

ルス感染が肝組織においてSTAT1のリン酸化を誘導していると考えられる。

今回の検討ではP-STAT1の陽性数はBMIやHOMAと関連しており、インスリン抵抗性を有する群では、有さない群と比較してP-STAT1の数が少なかった。この結果は内臓脂肪により誘導されるadipocytokineがインスリン抵抗性ととともに、インターフェロン誘導性にも関与している可能性が示唆された。最近の検討ではgenotype 1の肥満を有する患者ではインターフェロンのシグナルが阻害されることにより、インターフェロン抵抗性となるとの報告があり、今回の所見と一致する。

今回の検討ではP-STAT3は有意にALTと相関していた。これはP-STAT3は炎症の状態と関連があるとしたこれまでの報告に矛盾しない。しかしP-STAT3陽性の所見は59症例中16例にしか見られなかった。これは今回の症例が炎症が比較的弱い症例が多いC型慢性肝炎であったことが原因と思われる。

今回の検討ではP-STAT1と年齢が有意なSVRの予測因子であった。P-STAT1が7以上で60歳以下の症例は10症例あり、これらはすべてSVRであった。一方でP-STAT1が7以下で60歳以上の5症例はすべてNRであった。よってインターフェロン前の肝組織におけるP-STATと年齢により、インターフェロンの治療効果を判断しうると考えられる。

E. 結論

インターフェロン前の肝組織におけるP-STAT1はBMIやインスリン抵抗性と相関し、インターフェロンの治療効果の予測因子となりうる。P-STAT3は炎症に対する細胞障害の防御に重要な役割をはたしていると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 塩月香那子、後藤貴史、宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美：抗 GAD 抗体陽性 C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法の検討。肝臓 49(3)：122-124, 2008
- 2) Shibata H, Ichikawa T, Nakao K, Miyaaki H, Takeshita S, Akiyama M, Fujimoto M, Miura S, Kanda S, Yamasaki H, Eguchi K: A high glucose condition sensitizes human hepatocytes to hydrogen peroxide-induced cell death. Mol Med Rep 1:379-385, 2008
- 3) Miyaaki H, Ichikawa T, Nakao K, Yatsushashi H, Furukawa R, Ohba K, Omagari K, Kusumoto Y, Yanagi K, Inoue O, Kinoshita N, Ishibashi H, Yano M, Eguchi K: Clinicopathological study of nonalcoholic fatty liver disease in Japan: the risk factors for fibrosis. Liver Int 28(4):519-524, 2008
- 4) Hirano K, Ichikawa T, Nakao K, 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 cyclosporin a, on interferon-induced antiviral protein in human hepatocyte cells. Liver Transpl 14(3):292-298, 2008
- 5) Kusumoto K, Yatsushashi H, Nakao R, Hamada R, Fukuda M, Tamada Y, Taura N, Komori A, Daikoku M, Hamasaki K, Nakao K, Ishibashi H, Miyakawa Y, Eguchi K: Detection of HBV core promoter and precore mutations helps distinguish flares of chronic hepatitis from acute hepatitis B. J Gastroenterol Hepatol 23(5):790-793, 2008
- 6) Goto T, Ishikawa H, Matsumoto K, Nishimura D, Kusaba M, Taura N,

Shibata H, Miyaaki H, Ichikawa T, Hamasaki K, Nakao K, Maeshima Y, Eguchi K: Tum-1, a tumstatin fragment, gene delivery into hepatocellular carcinoma suppresses tumor growth through inhibiting angiogenesis. *Int J Oncol.* 33(1):33-40, 2008

7) Akiyama M, Miyaaki H, Miuma S, Shibata H, Fujimoto M, Takeshita S, Ozawa E, Ichikawa T, Nakao K, Eguchi K: Significance of trans-hepatic arterial chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *Oncol Rep* 20(2):353-357, 2008

8) Miyaaki H, Zhou H, Ichikawa T, Nakao K, Shibata H, Takeshita S, Akiyama M, Ozawa E, Miuma S, Eguchi K: Study of liver-targeted regulatory T cells in hepatitis B and C virus in chronically infected patients. *Liver Int.* 2008

9) Miyaaki H, Murakami E, Ichikawa T, Nakao K, Takeshita S, Shibata H, Ozawa E, Akiyama M, Miuma S, Fujimoto M, Kuroki T, Tajima Y, Kanematsu T, Eguchi K: Long-term increase in liver volume after Denver peritoneovenous shunt: report of two cases. *Liver Int.* 2008

2. 学会発表

1) 第208回日本内科学会九州地方会. 竹下茂之、市川辰樹、柴田英貴、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、藤本真澄、宮明寿光、中尾一彦、江口勝美、鳥山 寛. 国際診断基準では自己免疫性肝炎の範疇に入る非アルコール性脂肪性肝炎の1例. 長崎大学第一内科、長崎大学熱帯医学研究所病変発現機序分野

2) 第105回日本内科学会講演会. 田浦直太、八橋 弘、中尾一彦、市川辰樹、江口勝美、石橋大海. 長崎県における過去25年間の起因ウイルス別肝癌発生状況の推移の検討. 長崎医療センター、長崎大学第一内科

