

厚生科学研究費補助金肝炎等克服緊急対策研究事業

病期別にみた肝がん治療法の費用効果およびQOLの観点からみた有効性に関する研究 分担研究報告書

C型慢性肝炎と肝細胞癌を含む続発症に対する効用値および肝細胞癌治療における効用

分担研究者 井上裕二 山口大学医学部附属病院医療情報部

研究要旨：共同研究の3大学において肝臓専門医を対象に慢性肝炎、肝硬変症（代償性、非代償性）、および寛解期およびターミナル期を含む肝細胞癌の3状態についての効用値測定を行い、測定法間差、および大学間差を検討した。その結果、効用値は慢性肝炎、代償性肝硬変症、肝細胞癌寛解期、肝細胞癌、非代償性肝硬変症、肝細胞癌ターミナル期の順であった。また、治療においては経皮的エタノール注入、ラジオ波焼灼術、肝動脈塞栓療法、経皮的局所療法と肝動脈塞栓療法の併用療法、手術、そして化学療法の順であった。重回帰分析の結果、大学間差（広島大学>久留米大学>山口大学）および方法間差（SG>TTO>RS）を認めた。以上の結果より、費用効果分析において効用値を適用する場合には、方法および大学の違いを考慮する必要があると考えられた。

研究協力者

石田 博 山口大学医療情報部 助教授

A. 研究目的

費用効果分析において、選択肢の結果としての期待余命ばかりでなく考えられる状態（疾患および治療など）における生活の質（quality of life: QOL）による重み付けを行った指標である QALY（quality adjusted life year）で評価することが一般的である。Short-Form 36(SF36)などの包括的 QOL 評価においては、多軸における評価のためにサマリスコアを得ることが難しいことから[1]、費用効果分析における評価には向かず、一般には主観的な選好に基づいた効用値（Utility）が用いられる。今回、昨年までに報告した山口大学における効用値評価に加えて、広島大学、久留米大学にて同様の調査を行い、その内容を検討した。

B. 研究方法

1) 対象および測定項目

対象は、久留米大学第二内科学および広島大学第一内科学の肝臓専門医、それぞれ 16 名、20 名に対して、約 30 分間の効用値および測定方法について説明の後、無記名の紙面により効用値の測定を行った。

測定を行った病態は、慢性肝炎(CH)、代償性肝硬変症(LC)、非代償性肝硬変症(LCdec)、肝細胞癌

(HCC)、肝細胞癌寛解期(HCC_cr)、肝細胞癌ターミナル期(Term)である。また、同時に肝細胞癌に対する治療、すなわち、肝切除術（以下、手術:OP）、経皮的エタノール注入(PEIT)、ラジオ波焼灼術(RFA)、肝動脈塞栓療法(TACE)、経皮的局所療法と肝動脈塞栓療法の併用療法(LAT_TACE)、そして化学療法(Chemo)に対しても同時に効用値の測定を行った。

2) 測定方法

効用値の測定方法は、評点尺度法(rating scale: RS)、基準賭け法(Standard reference gamble: SG)および時間得失法(Time trade-off: TTO)の3種で行った。

3) 解析

まず、測定対象者ごとの効用値の分布を確認し、表1の基準によって効用値の理解や測定法の理解が十分になされていないと考えられるアウトライアーの除外を行った。(表1)

次に、求められた個々の効用値を病態、治療法別に測定方法間、大学間差の単変量および多変量での解析を行い、最終的に多変量解析の結果より効用値の推定を行った。単変量においては、3群間差は Kruskal-Wallis 検定、2群間差は Mann-Whitney 検定で行い、多重比較の場合は Bonferroni 補正に従って、

0.05/検定数、すなわち、6病態あるいは6治療について3種の測定法について検定を行った場合には、 $0.05/18=0.0028$ を統計的有意水準とした。また、多変量解析では、効用値を目的変数、大学、方法および病態、または、治療法をダミー変数に変換後、説明変数とした重回帰分析を行った。ダミー変数変換では、山口大学、および基準賭け法(SG)を基準カテゴリーとし、さらに病態では慢性肝炎、治療では手術をそれぞれ基準カテゴリーとして解析を行った。全ての統計処理は、STATA ver9.1 (STATA corp.)上で行った。

C. 研究結果

A. 病態別の効用値

1) 病態別の効用値の分布

各病態における大学別、方法間別の効用値分布を図1および表2にそれぞれの病態における効用値の平均、標準偏差およびメジアンを示す。全体に効用値のばらつきが大きい結果であった。SDの値からばらつきの少ないもの、大きなものがあるが、慢性肝炎(CH)のように同一大学内、方法内ではばらつきの比較的少ないもの、逆に非代償性肝硬変症(LCdec)のように同一測定法内、同一大学内でもばらつきの大きなもの、肝細胞癌(HCC)のように測定方法間のばらつきは大きいものの、大学内のばらつきはそれほどでもないものなどが認められた。

いずれの方法においても、慢性肝炎>代償性肝硬変症>肝細胞癌寛解期>肝細胞癌 \geq 非代償性肝硬変症>肝細胞癌ターミナル期の順であった。

2) 単変量解析

測定方法および大学による差の検定を行った結果は、表3、表4の通りであり、測定方法間差が顕著で、大学間差は明らかでなかった。

3) 多変量解析

説明変数として大学、測定方法、病態を入れた重回帰分析を行ったところ、モデル全体の決定係数は0.685と良好であり、効用値のばらつきはこれらの変数で説明できる部分が大きいと考えられた(表5)。回帰

係数が有意でなかったのは、TTO法であり、SG、TTO、RSの順であったが、TTOがSGと有意差は無かったということから、測定法による効用値の違いについては、 $SG \geq TTO > RS$ と考えられた。また、明らかに大学間差が認められ、広島大学>久留米大学>山口大学の順であった。さらに、病態間では、慢性肝炎>代償性肝硬変症>肝細胞癌寛解期>非代償性肝硬変症>肝細胞癌>ターミナル期であった。

この重回帰分析の結果から、それぞれの測定方法および大学別の病態毎の効用値の推定値は表6のように考えられた。

B. 治療別の効用値

1) 治療別の効用値の分布(図2, 表7)

治療別の効用値分布は、図2のごとく、病態同様に測定法により異なり、 $SG > RS, TTO$ であった。大学間ではRSおよびSGでは広島大学と久留米大学がほぼ同等の値を取っているのに対して山口大学の効用値は全体に低い傾向にあった。また、TTOでは、広島大学>久留米大学>山口大学の傾向が見られた。分布から、PEIT、RFA、およびTACE>LAT+TACE>についてのばらつきに対して、ChemoおよびLAT+TACEのばらつきが大きかった。また、OP(手術)については、大学間差よりもSGがRSおよびTTOに比べて高値といった測定方法間差が明らかであった。また、Chemoでは、他に比べて大学内、および大学間差が大であった。

2) 単変量解析

測定方法および大学による差の検定を行った結果は、表8、表9の通りであり、久留米大学、広島大学では、それぞれ、OP、PEIT、RFA、ChemoおよびOP、Chemoにおいて3測定方法間で有意差が見られた。また、大学間差ではTTO法で測定されたPEIT、LAT+TACEおよびChemoで3大学間において有意差が認められた。

3) 多変量解析

多変量解析結果を表10に示すが、決定係数は0.287と低く、測定方法および大学間の違い以外の効

用値の変動要因(個人による違いや測定されていない要因など)が潜在すると考えられた。各変数をみると、病態と同様に測定方法間差、大学間差がみられ、また、LAT+TACE は有意ではなかったが、その他の治療法は、手術(OP)とは有意に異なるものであった。また、大学間および測定法間にも差が認められた。

