外の治療法の成績が術前の AFP-L3 分画の多寡に影響を受けるのに対し、手術は術前の AFP-L3 分画に影響を受けないことが明らかとなった。また治療法にかかわらず、治療前の AFP-L3 分画が高値であっても、術後に AFP-L3 分画が低下した例では生命予後が改善することが分かった。

D. 考察

今年度集積された 1,045 例のデータ解析から、治療前 AFP-L3 分画の多寡は肝細胞癌の治療予後を規定しており、有意な生命予後既定因子である事が示された。この結果は、新潟大学での予備的なデータと考え方を支持するものであ

る。

さらに、同一症例群における tumor stage 別の生存率は tumor stage II、III、IVの間には明らかな生存率の差を認めているにもかかわらず、3 群間の生存率に、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子を加味すると、以下の興味深い結果が獲られた。すなわち、tumor stage Iかつ L3 陽性症例と tumor stage IIかつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった事実である。同様に tumor stage IIかつ L3 陽性症例と tumor stage IIIかつ L3 陰性症例、tumor stage IIIかつ L3 陽性症例と tumor stage IVかつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。この事は、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子が Tumor stage の一段階の進展と同等であると評価出来ることを示している。

また、今回の解析では治療後 AFP-L3 陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 陰性化を得ることが重要であることが示唆された。更に治療法別に詳しく検討すると、外科的切除のみが AFP-L3 分画の多寡に影響されない治療成績を残していることが明らかとなった。この事実は極めて重要であり、現在肝細胞癌治療の主流となりつつある RFA を含む経皮的局所療法やその他の動脈塞栓療法などでは、AFP-L3 分画陽性症例に対して十分な腫瘍制御が行えなかった事を示している。すなわち、治療前の腫瘍の評価（腫瘍の局在、進展度）と制御予測に誤りがあった可能性が予想される。言い換えると、AFP-L3 分画陽性という

malignant biological behavior の評価と各種画像による腫瘍進展度の評価と治療選択に再考の余地が残されているものと考えられる。

一方、もう一つの生物学的悪性度の指標として着目したテロメラーゼを指標とした末梢血中癌細胞の検出に関しては、新潟大学での pilot

study において予後規定因子としての重要性が示唆された。今後、当科においても症例の蓄積を重ね、積極的に本研究に参加していく予定である。

E. 結論

肝癌症例 1,045 例の解析により肝癌患者の予後規定因子としての AFP-L3 分画の重要性が確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Michitaka K, Tanaka Y, Horiike N, Duong TN, Chen Y, Matsuura K, Hiasa Y, Mizokami M, Onji M: Tracing the History of Hepatitis B Virus Genotype D in Western Japan. *Journal of Medical Virology* 78:44-52, 2006.
- 2) Hirooka M, Iuchi H, Kurose K, Kumagi T, Horiike N, Onji M : Abdominal virtual ultrasonographic images reconstructed by multi-detector row helical computed tomography. *European Journal of Radiology* 53, 312-317, 2005
- 3) Hiraoka A, Horiike N, SMF Akbar, Michitaka K, Matsuyama T, Onji M : Soluble CD163 in patients with liver diseases: very high levels of soluble CD163 in patients with fulminant hepatic failure. *Journal of Gastroenterology* 40, 52-56, 2005
- 4) Hasebe A, Akbar SMF, Furukawa S, Horiike N, Onji M : Impaired functional

capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: relevance to low HBV-specific immune responses. *Clinical and Experimental Immunology* 139, 35-42, 2005

