

Tokita H, Fukui H, Tanaka A, Kamitsukasa H, Yagura M, <u>Harada H</u> , Okamoto H.	Risk factors for the development of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C who achieved a sustained virological response to interferon therapy.	J of Gastroenterol Hepatol.	20	752-758	2005
Yagura M, Tanaka A, Tokita H, Kamitsukasa H, <u>Harada H</u> .	Factors regarding increase of platelet counts in chronic hepatitis C patients with sustained virological response to interferon - Relation to serum thrombopoietin levels.	Hepatol Res.	33	211-215	2005
前出幸子, 森下慶一, 岩村国博, 高山敬子, 塚田百合子, 岸野真衣子, 清水健, 松島昭三, 小松達司, 笠木陽子	ペグインターフェロン $\alpha$ 2a導入後早期にBasedow病を発症したC型慢性肝炎の1例	日内会誌	94(12)	2600-2602	2005
Sawada K, <u>Masaki N</u> , Hayashi S, Zeniya M, Ishikawa T, Takahashi H, Ohnishi K, Fukunaga K, Hara N, Yamamoto T, Hada T, Toda G	Immunomodulatory effects of selective leucocytapheresis as a new adjunct to interferon-alpha2b plus ribavirin combination therapy: a prospective study in patients with high plasma HCV viraemia.	J Viral Hepatitis.	12(3)	274-282	2005
Nakajima A, Usui M, Huy TT, Hlaing NK, <u>Masaki N</u> , Sata T, Abe K.	Full-length sequence of Hepatitis B virus belonging to genotype H identified in a Japanese patient with chronic hepatitis.	Jpn J Infect Dis.	58	244-246	2005
Taura N, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Ichikawa T, Nishimura D, Goto T, Fukuta M, Kawashimo H, Motoyoshi Y, Shibata H, Eguchi K.	Clinical benefits of hepatocellular carcinoma surveillance: a single-center, hospital-based study.	Oncol Rep.	14	999-1003	2005
Hayashi T, <u>Nakao K</u> , Nagayama Y, Saitoh O, Ichikawa T, Ishikawa H, Hamasaki K, Eguchi K, Ishii N.	Vaccination with dendritic cells pulsed with apoptotic cells elicits effective antitumor immunity in murine hepatoma models.	Int J Oncol.	26	1313-1319	2005
Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Hamasaki K, Ohkubo K, Toriyama K, Eguchi K.	An autopsy case of acute pancreatitis with a high serum IgG4 complicated by amyloidosis and rheumatoid arthritis.	World J Gastroenterol.	11	2032-2034	2005
Migita K, Miyazoe S, Maeda Y, Daikoku M, Abiru S, Ueki T, Yano K, Nagaoka S, Matsumoto T, <u>Nakao K</u> , Hamasaki K, <u>Yatsubashi H</u> , Ishibashi H, Eguchi K.	Cytokine gene polymorphisms in Japanese patients with hepatitis B virus infection - association between TGF-beta1 polymorphisms and hepatocellular carcinoma.	J Hepatol.	42	505-510	2005
Arima Y, Matsueda S, <u>Yano H</u> , Harada M, Itoh K.	Parathyroid hormone-related protein as a common target molecule in specific immunotherapy for a wide variety of tumor types.	Int J Oncol.	27(4)	981-988	2005

Ogasawara S, Yano H, Momosaki S, Nishida N, Takemoto Y, Kojiro S, Kojiro M.	Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) in cultured hepatocellular carcinoma (HCC) cells and surgically resected HCC tissues.	Oncol Rep.	13(6)	1043-1048	2005
Yano H, Ogasawara S, Momosaki S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Ishizaki H, Kojiro M.	Expression and activation of apoptosis-related molecules involved in interferon- $\alpha$ -mediated apoptosis in human liver cancer cells.	Int J Oncol.	26(6)	1645-1652	2005
Migita K, Maeda Y, Abiru S, Nakamura M, Komori A, Miyazoe S, Nakao K, Yatsushashi H, 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, Yatsushashi H, 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, Yatsushashi H, 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, Yatsushashi H, 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, Yatsushashi 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.	34	130-134	2006

Migita K, Abiru S, Maeda Y, Daikoku M, Ohata K, Nakamura M, Komori A, Yano K, <u>Yatsuhashi 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>Yatsuhashi 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, <u>酒井浩徳</u>	C型慢性肝炎に対するPEG-IFN $\alpha$ 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, <u>加藤道夫</u> , 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 $\alpha$ -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 $\alpha$ -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, 加藤道夫	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, 加藤道夫	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 coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency 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
Miyaaki H, Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , <u>Yatsushashi H</u> , Furukawa R, Ohba K, Omagari K, Kusumoto Y, Yanagi K, Inoue O, Kinoshita N, <u>Ishibashi H</u> , Yano M, Eguchi K	Clinicopathological study of nonalcoholic fatty liver disease in Japan: the risk factor for fibrosis	Liver Int	28(4)	519-24	2008
Takii Y, Abiru S, Fujioka H, Nakamura M, Komori A, Ito M, Taniguchi K, Daikoku M, Meda Y, Ohata K, Yano K, Shimoda S, <u>Yatsushashi H</u> , <u>Ishibashi H</u> , Migita K.	Expression of microsomal prostaglandin E synthase-1 in human hepatocellular carcinoma.	Liver Int.	27(7)	989-96	2007

Shinkai N, Tanaka Y, Ito K, Mukaide M, Hasegawa I, Asahina Y, Izumi N, <u>Yatsushashi H</u> , Orito E, Joh T, Mizokami M.	Influence of hepatitis B virus X and core promoter mutations on hepatocellular carcinoma among patients infected with subgenotype C2.	J Clin Microbiol.	45(10)	3191-7	2007
Matsumoto A, Tanaka E, Minami M, Okanoue T, <u>Yatsushashi H</u> , Nagaoka S, Suzuki F, Kobayashi M, Chayama K, Imamura M, Yotsuyanagi H, Nakaoka S, Maki N, Kawata S, Kumada H, Iino S, Kiyosawa K.	Low serum level of hepatitis B core-related antigen indicates unlikely reactivation of hepatitis after cessation of lamivudine therapy.	Hepatol Res.	37(8)	661-6	2007
Tanikawa K, Kage M, Komuta M, Nakashima O, <u>Yano H</u> , <u>Yatsushashi H</u> , Kojiro M.	Pathological analysis of oxyphilic granular hepatocytes and hepatocellular mitochondria in chronic hepatitis C.	Hepatol Res.	37(6)	425-32	2007
Migita K, Miyashita T, Maeda Y, Nakamura M, <u>Yatsushashi H</u> , Kimura H, <u>Ishibashi H</u> , Eguchi K.	Toll-like receptor expression in lupus peripheral blood mononuclear cells.	J Rheumatol.	34(3)	493-500	2007
八橋 弘	肝癌撲滅をめざしたウイルス肝炎の治療戦略	Medical Practice	24(4)	594-601	2007
八橋 弘, 浜田るみこ, 福田実可, 矢野公士, 阿比留正剛	C型肝炎ウイルス抗体キット『Eテスト「TOSOH」II (HCVAb)』の基礎的および臨床的検討	医学と薬学	58(3)	459-466	2007
八橋 弘, 長岡進矢	特集/B型肝炎の新たな治療展開, B型肝炎の自然史・病態理解, B型肝炎の自然経過	内科	100(4)	635-638	2007
八橋 弘, 長岡進矢, 阿比留正剛	HBVの自然経過と治療方針について	日本消化器病学会雑誌	104(10)	1450-1458	2007
西浦哲哉, 渡辺秀明, 河野義彦, 伊東正博, 長岡進矢, 大畑一幸, 矢野公士, 藤本俊史, 八橋 弘, 松岡陽治郎, 石橋大海	B型肝炎ウイルス関連慢性肝疾患における肝USスコアを用いた肝癌発生率の推定	肝臓	48(6)	264-271	2007
熊田博光, 清澤研道, 小林万利子, 小山富子, 田中榮司, 中尾瑠美子, 松本晶博, 安田清美, 八橋 弘, 吉澤浩司, 飯野四郎	高感度HCV抗原測定用試薬「ARCHITECT HCV Ag」の基礎的・臨床的評価	消化器科	45(4)	454-466	2007
八橋 弘	肝癌進展抑制を目的とした病診連携の重要性ー高齢化する患者とその発癌率	日医雑誌	136(10)	CM II 13-16	2008
Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kotoh K, Kato M, Takayanagi R, <u>Nakamuta M</u> .	NIM811, a nonimmunosuppressive cyclosporine analogue, suppresses collagen production and enhances collagenase activity in hepatic stellate cells.	Liver Int.	27(9)	1273-81	2007

Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Kohjima M, Aishima S, <u>Nakamuta M</u> , Fukui Y, Takayanagi R, Enjoji M.	Methylprednisolone injection via the portal vein suppresses inflammation in acute liver failure induced in rats by lipopolysaccharide and d-galactosamine.	Liver Int.	27(10)	1342-8	2007
Kohjima M, Enjoji M, Higuchi N, Kato M, Kotoh K, Yoshimoto T, Fujino T, Yada M, Yada R, Harada N, Takayanagi R, <u>Nakamuta M</u> .	Re-evaluation of fatty acid metabolism-related gene expression in nonalcoholic fatty liver disease.	Int J Mol Med.	20(3)	351-8	2007
<u>Nakamuta M</u> , Kotoh K, Enjoji M, Kajiwara E, Shimono J, Masumoto A, Maruyama T, Furusyo N, Nomura H, Sakai H, Takahashi K, Azuma K, Shimoda S, Tanabe Y, Hayashi J.	Effects of lamivudine on serum albumin levels correlate with pretreatment HBV-DNA levels in cirrhotic patients	Comp Hepatol.	6:3		2007
Kotoh K, <u>Nakamuta M</u> , Fukushima M, Morizono S, Enjoji M, Nawata H.	Fertile females with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) have higher levels of ALT than postmenopausal females: implications for the influence of fertility on NAFLD.	Hepatogastroenterology.	54(73)	224-8	2007
Yoshimoto T, Kotoh K, Horikawa Y, Kohjima M, Morizono S, Yamashita S, Enjoji M, <u>Nakamuta M</u> .	Decreased portal flow volume increases the area of necrosis caused by radio frequency ablation in pigs.	Liver Int.	27(3)	368-72	2007
Tanaka Y, Mukaide M, Orito E, Yuen MF, Ito K, Kubanov F, Sugauchi F, Asahina Y, Izumi N, <u>Kato M</u> , Lai CL, Ueda R, Mizokami M.	Specific mutations in enhancer II/core promoter of hepatitis B virus subgenotypes C1/C2 increase the risk of hepatocellular carcinoma.	J Hepatol	45	646-653	2006
Itose I, Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, Miyatake H, Sakakibara M, Yakushijin T, Oze T, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Katayama K, <u>Kato M</u> , Hayashi N.	Involvement of dendritic cell frequency and function in virological relapse in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients.	J Med Virol	79	511-521	2007
Koike K, Kikuchi Y, <u>Kato M</u> , Takamatsu J, Shintani Y, Tsutsumi T, Fujie H, Miyoshi H, Moriya K, Yotsuyanagi H.	Prevalence of hepatitis B virus infection in Japanese patients with HIV.	Hepatol Res	38(3)	310-4	2008

Kurashige N, Hiramatsu N, Ohkawa K, Oze T, Inoue Y, Kurokawa M, Yakushijin T, Igura T, Kiso S, Kanto T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Hijioka T, Katayama K, Yoshihara H, Hayashi E, Imai Y, <u>Kato M</u> , Hayashi N.	Initial viral response is the most powerful predictor of the emergence of YMDD mutant virus in chronic hepatitis B patients treated with lamivudine.	Hepatol Res			In press
Kanda A, Takehara T, Ohkawa K, <u>Kato M</u> , Tatsumi T, Miyagi T, Sakamori R, Yamaguchi S, Uemura A, Kohga K, Sasakawa A, Hikita H, Kawamura K, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N.	Early emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus in a patient with hepatitis B virus/human immunodeficiency virus coinfection	Hepatol Res			In press
加藤道夫	B型慢性肝炎に対するインターフェロン治療 -現況と今後の展望	医学のあゆみ	223(2)	153-156	2007
Ito K, Tanaka Y, <u>Kato M</u> , Fujiwara K, Sugauchi F, Sakamoto T, Shinkai N, Orito E, Mizokami M.	Comparison of complete sequences of hepatitis B virus genotype C between inactive carriers and hepatocellular carcinoma patients before and after seroconversion.	J Gastroenterol.	42(10)	837-844	2007
熊田博光、豊田成司、泉並木、岡上武、伊藤義人、加藤道夫、飯野四郎	HCV RNA定量キット コバスTaqManHCV「オート」の検討   コバスTaqManHCV「オート」に関する共同研究 : 中間報告	医学と薬学	58(4)	595-605	2007
Hiramatsu N, Kurashige N, Oze T, Takehara T, Tamura S, Kasahara A, Oshita M, Katayama K, Yoshihara H, Imai Y, <u>Kato M</u> , Kawata S, Tsubouchi H, Kumada H, Okanoue T, Kakumu S, Hayashi N.	Early decline of hemoglobin can predict progression of hemolytic anemia during pegylated interferon and ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C .	Hepatol Res.	38(1)	52-59	2008
加藤道夫	HBe抗原陽性例に対する治療	Expert Opinion on Hepatitis B	12	10-13	2007
矢倉道泰、田中晃久、井利雅信、上司裕史	肝細胞癌の年代別発生傾向	肝臓	48	598-603	2007
T. Hatakeyama, C. Noguchi, N. Hiraga, N. Mori, M. Tsuge, M. Imamura, S. Takahashi, Y. Kawakami, Y. Fujimoto, H. Ochi, H. Abe, T. Maekawa, H. Kawakami, H. Yatsuji, Y. Aisaka, <u>H. Kohno</u> , S. Aimitsu, K. Chayama	Serum HBV RNA is a Predictor of Early Emergence of the YMDD Mutant in Patients Treated with Lamivudine	Hepatology	45	1179-1186	2007



