

し、IFN-AC比およびRIB-AC比を定義することにより数式化した。各治療例にこの数式を適用して解析した結果、PEG-IFN+リバビリン併用療法において、IFN-AC比4.0以上かつRIB-AC比4.0以上となるように投与量と投与期間を設定することが、SVRを得るために必要な条件であると考えられた。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

肝硬変に対する治療に関する研究

C型慢性肝炎進行例に対するペグインターフェロン（PEG-IFN）治療成績と
肝疾患入院イベントの抑制

分担研究者 山東 剛裕 国立病院機構京都医療センター 臨床研究センター
消化器科医長

研究要旨 肝予備能の低下したC型慢性肝炎-肝硬変患者に対しPEG-IFN治療（A群）を行い、瀉血、グリチルリチン製剤などの抗ウイルス療法以外の治療（B群）と比較し、肝疾患関連入院、死亡、癌治療のイベント発生について検討した。ALT正常化はA、B群で有意差はなかったが、肝疾患関連入院、死亡、癌治療イベントともA群で有意に低く、PEG-IFN治療によりイベントが抑制された。また癌治療歴のある例に絞っても、癌治療イベントはA群で有意に低かった。多変量解析ではPEG-IFN治療（ハザード比0.182）、癌治療歴（2.30）、男性（2.61）が入院イベント規定因子であった。また癌治療入院イベントについても癌治療歴に次いでPEG-IFN治療は有意な（ハザード比0.247）規定因子であった。以上より肝予備能の低下した症例でもPEG-IFN治療を行うことで肝疾患関連入院を低下させる可能性が示唆され、投与可能な症例では積極的に投与を考慮すべきであると考えられた。

研究協力者

国立病院機構京都医療センター消化器科
勝島慎二、米田俊貴、島 伸子、水本吉則
渡邊 亨、安立英矢、友野輝子、前川高天
京都大学医学部保健学科
福田善弘

A. 研究目的

C型慢性肝炎患者に対し、従来型（短時間作用型）IFN治療によりsustained virological response（SVR）が得られたら肝予備能の増悪や発癌の防止ができることがわかっている。しかし従来型24週投与では日本人の約60%を占めるHCVセロタイプグループ1、高ウイルス症例ではSVRは10%程度しか得られず、従来型短期投与のみでは不十分な点があった。また最近まで肝硬変など

の肝予備能の低下した症例にはIFN治療を積極的にはなされず、グリチルリチン製剤などで肝炎コントロールを図られていたが、ALT低下効果や発癌防止効果が十分であったとは言えなかった。近年IFN投与方法の進歩により肝予備能低下例、高齢者などにもIFN適応範囲が広がっている。また2003年12月以降にPEG-IFN製剤が保険収載されたが、同剤のウイルス的治療効果（リバビリン併用も含めて）は多数報告があるものの、投与後の長期予後や肝予備能の低下した症例に投与した報告は少ない。今回われわれはPEG-IFN製剤を肝予備能の低下した症例に投与し、抗ウイルス療法以外の治療と比較する事で、PEG-IFN製剤の肝疾患進行例への投与の妥当性を検討する事を目的とした。

B. 方法

対象は2003年12月より2005年9月までに治療を開始したALT値が30 IU/L以上を持続し、観察開始時の血小板数12万以下/ μ l、観察開始時年齢が75歳以下の肝性脳症歴のない、肝予備能の低下していると考えられるC型慢性肝炎患者97例を十分なインフォームドコンセントの後、患者の自由意志とウイルス型、量によりPEG-IFN治療群 (A群57例、PEG-IFN α 2a単独治療32例、PEG-IFN2b+リバビリン併用治療25例) とその他の治療群 (B群40例、瀉血治療13例、グリチルリチン製剤注射治療25例、ウルソデオキシコール酸治療30例、重複治療あり。目標ALT値は正常値である30以下を維持する事を目標とした) の2群に割り付けた。それぞれの治療法については表1に記す。IFN治療は血球減少、副作用などに応じて適宜減量した。各群の治療効果を検討し、各群の肝疾患関連入院イベント (癌治療、静脈瘤治療、吐血、肝性脳症など)、死亡までの期間をKaplan-Meier法で検定し、イベントに寄与すると予想される因子 (治療法、年齢、性、ALT値、ウイルス量、セロタイプ、血小板数、AFP値、肝細胞癌治療歴) を多変量解析で検討した。観察開始日は2003年12月または初診日の遅い方とした。従来型IFN治療歴のある例はTR (一過性有効) またはNR (無効) 例をエントリーした。

表1.

1. PEG-IFN治療:
PEG-IFN単独 or リバビリン併用療法
・ セロタイプ1高ウイルス量例 48週投与
・ 上記以外 24週投与
投与量は血小板数などにより標準量の50-100%
2. 瀉血療法:
血清フェリチン値20ng/ml以下維持を目標に
2-4週間毎に200-400cc瀉血
3. グリチルリチン製剤:40-100mlを週2-6回静脈投与
4. ウルソデオキシコール酸:600mg分3経口投与

また、発癌や肝炎進展予防目的にて従来型IFN間歇投与例は今回の検討では除外した。肝細胞癌治療歴のある例は、外科的・局所治療によって局所制御されたと判断された例をエントリーし、肝細胞癌治療後6ヶ月以内の局所または異所性再発例は観察開始時に既に相応の癌が存在していたと考え、除外した。

C. 成績

A群、B群の平均観察期間はそれぞれ1035、1109日であった。両群間で年齢に有意差があったが、他の背景因子に有意差はなかった (表2)。評価可能な症例でA群のSVRはHCVグループ1高ウイルス量 (1H) 症例で9/37 (24%) であり、その他 (non1H) 症例で13/16 (81%) であった。ALT正常化例はA、B群でそれぞれ36/57 (63%)、23/40 (58%) で有意差はなかった (表3)。

表2. 症 例

	A群 57	B群 40
例数		
性別 (M/F)	31/26	19/21
年齢 *	62.8 \pm 7.9	66.5 \pm 8.1
観察日数 *	1035 \pm 181	1109 \pm 151
ALT (IU/L)	81.8 \pm 53.4	70.1 \pm 31.6
Plt (万/ μ l)	9.0 \pm 2.0	8.5 \pm 2.2
ALB (g/dl)	3.88 \pm 0.54	3.73 \pm 0.48
AFP (ng/ml)	30.1 \pm 48.2	57.2 \pm 106.8
癌治療歴 (有/無)	12/45	13/27
IFN歴 (有/無)	10/47	5/35
1-High/non1-High	40/17	33/7
		(mean \pm SD)

* : $p < 0.05$ Mann-Whitney U 検定

表3. 介入治療効果

	A群		B群
	SVR	ALT 正常化	ALT 正常化
1 high	9/37(24%) 判定待ち3	25/40 (63%)	23/40 (58%)
non-1h	13/16(81%) 判定待ち1	11/17 (65%)	

ALT正常化についてはA、B群で有意差なし

両群の肝疾患関連入院はそれぞれ1年で3.6%、30.0%、2年で19.7%、53.8%、3年で26.5%、59.6% (表4)、死亡はA群では無く、B群で1年6.0%、2年12.4%、3年14.1%であった (表5)。