- 5) Horiike N, Akbar SMF, Michitaka K, Joukou K, Yamamoto K, Kojima N, Hiasa Y, Abe M, Onji M : In vivo immunization by vaccine therapy following virus suppression by lamivudine: a novel approach for treating patients with chronic hepatitis B. *Journal of Clinical Virology* 32, 156-161, 2005
- 6) Kamegaya Y, Hiasa Y, Zukerberg L, Fowler N, Blackard J, Lin W, Choe W, Schmidt E, Chung R : Hepatitis C Virus Acts as a Tumor Accelerator by Blocking Apoptosis in a Mouse Model of Hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 41(3), 660-667, 2005
- 7) Akbar SMF, Furukawa S, Nakanishi S, Abe M, Horiike N, Onji M : Therapeutic efficacy of decreased nitrite production by bezafibrate in patients with primary biliary cirrhosis. *Journal of Gastroenterology* 40, 157-163, 2005
- 8) Michitaka K, Horiike N, Chen Y, Yatsuhashi H, Yano M, Kojima N, Ohkubo K, Tanaka Y, Yamamoto K, Ohno N, Onji M : Infectious source factors affecting the severity of sexually transmitted acute hepatitis due to hepatitis B virus genotype C. : *Intervirology* 48: 112-119, 2005
- 9) Michitaka K, Horiike N, Chen Y, Doung TN, Matsuura K, Tokumoto Y, Hiasa Y, Akbar SMF, Onji M: Co-Infection with Hepatitis

- B Virus Genotype D and Other Genotypes in Western Japan. Intervirology 48:262-267, 2005
- 10) Hiraoka A, Michitaka K, Kumagi T, Kurose K, Uehara T, Hirooka M, Yamashita Y, Kubo Y, Miyaoka H, Iuchi H, Okada S, Ohmoto M, Yamamoto K, Horiike N, Onji M : Efficacy of lamivudine therapy for decompensated liver cirrhosis due to hepatitis B virus with or without hepatocellular carcinoma. Oncology Reports 13:1159-1163, 2005
- 11) Okada C, Akbar SMF, Horiike N, Onji M: Early development of primary biliary cirrhosis in female C57BL/6 mice because of poly I:C administration. Liver International 25:595-603, 2005
- 12) Horiike N, Abe M, Kumagi T, Hiasa Y, Akbar SMF, Michitaka K, Onji M: The quantification of cytochrome P-450 (CYP 3A4) mRNA in the blood of patients with viral liver diseases: Clinical Biochemistry 38: 531-534, 2005
- 13) Jason T. Blackard, Laura Smeaton, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Denise J. Jamieson, Irma Rodriguez, Kenneth H. Mayer, and Raymond T. Chung : Detection of Hepatitis C virus (HCV) in Serum and Peripheral-Blood Mononuclear Cells from HCV-Monoinfected and HIV/HCV-Coinfected Persons. JID 192: 258-265, 2005
- 14) Kumagi T, SMF Akbar, Horiike N, Kurose K, Hirooka M, Hiraoka A, Hiasa Y, Michitaka K, Onji M: Administration of dendritic cells in cancer nodules in hepatocellular carcinoma. : Oncology Reports 14: 969-973, 2005
2. 学会発表
- H. 知的財産権の出願・登録状況
4. 特許取得
なし
5. 実用新案登録
なし
6. その他
なし

AFP-L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした
肝細胞癌のサーベイランスの有用性に関する研究

分担研究者 田中 榮司 国立大学法人信州大学 消化器内科 助教授

研究要旨

本研究においては、本邦における年間 34,000 人余りの肝癌患者の約 70%を占める AFP 産生性肝癌に対して、治療前後の AFP-L3 分画ならびに流血中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の動きに基づき治療法を選択し、肝癌患者の予後改善を図ることを目的とする。本方式による肝癌治療のアルゴリズムの確立は、肝癌の予後改善に寄与するとともに、これらを基盤とした適切な治療程度の確保と治療回数の減少は、結果として在院日数の短縮や医療費削減に寄与すると考えられる。平成 17 年度は肝細胞癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きに治療前後の AFP-L3 分画および PIVKA-II の多寡により生命予後を比較検討した。その結果、治療前 AFP-L3 分画および PIVKA-II が有意な予後規定因子であることが確認された。また、治療後、AFP-L3 分画陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 分画陰性化を得ることが重要であることが示唆された。