3) 第105回日本内科学会講演会. 市川辰樹、中尾一彦、宮明寿光、本田琢也、藤本真澄、三馬 聡、秋山祖久、小澤栄介、古河隆二、江口勝美. C型慢性肝炎と非アルコール性脂肪性肝疾患における75g経口糖負荷試験の意義. 長崎大学第一内科、日赤長崎原爆病院内科

4) The 43th European Association for the Study of the Liver. Ichikawa T, Nakao K, Miyaaki H, Shibata H, Takeshita S, Eguchi S, Takatsuki M, Ikeda M, Kato N, Kanematsu T, Eguchi K. Differential effects of calcineurin inhibitors, tacrolimus and cyclosporin a, on interferon-induced antiviral protein in human hepatocyte cells. 長崎大学第一内科

5) The 43th European Association for the Study of the Liver. Takeshita S, Ichikawa T, Shibata H, Akiyama M, Ozawa E, Miuma S, Fujimoto M, Miyaaki H, Nakao K, Eguchi K. Effect of Short-term Oral Branched Chain Amino Acids Enriched Snack in the Patients Complicated with Liver Cirrhosis Undergoing Trans-arterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma. 長崎大学第一内科

6) The 43th European Association for the Study of the Liver. Miyaaki H, Ichikawa T, Nakao K, Takeshita S, Shibata H, Ozawa E, Akiyama M, Miuma S, Fujimoto M, Eguchi K. Factors Associated with the Expression of the Signal Transducers and Activators of Transcription(STAT) in Chronic Hepatitis C. 長崎大学第一内科

7) 第94回日本消化器病学会総会. パネルディスカッション. 市川辰樹、江口 晋、中尾一彦. 生体肝移植後の原疾患再発対策. 長崎大学第一内科

8) 第44回日本肝癌研究会. 三馬 聡、柴田英貴、竹下茂之、秋山祖久、小澤栄介、藤本真澄、宮明寿光、田浦直太、市川辰樹、中尾

一彦、江口勝美. 肝細胞癌の再発、予後と空腹時血清インスリン、アディポネクチン値の関連. 長崎大学第一内科

9) 第44回日本肝臓学会総会. ワークショップ. 三馬 聡、柴田英貴、竹下茂之、秋山祖久、小澤栄介、藤本真澄、宮明寿光、田浦直太、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美. 空腹時血清インスリン、アディポネクチン値と肝細胞癌の予後、並びにインスリン、アディポネクチンと肝癌細胞の増殖、運動浸潤能との関連について. 長崎大学第一内科

10) 第44回日本肝臓学会総会. 市川辰樹、中尾一彦、宮明寿光、藤本真澄、江口 晋、高槻光寿、八橋 弘、長岡進矢、兼松隆之、江口勝美. 生体肝移植後のB型肝炎ウイルスワクチン療法の意義長崎大学第一内科・消化器外科、長崎医療センター

11) 第44回日本肝臓学会総会. 宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、柴田英貴、竹下茂之、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、藤本真澄、江口勝美. 慢性ウイルス肝炎の肝内における制御性T細胞についての検討～CHBとCHCの比較～. 長崎大学第一内科

12) 第91回日本消化器病学会九州支部例会. パネルディスカッション. 市川辰樹、中尾一彦、宮明寿光、藤本真澄、江口 晋、高槻光寿、秋山祖久、三馬 聡、小澤栄介、柴田英貴、竹下茂之、兼松隆之、江口勝美. C型慢性肝炎が代謝に与える影響. 長崎大学第一内科

13) 第85回日本消化器内視鏡学会九州支部例会. 前田耕太郎、宮明寿光、中尾一彦、市川辰樹、藤本真澄、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、柴田英貴、竹下茂之、江口勝美. 十二指腸水平部静脈瘤を合併したWilson病の1例. 長崎大学第一内科

14) 第91回日本消化器病学会九州支部例会. 城 大空、宮明寿光、中尾一彦、市川辰樹、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、柴田英貴、竹下茂之、江口勝美. Peg-IFN+RBV併用療

法により膵島関連自己抗体が陽性化し1型糖尿病を発症したC型慢性肝炎の1例. 長崎大学第一内科

15) 第91回日本消化器病学会九州支部例会. 佐々木 龍、秋山祖久、内田信二郎、柴田英貴、竹下茂之、三馬 聡、小澤栄介、藤本真澄、宮明寿光、市川辰樹、松本武浩、中尾一彦、江口勝美、鳥山 寛. 原発性胆汁性肝硬変の診断8年後に自己免疫性肝炎を合併したオーバーラップ症候群の1例. 長崎大学第一内科

16) 第91回日本消化器病学会九州支部例会. パネルディスカッション. 田浦直太、八橋弘、市川辰樹、中尾一彦、石橋大海. ウイルス性慢性肝疾患症例におけるインスリン感受性および分泌能についての検討. 長崎大学第一内科、長崎医療センター

17) 第26回日本肝移植研究会. 市川辰樹、中尾一彦、宮明寿光、江口 晋、高槻光寿、兼松隆之、江口勝美. HCV関連生体肝移植例に対する術後2回目IFN治療の意義. 長崎大学第一内科、長崎大学医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科

18) 第26回日本肝移植研究会. 奥平定之、江口 晋、市川辰樹、藤本真澄、濱崎幸司、山之内孝彰、宮崎健介、日高匡章、高槻光寿、木下直江、安倍邦子、林 徳真吉、兼松隆之. B型肝炎硬変に対する生体肝移植後にde novo AIHを発症したと考えられた1例. 長崎大学第一内科、長崎大学医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科