表4. 肝疾患関連入院イベント

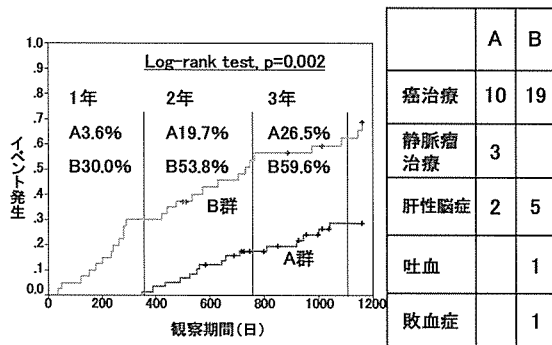
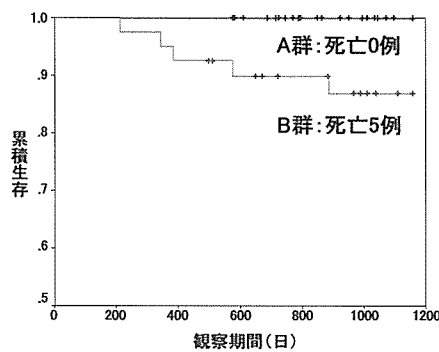


表5. 累積生存



癌治療イベントは各群1年で1.8%、20.3%、2年で10.9%、40.5%、3年で22.7%、47.3%であった (表6)。癌治療歴のある症例に絞ると、癌再発治療イベントは各群1年で8.3%、45.9%、2年で41.7%、72.9%、3年で68.7%、86.5%であった (表7)。

表6. 癌治療イベント

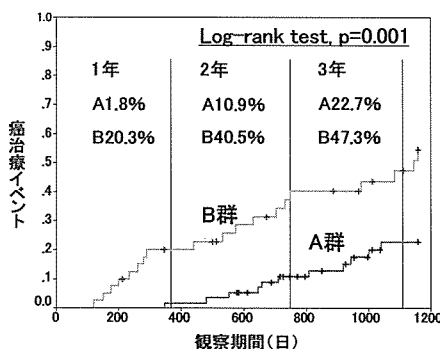
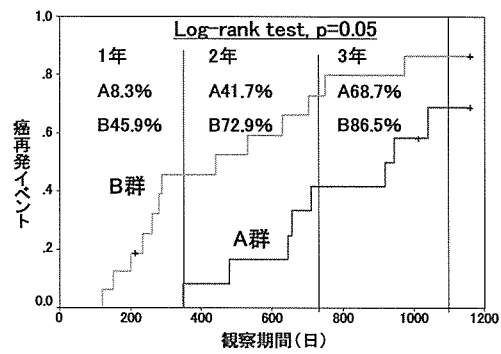


表7. 癌治療歴のある例の再発イベント



Log Rank Testで検討したところPEG-IFN治療により入院加療、死亡、癌治療とも有意にイベントが抑制された。次いでCox比例ハザードモデルにて介入治療 (PEG-IFN/その他)、年齢、性別、ALT値、ウイルス量、セロタイプ、血小板数、AFP値、肝細胞癌治療歴 (有/無) のイベント発生に対する寄与を検討した。肝疾患入院イベントにおいてはPEG-IFN治療 (あり、ハザード比0.182、 $p < 0.001$)、癌治療歴 (あり、ハザード比2.30、 $p = 0.023$)、性 (男性、ハザード比2.61、 $p = 0.011$) が規定因子であった (表8)。また癌の再発治療イベントについてもPEG-IFN治療 (あり、ハザード比0.247、 $p = 0.006$) は癌治療歴 (あり、ハザード比4.70、 $p = 0.001$) とともに有意に寄与した (表9)。

表8. 多変量解析結果肝疾患関連入院イベント

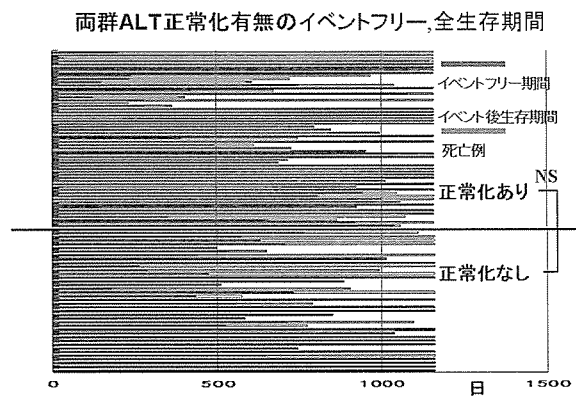
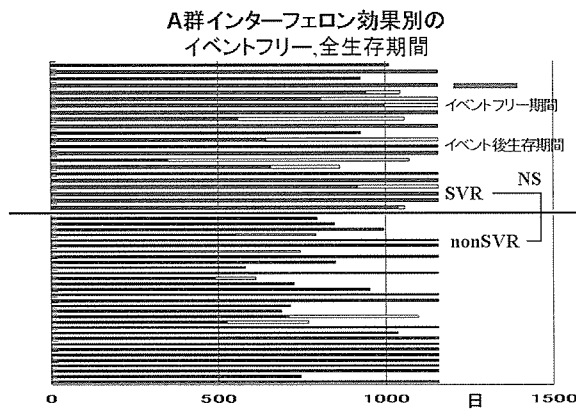
	ハザード比	95%信頼区間	p-value
IFN治療 (あり)	0.182	0.079-0.419	<0.001
癌治療歴 (あり)	2.30	1.12-4.71	0.023
性 (男性)	2.61	1.29-5.32	0.011

表9. 多変量解析結果癌治療イベント

	ハザード比	95%信頼区間	p-value
IFN治療 (あり)	0.247	0.091-0.668	0.006
癌治療歴 (あり)	4.70	2.00-11.04	0.001

次いでA群PEG-IFN効果別のイベントフリー期間について検討した。SVR例と非SVR例のイベントフリー期間は今回の検討においては有意差はなかった(表10)。SVR例22例の内入院イベントは9例(1H 2例、non1H 7例)で、そのうち8例(1H 2例、non1H 6例)が癌治療イベントだった。

また、A、B群それぞれ、および両群のALTの正常化有無でイベントフリー期間は今回の検討において有意差はなかった(表11)。



D. 考察

肝予備能の低下した症例において、PEG-IFN治療を行うことで肝疾患関連入院及び死亡イベントを抑制させる可能性が示された。また癌治療歴がある症例でも局所コントロールが可能であれば、PEG-IFN治療を行うことで癌の再発を抑制させる可能性も示唆された。理由として、PEG-IFN治療はそ

の他治療(グリチルリチン製剤、瀉血、ウルソデオキシコール酸)に比べて強力な肝炎沈静化(酸化ストレス低減)効果やHCV-RNA排除効果、直接抗腫瘍効果が再発予防に関与するためではないかと推測している。

今回の検討ではSVR例でのイベントフリー期間の有意の改善はなかった。SVR例のイベント9例中8例が癌治療であったのだが、内6例と多数をnon1H例が占めた。肝疾患進行例ではすでに微小な癌が存在している可能性があり、non1H例のようなPEG-IFN 24週短期投与では癌抑制期間が短く、発癌が多くなったのではないかと推定している。今回の研究では従来型およびPEG-IFN少量長期投与(2~3年以上)例は含めていないが、長期投与例ではSVRが得られなくても肝予備能の維持や発癌抑制効果が長期にわたることが期待されるため、短期投与SVR例と対比して今後検討したい。

また、ALT正常化有無でイベントフリー期間に有意差はなかった。これも上記と同様にA群では投与中ALT正常化してもSVRでなければ中止後リバウンドする例が多く、ALT正常化を維持し続けられない事があり、それに対しB群は観察期間中治療続行している例が多いため、ALT正常化を維持している事も影響しているものと思われる。ただ今回の治療選択においてバイアスがかかっていなかったとは言えず、今後はRCTによる、さらに大規模な検討が望ましいと考える。