A. 研究目的

肝細胞癌の生物学的悪性度の指標である血清 AFP-L3 分画、血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の推移による肝癌患者の予後推定を確立する。これら 2 種の生物学的悪性度の指標を加えた新しい治療アルゴリズムの構築により、適切な治療程度の確保と治療回数の減少を指向し、肝癌患者の治療入院期間の短縮、結果としての在院日数の短縮や医療費削減への寄与を計る。

B. 研究方法

1) 今後の治療アルゴリズム樹立の指針とすべく、肝癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大

学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きにデータを集積し、治療前後の AFP-L3 分画の多寡による生命予後の差異を Kaplan-Meier 法で計算し、Log rank 検定で群間比較を行った。また、tumor stage や治療法と AFP-L3 分画との関連について検討を行った。

(倫理面への配慮)

対象症例のデータは連結可能匿名化を行った上で解析を行っており、本研究に関する倫理面への配慮については、本学の遺伝子倫理委員会の審議を経てその指針を受けている。

C. 研究結果

登録された 1,045 例の生存率は、1 年生存率 86.4%、3 年生存率 65.9%、5 年生存率 47.5%、10 年生存率 19.9%、生存期間の中央値は 1670 日であった。登録症例の生命予後は、Child-Pugh score、腫瘍 stage、JIS score 等できわめて良好に層別化されるとともに、AFP、AFP-L3 分画、PIVKA-II の多寡によって良好に層別化された。

また、登録された症例のうち AFP 濃度の低い症例を抽出し、それぞれの AFP-L3 分画の多寡と生命予後との関連を検討したところ、AFP<50、AFP<30、AFP<20 のいずれの設定値においても、L3 陽性例の方が有意に ($p<0.0001$) 生命予後が悪かった。

tumor stage II、III においては AFP-L3 分画の多寡が有意に生命予後に影響を及ぼしていた。一方 tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった。同様に tumor stage II かつ L3 陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。

治療法別に検討すると、手術以外の治療法の成績が術前の AFP-L3 分画の多寡に影響を受けるのに対し、手術は術前の AFP-L3 分画に影響を受けないことが明らかとなった。また治療法にかかわらず、治療前の AFP-L3 分画が高値であっても、術後に AFP-L3 分画が低下した例では生命予後が改善することが分かった。

D. 考察

今年度集積された 1,045 例のデータ解析から、治療前 AFP-L3 分画の多寡は肝細胞癌の治療予後を規定しており、有意な生命予後既定因子である事が示された。この結果は、新潟大学での予備的なデータと考え方を支持するものであ

る。

さらに、同一症例群における tumor stage 別の生存率は tumor stage II、III、IV の間には明らかな生存率の差を認めているにもかかわらず、3 群間の生存率に、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子を加味すると、以下の興味深い結果が獲られた。すなわち、tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった事実である。同様に tumor stage II かつ L3 陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。この事は、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子が Tumor stage の一段階の進展と同等であると評価出来ることを示している。

また、今回の解析では治療後 AFP-L3 陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 陰性化を得ることが重要であることが示唆された。更に治療法別に詳しく検討すると、外科的切除のみが AFP-L3 分画の多寡に影響されない治療成績を残していることが明らかとなった。この事実は極めて重要であり、現在肝細胞癌治療の主流となりつつある RFA を含む経皮的局所療法やその他の動脈塞栓療法などでは、AFP-L3 分画陽性症例に対して十分な腫瘍制御が行えなかった事を示している。すなわち、治療前の腫瘍の評価（腫瘍の局在、進展度）と制御予測に誤りがあった可能性が予想される。言い換えると、AFP-L3 分画陽性という malignant biological behavior の評価と各種画像による腫瘍進展度の評価と治療選択に再考の余地が残されているものと考えられる。