19) 第282回日本内科学会九州地方会. 宮副誠司、増田淳一、市川辰樹、宇佐俊郎. IFN再投与により一過性甲状腺機能低下症を再発したC型慢性肝炎の1例. 虹が丘病院消化器内科、長崎大学第一内科

20) 第282回日本内科学会九州地方会. 山島美緒、宮明寿光、竹下茂之、柴田英貴、小澤栄介、三馬 聡、秋山祖久、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美. PIVKA-IIの上昇を認めた

肝炎症性偽腫瘍の1例. 長崎大学第一内科
21) 第44回日本移植学会総会. 松崎寿久、市川辰樹、宮明寿光、中尾一彦、江口 晋、蒲原行雄、兼松隆之、江口勝美. HCV感染症が肝移植後の糖代謝に及ぼす影響. 長崎大学第一内科、長崎大学第二外科
22) 第12回日本肝臓学会大会. シンポジウム. 市川辰樹、江口 晋、中尾一彦. 肝移植における肝炎ウイルス対策の検討. 長崎大学第一内科、長崎大大学院・移植・消化器外科学
23) 第12回日本肝臓学会大会. シンポジウム. 秋山祖久、市川辰樹、中尾一彦. C型慢性肝炎に対するPEG-IFN + Ribavirin併用療法と制御性T細胞の関与. 長崎大学第一内科
24) 第12回日本肝臓学会大会. 宮明寿光、中尾一彦、市川辰樹、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、柴田英貴、竹下茂之、江口勝美. 慢性C型肝炎の肝組織におけるSTAT1リン酸化の意義についての検討 長崎大学第一内科
25) 第12回日本肝臓学会大会. 竹下茂之、市川辰樹、柴田英貴、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、藤本真澄、宮明寿光、中尾一彦、江口勝美. 肝硬変患者における尿中尿素窒素を用いた蛋白摂取量推定の有用性の検討. 長崎大学第一内科
26) The 59th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Miyaaki H, Nakao K, Ichikawa T, Akiyama M, Ozawa E, Miuma S, Shibata H, Matsuzaki T, Muraoka T, Takeshita S, Eguchi K. Predictive value of the phosphorylation of signal transducers and activators of transcription (STATs) in outcome of interferon therapy to chronic hepatitis C. 長崎大学第一内科
27) The 59th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Ichikawa T, Nakao K, Miyaaki H,

Akiyama M, Miuma S, Ozawa E, Takeshita S, Shibata H, Muraoka T, Matsuzaki T, Eguchi K. Interferon- α induced mammalian target of rapamycin activation is an anti-hepatitis C virus signal via the phosphatidylinositol 3-kinase-Akt-independent pathway. 長崎大学第一内科

28) The 59th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Akiyama M, Motoyoshi Y, Takeshita S, Ozawa E, Miuma S, Shibata H, Fujimoto M, Miyaaki H, Ichikawa T, Nakao K, Eguchi K. Alternation of regulatory T cells in patients with chronically hepatitis type C virus infection under interferon with ribavirin combination therapy. 長崎大学第一内科

29) The 59th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Miuma S, Nakao K, Taura N, Shibata H, Akiyama M, Fujimoto M, Kawashimo H, Miyaaki H, Ichikawa T, Eguchi K. The level of fasting serum insulin, but not adiponectin, is associated with the prognosis of early stage hepatocellular carcinoma. 長崎大学第一内科

30) The 59th ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF LIVER DISEASES. Nakao K, Goto T, Ishikawa H, Miyaaki H, Ichikawa T, Eguchi K. Tum-1, a tumstatin fragment, gene delivery into hepatocellular carcinoma suppresses tumor growth through inhibiting angiogenesis. 長崎大学第一内科

31) 第92回日本消化器病学会九州支部例会. シンポジウム. 蒲原行雄、江口 晋、高槻光

寿、山之内孝彰、宮崎健介、猪熊孝実、朝長哲生、井上 諭、黒木 保、田島義証、小澤栄介、三馬 聡、秋山祖久、宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、兼松隆之。肝切除後再発に対する集学的治療と肝移植。長崎大学 移植・消化器外科、長崎大学 第一内科

32) 第92回日本消化器病学会九州支部例会。森田 道、宮明寿光、山島美緒、高木裕子、松崎寿久、村岡 徹、竹下茂之、柴田英貴、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美。著明な肝腫大を来し肝不全にて死亡した小細胞癌の一例。長崎大学 第一内科

33) 第92回日本消化器病学会九州支部例会。山島美緒、宮明寿光、竹下茂之、柴田英貴、松崎寿久、村岡 徹、秋山祖久、小澤栄介、三馬 聡、市川辰樹、中尾一彦、江口勝美食道蠕動運動障害により著明な食道拡張を認めたCREST症候群の一例。長崎大学 第一内科

34) 第92回日本消化器病学会九州支部例会。高木裕子、市川辰樹、宮明寿光、中尾一彦、本田琢也、三馬 聡、秋山祖久、小澤栄介、竹下茂之、柴田英貴、村岡 徹、松崎寿久、山島美緒、中舗 卓、江口勝美。タクロリムスが有効であったステロイド抵抗性自己免疫性肝炎の1例。長崎大学 第一内科