Satoh T, Masumoto A.	Accordion Index: A new tool for the prediction of the efficacy of peg-interferon-alpha-2b and ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C.	Hepatol Res.	38	315-318	2008
Nagayama Y, Hase W, Motoyoshi Y, Saitoh O, Sogawa R, <u>Nakao K</u>	Distinct responses of two hepatocellular carcinoma cell lines of a similar origin to immunotherapies targeting regulatory or effector T cells	Oncol Rep	17(5)	1269-1273	2007
Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Hamasaki K, Honda T, Shibata H, Akahoshi M, Eguchi S, Takatsuki M, Kanematsu T, Eguchi K	Clearance of hepatitis C virus after living-donor liver transplantation in spite of residual viremia on end date of interferon therapy before transplantation	World J Gastroenterol	13(30)	4149-4151	2007
Kusaba M, <u>Nakao K</u> , Goto T, Nishimura D, Kawashimo H, Shibata H, Motoyoshi Y, Taura N, Ichikawa T, Hamasaki K, Eguchi K	Abrogation of constitutive STAT3 activity sensitizes human hepatoma cells to TRAIL-mediated apoptosis	J Hepatol	47(4)	546-555	2007
Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Hamasaki K, Furukawa R, Tsuruta S, Ueda Y, Taura N, Shibata H, Fujimoto M, Toriyama K, Eguchi K	Role of growth hormone, insulin-like growth factor 1 and insulin-like growth factor-binding protein 3 in development of non-alcoholic fatty liver disease	Hepatol Int	1(2)	287-294	2007
Yamaguchi I, Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Hamasaki K, Hirano K, Eguchi S, Takatsuki M, Kawasita Y, Kanematsu T, Eguchi K	Cerebellar ataxia in a patient receiving calcineurin inhibitors after living donor liver transplantation: A case report	Transplant Proc	39(10)	3495-3497	2007
Hirano K, Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Matsumoto A, Miyaaki H, Shibata H, Eguchi S, Takatsuki M, Ikeda M, Yamasaki H, Kato N, Kanematsu T, Ishii N, Eguchi K	Differential effects of calcineurin inhibitors, tacrolimus and cyclosporine A, on interferon induced anti-viral protein in human hepatocyte cell	Liver Transpl.	14(3)	292-8	2008
Sakemi R, <u>Yano H</u> , Ogasawara S, Akiba J, Nakashima O, Fukahori S, Sata M, Kojiro M.	X-linked inhibitor of apoptosis (XIAP) and XIAP-associated factor-1 expressions and their relationship to apoptosis in human hepatocellular carcinoma and non-cancerous liver tissues.	Oncol Rep	18	65-70	2007
Ogasawara S, <u>Yano H</u> , Momosaki S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Moriya F, Ishizaki H, Kuratomi K, Kojiro M.	Growth Inhibitory Effects of IFN- $\beta$ on Human Liver Cancer Cells In Vitro and In Vivo.	J Interferon Cytokine Res	27	507-16	2007

Oie S, Ono M, Fukushima H, Hosoi F, <u>Yano H</u> , Maruyama Y, Kojiro M, Terada T, Hirano K, Kuwano M, Yamada Y.	Alteration of dihydropyrimidine dehydrogenase expression by IFN- $\alpha$ affects the antiproliferative effects of 5-fluorouracil in human hepatocellular carcinoma cells	Mol Cancer Ther	6	2310-8	2007
<u>Yano H</u> , Basaki Y, Oie S, Ogasawara S, Momosaki S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Ishizaki H, Moriya F, Kuratomi K, Fukahori S, Kuwano M, Kojiro M	Effects of IFN- $\alpha$ on $\alpha$ -fetoprotein expressions in hepatocellular carcinoma cells.	J Interferon Cytokine Res	27	231-238	2007
Ishizaki H, <u>Yano H</u> , Tsuneoka M, Ogasawara S, Akiba J, Nishida N, Kojiro S, Fukahori S, Moriya F, Matsuoka K, Kojiro M.	Overexpression of the myc target gene Mina53 in advanced renal cell carcinoma.	Pathol Int	57	672-80	2007
Fukahori, S, <u>Yano H</u> , Tsuneoka M, Tanaka Y, Yagi M, Kuwano M, Tajiri T, Taguchi T, Tsuneyoshi M, and Kojiro M	Immunohistochemical expressions of Cap43 and Mina53 protein in neuroblastoma.	J Ped Surg	42	1831-1840	2007
矢野博久、神代正道	インターフェロンによる肝発癌抑制機序に関する基礎的研究	久留米医学会誌	70	109-117	2007
矢野博久、神代正道	肝細胞癌に対するインターフェロンの効果-基礎的検討から	日本消化器病学会雑誌	104	644-653	2007

## 4. インターフェロンの治療効果予測—

### SNP とデータマイニングを用いた解析

八橋 弘

#### 1. データマイニングとは？

マイニング(mining)の意味を辞書で調べてみると「採掘」と記載されている。データマイニング(Data Mining : Dm)とは、過去のデータを分析し、その中から有効な規則性を発見して重要な意思決定支援を促進する先進的情報解析システムで、金融ビジネス流通分野において広く導入されている手法である。従来の統計解析手法は限られたサンプル数を用いて仮説を検証する方法で、網羅性、迅速性において難点があるも、Dmでは膨大なデータから網羅的に高速探索し精緻な解析が可能である。ランダム化を行わなくとも迅速に知識を発見することが可能なことから、米国 NIH では既に Dm による医療医学情報の解析が導入されているという。

Dm の歴史は、1980 年代末から IBM アルデマン基礎研究所の Dr.ラティシュ・アグルワルが開発した相関関係分析アルゴリズムに始まり、データマイニングという造語も最初に彼が唱えたと言われている。1990 年代後半にデータマイニング・ソフトウェアが流通し始めたころから、Dm は金融、流通業界に浸透し始め、本解析手法が未来予測に有用であることが広く知られるようになった。一方、医学領域では、その有用性、存在自体ともにほとんど知られておらず、Pub Med で検索しても医学領域での Dm の論文は解析理論にとどまり、具体的な成果を報告した論文はほとんど見られない。

Dm を理解する上で重要なポイントは、統計解析との違いを明確に理解することである。統計解析と Dm の相違点を表 1 に示す。統計解析では限られたサンプルの中から仮説を検証する解析手法で、解析前に前提となる仮説をあらかじめ設ける必要があるのに対し、Dm では仮説を必要としない。Dm は膨大なデータから網羅的に高速探索し、精緻に解析して仮説を発見するという仮説発見型の解析手法で、両者の根本的な概念は全く異なる。

例えばパンを買うお客さんは牛乳を買うかという仮説を立てて、それが正しいかどうかというのを検証するのが統計解析であるのに対し、Dm では、スーパーマーケットで顧客の購買ルートを発見せよとコンピュータ解析を命じると、ワサビを買う方の 85% は刺身を買う。ビールを買う方の 55% はスルメを買う。パンを買う方の 40% は牛乳を買う。スルメを買う方の 20% はビールを買う。このように、いわゆる全ての購入のデータからコンピュータが計算して購買パターンのルールを網羅的に発見していく。またアメリカの某スーパーマーケットでの(金曜日に紙おむつを買う顧客はビールを買う)という Dm によって発見された購買パターン法則は有名な話として知られている。スーパーマーケットの陳列ではシャンプーとリンスは、ほぼ同じ場所に配置され、その 2 つを同時に買うという購買パターンは、一般的に理解しやすい話であるが、紙おむつを買う顧客の約 10% はビールを買うという法則が Dm によって発見された。1 歳ぐらゐの子がいる共働きの 30 歳の若い夫婦は、金曜日の夕方、1 週間分のまとめ買いをする。そして、この顧客層の特徴は、紙おむつを買ってビールを同時に購入することが多い、という分析結果である。そこで紙おむつとビールという質の異なるものを横に並べて配置すると、売り上げが数倍アップしたというエピソードである。Dm は、実生活、金融、流通の領域では既に浸透し、何か新しい事実を見つけ出すという観点からは仮説を必要とせず、網羅的で、情報過多の現在社会に合致した新たな情報解析手法である。