表 11 に重回帰分析から考えられた肝細胞癌治療推定値を示す。

D. 考察

1) 本研究結果内容について

QOL 評価を考える場合に、包括的評価によっていくつかの観点からの多項目評価が多く行われている。C 型慢性肝炎においても SF-36 に代表されるような包括評価での QOL 評価がなされているが、[2・4]、選好(preference)に基づいたものではなく、患者のそれぞれの状態に対する価値観を直接、測定するものではない。特に費用効果分析においては、治療効果による期待余命の延長とともにそれを構成する健康状態 (health-state) に対する患者あるいは一般人の主観的な価値判断による重み付けが必要である。この選好に基づいた QOL の価値を表すものが効用値 (Utility) であり、基本的には、0 (死亡) から 1 (全くの健康状態) までの値をとるものである。[5]

病態別の効用値は、CH>LC>HCC_cr>HCC \geq decLC>terminal となり、臨床的には妥当なものと考えられた。[2, 6] また、測定法からは SG \geq TTO>RS であったが、これも効用値の理論的背景、および、これまでの同様の検討からは妥当なものと考えられた。[7]

今回の検討で明らかとなった大学間の差については、事前説明に対する受け止め方の違いなどいくつかの要因が考えられる。もともと、C 型慢性肝炎とその続発症に対する効用値の研究 (表 13) [2, 6] や他の領域のこれまでの研究でも同じ病態についての効用値がその調査対象や測定方法および病態の提示法によって異なることが指摘されてきた。[7] しかし、今回、治療法についても同様な傾向を見たことから、病態の違いによる治療方法の違いやその侵襲度合いによって、それぞれの病態の効用

値のとらえ方が影響される可能性も考慮され、その検討が今後の課題として残された。

治療法ごとの効用値については、PEIT>RFA>TACE>LAT+TACE \geq OP>Chemo の順であった。これまで、治療法別の包括的 QOL についての研究は存在するが、[8, 9]、肝細胞癌治療についての効用値に関する研究は見出されなかった。今回の検討では、PEIT や RFA など、比較的侵襲度の低い治療に比べ、侵襲度の高い治療についての効用値は、同一の測定法および同一大学内であっても幅が大きいものであり、個人的なとらえ方に差があると考えられた。特に、Chemo (化学療法) については、その治療方法 (薬剤や用法など) や期間に大学間で違いの現れである可能性が考慮された。

2) 効用値の測定方法について

測定方法間では、病態で SG \geq TTO>RS、治療法では SG>RS \geq TTO となった。RS は、不確実性下の効用理論に基づいていないが、3つの測定法の中で最も簡単で理解し易い測定法であるため、一般には RS で測定された結果が頻繁に使用されている。[7] さらに、SG または TTO のスコアに変換されることもあるが、良好な結果が得られているとは言えない[10] SG は効用理論に基づいており、選好を評価する際には最も良いと考えられている。しかし、概念やその方法の理解が回答者にとって容易ではなく、また、回答者の危険に対する態度が反映され、他の方法に比べて賭け(gamble)を避ける傾向が強いと、他に比べて高値になりやすい。そのことが、手術などの治療法の測定値に影響したものと考えられる。TTO も SG と同様に効用理論に基づいていて、回答者の危険に対する態度と時間選好を捉えることができることから、SG よりも効用値の測定の適しているとの考えもある。しかし、この方法は、時間的な考慮から家族・社会ネットワーク・経済状態・病気の知識のような健康状態には関係のない因子の影響を受けることが指摘され[11]、TTO は SG とともに危険回避的思考が働く測定方法ではあっても病態、治療法ともに SG>TTO という結果は妥当なものと考えられた。

3) 専門医からの効用値について

一般に効用値測定は、患者、一般の集団、専門家のいずれかを対象として行われるが、その容易さから、これまでの研究においては今回の研究同様に肝臓専門医などの専門家を対象に行われることが多かった。患者や一般人を対象とする場合には、SGやTTOなどのように方法そのものが理解しにくいものよりもSF-36などの包括的なQOL評価の方が適しているため、それらから効用値への変換[2]や、EuroQOLやHealth Utilities Index(HUI)などの多面的な質問項目から選好に基づいたサマリースコアを出す質問紙などが活用される。[1] しかし、そのように求められた結果では、患者と専門家の効用値評価では大きく異なることから、その効用値の適用の場によって適切な対象からの結果を用いるべきとの指摘がある[6]。また、一般的に一般人を対象にした効用値は専門家と患者対象の間の値になるとされるが、費用資源の分配の負担が一般人であることから、最近の経済評価のガイドラインでは一般人で測定されたものを使用することが推奨されている。[12] そのため、今後、医療政策立案を目的とした費用効果分析に効用値を適応するには、患者のみならず一般人を含めた更なる効用値の検討が必要である。

E. 結論

肝臓専門医を対象として慢性肝炎を基盤とした肝細胞癌の各種病態および肝細胞癌に対する治療法毎の効用値の推定を行った。効用値は、測定方法でSG>TTO>RS、また、大学間差が認められ、病態でCH(0.72~1.0)>LC(0.60~0.86)>HCC_cr(0.48~0.77)>HCC(0.38~0.67)≥decLC(0.38~0.67)>terminal(0.08~0.37)、治療法でPEIT(0.61~0.94)>RFA(0.58~0.92)>TACE(0.53~0.86)>LAT+TACE(0.46~0.79)≥OP(0.44~0.77)>Chemo(0.37~0.71)と推定された。

文献

1. 池上直己, et al., *臨床のためのQOL評価ハンドブック*. 2001: 医学書院.
2. Thein, H.H., et al., *Estimation of utilities*

for chronic hepatitis C from SF-36 scores. Am J Gastroenterol, 2005. 100(3): p. 643-51.

3. Bayliss, M.S., et al., *A questionnaire to assess the generic and disease-specific health outcomes of patients with chronic hepatitis C.* Qual Life Res, 1998. 7(1): p. 39-55.
4. Davis, G.L., et al., *Assessing health-related quality of life in chronic hepatitis C using the Sickness Impact Profile.* Clin Ther, 1994. 16(2): p. 334-43; discussion 271-2.
5. Hunink, M.G.M., et al., *Decision making in health nad medicine. Integrating evidence and values.* 2001, Cambridge UK: Cambridge University Press.
6. Chong, C.A., et al., *Health-state utilities and quality of life in hepatitis C patients.* Am J Gastroenterol, 2003. 98(3): p. 630-8.
7. Morimoto, T. and T. Fukui, *Utilities measured by rating scale, time trade-off, and standard gamble: review and reference for health care professionals.* J Epidemiol, 2002. 12(2): p. 160-78.
8. 箕野晶子 and 平本美津恵, *局所療法を受ける肝細胞癌患者の健康関連QOL評価 SF-36を用いて*, in *日本看護学会論文集: 看護総合(1347-815X)*. 2005. p. 29-31.
9. 岡村幸恵, et al., *C型肝炎から肝細胞癌に移行し局所療法を受けている患者のQOL*, in *日本看護学会論文集: 成人看護 II(1347-8206)*. 2004. p. 252-254.
10. Rashidi, A.A., A.H. Anis, and C.A. Marra, *Do visual analogue scale (VAS) derived standard gamble (SG) utilities agree with Health Utilities Index utilities? A comparison of patient and community preferences for health status in rheumatoid arthritis patients.* Health Qual Life Outcomes, 2006. 4: p. 25.
11. Bejia, I., et al., *Measuring utilities by the*

time trade-off method in Tunisian rheumatoid arthritis patients. Clin Rheumatol, 2006. 25(1): p. 38-41.