35) 第92回日本消化器病学会九州支部例会。福島真典、小澤栄介、秋山祖久、三馬 聡、竹下茂之、柴田英貴、松崎寿久、村岡 徹、江口 晋、高槻光寿、蒲原行雄、奥平定之、宮明寿光、市川辰樹、中尾一彦、兼松隆之、江口勝美。肝癌の根治的治療後に生体肝移植を行い移植17ヶ月後に骨盤内再発を来した一例。長崎大学 第一内科

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

データマイニング手法を用いた効果的な治療方法に関する研究

IFNの投与方法と肝癌細胞に対する抗腫瘍効果に関する検討

研究分担者 矢野 博久 久留米大学医学部病理学 教授

研究要旨 今回、インターフェロン（IFN）の投与方法と肝癌細胞の抗腫瘍効果について検討を二つの方法を用いて行った：1）IFNと各種阻害剤（Tyrosine kinase阻害剤、NF κ B阻害剤、COX-2阻害剤）の併用による増殖抑制効果について検討；2）ヒト肝癌を皮下に移植されたヌードマウスに対し、ヒト天然型IFN- α （OIF $^{\circ}$ ）を皮下注射あるいは新規drug delivery system（DDS）を用いて投与し、その抗腫瘍効果を検討した。その結果、各種阻害剤（Tyrosine kinase阻害剤、NF κ B阻害剤、COX-2阻害剤）は、単独では種々の程度に肝癌細胞株の増殖を抑制したが、IFNとの併用投与では、相乗的増殖抑制作用は認められず、相加作用あるいは相殺作用を認めたのみであった。慢性肝炎の臨床量にほぼ相当する量のIFN- α のマウス皮下への連日投与により、ヌードマウス皮下に移植されたヒト肝癌はコントロールに比べ30%程度縮小した。また、新規のDDSによる投与では、腫瘍は、コントロールに比べ20~40%前後縮小しある程度有効性が認められた。今後、更に、他の分子標的薬とIFNの併用効果について、新規のDDSの有用性について検討する必要があると思われる。

A. 研究目的

今回、インターフェロン（IFN）の投与方法と肝癌細胞の抗腫瘍効果について検討を行った。現在、種々の癌に対してソラフェニブ（ネクサバル $^{\circ}$ ）、ボルテゾミブ（ヴェルケイド $^{\circ}$ ）などの阻害剤を使用した分子標的治療が行われている。現在まで多数の阻害剤の報告があるが、このうちいくつかの入手可能な阻害剤を使用し、阻害剤単独あるいはIFNと併用処理による肝癌細胞の増殖に対する作用を検討した。また、更にIFNの新しい投与方法として新規のDrug delivery System（DDS）を使用しその肝癌細胞に対する抗腫瘍効果に関してヌードマウス皮下移植ヒト肝癌腫瘍を用いて検討した。

B. 研究方法

①阻害剤の実験には、Tyrosine kinase活性阻害剤の一つであるAG490、NF κ B阻害剤（プロテアソーム阻害剤）の一つであるラクタシスチンの自己ラクトン化による生成物の β -ラクトン、COX-2阻害剤であるセレコキシブを使用した。IFNは、ヒト天然型IFN- β （フェロン $^{\circ}$ ）を使用した。使用濃度は、AG490は、10、50 nM、 β -ラクトンは、1、5 μ M、セレコキシブは、5、20 μ Mを使用した。IFNは、40、200、1000 IU/mLを使用した。肝癌細胞株は、当教室で樹立した11種類の肝細胞癌細胞株を使用した。阻害剤単独あるいはIFNと併用処理し、72時間後にMTT assayを行い生細胞数を同定した。②

HAK-1B肝癌細胞を800万個ヌードマウスの皮下に接種し、約1週間後腫瘍径が1cm前後になった時点で実験を開始した。IFNは、ヒト天然型IFN- α (OIF[®]) を使用した。IFN皮下接種実験は、C型慢性肝炎の治療に使用されるOIF[®]の臨床投与量(1,000万IU/body)に相当する4,000 IU/マウス(20万IU/kg)のグループ、その10倍量、100倍量を投与するグループを作成した。コントロールグループには生理食塩水を投与した。投与は、14日間連日で行い、15日目にsacrificeして、腫瘍重量を測定した。また、腫瘍の短径と長径を2日に一度行い、(短径)²×長径×1/2の式に当てはめて推定体積を求めてグループ間で比較した。新規のDDSを使用した実験では、上記の臨床投与量の14日分、あるいはその10倍量に相当する量を最初にcompound Xと併せて皮下に投与し、腫瘍径の測定を14日間行い、15日目に同様にsacrificeし、腫瘍重量を測定し比較した。Compound Xに混ぜることによりIFNが周囲に徐々に放出されることが期待される。

C. 研究結果

①各種阻害剤(Tyrosine kinase阻害剤、NF κ B阻害剤、COX-2阻害剤)は、単独では種々の程度に肝癌細胞株の増殖を抑制したが、IFNとの併用投与では、相乗的増殖抑制作用は認められず、相加作用あるいは相殺作用を認めたのみであった。AG490は、6株が相加作用、5株が相殺作用、 β -ラクタムは、2株が相加作用、9株が相殺作用、セレコキシブは、全てで、軽度から種々の程度の相殺作用を認めた。②慢性肝炎の臨床量にほぼ相当する量のIFN- α のマウス皮下への連日投与により、ヌードマウス皮下に移植されたヒト肝癌はコントロールに比べ30%程度縮小した。その10倍量投与では、約90%腫瘍は縮小し、その10倍量投与では、ほとんど腫瘍は消失した。また、新規のDDSによるIFNの投与では、