E. 結論

肝予備能の低下した症例でもPEG-IFN治療を行うことで肝疾患関連入院や発癌、癌治療後の再発を低下させる可能性が示唆され、投与可能な症例では積極的に投与を考慮すべきであると考えられた。今後はIFN少量長期治療も含め検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

山東剛裕：C型慢性肝炎進行例に対する
PEG-IFN治療成績と肝疾患入院イベントの
抑制、第48回日本消化器病学会大会
(DDW-Japan2006)、札幌

H. 知的財産権の出願・登録状況

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

肝硬変に対する治療に関する研究

インターフェロン刺激伝達におけるAkt・mTOR経路の関与の検討

分担研究者 中尾 一彦 長崎大学医歯薬総合研究科展開医療科学講座
消化器病態制御学（第一内科） 助教授

研究要旨 肝細胞内のC型肝炎ウイルス感染に対して1型インターフェロンはその除去に有用である。またインターフェロンの肝細胞内のウイルス排除シグナルはJAK-STAT経路が有名である。しかし、我々のin vitroの検討ではインターフェロン誘導性抗ウイルス蛋白PKRの発現において、JAK-STAT経路に加え、PI3K-Akt-mTOR経路の活性化も必要であることが判明した。増殖や代謝シグナルであるPI3K経路が肝細胞内でJAK-STAT経路で最も重要であるSTAT-1のチロシンリン酸化に必要であることが示された。これらの結果よりPI3K経路に影響を与える状態、即ちインスリン抵抗性や免疫抑制剤の投与がインターフェロンの抗ウイルス効果発現に多大な影響を与えている可能性を示唆する。

研究協力者

市川 辰樹 長崎大学医学部歯学部附属病院
第一内科助手

A. 研究目的

インターフェロン (IFN) が肝細胞内刺激伝達系 (JAK-STAT、PI3K-Akt-mTOR) へ及ぼす影響をin vitro実験系を用いて検討する。

B. 研究方法

(1) IFN刺激がAkt、mTORリン酸化に及ぼす影響

培養ヒト正常肝細胞株HcにIFN- α を添加し経時的にAkt、mTORのリン酸化をwestern blottingで検討した。

(2) mTOR活性阻害、Akt活性阻害、PI3K活性阻害がIFN- α 刺激伝達系、抗ウイルス蛋白発現に与える影響

HcをmTOR阻害剤であるRapamycin、Akt阻害作用のあるdominant negative Aktを組み込んだAdeno virus (DN-Akt adeno)、PI3K阻害剤のWortomaninで前処置後、IFN- α により刺激しSTAT-1チロシンリン酸化をwestern blottingより検討した。また、IFN誘導性抗ウイルス蛋白であるPKR、p48の発現も同様に検討した。またIFN刺激によるSTAT-1の核移行に及ぼす影響は免疫蛍光組織化学染色で検討した。

(3) mTOR活性阻害、PI3K活性阻害によるIFN感受性promoter活性に与える影響

IFN感受性配列 (ISRE) を持つルシフェラーゼプラスミドを培養ヒト肝癌細胞株HuH-7に導入し、Rapamycin、Wortomaninで前処置後、IFN- α により刺激しルシフェラーゼ活性を測定した。

C. 研究結果

(1) IFN刺激がAkt、mTORリン酸化に及ぼす影響

IFN- α 100 IU/mLにより、Aktのリン酸化（セン437番）、mTORのリン酸化（セリン2448番）は誘導された（図1）。

(2) mTOR活性阻害、Akt活性阻害、PI3K活性阻害によるIFN- α 刺激伝達系、抗ウイルス蛋白発現に与える影響

Hcをrapamycin 100 mol/Lで16時間前処置後、IFN- α によるSTAT-1のリン酸化をチロシン701番、セリン727番においてwestern blottingで検討したところ、IFN- α 単独に比べSTAT-1の両方のリン酸化共にrapamycin前処置で経時的にみて減弱された（図2）。同様の前処置の後IFNを8時間投与しIFN誘導性抗ウイルス蛋白PKR、p48の発現を検討したところrapamycinの用量依存的にPKR、p48の発現は減弱した（図3）。

次にDN-Akt adenoをHcに感染させ、その後IFN- α により誘導されるSTAT-1のチロシンリン酸化を検討したが、リン酸化は減弱していた（図4）。

PI3K阻害剤であるwortomaninを15分前処置しIFN- α によるSTAT-1のリン酸化を検討したところチロシンリン酸化はwortomaninの用量依存性に減弱した。また同様に前処置を行ないIFN- α 8時間刺激後、PKR、p48の蛋白発現量を比較してところ、wortomaninの用量依存性にその発現は減少した（図5）。

次にチロシンリン酸化STAT-1の核移行を免疫蛍光染色で検討した。Rapamycinを16時間前処置後、IFN- α 100 IU/mL添加し10分後に細胞を固定し、STAT-1の核移行を検討したところ、rapamycinの添加により、STAT-1のリン酸化は抑制されるとともに、核への移行も阻害されていた（図6）。

図1.

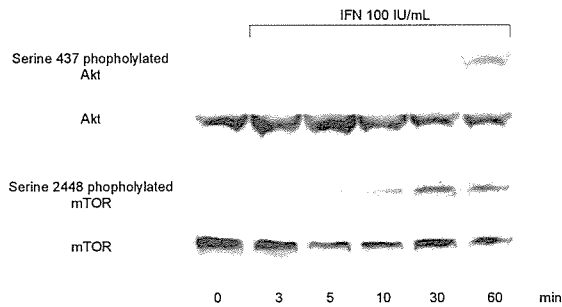


図2.

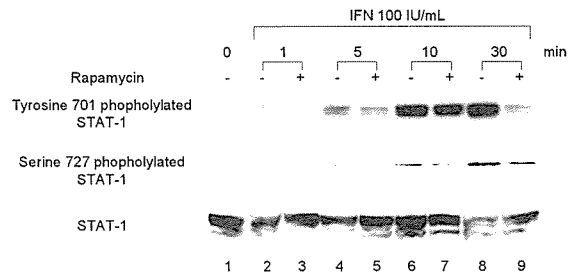


図3.

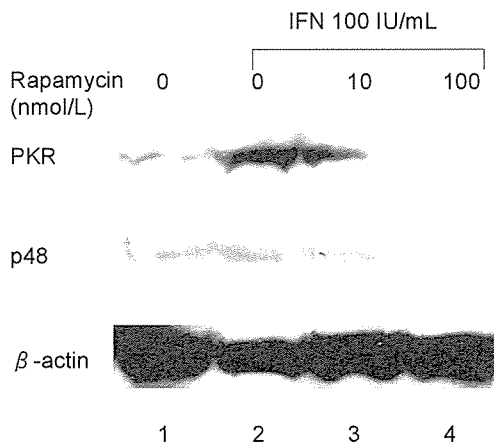


図4.