12. Gold, M.R., et al, *Cost-Effectiveness in Health and Medicine.* 1996: Oxford University Press.

F 健康危機情報

特になし

G 研究発表

1. 石田 博 & 井上 裕二 & 黒川 典枝 & 日野 啓輔 & 沖田 極: 肝細胞癌における合併症と治療を考慮した医療費推定の試み; 医療情報学 24(6): 667-674, 2005

2. 石田 博 & 日野 啓輔 & 黒川 典枝 & 仁科 惣治 & 沖田 極 & 井上 裕二: C型慢性肝炎・肝硬変症患者の単発小肝細胞癌に対する外科切除術と経皮的局所療法との費用効果分析; 医療情報学 25(suppl): 329-331, 2005

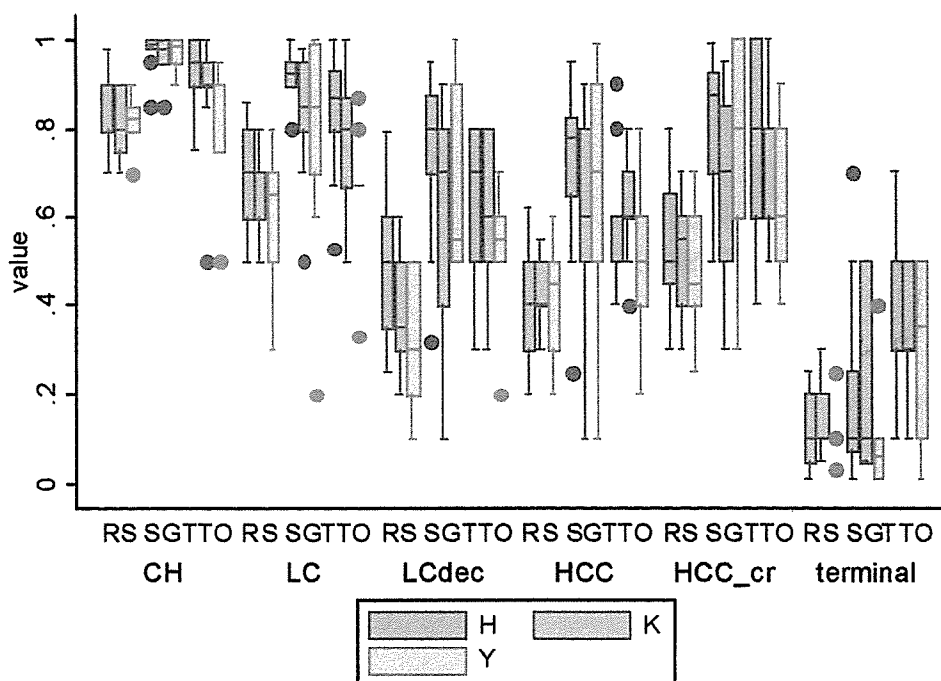
H 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表1 除外基準

1. 病態、治療の違いに関わらず、全ての効用値が1、または同値としているもの
2. 明らかに病態の効用値の逆転が起こっていると考えられるもの

図1: 病態別の効用値分布 (箱ひげ図)



H: 広島大学 K: 久留米大学 Y: 山口大学
 RS: 評点尺度法 SG: 標準賭け法 TTO: 時間得失法

表2 測定方法、大学の違いによる病態効用値

Method	CH			LC			LCdec			
	Univ	H	K	Y	H	K	Y	H	K	Y
RS										
N	17	14	10	17	14	10	17	14	10	
Mean	0.86	0.81	0.82	0.72	0.67	0.6	0.47	0.39	0.32	
SD	0.08	0.07	0.05	0.11	0.07	0.16	0.14	0.13	0.15	
Median	0.9	0.8	0.83	0.7	0.7	0.65	0.5	0.35	0.3	
SG										
N	16	15	10	16	15	10	16	15	10	
Mean	0.98	0.97	0.97	0.92	0.84	0.79	0.76	0.59	0.66	
SD	0.04	0.04	0.04	0.06	0.13	0.25	0.17	0.26	0.2	
Median	0.99	0.98	0.99	0.92	0.85	0.85	0.8	0.7	0.55	
TTO										
N	15	14	10	15	14	10	15	14	10	
Mean	0.93	0.89	0.83	0.85	0.79	0.67	0.63	0.59	0.5	
SD	0.07	0.12	0.13	0.12	0.13	0.14	0.16	0.18	0.17	
Median	0.95	0.9	0.9	0.87	0.8	0.67	0.7	0.6	0.55	

Method	HCC			HCC_cr			Terminal			
	Univ	H	K	Y	H	K	Y	H	K	Y
RS										
N	17	14	10	17	14	10	17	14	10	
Mean	0.42	0.43	0.42	0.55	0.52	0.47	0.12	0.15	0.11	
SD	0.13	0.08	0.13	0.15	0.12	0.13	0.07	0.09	0.05	
Median	0.4	0.4	0.45	0.5	0.55	0.45	0.1	0.1	0.1	
SG										
N	16	15	10	16	15	10	16	15	10	
Mean	0.73	0.57	0.65	0.82	0.65	0.75	0.19	0.24	0.09	
SD	0.19	0.24	0.28	0.15	0.19	0.25	0.21	0.2	0.12	
Median	0.77	0.6	0.7	0.88	0.7	0.8	0.1	0.1	0.06	
TTO										
N	15	14	10	15	14	10	15	14	10	
Mean	0.59	0.62	0.5	0.78	0.74	0.64	0.43	0.36	0.29	
SD	0.15	0.12	0.17	0.19	0.13	0.18	0.16	0.13	0.2	
Median	0.6	0.6	0.5	0.8	0.8	0.6	0.5	0.3	0.35	

Univ H: Hiroshima K: Kurume Y: Yamaguchi

表3 各大学における測定法間差の検定結果 (P 値)

Univ	CH	LC	Lcdec	HCC	HCC_Cr	Terminal
Yamaguchi	<i>0.0002</i>	0.0447	0.0034	0.0750	0.0230	0.0234
Kurume	<i>0.0001</i>	<i>0.0006</i>	0.0148	<i>0.0019</i>	0.0047	0.0057
Hiroshima	<i>0.0001</i>	<i>0.0001</i>	<i>0.0001</i>	<i>0.0001</i>	<i>0.0003</i>	<i>0.0010</i>

イタリック表記: P<0.0027

表4 各測定法における大学間差の検定結果 (P 値)

Method	CH	LC	Lcdec	HCC	HCC_Cr	Terminal
RS	0.1011	0.1060	0.0616	0.9789	0.3699	0.6113
SG	0.5618	0.2106	0.1394	0.2252	0.0677	0.8300
TTO	0.0334	0.0079	0.1985	0.2067	0.1898	0.1325

表5 病態別効用値の重回帰分析結果

variable	Coefficient	SE	t_value	p
univ_Kurume*	0.041	0.015	2.7	0.007
univ_Hiroshima*	0.092	0.015	6.2	0.000
method_RS**	-0.185	0.014	-13.2	0.000
method_TTO**	-0.024	0.014	-1.7	0.096
state_LC***	-0.128	0.020	-6.4	0.000
state_LCdec***	-0.347	0.020	-17.3	0.000
state_HCC***	-0.350	0.020	-17.5	0.000
state_HCC_cr***	-0.237	0.020	-11.8	0.000
state_Terminal***	-0.675	0.020	-33.7	0.000
constant	0.919	0.019	47.9	0.000