臨床量に相当する量の14日分を最初に投与した場合、腫瘍は、コントロールに比べ20~30%、その10倍量を投与した場合は40%前後縮小しある程度有効性が認められた。

D. 考察

上記のtyrosine kinase阻害剤、NF κ B阻害剤、COX-2阻害剤は、それ自身は、肝癌細胞に対し増殖抑制効果を示したが、IFNとの併用では、相加効果あるいは相殺効果が見られ、併用投与のメリットは見いだせなかった。今後更に他の分子標的薬とIFNの併用効果について検討する必要があると思われる。また、新規のDDSの有用性についてもペグ化IFNと比べるとその抗腫瘍効果は低いため、血液中のIFNの濃度測定や他の薬剤との併用なども検討する必要があると思われる。

E. 論文発表

1. 論文発表

- 1) Yano H. Inhibitory function of interferon on hepatocarcinogenesis. *Oncology* 75 (suppl 1):22-29, 2008.
- 2) 矢野博久. 肝癌の発生・進展とインターフェロンによる制御. *J Microwave Surg* 26:21-26, 2008.
- 3) Moriya F., Ogasawara S., Basaki Y., Akiba J., Kojiro S., Fukahori S., Ishizaki H., Nishida N., Matsuoka K., Kojiro M., Kuwano M., Yano H. Growth inhibitory effects of pegylated IFN- α 2b and 5-fluorouracil in combination on renal cell carcinoma cell lines in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 33:647-655, 2008.
- 4) Akiba J., Ogasawara S., Kawahara A., Nishida N., Sanada S., Moriya F., Kuwano M., Nakashima O., Yano H. N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43 enhances portal vein invasion and intrahepatic metastasis in

human hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 20:1329-1335, 2008.

5) Fukahori S., Yano H., Akiba J., Ogasawara S., Momosaki S., Sanada S., Kuratomi K., Ishizaki H., Moriya F., Yagi M., Kojiro M. Fucoidan, a major component of brown seaweed, prohibits the growth of human cancer cell lines in vitro. *Mol Med Rep* 1:537-542, 2008.

2. 学会発表

1) Yano H., Akiba J., Ogasawara S., Nakashima O., Tanikawa K., Naito Y. Analyses of the expression of interferon-mediated apoptosis-related molecules in human liver cancer cell line. Annual Meeting of International Liver cancer Association. Chicago, USA, September, 2008.

F. 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

データマイニング手法を用いた効果的な治療方法
に関する研究

平成20年度

総括研究報告書
分担研究報告書
(2/2)

論 文 集

研究代表者

八 橋 弘

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
八橋 弘, 山内 勉, 河村 佳洋	特集/C型肝炎のすべて・2009, ウイルスゲノム・ヒトゲノム情報の治療への応用, データマイニング (Data mining) を用いた治療効果予測	肝胆膵	57(5)	851-859	2008
八橋 弘	C型肝炎の治療法や対策事業はどのように進歩してきたか, わが国における肝炎対策事業の現状と今後の展開	Modern Physician	28(1)	11-13	2008
長岡進矢, 矢野公士, 阿比留正剛, 八橋 弘	特集/核酸アナログ時代のB型肝炎治療, 核酸アナログをどう使う?, 核酸アナログ時代のIFN治療の適応	肝胆膵	56(5)	709-715	2008
八橋 弘, 矢野公士, 阿比留正剛, 石橋大海	特集/院内感染: 診断と治療の進歩, 病原体別にみた院内感染と対策, 肝炎ウイルス	日本内科学会雑誌	97(11)	2704-9	2008
Kusumoto K, <u>Yatsubashi H</u> , Nakao R, Hamada R, Fukuda M, Tamada Y, Taura N, Komori A, Daikoku M, Hamasaki K, <u>Nakao K</u> , Ishibashi H, Miyakawa Y, Eguchi K	Detection of HBV core promoter and precore mutations helps distinguish flares of chronic hepatitis B from acute hepatitis B	J Gastroenterol Hepatol	23(5)	790-793	2008
矢倉道泰, 田中晃久, 井利雅信, 上司裕史	C型慢性肝炎に対するinterferon治療の副作用の比較 - 従来型のinterferonとpeginterferon	肝臓	49(6)	275-278	2008
井上裕子, 伊与田賢也, 葛下典由, <u>三田英治</u> , 加藤道夫	Peginterferon-2b/Ribavirin併用療法における0.2/0.4 ratioを用いた超早期治療効果予測	肝臓	49	452-453	2008
<u>三田英治</u> , 加藤道夫	ウイルス性肝炎のプライマリケア「C型肝炎」「高齢者の治療」	診断と治療	96	521-524	2008
<u>三田英治</u> , 加藤道夫	高齢者におけるPeg-IFN α 2b/Ribavirin併用療法の特徴	消化器科	46	437-441	2008
<u>三田英治</u> , 加藤道夫	2型, 高ウイルス量症例におけるリバビリン併用ペグインターフェロン療法	Modern Physician	28	20-24	2008
Shibata H, Ichikawa T, <u>Nakao K</u> , Miyaaki H, Takeshita S, Akiyama M, Fujimoto M, Miuma S, Kanda S, Yamasaki H, Eguchi K.	A high glucose condition sensitizes human hepatocytes to hydrogen peroxide-induced cell death	Mol Med Rep	1	379-385	2008