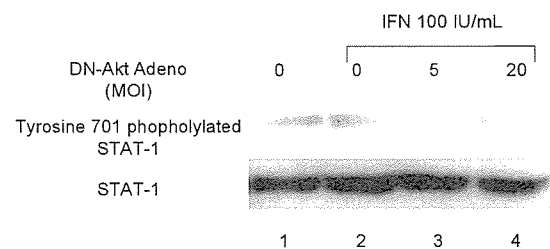
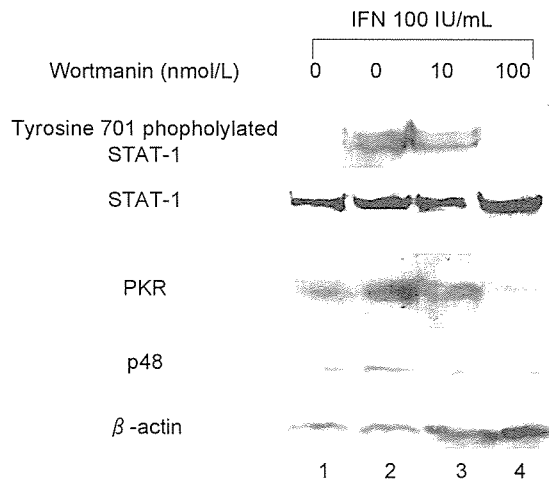


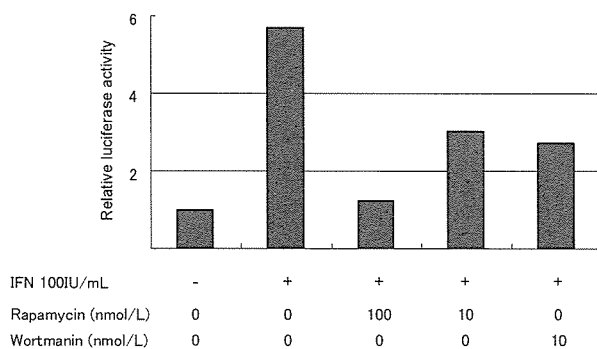
図5.



(3) rapamycin、wortomaninによるIFN感受性promoter活性に与える影響

HuH-7にISRE配列を5'末端にもつルシフェラーゼプラスミドを一過性にtransfectionし、その後rapamycin、wortomaninを添加し、その後IFN- α 100 IU/mLで30分間刺激しルシフェラーゼ活性を比較した。IFN単独刺激と比較しrapamycin、wortomanin前処置後IFN刺激では明らかにルシフェラーゼの活性が減弱していた（図7）。

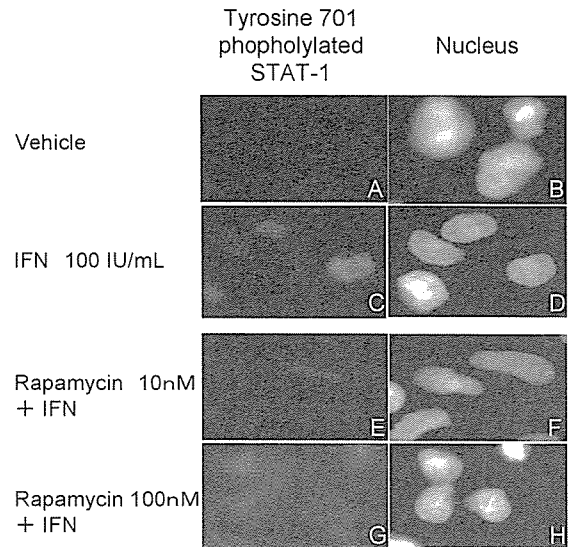
図7.



D. 考察

本研究の結果、PI3K-Akt-mTOR経路がIFN- α 刺激により活性化され細胞内JAK-STATシグナル伝達をSTAT-1チロシンリン酸化を介し、維持することが示された。

図6.



IFN誘導性抗ウイルス蛋白であるPKR、またJAK-STAT経路に於その刺激伝達に必要な蛋白であるp48はPI3K-Akt-mTOR経路を阻害することによりその蛋白発現は阻害された。PI3K-Akt-mTOR経路はリンパ球系では細胞死に関するシグナルとして知られており、また他の細胞では主にSTATのセリンのリン酸化を増強することにより遺伝子発現に関与するとされているが、今回の我々の検討ではチロシンのリン酸化に深く関与していることが示された。IFN刺激による細胞内シグナル伝達は細胞の種類によって異なることが知られており、JAK-STAT経路以外にも種々のシグナルがIFN誘導性蛋白発現に関連することが知られている。肝細胞に於、これからHCVに対する抗ウイルス作用にJAK-STAT経路の外にいかなる経路が関連しているか検討が必要である。

今回の検討ではPI3K-Akt経路の下流にあるmTORがSTAT-1のチロシンリン酸化に影響を与えていることが示された。mTORは蛋白代謝、細胞増殖に関連していることが知られている。特に近年、強力な免疫抑制剤としてmTOR阻害剤であるrapamycinは知られている。肝細胞においてIFNのJAK-STAT経路の抑制作用がin vitroでも認めら

れるなら、移植医療の場では、特にHCV感染対策を立てる必要がある場合その使用は慎重に検討されねばならない。

また、PI3K-Akt経路は糖代謝にも重要な刺激である。Metabolic症候群ではインスリン抵抗性その原因とされており、その機序として肝細胞内のインスリン刺激によるPI3K-Akt経路の障害とされている。またHCV慢性感染症に於も肥満の症例が多いことが問題となっており、これら肝内のインスリン抵抗性を持つ症例にIFN治療を行なう際、その効果を左右する可能性は今後検討される必要があると思われる。

E. 結論

PI3K-Akt-mTOR経路はIFN誘導性蛋白発現に重要な経路である。今後この臨床的な意義を検証していく必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Taura N, Yatsunami H, Hamasaki K, Nakao K, Daikoku M, Ueki T, Yano K, Matsumoto T, Ishibashi H, Eguchi K. Increasing hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma mortality and aging: Long term trends in Japan. *Hepatol Res.* 2006 Feb;34(2): 130-4.
- 2) Nakao K, Hamasaki K, Ichikawa T, Arima K, Eguchi K, Ishii N. Survivin downregulation by siRNA sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis. *Oncol Rep.* 2006 Aug;16(2): 389-92.
- 3) Nishimura D, Ishikawa H, Matsumoto K, Shibata H, Motoyoshi Y, Fukuta M, Kawashimo H, Goto T, Taura N,

Ichikawa T, Hamasaki K, Nakao K, Umezawa K, Eguchi K. DHMEQ, a novel NF-kappaB inhibitor, induces apoptosis and cell-cycle arrest in human hepatoma cells. *Int J Oncol.* 2006 Sep;29(3): 713-9.

4) Taura N, Hamasaki K, Nakao K, Ichikawa T, Nishimura D, Goto T, Fukuta M, Kawashimo H, Miyaaki H, Fujimoto M, Kusumoto K, Motoyoshi Y, Shibata H, Inokuchi K, Eguchi K. Aging of patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma: long-term trends in Japan. *Oncol Rep.* 2006 Oct;16(4): 837-43.

5) Taura N, Hamasaki K, Nakao K, Ichikawa T, Nishimura D, Goto T, Fukuta M, Kawashimo H, Fujimoto M, Kusumoto K, Motoyoshi Y, Shibata H, Eguchi K. The impact of newer treatment modalities on survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Clin Gas A Hepatol.* 2006 Sep;4(9): 1177-83.

6) Motoyoshi Y, Kaminoda K, Saitoh O, Hamasaki K, Nakao K, Ishii N, Nagayama Y, Eguchi K. Different mechanisms for anti-tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide. *Oncol Rep.* 2006 Jul;16(1): 141-6.