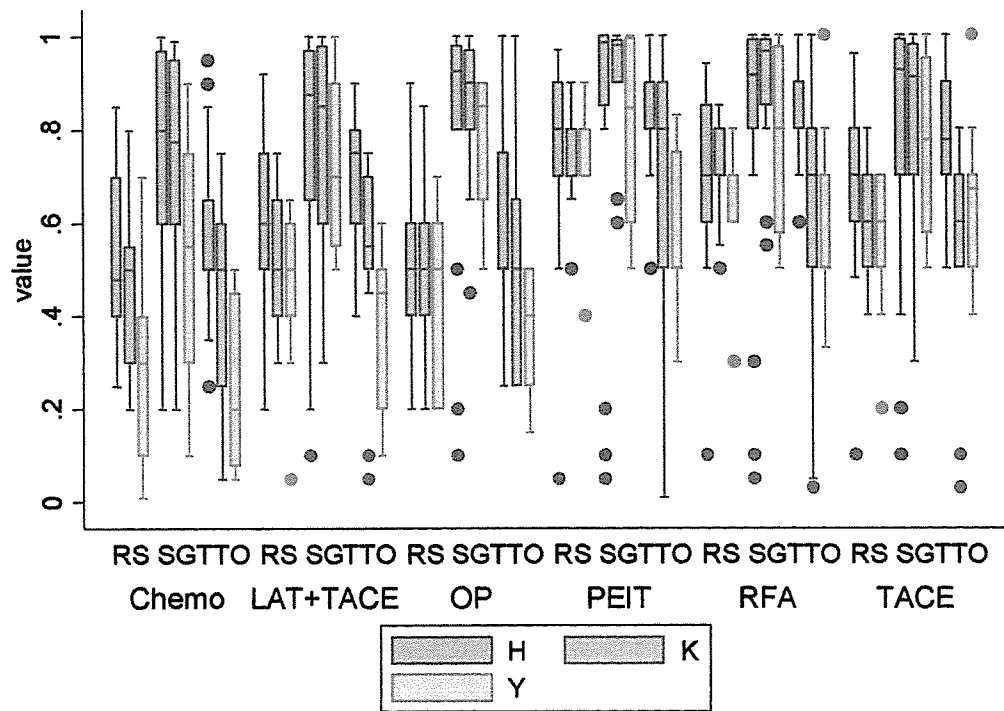
Reference category * Yamaguchi univ **SG ***CH

Adjusted R²: 0.685

表6 大学、測定方法別による病態の効用値推測

Univ	Yamaguchi			Kurume			Hiroshima		
	RS	SG	TTO	RS	SG	TTO	RS	SG	TTO
CH	0.72	0.93	0.91	0.75	0.96	0.94	0.80	1.00	0.99
LC	0.60	0.81	0.79	0.63	0.84	0.82	0.68	0.89	0.87
LCdec	0.39	0.59	0.58	0.42	0.62	0.61	0.47	0.67	0.65
HCC	0.38	0.59	0.57	0.41	0.62	0.60	0.46	0.67	0.65
HCC_CR	0.48	0.69	0.67	0.51	0.72	0.70	0.56	0.77	0.75
Terminal	0.08	0.29	0.27	0.11	0.32	0.30	0.16	0.37	0.35

図2 治療に対する測定法、大学別の効用値分布



H: 広島大学 K: 久留米大学 Y: 山口大学
 RS: 評点尺度法 SG: 標準賭け法 TTO: 時間得失法

表7 測定方法、大学の違いによる治療効用値

Method	OP			PEIT			RFA			
	H	K	Y	H	K	Y	H	K	Y	
RS	N	19	15	11	19	15	11	19	15	11
	Mean	0.53	0.52	0.43	0.75	0.73	0.72	0.71	0.7	0.65
	SD	0.17	0.17	0.2	0.2	0.09	0.13	0.19	0.1	0.14
	Median	0.5	0.5	0.5	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7
SG	N	18	14	4	18	14	4	18	14	4
	Mean	0.8	0.83	0.77	0.82	0.92	0.8	0.8	0.89	0.77
	SD	0.28	0.19	0.19	0.33	0.13	0.24	0.31	0.15	0.24
	Median	0.92	0.9	0.85	0.99	0.98	0.85	0.91	0.97	0.8
TTO	N	18	13	11	18	13	11	18	13	9
	Mean	0.59	0.48	0.39	0.85	0.64	0.57	0.84	0.6	0.58
	SD	0.19	0.24	0.12	0.12	0.34	0.16	0.11	0.31	0.21
	Median	0.5	0.5	0.4	0.9	0.8	0.5	0.8	0.7	0.5

Method	TACE			LAT+TACE			Chemo			
	H	K	Y	H	K	Y	H	K	Y	
RS	N	19	15	11	19	15	11	19	15	11
	Mean	0.68	0.58	0.56	0.6	0.52	0.47	0.51	0.46	0.32
	SD	0.19	0.11	0.15	0.19	0.16	0.17	0.19	0.18	0.22
	Median	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5	0.48	0.5	0.3
SG	N	18	14	4	18	14	4	18	14	4
	Mean	0.78	0.82	0.76	0.75	0.78	0.73	0.75	0.73	0.52
	SD	0.29	0.22	0.23	0.28	0.23	0.22	0.24	0.22	0.33
	Median	0.92	0.91	0.77	0.88	0.85	0.7	0.8	0.77	0.55
TTO	N	18	13	9	18	13	11	18	13	11
	Mean	0.76	0.55	0.64	0.69	0.53	0.36	0.57	0.43	0.26
	SD	0.15	0.24	0.19	0.16	0.23	0.18	0.18	0.24	0.18
	Median	0.77	0.6	0.67	0.75	0.55	0.45	0.5	0.5	0.2

表8 各大学における測定法間差の検定結果 (P 値)

Univ	OP	PEIT	RFA	TACE	LAT+TACE	Chemo
Yamaguchi	0.0252	0.0887	0.2915	0.4133	0.0252	0.2288
Kurume	<i>0.0007</i>	<i>0.0014</i>	<i>0.0018</i>	0.0032	0.0072	<i>0.0023</i>
Hiroshima	<i>0.0025</i>	0.0084	0.0161	0.0691	0.0342	<i>0.0021</i>

イタリック表記:P< 0.0027

表9 各大学における測定法毎の大学間差の検定結果 (P 値)

Method	OP	PEIT	RFA	TACE	LAT+TACE	Chemo
RS	0.4786	0.2945	0.4589	0.0421	0.1760	0.0673
SG	0.5458	0.9475	0.8652	0.9136	0.9523	0.2764
TTO	0.0223	<i>0.0019</i>	0.0063	0.0298	<i>0.0005</i>	<i>0.0021</i>

イタリック表記: P < 0.0027

表10 治療別効用値の重回帰分析結果

Variable	Coefficient	SE	t_value	p
univ_Kurume*	0.088	0.022	4.0	0.000
univ_Hiroshima*	0.145	0.021	6.9	0.000
method_RS**	-0.189	0.019	-9.8	0.000
method_TTO**	-0.181	0.020	-9.2	0.000
proc_PEIT***	0.169	0.027	6.3	0.000
proc_RFA***	0.142	0.027	5.3	0.000
proc_TACE***	0.090	0.027	3.3	0.001
proc_LAT+TACE***	0.017	0.027	0.7	0.515
proc_Chemo***	-0.068	0.027	-2.5	0.011
constant	0.629	0.028	22.2	0.000