#### 2. Dm による C 型慢性肝炎 IFN 治療効果予測

C 型慢性肝炎成人患者では自然にウイルスが排除されることはなく、日本の C 型慢性肝炎患者の約 30% は長期的には肝硬変、肝癌に進展すると推定されている。C 型慢性肝炎の根本的治療法はインターフェロン(IFN)であり、従来型の IFN 治療では約 30% の治癒率、週 1 回のペグ IFN とリバビリンの併用で 50% 以上の治癒率が現在では期待されるようになった。一方、わが国で、

表1 統計解析とデータマイニングの相違

統計解析：多変量解析	データマイニング
限られたサンプルから 仮説を検証する。	膨大なデータから網羅的に高速探索し、 精緻に解析して仮説を発見する。
仮説検証型	仮説発見型
近似的な定式化	厳密な定式化
特定の線形関数	任意の非線形関数
$y=f(x)=a+bX$	$y=f(x)=\sum_{i=1}^n w_i \cdot \exp\{(x-c)^{2/2} \sigma^{**2}\}$ i=1

これら治療を受ける場合の1回あたりの医療費は、薬剤費用だけで200万円から300万円とかなりの高額である。治療期間は半年から1年間と長く、また、稀ながらも重篤な副作用を伴う治療でもある。治療効率、医療経済、治療の安全性の観点から、C型慢性肝炎に対するIFN治療効果を、事前にできるだけ正確に予測する必要性は極めて高い。

厚生労働科学研究、肝炎緊急対策事業、標準的治療困難例の治療に関する研究班(主任研究者：八橋弘)では、2000年から2002年の3年間に全国22箇所の国立病院機構の肝疾患専門医療施設において、IFN治療を受け治療効果が明確となった1049症例のC型慢性肝炎患者を対象に、IFN治療後のウイルス駆除の可否を目的因子として、ウイルスの量と型、患者の年齢、性差、IFNの種類、リバビリン併用の有無、IFN総投与量、IFN投与期間などを説明因子としてDm解析を行った。その結果、HCVの型、HCV-RNA量、IFNの総投与量、IFN製剤の選択などが治療効果に影響を及ぼす因子として抽出され、それぞれの因子を組み合わせることで具体的なウイルス駆除確率、治癒確率を明示したアルゴリズム(決定木法)を作成することができた(図1)。このアルゴリズムに従って、個々の患者のもつ各説明因子をYes、Noとたどることで、容易に治癒確率を計算することができる。またIFNの総投与量やIFN製剤の選択は、人為的に選択、操作できる因子であり、本解析結果を参考にしながら個々の治療法を選択することで、より高い治療効果を目指すことも可能となる。

### 3. C型慢性肝炎IFN治療関連遺伝子に関する網羅的探索研究

ゲノム研究は、配列決定の段階からバイオインフォマティクスを駆使して配列と疾患感受性、薬剤感受性との関連を網羅的に探索する段階へ移行しつつあり、これらの遺伝子情報解析にはウェットとドライの協調

と融合が必要であることが指摘されている。前者は多くの企業の参入により順調に開発が進行しつつあるも、後者に関しては扱う情報量が多く、従来の統計解析手法では、組合せ爆発が発生する可能性が示唆され、実用時間内で処理可能なSNPの個数には限界があることが指摘されている。ポストゲノム時代の今、膨大な遺伝子地図情報と臨床データとの関連から、有効な法則性を効率的に発見する強力な情報処理技術の開発が急務であると言われている。一方、現時点でのSNP研究の多くは、単変量解析により、1つの遺伝子を吊り上げて機能解析を行うか、ハプロタイプの同定、臨床データとの関連を、遺伝統計学を用いて解析するまでにとどまっておき、遺伝子ネットワークの探求までには至っていない。

一方、C型慢性肝炎のIFN治療効果に影響を及ぼす因子は、大きく、ウイルス因子(ウイルスの型と量)、薬剤因子(IFNの種類、投与量、投与期間、リバビリン併用の有無など)、宿主因子(患者の年齢、性、肝線維化の程度、薬剤感受性の遺伝的要因、個人の資質、遺伝多型：SNPなど)の3つの要素に分類される(図2)。C型肝炎IFN治療効果に関して、ウイルス因子は極めて重要な因子であることは明らかとなっているも宿主因子に関しては断片的な解析が行われているに過ぎない。今までにMxA<sup>1)</sup>、IL10<sup>2,3)</sup>、IRF1<sup>4)</sup>のプロモーター領域のSNPやハプロタイプ、IFNAR1(IFNレセプター)のマイクロサテライト配列<sup>5)</sup>がIFN治療効果に関係したと報告されているも、いずれも少数のSNPを統計学的手法で解析したものである。最近PegIFNとリバビリンの併用療法が可能となり、従来のIFN単独療法に比較して格段とIFN治療効果は向上した。高ウイルス症例でも治癒させることが可能となった現在、治療効果予測因子としてのウイルス因子の重要性は以前に比して低下し、相対的に個々の症例の薬物応

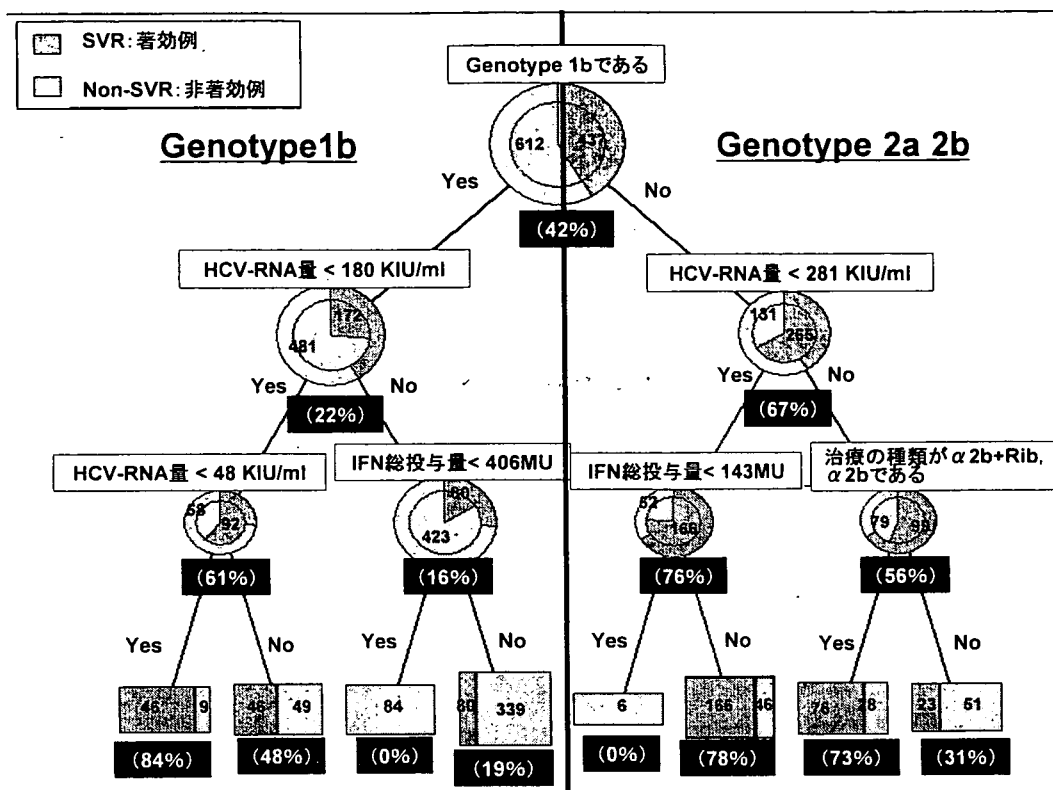


図1 データマイニングによるC型慢性肝炎(N=1049) IFN 治療効果予測モデルの構築, IFN 単独・コンセンサス IFN・IFNα 2b/リバピリン療法例でのウイルス駆除率(SVR%)算出のアルゴリズム(決定木法). HCV-RNA 定量はオリジナル法による.