2. 学会発表

- 1) 第103回日本内科学会講演会 田浦直太、濱崎圭輔、中尾一彦、市川辰樹、西村大介、後藤貴史、福田麻里子、柴田英貴、江口勝美、兼松隆之. 劇症肝炎における生体肝移植レシピエント及びドナーの背景因子について 長崎大学第一内科
- 2) 第92回日本消化器病学会総会 田浦直太、濱崎圭輔、中尾一彦、市川辰樹、西村大介、後藤貴史、福田麻里子、川下 浩、藤本真澄、楠本浩一郎、本吉康英、柴田英貴、江口勝美 2型糖尿病症例における非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) の検討 長崎大学

第一内科、同 保健管理センター

3) 第273回日本内科学会九州地方会 柴田英貴、市川辰樹、中尾一彦、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、宮明寿光、濱崎圭輔、江口勝美 1型糖尿病とVogt-小柳-原田病の合併例に原発性胆汁性肝硬変を発症した1例 長崎大学第一内科

4) 第42回日本肝臓学会総会 市川辰樹、中尾一彦、濱崎圭輔、江口 晋、高槻光寿、川下雄丈、西村大介、後藤貴史、田浦直太、川下 浩、福田麻理子、藤本真澄、楠本浩一郎、本吉康英、柴田英貴、兼松隆之、江口勝美. 肝移植後インターフェロン療法中のC型肝炎ウイルス血中動態に及ぼす免疫抑制剤の関与 長崎大学第一内科

5) 第42回日本肝臓学会総会 本吉康英、柴田英貴、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、福田麻里子、田浦直太、後藤貴史、西村大介、市川辰樹、濱崎圭輔、中尾一彦、江口勝美. 肝細胞癌マウスモデルにおける低用量シクロフォスファミドによる調節性T細胞の抑制と抗腫瘍活性の増強 長崎大学第一内科

6) 第42回日本肝臓学会総会 中尾一彦、福田麻里子、市川辰樹、後藤貴史、西村大介、田浦直太、川下 浩、宮明寿光、本吉康英、藤本真澄、楠本浩一郎、柴田英貴、濱崎圭輔、江口勝美. 肝癌細胞におけるSTAT3の恒常的活性化とJAK2-STAT3シグナル阻害による抗腫瘍効果 長崎大学第一内科

7) 第42回日本肝臓学会総会 田浦直太、濱崎圭輔、中尾一彦、市川辰樹、西村大介、後藤貴史、福田麻里子、川下 浩、藤本真澄、楠本浩一郎、本吉康英、柴田英貴、江口勝美. 非アルコール性脂肪肝 (NAFLD) におけるCRPとレプチン関連について 長崎大学第一内科

8) 第42回日本肝臓学会総会 後藤貴史、石川博基、松本幸二郎、柴田英貴、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、福田麻

里子、田浦直太、西村大介、市川辰樹、濱崎圭輔、中尾一彦、江口勝美. 肝細胞癌患者における血清中血管新生因子 (VEGF-A、VEGF-D) の検討 長崎大学第一内科

9) 第87回日本消化器病学会九州支部例会田浦直太、中尾一彦、八橋 弘、濱崎圭輔、市川辰樹、西村大介、後藤貴史、福田麻里子、川下 浩、宮明寿光、藤本真澄、楠本浩一郎、本吉康英、柴田英貴、江口勝美. Nonalcoholic steatohepatitis (NASH) におけるCRPとレプチンの関連について 長崎大学第一内科、長崎医療センター臨床研究センター

10) 第87回日本消化器病学会九州支部例会川下 浩、柴田英貴、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、福田麻里子、宮明寿光、後藤貴史、田浦直太、西村大介、市川辰樹、濱崎圭輔、中尾一彦、江口勝美. 肝予備能の回復に伴い耐糖能異常が改善したB型慢性肝炎急性増悪の1例 長崎大学第一内科

11) 第42回日本移植学会総会 市川辰樹、中尾一彦、濱崎圭輔、川下雄丈、江口 晋、高槻光寿、兼松隆之、江口勝美. Calcineurin阻害剤が肝細胞内インターフェロン刺激伝達に与える影響 長崎大学第一内科・第二外科

12) 第10回日本肝臓学会大会 塩月香那子、後藤貴史、市川辰樹、柴田英貴、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、福田麻里子、宮明寿光、田浦直太、西村大介、濱崎圭輔、中尾一彦、江口勝美. 抗GAD抗体陽性C型慢性肝炎に対するPegylated interferon療法と1型糖尿病発症との関連 長崎大学第一内科

13) 第48回日本消化器病学会大会 柴田英貴、市川辰樹、中尾一彦、濱崎圭輔、宮明寿光、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、江口勝美. 当科におけるリウマチ膠原病外来受診患者に対するFrequency Scale for the Symptoms of GERD

(FSSG) 問診票を用いた胃食道逆流症 (GERD) と機能性胃腸症 (FD) の検討
長崎大学第一内科

14) 第48回日本消化器病学会大会 市川辰樹、中尾一彦、濱崎圭輔、川下 浩、宮明寿光、藤本真澄、楠本浩一郎、本吉康英、柴田英貴、江口勝美. 肝不全用半消化態栄養剤はTAE施行時の肝予備能低下を防げるか? 長崎大学第一内科

15) 第48回日本消化器病学会大会 川下浩、柴田英貴、本吉康英、楠本浩一郎、藤本真澄、福田麻里子、宮明寿光、後藤貴史、田浦直太、西村大介、市川辰樹、濱崎圭輔、中尾一彦、江口勝美. Vitamin K2 の膵癌細胞に対する抗腫瘍効果の検討 長崎大学第一内科

16) 第88回日本消化器病学会九州支部例会 市川辰樹、中尾一彦、宮明寿光、川下 浩、江口 晋、高槻光寿、増田淳一、大曲勝久、兼松隆之、江口勝美. 生体肝移植後のHCV感染はインターフェロン治療抵抗性か? 長崎大学第一内科・第二内科・移植・消化器外科

17) 第88回日本消化器病学会九州支部例会 川原大輔、市川辰樹、中尾一彦、福田祥子、宮明寿光、秋山祖久、江口 晋、高槻光寿、林 徳真吉、大津留 晶、兼松隆之、江口勝美. 腫瘍切除術後急速に増悪した腹膜原発二相型悪性中皮腫の一例 長崎大学 第一内科・移植・消化器外科・病理部・ヒバクシャ医療センター

18) 第88回日本消化器病学会九州支部例会 野中俊輔、藤本真澄、柴田英貴、本吉康英、秋山祖久、三馬 聡、楠本浩一郎、川下浩、宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美. ペグインターフェロン、リバビリン併用療法中に蜂窩織炎を合併したC型慢性肝炎の1例長崎大学第一内科

19) 第88回日本消化器病学会九州支部例会 川本真規子、川下 浩、柴田英貴、秋山祖久、三馬 聡、本吉康英、楠本浩一郎、藤

本真澄、宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美. 自然退縮後の再増大時にG-CSF、IL-6高値を認めた肝細胞癌の一例 長崎大学第一内科

20) 第275回日本内科学会九州地方会 福田祥子、宮明寿光、柴田英貴、楠本浩一郎、藤本真澄、川下 浩、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美、飛田大作. 門脈体循環シャットによる繰り返す肝性脳症に対し血管塞栓術を施行し著明な改善を認めた1例 長崎大学第一内科、長崎市立琴海病院

21) 第23回日本薬学会九州支部大会 祖川倫太郎、永山雄二、斉藤巨樹、浅井瑤奈、岩松伸洋、松本 梓、中原麻美、中尾一彦、石井伸子. 脳心筋炎ウイルスのinternal ribosome entry siteを用いたbicistronic adenovirus vectorの作製 長崎大院・医歯薬総合・臨床病態薬学、原研・分子設計