一方、もう一つの生物学的悪性度の指標として着目したテロメラーゼを指標とした末梢血中癌細胞の検出に関しては、新潟大学での pilot

study において予後規定因子としての重要性が示唆された。今後、当科においても症例の蓄積を重ね、積極的に本研究に参加していく予定である。

E. 結論

肝癌症例 1,045 例の解析により肝癌患者の予後規定因子としての AFP-L3 分画の重要性が確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ogata K, Ide T, Kumashiro R, Kumada H, Yotsuyanagi H, Okita K, Akahane Y, Kaneko S, Tsubouchi H, Tanaka E, Moriwaki H, Nishiguchi S, Kakumu S, Mizokami M, Iino S, Sata M. Timing of interferon therapy and sources of infection in patients with acute hepatitis C. *Hepatology Research* 34:35-40, 2006
- 2) Misawa N, Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, Yoshizawa K, Umemura T, Maki N, Kimura T, Kiyosawa K. Patients with and without loss of hepatitis B virus DNA after hepatitis B e antigen seroconversion have different virological characteristics. *J Med Virol* 78:68-73, 2006
- 3) Naoki Tanaka, Tetsuya Ichijo, Wataru Okiyama, Hidetomo Mutou, Noriko Misawa, Akihiro Matsumoto, Kaname Yoshizawa, Eiji Tanaka and Kendo Kiyosawa. Laparoscopic findings in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int* 2:32-38, 2006
- 4) **Tanaka E**, Matsumoto A, Suzuki F, Kobayashi M, Mizokami M, Tanaka Y, Okanoue T, Minami M, Chayama K, Imamura M, Yatsuhashi H, Nagaoka S, Yotsuyanagi H, Kawata S, Kimura T, Maki N, Iino S, Kiyosawa K, and HBV Core-Related Antigen Study Group. Measurement of hepatitis B virus core-related antigen is valuable for identifying patients who are at low risk of lamivudine resistance. *Liver Int* 26:90-96, 2006
- 5) Amal Gad, Eiji Tanaka, Akihiro Matsumoto, Moushira Abd-el Wahab, Abd el-Hamid Serwah, Fawzy Attia, Khalil Ali, Howayda Hassouba, Abd el-Raoof el-Deeb, Tetsuya Ichijo, Takeji Umemura, Hidetomo Muto, Kaname Yoshizawa, Kendo Kiyosawa. Assessment of KL-6 as a tumor marker in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 11(42): 6607-6612, 2005
- 6) Yagi S, Mori K, Tanaka E, Matsumoto A, Sunaga F, Kiyosawa K, Yamaguchi K. Identification of novel HCV subgenome replicating persistently in chronic active hepatitis C patients. *J Med Virol* 77:399-413, 2005
- 7) Sun XH, Rokuhara A, Tanaka E, Gad A, Mutou H, Matsumoto A, Yoshizawa K, Kiyosawa K. Nucleotide mutations associated with hepatitis B e antigen negativity. *J Med Virol* 76:170-175, 2005
- 8) Amal Gad, Eiji Tanaka, Akihiro Matsumoto, Abd el-Hamid Serwah, Fawzy Attia, Adel Hassan, Ahmed Sanny, Khalil Ali, Amro Abbas, Abd El-Raoof El-Deeb, Xiao Hong Sun, Takeji Umemura, Tetsuya Ichijo, Takashi Ehara, Kaname Yoshizawa, Kendo Kiyosawa. Ethnicity affects the diagnostic validity

- of alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinoma. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology* 1: 64-70, 2005
- 9) Rokuhara A, Sun X, **Tanaka E**, Kimura T, Matsumoto A, Yao D, Yin L, Wang N, Maki N, Kiyosawa K. Hepatitis B virus core and core-related antigen quantitation in Chinese patients with chronic genotype B and C hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol Hepatol* 20:1726-1730, 2005
- 10) Kimura T, Ohno N, Terada N, Rokuhara A, Matsumoto A, Yagi S, **Tanaka E**, Kiyosawa K, Ohno S, Maki N. Hepatitis B virus DNA-negative Dane particles lack core protein but contain a 22-kDa precore protein without C-terminal arginine-rich domain. *J Biol Chem* 280:21713-21719, 2005
- 11) Matsumoto A, **Tanaka E**, Rokuhara A, Kiyosawa K, Kumada H, Omata M, Okita K, Hayashi N, Okanoue T, Iino S, Tanikawa K, and the Inuyama Hepatitis Study Group.. Efficacy of lamivudine for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter retrospective study of 2,795 patients. *Hepatology Research* 32:173-184, 2005
- 12) **Tanaka E**, Matsumoto A, Takeda N, Li T-C, Umemura T, Yoshizawa K, Miyakawa Y, Miyamura T, Kiyosawa K. Age-specific Antibody to Hepatitis E Virus Stays Constant during the Past 20 Years in Japan. *J Viral Hepatitis* 12:439-442, 2005
- 13) Yoshizawa K, Ota M, Katsuyama Y, Ichijo T, Matsumoto A, **Tanaka E**, Kendo K. Genetic analysis of the HLA region of Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 42:578-584, 2005