Goto T, Ishikawa H, Matsumoto K, Nishimura D, Kusaba M, Taura N, Shibata H, Miyaaki H, Ichikawa T, Hamasaki K, Nakao K, Maeshima Y, Eguchi K	Tum-1, a tumstatin fragment, gene delivery into hepatocellular carcinoma suppresses tumor growth through inhibiting angiogenesis	Int J Oncol.	33(1)	33-40	2008
<u>Yano H</u>	Inhibitory function of interferon on hepatocarcinogenesis	Oncology	75 (suppl 1)	22-29	2008
矢野博久	肝癌の発生・進展とインターフェロンによる制御	J Microwave Surg	26	21-26	2008
Moriya F., Ogasawara S., Basaki Y., Akiba J., Kojiro S., Fukahori S., Ishizaki H., Nishida N., Matsuoka K., Kojiro M., Kuwano M., <u>Yano H</u>	Growth inhibitory effects of pegylated IFN- α 2b and 5-fluorouracil in combination on renal cell carcinoma cell lines in vitro and in vivo	Int J Oncol	33	647-655	2008
Akiba J., Ogasawara S., Kawahara A., Nishida N., Sanada S., Moriya F., Kuwano M., Nakashima O., <u>Yano H</u>	N-myc downstream regulated gene 1 (NDRG1)/Cap43 enhances portal vein invasion and intrahepatic metastasis in human hepatocellular carcinoma	Oncol Rep	20	1329-1335	2008
Fukahori S., <u>Yano H</u> , Akiba J., Ogasawara S., Momosaki S., Sanada S., Kuratomi K., Ishizaki H., Moriya F., Yagi M., Kojiro M.	Fucoidan, a major component of brown seaweed, prohibits the growth of human cancer cell lines in vitro.	Mol Med Rep	1	537-542	2008

データマイニング (Data mining) を用いた治療効果予測

八橋 弘* 山内 勉** 河村 佳洋**

索引用語：C型慢性肝炎、IFN治療、データマイニング、SNP

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の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。

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いわれている。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、流通業界に浸透しはじめ、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みられない。

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

Hiroshi YATSUHASHI et al: Prediction of IFN response by Data mining

*国立病院機構長崎医療センター治療研究部 [〒 856-8562 大村市久原 2-1011-1]

**日本アイビーエム

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} w_i * \exp \left (x - c) * * 2 / 2 \sigma * * 2 \right $

HCV1型(n=824)：男性457(55%)，女性367
平均年齢 56.6歳(17~79) F0-2：428，F3-4：210(33%)

HCV2型(n=259)：男性127(49%)，女性134
平均年齢 52.2歳(22~77) F0-2：122，F3-4：47(28%)

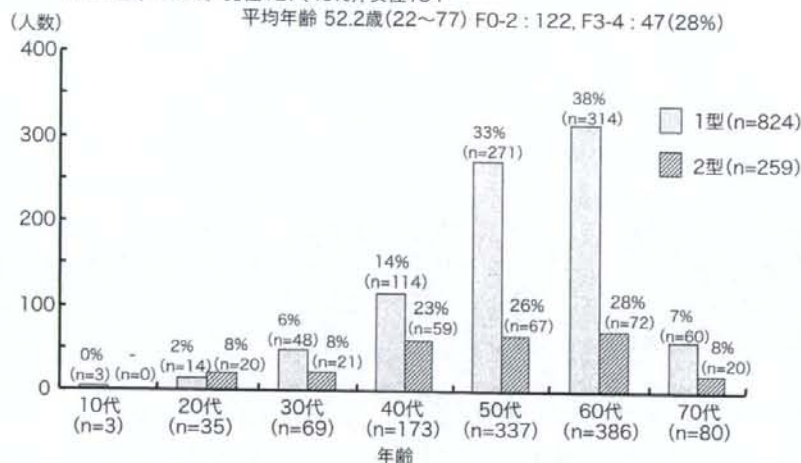


図1 PegIFN α 2b/RBV治療例の年齢分布 (HCV 型別)
(2004年12月~2006年12月導入症例：n=1,083)

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、いわゆるすべ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

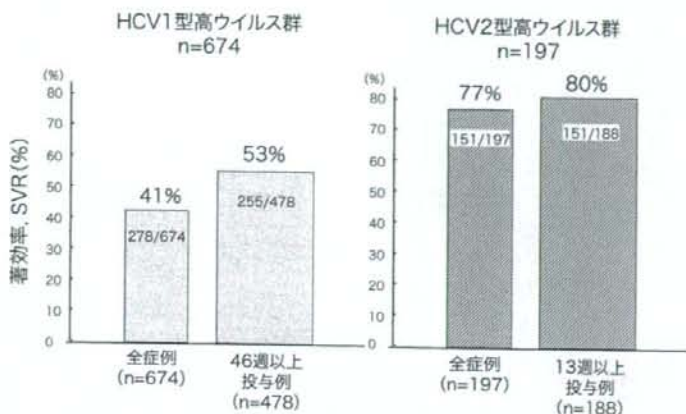


図2 HCV型別PegIFN α 2b/RBV治療成績、著効(SVR)率

うという)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、そのふた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歳ぐらいの子どもがいる共働きの30歳代の若い夫婦は、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、何か新しい事実をみ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