22) 第23回日本薬学会九州支部大会 浅井瑤奈、中尾一彦、祖川倫太郎、岩松伸洋、松本 梓、嶋村美加、石井伸子. ヒト肝癌細胞に対するCelecoxib (選択的COX-2 阻害薬)の抗腫瘍効果の検討 長崎大院・医歯薬総合・臨床病態薬学、原研・分子設計

23) 第23回日本薬学会九州支部大会 松本梓、市川辰樹、祖川倫太郎、岩松伸洋、浅井瑤奈、神田省吾、中尾一彦、石井伸子. 肝細胞におけるinterferon誘導性STAT-1リン酸化に対するPI3K-Akt経路の意義 長崎大院・医歯薬総合・臨床病態薬学、原研・分子設計

24) 第23回日本薬学会九州支部大会 岩松伸洋、中尾一彦、祖川倫太郎、浅井瑤奈、松本 梓、嶋村美加、石井伸子. ヒト肝癌細胞に対するmenaquinoneの抗腫瘍効果の検討 長崎大院・医歯薬総合・臨床病態薬学、原研・分子設計

H. 知的財産権の出願、登録状況
なし。

肝硬変に対する治療に関する研究

ヒト肝癌細胞株のAFP産生に対するPEG-IFN- α 2bの作用

分担研究者 矢野 博久 久留米大学医学部病理学 助教授

研究要旨 α -フェトプロテイン(AFP)産生性肝癌細胞株KIM-1において、ペグインターフェロン(PEG-IFN)- α 2b添加培養では、非添加培養(コントロール)に比べ、接触開始後24~240時間目までの間、細胞数は減少したが、単位細胞蛋白あたりの細胞内及び培養液中のAFP量は、192時間目を除き増加し、それぞれ最高でコントロールの1.9倍と2.9倍まで増加した。KIM-1細胞株において、PEG-IFN- α 2b添加培養では、コントロールに比べ、接触開始後72~192時間目までの間、AFPのmRNAも増加し、192時間目が最高でコントロールの3倍に増加した。KIM-1細胞株に、40~5,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2bを添加し72時間培養した結果、蛋白及びmRNAレベルにおける濃度依存性のAFPの発現増加と濃度依存性の細胞数の減少を認めた。細胞数の減少機序は、PEG-IFN- α 2bによるアポトーシスとS期細胞周期進行停止誘導であった。

細胞内AFPのL3分画(フコシル化AFP)は、PEG-IFN- α 2bの濃度依存性に減少した。

他の5種類の肝細胞癌細胞株において、PEG-IFN- α 2b添加培養では、コントロールに比べ細胞数は種々の程度に減少したが、AFPの蛋白及びmRNAレベルの増加は、2株のみで認められた。PEG-IFN- α 2bによるAFPの発現増加と細胞増殖抑制作用との関連性は認めなかった。

A. 研究目的

臨床的に明らかな肝細胞癌の合併を認めないにもかかわらず、血清のAFPの持続高値を呈するC型慢性肝炎患者は、肝細胞癌発症のハイリスク群に位置する。これらの患者に対して、IFNを投与すると肝機能の改善と血清AFP値も有意に低下すると最近報告されている。この事実から、IFNが、不顕性AFP産生性肝癌細胞に直接的に増殖抑制作用を示し、その結果発癌を抑制している可能性や、IFNが肝癌細胞のAFPの発現を機能的に低下させている可能性などが考えられる。これまで、IFNの肝癌細胞のAFPの発現に関する

作用に関する詳細な検討はない。今回、この点に関してPEG-IFN- α 2bとヒト肝癌細胞株を使用して検討を行った。

B. 研究方法

①KIM-1肝癌細胞を1,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2b添加あるいは非添加で24、48あるいは72時間培養し、細胞のAFP mRNAの発現、細胞内及び培養上清中のAFP量、AFP-L1、AFP-L2及びAFP-L3分画の割合(%)を測定した。細胞内及び培養上清中のAFP量を細胞総蛋白量で割って、単位細胞蛋白あたりのAFP量を比較した。また、細胞数

の指標としては、細胞内総蛋白量を使用した。②KIM-1肝癌細胞を250あるいは1,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2bで24、48あるいは72時間培養し細胞周期の解析を行った。細胞を抗BrdU抗体とpropidium iodideで二重染色後、FACScan (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, San Jose, CA) で解析し、G₁、SあるいはG₂/M期の割合を算出した。③KIM-1肝癌細胞を、40、200、1,000あるいは5,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2b添加あるいは非添加で72時間培養し、実験1と同様のAFPの発現に関する検討を行った。④KIM-1肝癌細胞を1,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2b添加あるいは非添加で10日間培養し、2日ごとに実験1と同様のAFPの発現に関する検討を行った。⑤5種類肝癌細胞を、1,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2b添加あるいは非添加で72時間培養し、実験1と同様のAFPの発現に関する検討を行った。

C. 研究結果

①PEG-IFN- α 2b添加後24時間目からKIM-1細胞のPEG-IFN- α 2b添加培養では、controlに比べ細胞数の減少が始まり、72時間目でcontrolの約50%まで低下した。培養上清中のAFPの量は、72時間目にcontrolがPEG-IFN- α 2b添加培養に比べ30%増加していた。PEG-IFN- α 2b添加培養では、controlに比べ単位細胞蛋白あたりのAFP分泌量や細胞内AFP量は増加する傾向を示した。培養上清中のAFP-L3の割合(%)は、controlとPEG-IFN- α 2b間で差を認めなかったが、細胞内のAFP-L3はcontrolもPEG-IFN- α 2bも経時的に軽度増加する傾向を示した。AFP-L3は、PEG-IFN- α 2b処理細胞でより低い値を示した。また、AFP-L3の割合は、細胞外が培養上清中より高値であった。AFPのmRNAレベルの発現は、PEG-IFN- α 2b添加培養後72時間目にPEG-IFN- α 2b添加培養で、controlの約2倍に増加した。②KIM-1細胞の細胞周期の

解析では、PEG-IFN- α 2b添加培養によりS期細胞の増加とpreG₁期細胞の増加がPEG-IFN- α 2bの濃度及び時間依存性に認められ、PEG-IFN- α 2bがアポトーシスとS期細胞周期進行停止を誘導することが明らかとなった。③200~5,000 IU/mLのPEG-IFN- α 2bで72時間添加培養する事により、KIM-1細胞の細胞数は、濃度依存性に減少し、5,000 IU/mLでcontrolの約20%まで減少した。細胞蛋白あたりの上清中あるいは細胞中のAFP量は、濃度依存性に増加する傾向を認めた。上清中のAFP-L3の割合とPEG-IFN- α 2bの濃度との間に関連性は認めなかったが、細胞内AFP-L3は、PEG-IFN- α 2bの濃度依存性に減少した。AFP-L3の割合は、細胞外が培養上清中より高値であった。AFPのmRNAレベルの発現は、PEG-IFN- α 2b添加培養により増加し、200~5,000 IU/mL PEG-IFN- α 2bでcontrolに比べ約2倍増加した。④PEG-IFN- α 2b添加後48時間目からPEG-IFN- α 2b添加培養では、controlに比べ細胞数の減少が始まり、96時間目以降は、controlの約20%前後の細胞数で推移した。培養上清中のAFPの量は144時間後以降controlがPEG-IFN- α 2b添加培養に比べ2倍以上増加していた。単位細胞蛋白あたりのAFP量は、192時間目を除き経時的に増加し、PEG-IFN- α 2b添加培養ではcontrolに比べ1.7~2.9倍前後増加した。同様に、単位細胞蛋白あたりの細胞内のAFP量も192時間目を除き経時的に増加し、PEG-IFN- α 2b添加培養では、controlに比べ1.4~1.9倍前後増加した。培養上清中のAFP-L3の割合(%)は、controlとPEG-IFN- α 2b間で差を認めなかったが、細胞内のAFP-L3は、controlに比べPEG-IFN- α 2b添加培養では、低値を示し、96時間以降は経時的に軽度減少する傾向を示した。また、AFP-L3の割合は、細胞外が培養上清中より高値であった。AFPのmRNAレベルの発現は、controlと