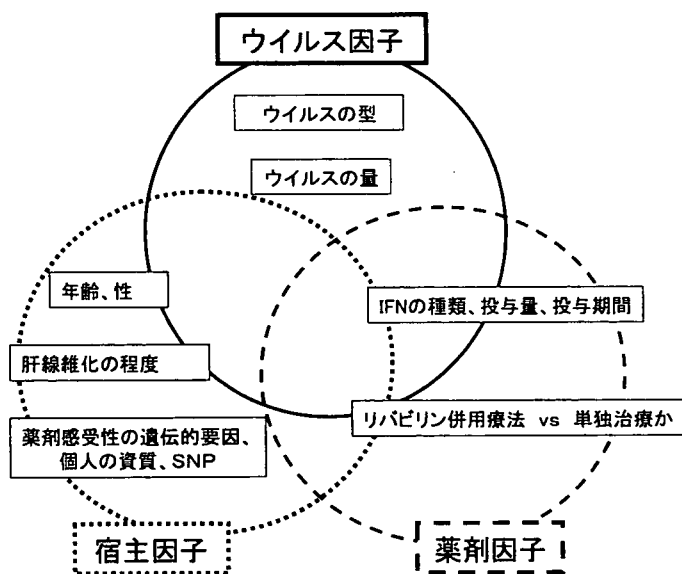


図2 C型慢性肝炎 IFN 治療効果に影響を及ぼす因子

答性の遺伝子の評価, 宿主因子の重要性が高まりつつある.

我々は IFN 治療に関連する遺伝子マップから SNP を網羅的に探索し, Dm を用いて IFN 治療関連遺伝子の

ネットワークの解明をすることを試みている。その結果、120症例という少数例で、269という限られたSNP数、ゲノム情報ではあるも、C型慢性肝炎IFN治療関連遺伝子に関するSNPの組み合わせによって、具体的な治癒期待率が容易に算出可能であることを確認したので紹介する。

対象は、IFN治療を行ったC型慢性肝炎患者120例。ウイルス因子による治療効果の影響をできるだけ排除する目的で、この120症例は全例治療前HCV-RNA量が100 KIU/ml以下の低ウイルス症例を選択した。すなわち、ウイルス学的にはIFN治療効果が期待できるも、IFN単独治療でウイルス駆除に成功した著効(SVR)65例と、無効例(Non-SVR)の55例が対象である。IFN治療に関連する16遺伝子(IFN-AR1, IFN-AR2, JAK1, TYK2, JAB(CIS), STAT1, STAT2, ISGF3G(IRF9), IRF1, IRF2, TAP1, TAP2, LMP7, PKR, MxA, IL-10)の中から269箇所のSNPを同定し、インベグダ法(大塚TRC研究所)及びダイレクトシーケンス法を用いて決定した。Dm解析は、IBM Intelligent Miner II Ver.8 (日本IBM)を用いた。

統計解析結果では、単点解析ではIRF2(111, 115), MxA(200, 304, 202), IFNAR1(369, 355)が有意であった。多点解析として各染色体における全ての解析SNP間の連鎖不平衡係数(D', r<sup>2</sup>乗)の算出、連鎖不平衡解析ブロック内で推定されるハプロタイプの頻度分布比較解析では、IRF2(111-T/115-G, 111-C/115-T)をもつハプロタイプTG, CAがnonSVRで有意であった(表2)。

SNPの組み合わせという観点で269個のSNPの組み合わせパターンを計算したところ、10の161乗の組み合わせパターンとなり、高だか269個という限られたSNP数の組み合わせ解析でも、統計学的手法を用いたの情報処理は不可能であることが判明した。

次にDmによる決定木法解析を行うと、数分間で、図3のようなアルゴリズムを作成することが可能であった。具体的には、RF2(111-nonT/T), MxA(200-nonA/C), TAP2(160-nonG/G)の3条件を満たすと21例中21例(100%)がSVR, IRF2(111-T/T), IFNAR2(447-nonT/T), IRF2(131-A/T), IFNAR2(392-nonG/G)の4条件を満たすと23例中3例(13%)しかSVRにならなかった。Dm解析によって、3つないし4つのSNPの組み合わせで、100%近く治療効果が期待できる集団と、10%前後しか治癒が期待できない集団に判別することが可能であった。

遺伝病とは異なり個々の遺伝子が形質に与える影響が弱い一般的な疾患でのSNP解析では多点解析が必須である。今までのSNP解析に関する研究は、主に疾患原因遺伝子を探索する目的で、数千人から数万人規模の集団を対象に、遺伝統計学的手法を用いて、1つの遺伝子を吊り上げ同定した後、その遺伝子の機能解析を行うというプロセスで研究が進められてきた。しかしながら薬剤感受性の遺伝的要因、遺伝子ネットワークを解明し、治療効果を予測するためには、1つのSNPの発見やハプロタイプを見つけるだけでは不十分であり、多点解析を行い、その情報のからみを解きほぐす、SNPパターンの組み合わせの解析が必要である。Dmは、SNPの組み合わせ解析、特に薬剤感受性の解明や

表2 IFN著効(SVR)群・無効(Non-SVR)群間での統計解析結果

単点解析(単変量解析)			P値<0.05	
G.S.		position	P値	OR(95%CI)
IRF 2	111	intron	0.011	2.59(1.24-5.42)
	115	intron	0.031	2.25(1.07-4.75)
MxA	200	5'UTR	0.016	2.61(1.18-5.74)
	304	5'flanking	0.044	2.22(1.02-4.84)
	202	5'flanking	0.034	2.39(1.08-5.28)
IFNAR 1	369	intron	0.041	3.39(1.00-11.5)
	355	intron	0.044	1.74(1.01-2.99)
多点解析(各染色体における全ての解析SNP間の連鎖不平衡解析ブロック内で推定されるハプロタイプの頻度分布比較解析)				
IRF 2	111/115	T/G vs others	0.021	1.93(1.09-3.41)
		C/A vs others	0.031	2.03(1.08-3.84)