Reference category * Yamaguchi univ ** SG *** OP

Adjusted R²: 0.287

表 11 大学別、測定法別の肝細胞癌治療効用値

Univ	Yamaguchi			Kurume			Hiroshima			
	method	RS	SG	TTO	RS	SG	TTO	RS	SG	TTO
OP		0.44	0.63	0.45	0.53	0.72	0.54	0.58	0.77	0.59
PEIT		0.61	0.80	0.62	0.70	0.89	0.70	0.75	0.94	0.76
RFA		0.58	0.77	0.59	0.67	0.86	0.68	0.73	0.92	0.73
TACE		0.53	0.72	0.54	0.62	0.81	0.63	0.67	0.86	0.68
LAT+TACE		0.46	0.65	0.47	0.55	0.73	0.55	0.60	0.79	0.61
Chemo		0.37	0.56	0.38	0.46	0.65	0.47	0.52	0.71	0.52

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
Hino K, Okita K	Interferon therapy as chemoprevention of hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C	J Antimicrob Chemoth	53	19-22	2003
Ishida H, Inoue Y, Wong JB, Okita K	Cost-effectiveness of ribavirin plus interferon alpha-2b for either interferon relapsers or non-responders in chronic hepatitis C: a Japanese trial	Hepato Res	28	125-36	2004
Kasahara A, Tanaka H, Okanoue Y, Imai Y, Tsubouchi H, Yoshioka K, Kawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, tamura S, Itoh Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N	Interferon treatment improves survival in chronic hepatitis C patients showing biochemical as well as virological responses by preventing liver-related death.	J Viral Hepat	11	148-56	2004
Imai Y, Kasahara A, Tanaka H, Okanoue T, Hiramatsu N, Tsubouchi H, Yoshioka K, Mawata S, Tanaka E, Hino K, Hayashi K, tamura S, Itoh Y, sasaki Y, Kiyosawa K, Kakumu S, Okita K, Hayashi N.	Interferon therapy for aged patients with chronic hepatitis C: improved survival in patients exhibiting a biochemical response.	J Gastroenterol	39	1069-77	2004
石田 博、井上裕二、黒川典枝、日野啓輔、沖田 極	肝細胞癌における合併症と治療を考慮した医療費推定の試み	医療情報学	24	667-74	2005
石田 博、日野啓輔、黒川典枝、仁科惣治、沖田 極、井上裕二	C型慢性肝炎・肝硬変症患者の単発小肝細胞癌に対する外科切除術と経皮的局所療法との費用効果分析	医療情報学	25 (suppl)	329-31	2005
Ikeda M, Fujiwara S, Tanaka M, Sata M, Ide	Risk factors for development of	J Gastroenterol	40	148-56	2005

T, Yatsushashi H, Watanabe H.	hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C after sustained response to interferon.				
Yamasaki T, Kimura T, Kurokawa F, Aoyama K, Ishikawa T, Tajima K, Yokoyama Y, Takami T, Omori K, Kawaguchi K, Tsuchiya M, Terai S, Sakaida I, Okita K	Prognostic factors in patients with advanced hepatocellular carcinoma receiving arterial infusion chemotherapy.	J Gastroenterol	40	70-8	2005
Yamasaki T, Kimura T, Kurokawa F, Aoyama K, Ishikawa T, Tajima K, Yokoyama Y, Takami T, Omori K, Kawaguchi K, Tsuchiya M, Terai S, Sakaida I, Okita K.	Percutaneous radiofrequency ablation with cooled electrodes with hepatic arterial balloon occlusion in hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol	40	171-8	2005
Ikai I, Arii S, Ichida T, Okita K, Omata M, Kojiro M, Takayasu K, Makuuchi M, Matsuyama Y, yamaoka Y	Report of the 16 th follow-up survey of primary liver cancer.	Hepatol Res	32	163-72	2005
Matsumoto A, Tanaka E, Rokuhara A, Kiyosawa K, Kumada H, Omata M, Okita K, Hayashi N, Okanoue T, Iino S, Tanikawa K, the Inuyama Hepatitis Study Group	Efficacy of lamivudin for preventing hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B: A multicenter retrospective study of 2795 patients.	Hepatol Res	32	173-84	2005
Takayasu K, Arii S, Ikai I, Omata M, Okita K, Ichida T, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Kojiro M, Makuuchi M, Yamaoka Y for the Liver cancer Study Group of Japan	Prospective cohort study of transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma in 8510 patients.	Gastroenterology	131	461-9	2006
Ikai I, Takayasu K, Omata M, Okita K,	A modified Japan integrated stage score for	J Gastroenterol	41	884-92	2006

Nakanuma Y, Matsuyama Y, Makuuchi M, Kojiro M, Ichida T, Arii S, Ymaoka Y for the Liver Cancer Study Group of Japan	prognostic assessment in patients with hepatocellular carcinoma.				
Okita K	Clinical aspects of hepatocellular carcinoma.	Intern Med		229-32	2006
Okita K	Management of hepatocellular carcinoma in Japan.	J Gastroenterol	41	100-6	2006
Ando E, Kuromatsu R, Tanaka M, Tanaka A, Fukushima N, Sumie S, Nagaoka S, Akiyoshi J, Inoue K, Torimura T, Kumashiro R, Ueno T, Sata M.	Surveillance program for early detection of hepatocellular carcinoma in Japan.	J Clin Gastroenterol	40	942-8	2006
Nagaoka S, Itano S, Ishibashi M, Torimura T, Baba K, Akiyoshi J, Kurogi J, Matsugai S, Inoue K, Tajiri N, Takada A, Ando E, Kuromatsu R, Kaida H, Kurogi M, Koga H, Kumashiro R, Hayabuchi N, Kojiro M, Sata M.	Value of fusing PET plus CT images in hepatocellular carcinoma and combined hepatocellular and cholangiocarcinoma patients with extrahepatic metastases: preliminary findings.	Liver International	26	781-8	2006
Uka K, Aikata H, Takaki S, Shirakawa H, Jeong SC, Yamashita K, Hiramatsu A, Kodama H, Takahashi S, Chayama K	Clinical features and prognosis of patients with extraheaptic metastases from hepatocellular carcinoma.	World J Gastroenterol	13	414-20	2007

Ⅲ. 研究成果の刊行物・別冊

Interferon therapy as chemoprevention of hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C

Keisuke Hino^{1*} and Kiwamu Okita²

¹*Department of Laboratory Sciences, Faculty of Health Sciences, and* ²*Department of Gastroenterology and Hepatology, Faculty of Medicine, Yamaguchi University, School of Medicine, Ube, Yamaguchi, 755–8505, Japan*

Hepatocellular carcinoma (HCC) is currently a very common malignancy and its incidence is increasing, both in Japan and the USA. Persistent hepatitis C virus (HCV) infection is a major risk factor for the development of HCC. A number of large-scale retrospective cohort studies have demonstrated that interferon therapy reduces the incidence of HCC not only in sustained virological responders but also in transient biochemical responders without the elimination of HCV. We also demonstrated that retreatment with interferon at certain intervals reduced the incidence of HCC in patients with chronic hepatitis C, even if eradication of HCV was not achieved by retreatment. We cannot, however, explain how a transient normalization of serum alanine aminotransferase levels induced by a maximum 6 months of interferon treatment reduces the incidence of HCC during the progression of chronic hepatitis to cirrhosis or HCC, which requires dozens of years. In this article, we discuss how interferon treatment might reduce the incidence of HCC even in transient biochemical responders, especially in view of antiproliferative or antioxidative activity of interferon- α .