PEG-IFN- α 2b添加培養いずれも192時間目まで発現が経時的に増加する傾向を認めた。PEG-IFN- α 2b添加後、96、144、192時間目では、PEG-IFN- α 2b添加培養においてcontrolに比べAFP mRNAが高い傾向あるいは有意に高い値を示したが、特に192時間後が最高値を示し、controlに比べ3倍程度発現が増加した。⑤5つのHCCの細胞株において、PEG-IFN- α 2b添加培養ではcontrolの25%から60%程度の細胞数に減少した。細胞内のAFPに関しては、2株（KYN-1とKYN-2）で、PEG-IFN- α 2b添加培養で極少量（それぞれ1.5と1.3 ng/mg cellular protein）の発現を認めた。培養上清中のAFPに関しては、KYN-2のみに極少量（0.02 μ g/mg protein）の発現が確認され、PEG-IFN- α 2b添加培養により、controlの2.5倍（0.05 μ g/mg protein）に増加した。AFPのmRNAの発現を上記の2株（KYN-1、KYN-2）のみで確認できたが、KYN-1のcontrolの発現は、KYN-2の1/4程度で、いずれもPEG-IFN- α 2b添加培養で、2倍あるいは約4倍の発現上昇を認めた。

D. 考察

PEG-IFN- α 2bがヒトAFP産生肝癌細胞に作用し、AFPの発現を蛋白及びmRNAレベルで上昇させる事が示された。AFP遺伝子の転写は、promoter, enhancer, silencerの3つの制御領域でコントロールされている。dexamethasoneは、promoter領域のglucocorticoid responsive elementを介してAFPの発現を上昇させる。一方、上皮細胞増殖因子は、AFP遺伝子のenhancer活性を抑制しAFPの発現を低下させ、transforming growth factor-1 β や肝細胞増殖因子は、AFP遺伝子のpromoter活性を低下させ発現を抑制する。PEG-IFN- α 2bによるAFP発現上昇が、AFP遺伝子の3つの制御領域に作用した結果生じているかなど、AFP発現上昇の機序解明は今後の検討課題である。AFP-L3の割合は、細胞内より細胞外で増加しており、ま

た、PEG-IFN- α 2b添加培養で、濃度及び時間依存性に減少する傾向が見られた。この結果は、AFP-L3が他の分画より分泌されやすい可能性を示唆している。AFP-L3は、フコシル化されたAFPであり α 1-6 fucosyltransferase (α 1-6 FucT) が関与している。PEG-IFN- α 2bは、 α 1-6 FucT活性を低下させる可能性があり、今後の検討課題である。

E. 結論

PEG-IFN- α 2bは、肝癌細胞のAFP発現を上昇させることが明らかとなった。臨床的な意義としては、肝細胞癌を発症している患者やその疑いのある患者が、IFNの投与後に血中のAFP値が上昇した場合、IFNによる肝癌細胞のAFP産生の機能的増加である可能性と、AFP産生細胞の数的増加である可能性が推察される。逆に、これらの患者で、AFPの低下を認めた場合は、AFP産生の機能的低下は生じないため、AFP産生細胞の数的減少による低下を意味すると思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yano H, Basaki Y, Oie, S, Ogasawara S, Momosaki S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Ishizaki H, Moriya F, Kuratomi K, Fukahori S, Kuwano M, and Kojiro M. Effects of IFN- α on α -fetoprotein expressions in hepatocellular carcinoma cells Journal of Interferon & Cytokine Research. in press, 2007.

2. 学会発表

矢野博久、馬崎雄二、大家真治、小笠原幸子、桃崎征也、秋葉純、西田直代、神代咲子、石崎泰令、守屋普久子、深堀優、桑野信彦、神代正道：ヒト肝癌細胞株の α -fetoprotein (AFP) 産生に対する PEG-IFN α 2bの作用。第65回日本癌学会学術総会 2006年9月29日。横浜。

G. 知的財産権の出願・登録状況

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

肝硬変に対する治療に関する研究

平成18年度

総括研究報告書

分担研究報告書

(2/2)

論 文 集

主任研究者

八 橋 弘

平成 19(2007)年 3 月

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
Migita K, Maeda Y, Abiru S, Nakamura M, Komori A, Miyazoe S, Nakao K, <u>Yatsubishi H</u> , Eguchi K, Ishibashi H.	Polymorphisms of interleukin-1beta in Japanese patients with hepatitis B virus infection	J Hepatol.	46	381-386	2007
Sugauchi F, Orito E, Ohno T, Tanaka Y, Ozasa A, Kang JH, Toyoda J, Kuramitsu T, Suzuki K, Tanaka E, Akahane Y, Ichida T, Izumi N, Inoue K, Hoshino H, Iino S, Yotsuyanagi H, Kakumu S, Tomita E, Okanoue T, Nishiguchi S, Murawaki Y, Hino K, Onji M, <u>Yatsubishi H</u> , Sata M, Miyakawa Y, Ueda R, Mizokami M.	Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan.	Hepatol Res.	36	107-114	2006
Ozasa A, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Kang JH, Hige S, Kuramitsu T, Suzuki K, Tanaka E, Okada S, Tokita H, Asahina Y, Inoue K, Kakumu S, Okanoue T, Murawaki Y, Hino K, Onji M, <u>Yatsubishi H</u> , Sakugawa H, Miyakawa Y, Ueda R, Mizokami M.	Influence of genotypes and precore mutations on fulminant or chronic outcome of acute hepatitis B virus infection	Hepatology.	44	326-334	2006
Tanaka E, Matsumoto A, Suzuki F, Kobayashi M, Mizokami M, Tanaka Y, Okanoue T, Minami M, Chayama K, Imamura M, <u>Yatsubishi H</u> , Nagaoka S, Yotsuyanagi H, Kawata S, Kimura T, Maki N, Iino S, Kiyosawa K, 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
Taura N, <u>Yatsubishi H</u> , Hamasaki K, Nakao K, Daikoku M, Ueki T, Yano K, Matsumoto T, Ishibashi H, Eguchi K.	Increasing hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma mortality and aging: Long term trends in Japan.	Hepatol Res.	34	130-134	2006
Migita K, Abiru S, Maeda Y, Daikoku M, Ohata K, Nakamura M, Komori A, Yano K, <u>Yatsubishi H</u> , Eguchi K, Ishibashi H.	Serum levels of interleukin-6 and its soluble receptors in patients with hepatitis C virus infection.	Hum Immunol.	67	27-32	2006