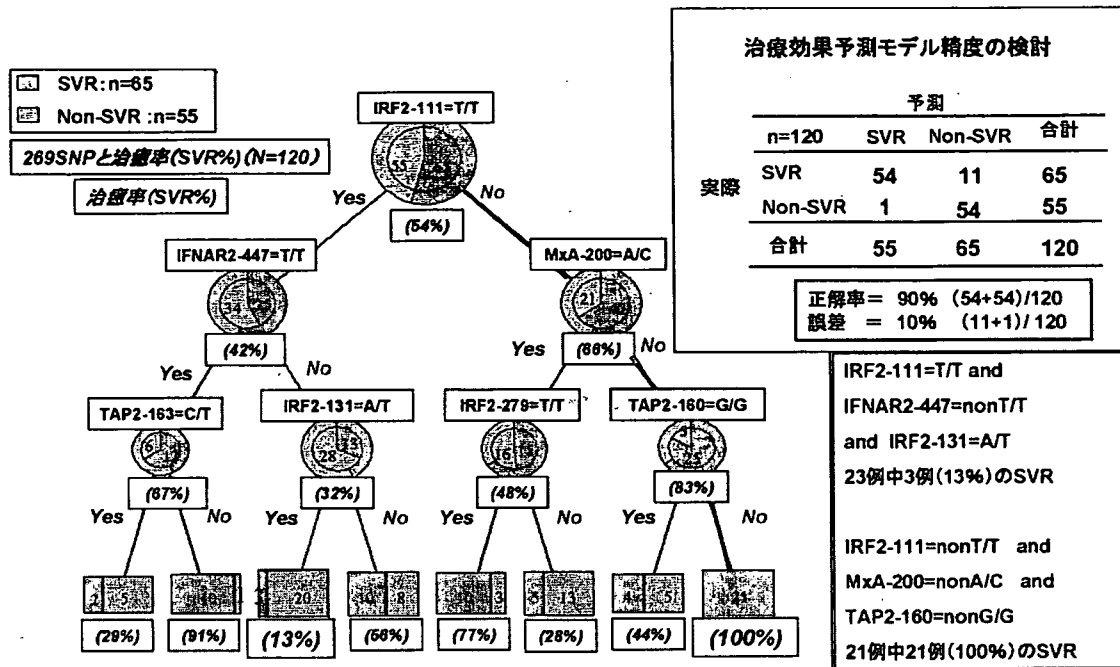


図3 IFN 治療に関する遺伝子多型(SNP)の組み合わせによる治療効果予測：データマイニング解析

治療効果予測を目的とする場合には、膨大な情報処理、精緻な解析の観点から、極めて有用な情報解析方法と言えよう。

4. おわりに

これからのC型肝炎に対するIFN治療では、ウイルス因子、薬剤因子、宿主因子など質の異なる複数の因子を総合的に評価することで、個々の症例の治療効果を予測し、治療適応、治療法を決定すべきであり、その実現化が切望されている。いわゆるオーダーメイド医療、個の医療、質の高い医療を展開するために我々がなすべきことは何なのか、Dmというツールを活用しながら、今後も模索してゆきたいと考えている。

文 献

1) Hijikata M, Mishiro S, et al. Genetic polymorphism of the MxA gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patients: revisited by analyzing two SNP sites (123 and -88) in vivo and in vitro. Intervirology. 2001 ;

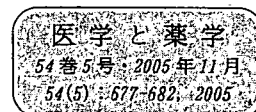
44 : 379-382

2) Edwards-Smith CJ, Jonsson JR, Purdie DM, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism predicts initial response of chronic hepatitis C to interferon alfa. Hepatology 1999 ; 30 : 526-30

3) Yee LJ, Tang J, Gibson AW, et al. Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection. Hepatology 2001 ; 33 : 708-12

4) Saito H, Tada S, Wakabayashi K, et al. Ishii H. The Detection of IRF-1 promoter polymorphisms and their possible contribution to T helper 1 response in chronic hepatitis C. J. Interferon Cytokine Res. 2002 ; 22 : 693-700

5) Matsuyama N, Mishiro S, Sugimoto M, et al. The dinucleotide microsatellite polymorphism of the IFNAR1 gene promoter correlates with responsiveness of hepatitis C patients to interferon. Hepatol Res 2003 ; 25 : 221-5



## 高感度 HCV-Core 抗原定量試薬の 基礎的検討と臨床的有用性

福田 実可<sup>1)</sup>・八橋 弘<sup>1)</sup>・矢野 公士<sup>1)</sup>・大黒 学<sup>1)</sup>  
 石橋 大海<sup>1)</sup>・竹崎 英一<sup>2)</sup>・脇岡 泰三<sup>3)</sup>・酒井 浩徳<sup>4)</sup>  
 室 豊吉<sup>5)</sup>・正木 尚彦<sup>6)</sup>・小松 達司<sup>7)</sup>・森本日出雄<sup>8)</sup>  
 竿代 丈夫<sup>9)</sup>・増本 陽秀<sup>10)</sup>・袖山 健<sup>11)</sup>・島田 昌明<sup>12)</sup>  
 山東 剛裕<sup>13)</sup>・渡部 幸夫<sup>14)</sup>・千田 信之<sup>15)</sup>・大原 行雄<sup>16)</sup>  
 山下 晴弘<sup>17)</sup>・原田 英治<sup>18)</sup>

### はじめに

C型慢性肝炎に対する抗ウイルス療法として、1992年1月にインターフェロン(IFN)単独療法が保険適応となり、現在まで広く用いられてきた。しかし、その当時のIFN単独療法の成功率は満足できるものではなく、C型慢性肝炎患者全体の30~35%の症例でC型肝炎ウイルス(HCV)が駆除できるにすぎなかった。近年、IFNと併用することにより抗ウイルス効果を高める経口薬(リバビリン)や新しいIFN(コンセンサスIFN, PEG-IFN)の効果が発表され、期待が高まっている。

これまでIFN治療の効果判定および治療の経過観察として、血中のHCV-RNA量を測定することが有用とされている<sup>1)</sup>。現在、一般臨床

に用いられるHCV定量法には、b-DNA probe法、AMPLICOR monitor法、HCV-Core抗原測定法の3種類があり、測定感度、信頼される定量範囲などに若干の違いがみられる。前2者はHCV-RNAの定量であるため、検体の保存条件や測定者の熟練が測定結果に影響する<sup>2)</sup>。後者はHCVのCore領域を構成する蛋白を直接測定するものである。HCV-Core抗原量はHCV-RNAの定量法とよく相関すること、HCVウイルス粒子にはCore抗原がHCV-RNAと一定の比率で含まれ、ウイルス量を反映していること、genotype 2においても良好に検出されること、操作が簡便で安定して測定できることが報告されている<sup>3)-6)</sup>。最近、従来のHCV-Core抗原測定法(蛍光酵素免疫法: FEIA)よりも前処理操作が簡便で高感度な

- 1) 独立行政法人国立病院機構 長崎医療センター臨床研究センター 2) 呉医療センター 3) 大阪南医療センター 4) 九州医療センター 5) 大分医療センター 6) 国立国際医療センター 7) 横浜医療センター 8) 金沢医療センター 9) 西埼玉中央病院 10) 小倉病院 11) 中信松本病院 12) 名古屋医療センター 13) 京都医療センター 14) 相模原病院 15) 仙台医療センター 16) 西札幌病院 17) 岡山医療センター 18) 東京病院

Fundamental evaluation and clinical efficacy of high sensitive HCV-Core antigen measurement assay  
 Mika Fukuda et al *Clinical Research Center, National Hospital Organization, Nagasaki Medical Center*  
**Key words** : HCV-Core 抗原, HCV-RNA, C型肝炎, IFN/リバビリン併用療法



表 1 同時再現性 (fmol/L)

測定回数	Sample A	Sample B	Sample C
1	255	4,008	15,741
2	245	4,095	17,266
3	229	4,024	15,078
4	225	4,517	15,379
5	222	3,976	17,521
6	240	3,816	15,688
7	251	4,004	17,510
8	202	4,028	17,411
9	236	4,139	15,300
10	247	4,003	16,663
Mean	235.2	4,061	16,355.7
SD	16.05	180.83	1,013.89
CV (%)	6.8	4.5	6.2