C型慢性肝炎に対するPegIFNと
リバビリン併用療法の治療成績

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班(主任研究者:八橋弘)では、肝硬変症例を含めてC型慢性肝炎に対するPegIFNとリバビリン(RBV)併用療法の治療成績に関してDmを用いて解析を行ってきたので、その解析結果について紹介する。

2004年12月から2006年12月までの期間、26の国立病院機構肝炎専門医療施設内にてPegIFN α 2bとRBV併用療法が導入されたC型慢性肝炎症例(肝硬変例を含む)のうち1,083例(HCV1型824例、2型259例)が本解析対象例として登録された(図1)。

HCV1型高ウイルス(100 KIU/ml)群で標準的治療を行った674例でのSVR (Sustained Viral Response: 治療24週目血中HCV-RNA陰性)率は、全対象で41% (278/674)、46週以上治療例では53% (255/478)であった。一方、HCV2型高ウイルス(100 KIU/ml)群のSVR率は、全対象で77% (151/197)、46週以上治療例では80% (151/188)であった(図2)。

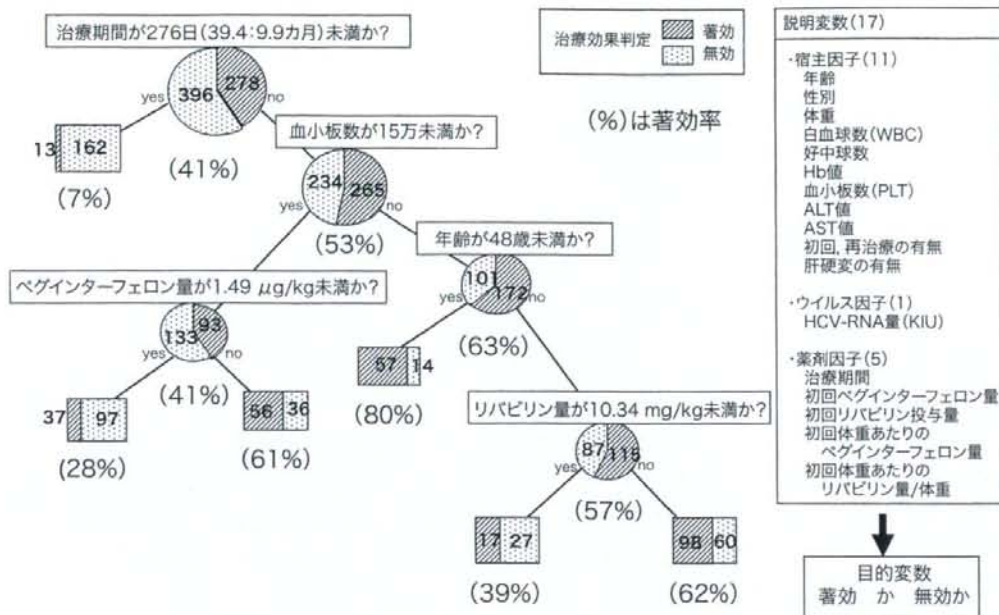


図3 HCV1b型高ウイルス例に対するPegIFN a 2b/RBV併用療法治療を行った674例での治療効果に関するデータマイニング解析(決定木法)

$$\text{著効率 (SVR)\%} = 42.95a + 20.84b - 0.5065c + 15.99d - 11.05e + 15.91f + 0.002682g$$

採用7変数	a: 治療期間	276日以上 → 1, 276日未満 → 0
	b: 年齢	48歳未満 → 1, 48歳以上 → 0
	c: 体重 (kg)	
	d: PEG量	75 μg以上 → 1, 75 μg未満 → 0
	e: 血小板数	15万未満 → 1, 15万以上 → 0
	f: 診断	慢性肝炎 → 1, 肝硬変 → 0
	g: WBC (白血球数)	

図4 HCV1型高ウイルス群, Peg-IFN a 2b/RBV治療を行った674例での著効(SVR)に関連する治療前因子の重回帰分析(stepwise regression)

3 データマイニング(決定木法)を用いたIFNの治療効果予測

HCV1型高ウイルス群674例を対象として17の説明変数(年齢, 性別, 体重, 白血球数(WBC), 好中球数, Hb値, 血小板数(PLT), ALT値, AST値, 初回再治療の有無, 肝硬変の有無, HCV-RNA量(KIU), 初回PegIFN

量, 初回RBV投与量, 初回体重あたりのPegIFN量, 初回体重あたりのRBV量/体重)を用いて目的変数をSVRとしてDm解析(決定木法)を行った(図3)。決定木法では, より重要な因子は上位に位置し, それぞれの条件をYes, Noとアルゴリズムのようにしてたどることで, 各集団におけるSVR率が求められる。本解析結果からは, SVRは, 1)治療