Ikeda M, Fujiyama S, Tanaka M, Sata M, Ide T, <u>Yatsushashi H</u> , Watanabe H.	Clinical features of hepatocellular carcinoma that occur after sustained virological response to interferon for chronic hepatitis C.	J Gastroenterol Hepatol.	21	122-128	2006
藤野達也, 後藤和人, 有村英一郎, 崎山裕美子, 武元良祐, 西 秀博, 宮原稔彦, 福泉公仁隆, 才津秀樹, 酒井浩徳	C型慢性肝炎に対するPEG-IFN α 2b+ribavirin 併用療法における早期治療効果予測—血中HCV抗原によるモニタリング解析—	肝臓	47	355-356	2006
Ito K, Tanaka Y, Orito E, Sugiyama M, Fujiwara K, Sugauchi F, Kato T, Tokita H, Izumi N, <u>Kato M</u> , Yuen MF, Lai CL, Gish RG, Ueda R, Mizokami M	T1653 mutation in the box alpha increases the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus genotype C infection	Clin Infect Dis	42	1-7	2006
Izumi N, Hiramatsu N, Itose I, Inoue T, Sasagawa A, Egawa S, Nishida T, Kakiuchi Y, Toyama T, Nakanishi F, Ohkawa K, Mochizuki K, Kanto T, Tsujii M, Takehara T, Tsuji S, <u>Kato M</u> , Kasahara A, Hayashi N	Juvenile hepatocellular carcinoma with congestive liver cirrhosis	J Gastroenterol	40	204-208	2006
熊田博光, 豊田成司, 後藤賢一郎, 井廻道夫, 藤原研司, 横須賀 收, 佐藤信紘, 安田清美, 泉 並木, 市田隆文, 本多政夫, 小島紘一, 吉岡健太郎, 富田栄一, 熊田 卓, 加藤道夫, 吉原治正, 下村宏之, 山田剛太郎, 向坂彰太郎, 谷川久一	Genotype1かつ低ウイルス量, あるいはgenotype2のC型慢性肝炎に対するPEG-インターフェロン α -2bとリバビリン24週併用療法の有効性—インターフェロン α -2bとリバビリン24週間併用療法との比較—	肝胆膵	52	645-663	2006
Okuyama N, Ide Y, Nakano M, Nakagawa T, Yamanaka K, Moriwaki K, Murata K, Ohigashi H, Yokoyama S, Eguchi H, Ishikawa O, Ito T, <u>Kato M</u> , Kasahara A, Kawano S, Gu J, Taniguchi N, Miyoshi E	Fucosylated haptoglobin is a novel marker for pancreatic cancer : A detailed analysis of the oligosaccharide structure and a possible mechanism for fucosylation	Int. J. Cancer	118	2803-2808	2006
Hiramatsu N, Oze T, Tsuda N, Kurashige N, Koga K, Toyama T, Yasumaru M, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, <u>Kato M</u> , Yoshihara H, Katayama K, <u>Hijioka T</u> , Hagiwara H, Kubota S, Oshita M, Haruna Y, <u>Mita E</u> , Suzuki K, Ishibashi K, Hayashi N	Should aged patients with chronic hepatitis C be treated with interferon and ribavirin combination therapy?	Hepatol Res.	35	185-189	2006

Oze T, Hiramatsu N, Kurashige N, Tsuda N, Yakushiji T, Kanto T, Takehara T, Kasahara A, <u>Kato M</u> , Yoshihara H, Katayama K, Kubota S, Hijioka T, Ishibashi K, Oshita M, Hagiwara H, Haruna Y, Mita E, Tamura S, Hayashi N	Early decline of hemoglobin correlates with progression of ribavirin-induced hemolytic anemia during interferon plus ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C	J Gastroenterol	41	862-872	2006
Yuki N, Hijikata Y, <u>Kato M</u> , Kawahara K, Wakasa K	Squamous cell carcinoma as a rare entity of primary liver tumor with grave prognosis	Hepatol Res.	36	322-327	2006
伊与田賢也, 泉 裕子, <u>加藤道夫</u>	Peg-IFN+リバビリン併用療法における超早期治療効果予測	消化器科	43	471-477	2006
三田英治, <u>加藤道夫</u>	薬剤師の慢性肝炎患者さんへの対応 B型肝炎ウイルスに感染していることが判明したのに、様子をみると言われました。薬を使って早く治したいのですが・・・	薬局	57	3258-3262	2006
疋田隼人, 田中好男, 重川稔, 向井香織, 中村佳子, 宋 昌浩, 巽 理, 井上祐子, 笹川 哲, 中西文彦, 増田栄治, 脇岡泰三	初発肝細胞癌に対するラジオ波焼灼療法後の異所再発に関する予測因子の検討	肝臓	47(4)	209-216	2006
<u>Masaki N</u> , Imamura M, Kikuchi Y, Oka S.	Usefulness of elastometry in evaluating the extents of liver fibrosis in hemophiliacs coinfectd with hepatitis C virus and human immuno deficiency virus	Hepatol Res.	35	135-139	2006
<u>Nakao K</u> , Hamasaki K, Ichikawa T, Arima K, Eguchi K, Ishii N	Survivin downregulation by siRNA sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-induced apoptosis	Oncol Rep.	16(2)	389-392	2006
Nishimura D, Ishikawa H, Matumoto K, Shibata H, Motoyoshi Y, Fukuta M, Kawashimo H, Goto T, Taura N, Ichikawa T, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Umezawa K, Eguchi K	DHMEQ, a novel NF-kappaB inhibitor, induces apoptosis and cell-cycle arrest in human hepatoma cells	Int J Oncol.	29(3)	713-719	2006
Taura N, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Ichikawa T, Nishimura D, Goto T, Fukuta M, Kawashimo H, Miyaaki H, Fujimoto M, Kusumoto K, Motoyoshi Y, Shibata H, Inokuchi K, Eguchi K	Aging of patients with hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma: long-term trends in Japan	Oncol Rep.	16(4)	837-843	2006
Taura N, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Ichikawa T, Nishimura D, Goto T, Fukuta M, Kawashimo H, Fujimoto M, Kusumoto K, Motoyoshi Y, Shibata H, Eguchi K	The impact of newer treatment modalities on survival in patients with hepatocellular carcinoma	Clin Gastroenterol Hepatol.	4(9)	1177-1183	2006

Motoyoshi Y, Kaminoda K, Saitoh O, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Ishii N, Nagayama Y, Eguchi K	Different mechanisms for anti-tumor effects of low- and high-dose cyclophosphamide	Oncol Rep.	16(1)	141-146	2006
Oie S, Ono M, <u>Yano H</u> , Maruyama Y, Terada T, Yamada Y, Ueno T, Kojiro M, Hirano K, Kuwano M.	The up-regulation of type I interferon receptor gene plays a key role in hepatocellular carcinoma cells in the synergistic antiproliferative effect by 5-fluorouracil and interferon-alpha	Int J Oncol.	29(6)	1469-1478	2006
<u>Yano H</u> , Yanai Y, Momosaki S, Ogasawara S, Akiba J, Kojiro S, Moriya F, Fukahori S, Kurimoto M, Kojiro M.	Growth inhibitory effects of interferon-alpha subtypes vary according to human liver cancer cell lines	J Gastroenterol Hepatol.	21(11)	1720-1725	2006
<u>Yano H</u> , Ogasawara S, Momosaki S, Akiba J, Kojiro S, Fukahori S, Ishizaki H, Kuratomi K, Basaki Y, Oie S, Kuwano M, Kojiro M.	Growth inhibitory effects of pegylated IFN alpha-2b on human liver cancer cells in vitro and in vivo	Liver Int.	26(8)	964-975	2006
Kojiro S, <u>Yano H</u> , Ogasawara S, Momosaki S, Takemoto Y, Nishida N, Kojiro M.	Antiproliferative effects of 5-fluorouracil and interferon-alpha in combination on a hepatocellular carcinoma cell line in vitro and in vivo.	J Gastroenterol Hepatol.	21	129-137	2006
矢野博久, 神代正道	インターフェロンの抗腫瘍効果	肝胆膵	53(5)	680-687	2006