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

7. 特許取得

なし

8. 実用新案登録

なし

9. その他

なし

AFP-L3 分画および血流中癌細胞テロメラーゼを指標とした

肝細胞癌のサーベイランスの有用性に関する研究

分担研究者 高木 均 国立大学法人群馬大学 病態制御内科 助教授

研究要旨

本研究においては、本邦における年間 34,000 人余りの肝癌患者の約 70%を占める AFP 産生性肝癌に対して、治療前後の AFP-L3 分画ならびに流血中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の動きに基づき治療法を選択し、肝癌患者の予後改善を図ることを目的とする。本方式による肝癌治療のアルゴリズムの確立は、肝癌の予後改善に寄与するとともに、これらを基盤とした適切な治療程度の確保と治療回数の減少は、結果として在院日数の短縮や医療費削減に寄与すると考えられる。平成 17 年度は肝細胞癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きに治療前後の AFP-L3 分画および PIVKA-II の多寡により生命予後を比較検討した。その結果、治療前 AFP-L3 分画および PIVKA-II が有意な予後規定因子であることが確認された。また、治療後、AFP-L3 分画陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 分画陰性化を得ることが重要であることが示唆された。

A. 研究目的

肝細胞癌の生物学的悪性度の指標である血清 AFP-L3 分画、血流中肝癌細胞のテロメラーゼ活性の推移による肝癌患者の予後推定を確立する。これら 2 種の生物学的悪性度の指標を加えた新しい治療アルゴリズムの構築により、適切な治療程度の確保と治療回数の減少を指向し、肝癌患者の治療入院期間の短縮、結果としての在院日数の短縮や医療費削減への寄与を計る。

B. 研究方法

1) 今後の治療アルゴリズム樹立の指針とすべく、肝癌症例 1,045 例(新潟大学 319 例、愛媛大

学 279 例、群馬大学 271 例、信州大学 176 例)について後向きにデータを集積し、治療前後の AFP-L3 分画の多寡による生命予後の差異を Kaplan-Meier 法で計算し、Log rank 検定で群間比較を行った。また、tumor stage や治療法と AFP-L3 分画との関連について検討を行った。

(倫理面への配慮)

対象症例のデータは連結可能匿名化を行った上で解析を行っており、本研究に関する倫理面への配慮については、本学の遺伝子倫理委員会の審議を経てその指針を受けている。

C. 研究結果

登録された 1,045 例の生存率は、1 年生存率 86.4%、3 年生存率 65.9%、5 年生存率 47.5%、10 年生存率 19.9%、生存期間の中央値は 1670 日であった。登録症例の生命予後は、Child-Pugh score、腫瘍 stage、JIS score 等できわめて良好に層別化されるとともに、AFP、AFP-L3 分画、PIVKA-II の多寡によって良好に層別化された。

また、登録された症例のうち AFP 濃度の低い症例を抽出し、それぞれの AFP-L3 分画の多寡と生命予後との関連を検討したところ、AFP<50、AFP<30、AFP<20 のいずれの設定値においても、L3 陽性例の方が有意に ($p<0.0001$) 生命予後が悪かった。

tumor stage II、IIIにおいては AFP-L3 分画の多寡が有意に生命予後に影響を及ぼしていた。一方 tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった。同様に tumor stage II かつ L3 陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。