Keywords: cell cycle, hepatocellular carcinoma, MEK/ERK pathway, oxidative stress

Introduction

Hepatocellular carcinoma (HCC) is currently a very common malignancy and its incidence is increasing, both in Japan and the USA. Persistent hepatitis C virus (HCV) infection is a major risk factor for the development of HCC. Approximately 80% of Japanese HCC patients are also diagnosed with HCV-associated cirrhosis or chronic hepatitis C. It has also been shown that the risk of HCC increases with the degree of liver fibrosis.¹ Thus, HCV patients are a high-risk group for the development of HCC, and inhibition of hepatocarcinogenesis remains a crucial issue in treating patients with HCV-related chronic liver disease.

A number of large-scale, retrospective, cohort studies conducted in Japan have demonstrated that interferon therapy reduces the incidence of HCC, not only in sustained virological responders but also in transient biochemical responders, without eliminating HCV (Table 1).^{1–6} On the other hand, the incidence of HCC has been shown to increase 5 years or more after interferon therapy in transient biochemical responders, suggesting that, in this population, interferon's effects are time sensitive.⁷ In this respect, we demonstrated that re-treatment with interferon at certain intervals reduced the incidence of HCC in patients with chronic hepatitis C, even if eradication of HCV was not achieved by re-treatment.⁸ It seems plausible that eradicating HCV would result in a reduced incidence of HCC. We cannot, however, explain how a transient normalization of serum alanine aminotransferase (ALT) levels, induced by a maximum 6 months of interferon treatment, reduces the incidence of HCC during the

progression of chronic hepatitis to cirrhosis or HCC, which requires dozens of years. We discuss herein how interferon treatment might reduce the incidence of HCC even in transient biochemical responders.

Hypercarcinogenic condition in HCV-associated chronic hepatitis or liver cirrhosis

We need to find out the molecular mechanism of hepatocarcinogenesis in HCV infection, which remains unclear, to understand how interferon therapy reduces the incidence of HCC in transient biochemical responders. In persistent HCV infection, hepatocarcinogenesis is closely related to the presence of chronic hepatitis with advanced liver fibrosis or liver cirrhosis, which represents a precancerous state accompanied by increased DNA synthesis. In fact, it has been shown in a prospective manner that cirrhotic patients with high liver cell proliferative activity, estimated by proliferating cell nuclear antigen staining, are more likely to develop HCC as compared with those without it.⁹ It has been suggested that HCV core protein enhances cell proliferation via activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase (MAPK/ERK).¹⁰ Activation of MAPK/ERK has also been reported in human HCC tissues.¹¹ The mitogen-activated protein kinase (MEK)/ERK signalling pathway is fundamental in controlling cell development, proliferation and the cell cycle.^{12,13} There is clear evidence that the MEK/ERK pathway is essential for the activation of the molecular events regulating cell cycle progression, such as degradation of

*Corresponding author. Tel and Fax: +81-836-222824; E-mail: k.hino@yamaguchi-u.ac.jp

Leading article

Table 1. Reduction in the development of hepatocellular carcinoma in sustained virological responders and transient biochemical responders: characteristics of Japanese selected studies

Reference	Number of patients ^a	Observation period (years)	Estimated cumulative incidence of HCC at the 5th year (%)			Risk ratio ^b	
			SVR	TBR	NR	SVR	TBR
Kasahara <i>et al.</i> ²	1022	3.1 ± 12.9	4.3	4.7	21.4	0.13	NA
Imai <i>et al.</i> ³	563	4.0	0.9 ^c	6.1 ^c	12.8 ^c	0.06	0.51
Ikeda <i>et al.</i> ⁴	1643	5.1 (0.1–11.3)	1.4	1.9	2.9	0.32 ^d	
Yoshida <i>et al.</i> ¹	2890	4.4	NA	NA	NA	0.25	0.27 ^e
Tanaka <i>et al.</i> ⁵	738	4.8 ± 1.2	1.2	3.7	10.0	0.16	0.27
Okanoue <i>et al.</i> ⁶	1370	5.6	NA	NA	NA	0.10	0.55

SVR, sustained virological responders; TBR, transient biochemical responders; NR, non-responders; HCC, hepatocellular carcinoma; NA, not assessed.

^aThese numbers include untreated patients except for references 2 and 6.

^bAdjusted risk ratios for development of HCC were calculated compared with untreated patients in references 1, 3, 4 and 5, and with non-responders in references 2 and 6.

^cThese figures represent the 4 year incidence of HCC.

^dThis risk ratio was for the groups that responded; these included SVR and TBR.

^eThis risk ratio was for the patients who had normal serum ALT levels and were positive for HCV RNA.

mitotic inhibitors (p21^{Waf1} and p27^{Kip1}) and the induction of the cyclin-cyclin dependent kinase (Cdk) complexes.^{14,15}

A recent study has revealed that protein levels and kinase activities of cyclin D1, Cdk4, cyclin E, cyclin A and Wee1 are significantly elevated in HCV-associated HCC compared with surrounding cirrhotic tissues.¹⁶ More importantly, these kinases are already activated in cirrhosis before the development of HCC, compared with normal liver tissues, suggesting that this activation is an early event in hepatocarcinogenesis and that HCV-associated cirrhosis is a pre-cancerous condition. Thus, in a chronic hepatitis state, the cell cycle progresses and hepatocytes divide rapidly. As a result, irregular regeneration is bound to happen, accelerating genomic instability. Of course, the MEK/ERK pathway is not the only pathway potentially leading to the development of HCC. For, instance, there is considerable interest in the wnt/ β -catenin pathway, specifically in the context of HCV-associated HCC.¹⁷ The complexity of all the biochemical pathways implicated in HCC development is well described in a broad review on the genetics of HCC.¹⁸

Another scenario for hepatocarcinogenesis in HCV infection is the involvement of oxidative stress, which can produce genetic mutations as well as gross chromosomal alterations. HCV core protein has been shown to produce reactive oxygen species (ROS) derived from mitochondria in inducible cell culture systems.¹⁹ A positive feedback effect of ROS on mitochondrial ROS generation further sensitizes cells to other oxidative insults, which may finally cause both mitochondrial and chromosomal DNA damage. In a transgenic mouse model for HCV-associated hepatocarcinogenesis, it is also demonstrated that HCV core protein causes a state of oxidative stress in the absence of inflammation.²⁰

Although these results suggest the direct induction of oxidative stress by HCV proteins, the consequences of impaired mitochondrial function and abnormal ROS generation would be exacerbated by the immune-mediated inflammatory process present in patients with chronic hepatitis C, and the additional oxidant load it would present to the HCV-infected liver. Continuous ROS generation is likely to cause 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) to accumulate in DNA. Kato *et al.*²¹ reported that lowering levels of 8-OHdG by phlebotomy potentially decreased the risk of hepatocarcinogenesis

in patients with chronic hepatitis C. According to them, hepatic 8-OHdG levels decreased significantly in the short-term (initial iron reduction phase) and were almost completely normalized by the end of therapy (6 years later) by keeping a state of mild iron deficiency, defined by either <10 μ g/L serum ferritin and/or 11 g/dL blood haemoglobin concentration. Thus, oxidative stress appears to be responsible, in part, for the development of HCV-associated HCC.