HCV-Core 抗原測定試薬(ルミスポット ‘栄研’ HCV 抗原)が開発された<sup>7-9)</sup>。今回われわれは、この試薬を用いて、測定系の基礎的検討を行うとともに、C 型慢性肝炎 IFN/リバビリン併用療法における高感度 HCV-Core 抗原測定の臨床的有用性について検討した。

## I. 対象および方法

### 1. 対象

対象は、血液センターでスクリーニングされ第 2 世代 HCV 抗体 (PHA 法) 陽性と判定された供血者 182 例と、2000 年 1 月から 2002 年 12 月の 3 年間、全国 22 カ所の国立病院機構肝疾患専門医療施設に登録された C 型慢性肝炎 IFN 治療導入症例のうち IFN/リバビリン併用例 317 例 (genotype 1b : 236 例, non-1b : 81 例) で、いずれも凍結保存血清検体を用いた。

### 2. 方法

#### 1) HCV-Core 抗原測定

HCV-Core 抗原の測定は、ルミスポット ‘栄研’ HCV 抗原 (栄研化学) (以下本キット) を用い、全自動化学発光酵素免疫測定装置「LS-2000」(栄研化学)にて測定した。検体中のウイ

ルス粒子の抽出ならびに HCV 抗体を失活させるために、検体に 1/2 容量の前処理液を添加し、56°C で 30 分間のインキュベーションを行った血清を前処理済み試料として測定に用いた。測定は、HCV-Core 抗原に特異的なモノクローナル抗体を用いた 2 ステップサンドイッチ法を原理として測定した。HCV-Core 抗原濃度 (モル濃度) の決定は、キャリアレーターの発光強度から検体の発光強度を補正後、検量線情報をもとにして検体中の HCV-Core 抗原濃度を算出した。なお、測定結果は、20 fmol/L 未満を HCV-Core 抗原陰性、20 fmol/L 以上を HCV-Core 抗原陽性と判定した。

#### 2) 統計解析

測定結果の統計学的解析は、Mann-Whitney 検定、 $\chi^2$  検定を用い、 $p < 0.05$  を有意と判定した。

## II. 結果

### 1. 基礎的検討

#### 1) 再現性

同時再現性については、HCV-RNA 陽性血清 3 検体を用いて、それぞれ HCV-Core 抗原を 10 回連続測定した (表 1)。変動係数 (CV) は 4.5~6.8% の範囲内と良好な再現性が得られた。

日差再現性については、別の HCV-RNA 陽性血清 2 検体を用いて、6 日間測定した。強陽性検体 (Sample E) での変動係数は 5.3%、中陽性検体 (Sample D) では 9.1% であった (表 2)。

#### 2) 希釈直線性

HCV-RNA 陽性血清 2 検体を正常プール血清にて、それぞれ 4,096 倍まで等間隔希釈し、HCV-Core 抗原量を測定した (図 1)。1~4,096 倍の希釈系列で良好な直線性が得られた。

### 2. IFN/リバビリン併用療法治療前の治療効果予測

C 型慢性肝炎患者 317 例に IFN/リバビリン併用療法を行い、その治療前血清中の HCV-Core 抗原量と治療効果との関連性について genotype 別で検討した (図 2, 3)。IFN/リバビ

表 2 日差再現性 (fmol/L)

測定日	Sample D	Sample E
1	8,835	15,505
2	7,291	15,254
3	7,570	14,024
4	8,712	15,264
5	7,626	13,665
6	7,211	15,298
Mean	7,874.17	14,835
SD	715.42	780.96
CV (%)	9.1	5.3

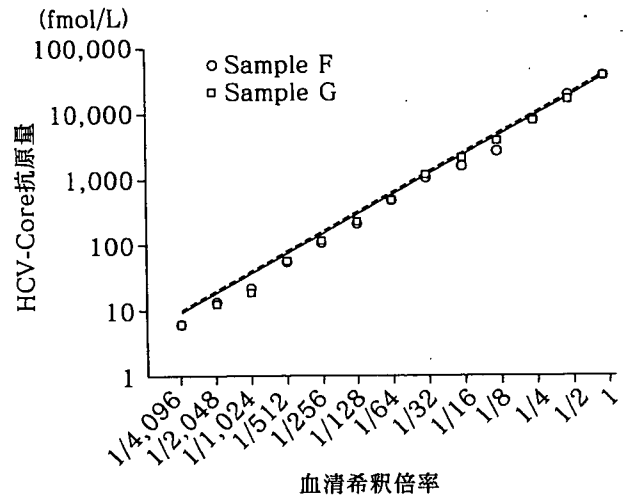


図 1 希釈直線性

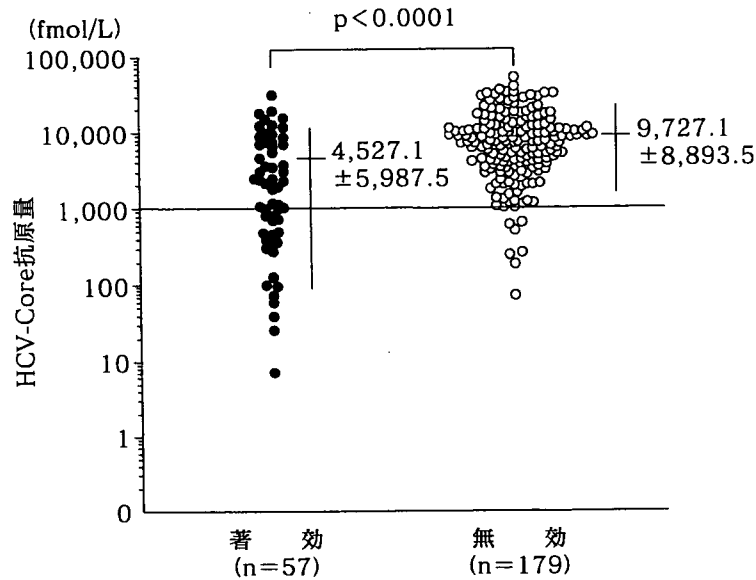


図 2 Genotype 1b における治療前 HCV-Core 抗原と IFN/リバビリン治療効果 (n=236)

リン併用療法の治療効果判定は、治療終了後6カ月目の時点で血中 HCV-RNA 陰性を著効 (SVR)、それ以外を無効 (Non-SVR) とした。

Genotype 1b では、IFN/リバビリン併用療法無効例患者の治療前 HCV-Core 抗原量は 72.8~51,704 fmol/L (平均値±標準偏差: 9,727.1±8,893.5 fmol/L) に分布しているのに対し、著効例患者の HCV-Core 抗原量は 7~30,209 fmol/L (平均値±標準偏差: 4,527.1±5,987.5 fmol/L) となり、HCV-Core

抗原量は SVR 群に比べて Non-SVR 群で有意に高値であった ( $p < 0.0001$ )。

Non-1b では IFN/リバビリン併用療法無効例患者の治療前 HCV-Core 抗原量は 31~25,198 fmol/L (平均値±標準偏差: 5,267.8±7,128.6 fmol/L) に分布しているのに対し、著効例患者の HCV-Core 抗原量は 0~18,615 fmol/L (平均値±標準偏差: 3,814.3±4,006.0 fmol/L) となり、SVR 群と Non-SVR 群との間に統計学上 HCV-Core 抗