治療法別に検討すると、手術以外の治療法の成績が術前の AFP-L3 分画の多寡に影響を受けるのに対し、手術は術前の AFP-L3 分画に影響を受けないことが明らかとなった。また治療法にかかわらず、治療前の AFP-L3 分画が高値であっても、術後に AFP-L3 分画が低下した例では生命予後が改善することが分かった。

D. 考察

今年度集積された 1,045 例のデータ解析から、治療前 AFP-L3 分画の多寡は肝細胞癌の治療予後を規定しており、有意な生命予後既定因子である事が示された。この結果は、新潟大学での予備的なデータと考え方を支持するものであ

る。

さらに、同一症例群における tumor stage 別の生存率は tumor stage II、III、IVの間には明らかな生存率の差を認めているにもかかわらず、3 群間の生存率に、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子を加味すると、以下の興味深い結果が獲られた。すなわち、tumor stage I かつ L3 陽性症例と tumor stage II かつ L3 陰性症例の生命予後に有意差は認めなかった事実である。同様に tumor stage II かつ L3 陽性症例と tumor stage III かつ L3 陰性症例、tumor stage III かつ L3 陽性症例と tumor stage IV かつ L3 陰性症例の生命予後にも有意差を認めなかった。この事は、AFP-L3 分画陽性、陰性という因子が Tumor stage の一段階の進展と同等であると評価出来ることを示している。

また、今回の解析では治療後 AFP-L3 陰性化例は持続陽性群に比較し有意に予後改善が認められ、治療後に AFP-L3 陰性化を得ることが重要であることが示唆された。更に治療法別に詳しく検討すると、外科的切除のみが AFP-L3 分画の多寡に影響されない治療成績を残していることが明らかとなった。この事実は極めて重要であり、現在肝細胞癌治療の主流となりつつある RFA を含む経皮的局所療法やその他の動脈塞栓療法などでは、AFP-L3 分画陽性症例に対して十分な腫瘍制御が行えなかった事を示している。すなわち、治療前の腫瘍の評価（腫瘍の局在、進展度）と制御予測に誤りがあった可能性が予想される。言い換えると、AFP-L3 分画陽性という malignant biological behavior の評価と各種画像による腫瘍進展度の評価と治療選択に再考の余地が残されているものと考えられる。

一方、もう一つの生物学的悪性度の指標として着目したテロメラゼを指標とした末梢血中癌細胞の検出に関しては、新潟大学での pilot

study において予後規定因子としての重要性が示唆された。今後、当科においても症例の蓄積を重ね、積極的に本研究に参加していく予定である。

E. 結論

肝癌症例 1,045 例の解析により肝癌患者の予後規定因子としての AFP-L3 分画の重要性が確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kosone T, Takagi H, Hamada T, Kakizaki S, Takehara K, Ohwada S, Mori M. A case of metachronous cholangiocellular and hepatocellular carcinoma with long prognosis. Hepatogastroenterology. 52: 1228-1232, 2005
- 2) Nakajima H, Takagi H, Yamazaki Y, Toyoda M, Takezawa J, Nagamine T, Mori M. Idiopathic thrombocytopenic purpura in patients with chronic hepatitis C. Hepatogastroenterology 52: 1197-1200, 2005
- 3) Sohara N, Takagi H, Kakizaki S, Sato k, Mori M. Elevated plasma adiponectin concentrations in patients with liver cirrhosis correlate with plasma insulin levels - Liver Int. 25: 28-32, 2005
- 4) Otsuka T, Horiguchi N, Kanda D, Kosone T, Yamazaki Y, Yuasa K, Sohara N, Kakizaki S, Sato K, Takagi H, Merlino G, Mori M. Overexpression of NK2 inhibits liver regeneration after partial hepatectomy in mice. World J Gastroenterol, 11: 7444-7449, 2005