Clinical evidence suggesting the anti-hepatocarcinogenic effect of interferon in patients with HCV-associated chronic liver disease

As mentioned above, chronic hepatitis C with advanced liver fibrosis or liver cirrhosis is hypercarcinogenic at the molecular level. This is supported clinically in Japan by the high annual incidences of HCC in non-treated chronic hepatitis C patients with F3 staging²² of liver fibrosis (2%–3%) and those with liver cirrhosis (6%–7%). The rate of recurrence of HCC after complete surgical resection is much higher than these figures, suggesting that the post-operative state is more hypercarcinogenic.²³

A recent randomized study has shown that interferon- β prevents the recurrence of HCC after complete resection or ablation of the primary tumour in patients with HCV-associated cirrhosis.²⁴ This inhibitory effect on HCC recurrence by interferon was not associated with biochemical and virological improvement. Therefore, these results clearly suggest that interferon acts as an anti-hepatocarcinogenic agent in patients with HCV-associated chronic liver diseases.

Molecular mechanism by which interferon prevents hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C

Taking into account the molecular mechanisms underlying the hypercarcinogenic condition in HCV infection, we focused on the mechanism responsible for the antiproliferative or antioxidative activity of interferon- α . The regulatory signals triggered by interferon- α are transduced to the nucleus through the Janus tyrosine kinase/signal

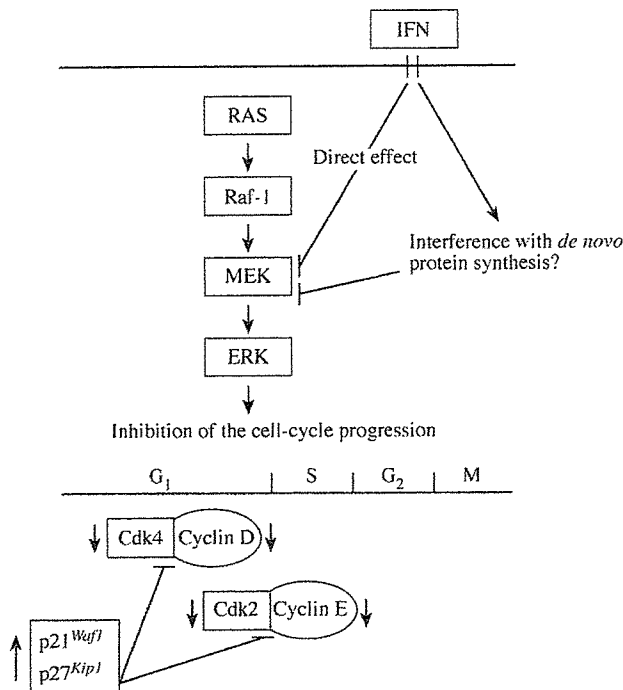


Figure 1. A schematic diagram illustrating the proposed mechanisms of action by which interferon might inhibit carcinogenesis through the regulation of the MEK/ERK pathway. Interferon has been shown to inhibit MEK/ERK function without affecting Ras and Raf-1 activity. Mechanisms by which interferon regulates MEK phosphorylation may involve interference with *de novo* protein synthesis and/or regulation of a specific gene(s). Analysis of downstream events controlled by the MEK/ERK pathway showed reduced activity of Cdk2 and Cdk4, high levels of mitogenic inhibitors (p21^{Waf1} and p27^{Kip1}), and decreased cyclin D and E expression. Cdk4 and Cdk2 are activated by binding to cyclin D and cyclin E, respectively. Cyclin D-Cdk4 complexes are required for G1 phase progression. Cyclin E-Cdk2 complexes are required for the G1/S transition. Cdk activity is curtailed by p21^{Waf1} and p27^{Kip1}.

transducers of activation and transcription (Jak/STAT) pathway, whereby ligand-activated Jak kinases phosphorylate STAT proteins, which subsequently dimerize and migrate to the nucleus to regulate gene expression. Interferon- α was initially described as an antiviral cytokine able to inhibit viral replication, and thereafter additional properties of this multifunctional cytokine that can affect the growth, differentiation and function of many cell types were discovered. The cross-talk between the Jak/STAT and the MEK/ERK pathways was demonstrated by the observation that interferon- β can directly activate ERK, which associates with STAT1.²⁵ Romero & Zella²⁶ demonstrated that treatment with interferon- α hindered the transition from G0/G1 to the S phase in purified primary CD4 cells stimulated with anti-CD3 and interleukin 2. This inhibitory effect of interferon- α was linked to the impairment of the MEK/ERK function without affecting Ras and Raf-1 activity. Their analysis of downstream events controlled by the MEK/ERK pathway showed reduced activity of Cdk2 and Cdk4, high levels of mitogenic inhibitors (p21^{Waf1} and p27^{Kip1}), and decreased cyclin D and E expression (Figure 1). Interestingly, these downstream events inhibited by interferon- α have been shown to be activated in HCV-associated HCC or cirrhotic tissues as compared with normal liver tissues by another group.¹⁶ In a number of different cellular systems it has been shown that inhibition of mitogenic induc-

tion of MEK and ERK results in impairment of cell-cycle progression and proliferation. Therefore, the inhibitory effect on MEK/ERK function by interferon may be one of the important mechanisms involved in anti-hepatocarcinogenic actions.

Another cell cycle analysis of G1-synchronized, interferon- α -treated HCC cell lines revealed a substantial delay in S-phase progression, but no alteration of G1/S-phase transition.²⁷ Reflecting the time course of S-phase accumulation, cell cycle-dependent induction of cyclin A and cyclin B was demonstrated to be impaired. The ability of interferon- α to interfere with cyclin A expression in HCC is noteworthy in view of the reported overexpression of cyclin A in ~40% of tumour tissues from HCC patients.²⁸ The mechanism by which interferon- α inhibits cell-cycle progression and proliferation may be influenced by the cell line systems analysed, but its variation, alternatively, reflects differences in the available spectrum of interferon- α -susceptible growth-relevant effector molecules because of specific oncogenic alterations present in the target cell.

Interferon- α has been shown to reduce intrarenal oxidative stress in rats with carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity.²⁹ Another study revealed that interferon- α dose-dependently increased the protein levels of copper-, zinc- and manganese-dependent superoxide dismutase, as well as the enzyme activities of glutathione peroxidase, and decreased the lipid peroxidation product levels in oxidative-stressed rat hepatocytes.³⁰ As HCV RNA levels are usually decreased or undetectable, even though uncommonly unchanged, during interferon therapy in transient biochemical responders, such antioxidative actions of interferon may be amplified in a condition where oxidative stress is attenuated due to decreased HCV load. In fact, 2 months interferon therapy has been shown to decrease the serum lipid peroxidation products (thiobarbituric acid reactive substances) of hepatitis C patients, whose serum ALT levels fall to the normal range.³¹

Conclusions

Needless to say, eradication of HCV and normalization of the serum ALT level by interferon are the most important issues for chemoprevention of hepatocarcinogenesis in patients with chronic hepatitis C. However, the antiproliferative activity of interferon- α also seems to play a critical role in preventing chronic hepatitis C patients from developing HCC. Furthermore, interferon may have a direct anti-tumour effect on clinically undetectable HCC, since combination therapy with interferon- α and intraarterial 5-fluorouracil has been shown to be effective in reducing tumours in patients with HCC.³² With respect to this issue, a very recent study demonstrated the integration of interferon- α/β signalling to p53 responses in tumour suppression, which resulted in enhancement of cancer cell apoptosis by interferon.³³ We need to ascertain whether the anti-proliferative action of interferon is actually elicited in transient biochemical responders, not in non-responders, and induces a normo- or hypocarcinogenic condition in those patients.