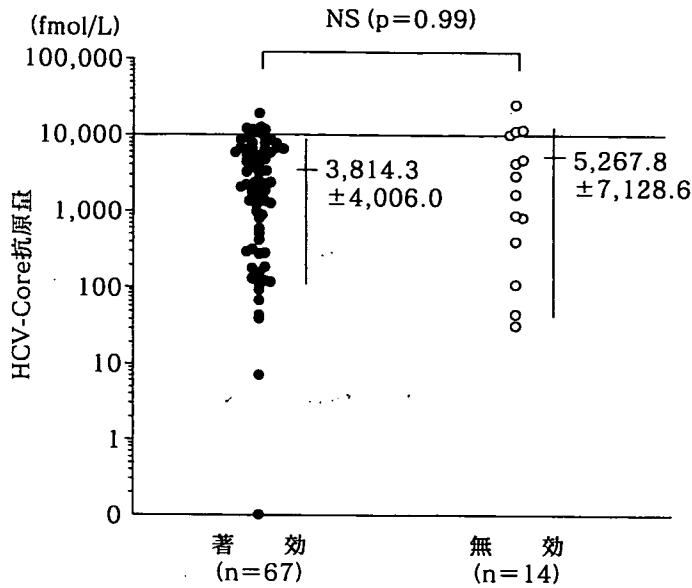


図3 Genotype Non-1bにおける治療前HCV-Core抗原とIFN/リバビリン治療効果 (n=81)

表3 C型慢性肝炎, 治療前HCV-Core抗原量層別のIFN/リバビリン併用療法の治療効果 (317例)

HCV-Core抗原量 (fmol/L)	Genotype 1b (n=236) 著効例/対象例 (著効率: %)	Non-1b (n=81) 著効例/対象例 (著効率: %)
10,000 ≤	8/66 (12%) p < 0.0001	6/10 (60%) p = 0.0353
1,000 ~ 9,999	27/141 (19%) p = 0.0001	38/42 (90%) p < 0.0001
100 ~ 999	15/21 (71%)	17/21 (81%)
< 100	7/8 (88%)	6/8 (75%)
合計	57/236 (24%)	67/81 (83%)

原量と治療効果との関連はなかった。

さらに, 本キットでIFN/リバビリン併用療法治療前の治療効果予測の指標を明らかにする目的でHCV-Core抗原量を層別し, Genotype別SVR率を検討した(表3)。Genotype 1bでは, 100 fmol/L未満では88%, 100~999 fmol/Lでは71%, 1,000~9,999 fmol/Lでは19%, 10,000 fmol/L以上では12%のSVR率で, 高ウイルス量になるにつれSVR率の低下がみられた。HCV-Core抗原量1,000 fmol/Lを境界に有意に治療効果が低下する結果が得られた。

一方, Non-1bでは, 100 fmol/L未満では75%, 100~999 fmol/Lでは81%, 1,000~9,999 fmol/Lでは90%, 10,000 fmol/L以上では60%のSVR率であった。1bとは異なり, Non-1bでは, ウイルス量層別に著効率の差がみられないものの, 唯一, 10,000 fmol/Lを境界として有意差が認められた。

### III. 考 察

HCV-Core抗原の免疫学的測定は, 1992年にTakahashiら<sup>10)</sup>によって初めて報告され,

1996年にKashiwakumaら<sup>4)</sup>は検体をポリエチレングリコール処理により遠心濃縮, さらにアルカリ処理によるCore抗体の失活とCore抗原の抽出を行う方法を報告している。この処理済み検体を試料として2種のモノクローナル抗体でCore抗原をサンドイッチし検出するFEIAが実用化された。しかし, 先の2法は遠心処理, アルカリ処理といった方法を使用しているが, 操作が煩雑であり, 検出感度も必ずしも十分とはいえなかった。Aoyagiら<sup>11)12)</sup>は, この抗体の解離と不活化をより簡便に行える方法を考案し, さらに高感度にHCV-Core抗原を測定する化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)を報告している。本キットは, この方法を利用しHCV-Core抗原を全自動化学発光酵素免疫測定装置「LS-2000」により測定する試薬である。

測定系の基礎的検討, 片山ら<sup>8)</sup>の報告と同様, 本法は, 同時再現性, 日差再現性ともCV値が10%以内と良好で安定した測定系と考えられた。また, 希釈直線性試験では, 正常プール血清で4,096倍まで等間隔希釈した結果, 6~36,000 fmol/Lの範囲内で良好な直線性が認められ, 本試薬を用いることにより, 6 fmol/Lまでの定量性があるものと考えられた。

本試薬によるHCV-Core抗原陽性, 陰性のカットオフ値は, 20 fmol/Lに設定することが適切であるとされている<sup>8)</sup>。このように本キットは, 20~100,000 fmol/Lと広い測定範囲を有しており, 今回検討したC型慢性肝炎317例においても最大値は51,704 fmol/Lで, 測定範囲の上限を超えた検体はみられなかった。

また, C型慢性肝炎に対するIFN治療において治療前の血中HCV-RNA量は治療効果と密接に関連しており, HCV-RNA量が少ないほどIFNが効きやすいことがすでに報告されている<sup>13)</sup>。今回は, IFN/リバビリン治療前317症例の検討では, genotype別に治療効果予測をHCV-Core抗原量層別で行ってみた。Genotype 1bでは, 1,000 fmol/Lが難治例の基準, Non-1bでは10,000 fmol/Lが基準となると考えられた。

以上のことより, 本キットによるHCV-Core抗原量の測定は, 測定の簡便性, 測定値の安定性, HCVウイルス量を広範囲に定量可能であるという点, 治療効果を高率に予測できる点で, 臨床的有用性の高い測定系であると考えられた。

## 文 献

- 1) Suzuki T, Tanaka E, Matsumoto A et al : Usefulness of simple assays for serum concentration of hepatitis C virus RNA and HCV genotype in predicting the response of patients with chronic hepatitis C to interferon-alpha 2a therapy. *J Med Virol* **46** : 162-168, 1995.
- 2) Davis GL, Lau JYN, Urdea MS et al : Quantitative detection of hepatitis C virus RNA with a solid-phase signal amplification method : Definition of optimal conditions for specimen collection and clinical application in interferon-treated patients. *Hepatology* **19** : 1337-1341, 1994.
- 3) Tanaka T, Lau JY, Mizokami M et al : Simple fluorescent EIA for detection and quantification of hepatitis C viremia. *J Hepatol* **23** : 742-745, 1995.
- 4) Kashiwakuma T, Hasegawa A, Kajita T et al : Detection of hepatitis C virus specific core protein in serum of patients by a sensitive fluorescence enzyme immunoassay (FEIA). *J Immunol Methods* **190** : 79-89, 1996.
- 5) Tanaka E, Kiyosawa K, Matsumoto A et al : Serum levels of hepatitis C virus core protein in patients with chronic hepatitis C treated with interferon- $\alpha$ . *Hepatology* **23** : 1330-1333, 1996.
- 6) Orito E, Mizokami M, Tanaka T et al : Quantification of serum hepatitis C virus core protein level in patients chronically infected with different hepatitis C virus genotypes. *Gut* **39** : 876-880, 1996.
- 7) 田中栄治, 飯島敏代, 天木登代 他 : HCVコア抗原定量試薬 (CLEIA法) の臨床的有用性. *医学と薬学* **46** : 391-397, 2001.
- 8) 片山恵子, 熊谷純子, 小宮 裕 他 : HCVコア抗原定量試薬の基礎的検討. *医学と薬学* **46** : 1023-1029, 2001.
- 9) 安田清美, 飯野四郎 : 高感度HCVコア蛋白定量試薬のC型慢性肝炎診断および治療への適用. 医