- 5) Shimoda R, Horiuchi K, Hagiwara S, Suzuki H, Yamazaki Y, Kosone T, Ichikawa T, Arai H, Yamada T, Abe T, Takagi H, Mori M. Short-term complications of reterograde transvenous obliterations of gastric varices in patients with portal hypertension, Effects of obliteration of major portosystemic shunts. Abd Imaging 30: 306-313, 2005
- 6) Kakizaki S, Takagi H, Yamazaki Y, Sohara N, Sato K, Nagamine T, Mori M. Different outcomes of nosocomial infection with hepatitis C virus from the same origin. World J Gastroenterol 12: 659-661, 2006
- 7) Takagi H, Hagiwara S, Hashizume H, Kanda D, Sato K, Sohara N, Kakizaki S, Mori M, Ushikai M, Kobayashi K, Saeki T. Adult onset citrullinemia type II is one of the causes of non-alcoholic steatohepattis (NASH). J Hepatol, 2006, 44: 236-239, Epub 2005 Sep 26.
- 8) 高木 均、湯浅和久、蘇原直人、柿崎 暁、佐藤賢、森昌朋 肝細胞癌に対する肝移植—移植適応の拡大をめざして—Liver Cancer 11: 1-8, 2005
- 9) 蘇原直人、高木 均、湯浅和久、柿崎 暁、佐藤賢、森昌朋. RFA 後に増悪した肝細胞癌の検討 Liver Cancer 11: 9-13, 2005

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1 0. 特許取得

なし

1 1. 実用新案登録

なし

1 2. その他

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
青柳 豊	肝癌の腫瘍マーカー	梶川 清	労働衛生管理	全国労働衛生団体連合会		2005	45-52

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
Tamura Y, Maruyama M, Mishima Y, Fujisawa H, Obata M, Kodama Y, Yoshikai Y, Aoyagi Y, Niwa O, Schaffner W and Kominami R.	Predisposition to mouse thymic lymphomas in response to ionizing radiation depends on variant alleles encoding metal-responsive transcription factor-1 (<i>Mtf-1</i>).	<i>Oncogene</i>	24	399-406	2005
Kubota T, Yoshikai Y, Tamura Y, Mishima Y, Aoyagi Y, Niwa O, Kominami R.	Comparison of properties of spontaneous and radiation-induced mouse thymic lymphoma: role of Trp53 and radiation.	<i>Radiation Res.</i>	11	315-22	2005
Tsuchiya A, Heike T, Fujino H, Shiota M, Umeda K, Yoshimoto M, Matsuda Y, Ichida T, Aoyagi Y, Nakahata T.	Long-term extensive expansion of mouse hepatic stem/progenitor cells in a novel serum-free culture system.	<i>Gastroenterology</i>	128(7)	2089-104	2005
Soga K, Shibasaki K, Aoyagi Y.	Effect of interferon on incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C.	<i>Hepato-Gastroenterology</i>	52	1154-1158	2005
Matsuda Y, Yamagiwa S, Takamura M, Honda Y, Ishimoto Y, Ichida T, Aoyagi Y.	Overexpressed Id-1 is associated with a high risk of hepatocellular carcinoma development in patients with cirrhosis without transcriptional repression of p16.	<i>Cancer</i>	104(5)	1037-44	2005
Watanabe K, Takahashi T, Takahashi S, Okoshi S, Ichida T, Aoyagi Y.	Comparative study of genotype B and C hepatitis B virus-induced chronic hepatitis in relation to the basic core promoter and precore mutations.	<i>J Gastroenterol Hepatol.</i>	20(3)	441-9	2005
Sato Y, Yamamoto S, Oya H, Nakatsuka H, Kobayashi T, Takeishi T, Hirano K, Hara Y, Watanabe T, Waguri N, Suda T, Ichida T, Aoyagi Y, Hatakeyama K.	Preoperative human-telomerase reverse transcriptase mRNA in peripheral blood and tumor recurrence in living-related liver transplantation for hepatocellular carcinoma.	<i>Hepatogastroenterology</i>	52(65)	1325-1388	2005
Honma T, Sugimura K, Asakura H, Matsuzawa J, Suzuki K, Kobayashi M, Aoyagi Y.	Leukocytapheresis is effective in inducing but not in maintaining remission in ulcerative colitis.	<i>J Clin Gastroenterol</i>	39(10)	886-90	2005