There is no strong clinical evidence linking the antioxidative action of interferon to the inhibition of HCC development in patients with chronic hepatitis C. Thus, further studies are required to determine how the antioxidative activity of interferon is involved in reducing the HCC incidence in HCV infection.

Acknowledgements

This study was supported in part by grants from the Ministry of Health, Labor and Welfare, and grants from the Ministry of Education, Science and Culture.

References

1. Yoshida, H., Shiratori, Y., Moriyama, M. *et al.* (1999). Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Annals of Internal Medicine* **131**, 174–81.
2. Kasahara, A., Hayashi, N., Mochizuki, K. *et al.* (1998). Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* **27**, 1394–402.
3. Imai, Y., Kawata, S., Tamura, S. *et al.* (1998). Relation of interferon therapy and hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Annals of Internal Medicine* **129**, 94–9.
4. Ikeda, K., Saitoh, S., Chayama, K. *et al.* (1999). Effect of interferon therapy on hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic hepatitis type C: a long-term observation study of 1,643 patients using statistical bias correction with proportional hazard analysis. *Hepatology* **29**, 1124–30.
5. Tanaka, H., Tsukuma, H., Kasahara, A. *et al.* (2000). Effect of interferon therapy on the incidence of hepatocellular carcinoma and mortality of patients with chronic hepatitis C: a retrospective cohort study of 738 patients. *International Journal of Cancer* **87**, 741–9.
6. Okanou, T., Itoh, Y., Kirishima, T. *et al.* (2002). Transient biochemical response in interferon therapy decreases the development of hepatocellular carcinoma for five years and improves the long-term survival of chronic hepatitis C patients. *Hepatology Research* **23**, 62–77.
7. Okanou, T., Itoh, Y., Minami, M. *et al.* (1999). Interferon therapy lowers the rate of progression to hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C but not significantly in an advanced stage: a retrospective study in 1148 patients. *Journal of Hepatology* **30**, 653–9.
8. Hino, K., Kitase, A., Satoh, Y. *et al.* (2002). Interferon retreatment reduces or delays the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Journal of Viral Hepatitis* **9**, 370–6.
9. Donat, M. F., Arosio, E., Ninno, E. D. *et al.* (2001). High rates of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients with liver cell proliferative activity. *Hepatology* **34**, 523–8.
10. Hayashi, J., Aoki, H., Kajino, K. *et al.* (2000). Hepatitis C virus core protein activates the MAP/ERK cascade synergistically with tumor promoter TPA, but not with epidermal growth factor or transforming growth factor alpha. *Hepatology* **32**, 958–61.
11. Ito, Y., Sasaki, Y., Horimoto, M. *et al.* (1998). Activation of mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinases in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* **27**, 951–8.
12. Seger, R. & Krebs, E. G. (1995). The MAPK signaling cascade. *FASEB Journal* **9**, 726–35.
13. Talarmin, H., Rescan, C., Cariou, S. *et al.* (1999). The mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase cascade activation is a key signalling pathway involved in the regulation of G₁ phase progression in proliferating hepatocytes. *Molecular and Cellular Biology* **19**, 6003–11.
14. Cheng, M., Sexl, V., Sherr, C. J. *et al.* (1998). Assembly of cyclin D-dependent kinase and titration of p27^{Cip1} regulated by mitogen-activated protein kinase kinase (MEK1). *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **95**, 1091–6.
15. Balmanno, K. & Cook, S. J. (1999). Sustained MAP kinase activation is required for the expression of cyclin D1, p21^{Cip1} and a subset of AP-1 proteins in CCL39 cells. *Oncogene* **18**, 3085–91.
16. Masaki, T., Shiratori, Y., Rengifo, W. *et al.* (2003). Cyclins and cyclin-dependent kinases: comparative study of hepatocellular carcinoma versus cirrhosis. *Hepatology* **37**, 534–43.
17. Huang, H., Fujii, M., Sankila, A. *et al.* (1999). Beta-catenin mutations are frequent in human hepatocellular carcinomas associated with hepatitis C virus infection. *American Journal of Pathology* **155**, 1795–801.
18. Buendia, M. A. (2000). Genetics of hepatocellular carcinoma. *Seminars in Cancer Biology* **10**, 185–200.
19. Okuda, M., Li, K., Beard, M. R. *et al.* (2002). Mitochondrial injury, oxidative stress, and antioxidant gene expression are induced by hepatitis C virus core protein. *Gastroenterology* **122**, 366–75.
20. Moriya, K., Nakagawa, K., Santa, T. *et al.* (2001). Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Research* **61**, 4365–70.
21. Kato, J., Kobune, M., Nakamura, T. *et al.* (2001). Normalization of elevated hepatic 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in chronic hepatitis C patients by phlebotomy and low iron diet. *Cancer Research* **61**, 8697–702.
22. Desmet, V. J., Garber, M., Hoofnagle, J. H. *et al.* (1994). Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* **19**, 1513–20.
23. Takayama, T., Makuuchi, M., Hirohashi, S. *et al.* (1998). Early hepatocellular carcinoma as an entity with a high rate of surgical cure. *Hepatology* **28**, 1241–6.
24. Ikeda, K., Arase, Y., Saitoh, S. *et al.* (2000). Interferon beta prevents recurrence of hepatocellular carcinoma after complete resection or ablation of the primary tumor—a prospective randomized study of hepatitis C virus-related liver cancer. *Hepatology* **32**, 228–32.
25. David, M., Petricoin, E., III, Benjamin, C. *et al.* (1995). Requirement for MAP kinase (ERK2) activity in interferon alpha- and interferon beta-stimulated gene expression through STAT proteins. *Science* **269**, 1721–3.
26. Romerio, F. & Zella, D. (2002). MEK and ERK inhibitors enhance the antiproliferative effect of interferon- α 2b. *FASEB Journal* **16**, 1680–2.
27. Murphy, D., Detjen, K. M., Welzel, M. *et al.* (2001). Interferon- α delays S-phase progression in human hepatocellular carcinoma cells via inhibition of specific cyclin-dependent kinases. *Hepatology* **33**, 346–56.
28. Chao, Y., Shi, Y. L., Chiu, J. H. *et al.* (1998). Overexpression of cyclin A but not Skp 2 correlates with the tumor relapse of human hepatocellular carcinoma. *Cancer Research* **58**, 985–90.
29. Dogukan, A., Akpolat, N., Celiker, H. *et al.* (2003). Protective effect of interferon-alpha on carbon tetrachloride-induced nephrotoxicity. *Journal of Nephrology* **16**, 81–4.
30. Lu, G., Shimizu, I., Cui, X. *et al.* (2002). Interferon-alpha enhances biological defense activities against oxidative stress in cultured rat hepatocytes and hepatic stellate cells. *Journal of Medical Investigation* **49**, 172–81.
31. Higuera, V., Raya, A., Rodrigo, J. M. *et al.* (1994). Interferon decreases serum lipid peroxidation products of hepatitis C patients. *Free Radical Biology & Medicine* **16**, 131–3.
32. Sakon, M., Nagano, H., Dono, K. *et al.* (2002). Combined intra-arterial 5-fluorouracil and subcutaneous interferon-alpha therapy for advanced hepatocellular carcinoma with tumor thrombi in the major portal branches. *Cancer* **94**, 435–42.
33. Takaoka, A., Hayakawa, S., Yanai, H. *et al.* (2003). Integration of interferon- α/β signaling to p53 responses in tumor suppression and antiviral defence. *Nature* **424**, 516–23.