著効率(SVR)%=42.95a+20.84b-0.5065c+15.99d-11.05e+15.91f+0.002682g			
		女性	
a:治療期間	276日以上→1, 276日未満→0	337日	42.95 × 1 = 42.95
b:年齢	48歳未満→1, 48歳以上→0	36歳	20.84 × 1 = 20.84
c:体重(kg)		67.6 kg	-0.5065 × 67.6 = -34.23
d:ペグIFN量	75 μg以上→1, 75 μg未満→0	100 μg	15.99 × 1 = 15.99
e:血小板数	15万未満→1, 15万以上→0	19.4万	-11.05 × 0 = 0
f:診断	慢性肝炎→1, 肝硬変→0	慢性肝炎	15.91 × 1 = 15.91
g:白血球数		6,000	0.002682 × 6000 = 16.09
			予測SVR率 → 77.55%

図5 重回帰分析(stepwise regression)での予測SVR率の算出

期間276日か否か、2)血小板数が15万未満か否か、3)年齢が48歳か否かの他、4)薬剤投与量等などによって規定され、それぞれの因子の組み合わせによりSVR率7%から80%の6つの集団に区分された。なお本Dm解析(決定木法)の精度は74.5%(502/674)であった。

4 データマイニング解析と変数選択法を用いた重回帰分析によるSVR率の予測式

HCV1型高ウイルス群674例でのデータをもとに多変量解析で有意となった因子とDm解析(決定木法)で選択された数字をもとにしてSVR率の算出を試みた。すなわちDm解析(決定木法)と変数選択法を癒合せた重回帰分析を組み合わせて下記のようなSVR率の予測式を作成した(図4)。

(SVR) % = 42.95 a + 20.84 b - 0.5065 c + 15.99 d - 11.05 e + 15.91 f + 0.002682 g, (a:治療期間276日以上→1, 276日未満→0, b:年齢48歳未満→1, 48歳以上→0, c:体重(kg) d:ペグIFN量75 μg以上→1, 75 μg

未満→0, e:血小板数15万未満→1, 15万以上→0, f:診断慢性肝炎→1, 肝硬変→0, g:白血球数), なお本予測式の精度は71.2%(480/674)である。

具体例として36歳の女性を対象にして、本回帰式に個々の数字を当てはめて予測SVR率を算出すると以下ようになる(図5)。治療期間が337日の場合、276日より多いことから42.95ポイント加算する。年齢が36歳と48歳より若いことから20.84ポイント加算する。体重が67.6kgであることから体重に0.5065の係数をかけた34.23ポイントを減算する。初回PegIFN投与量が100 μgであり、75 μgより多いことから15.99ポイント加算する。血小板数が19.4万と15万より多いことから11.05ポイントに係数のゼロをかけるのとゼロポイントの減算に留まる。慢性肝炎であることから、15.91ポイント加算する。白血球数が6,000であることから、この白血球数に0.002682の係数をかけた16.09を加算し合計すると、予測SVR率は77.55%と計算された。実際この症例は、上記条件のもとに治

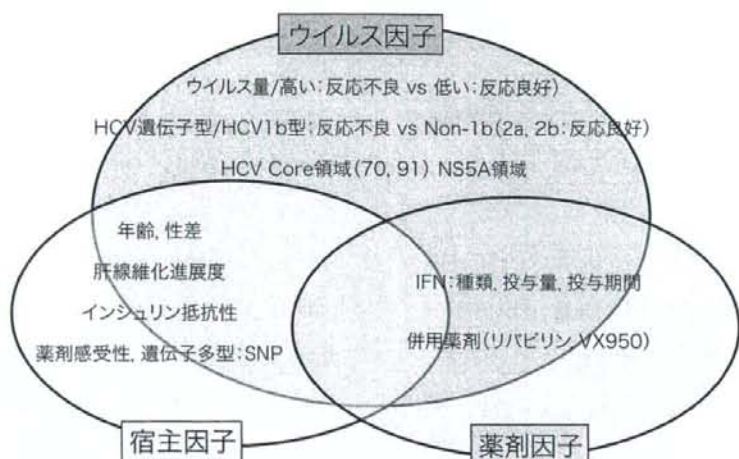


図6 C型肝炎のIFN治療効果に影響を及ぼす因子

療を行いSVRとなった。

5 データマイニングを用いた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、組み合わ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いわれている。一方、現時点でのSNP研究の多くは、単変量解析により、ひと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らず、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、記述したようにウイルス因子(ウイルスの型と量)、薬剤因子(IFNの種類、投与量、投与期間、RBV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6)。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MxA¹⁾、IL10²⁻⁴⁾、IRF1⁵⁾、TNF⁶⁾、osteopontin⁷⁾のプロモーター領域のSNPやハプロタイプ、IFNARI (IFNレセプター)のマイクロサテライト配列⁸⁾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。PegIFNとRBVの併用療法⁹⁾の導入により、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

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% C.I.)	
IRF2	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)
IFNAR1	369	intron	0.041	3.39 (1.00-11.5)
	355	intron	0.044	1.74 (1.01-2.99)
多点解析(各染色体におけるすべての解析SNP間の連鎖平衡解析 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)				
IRF2	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)

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。

われわれは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⁹⁾。

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、インペグ法(大塚TRC研究所)およびダイレクトシーケンシング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すべての解析SNP間の連鎖不平衡係数(D', r²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、たかだか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て

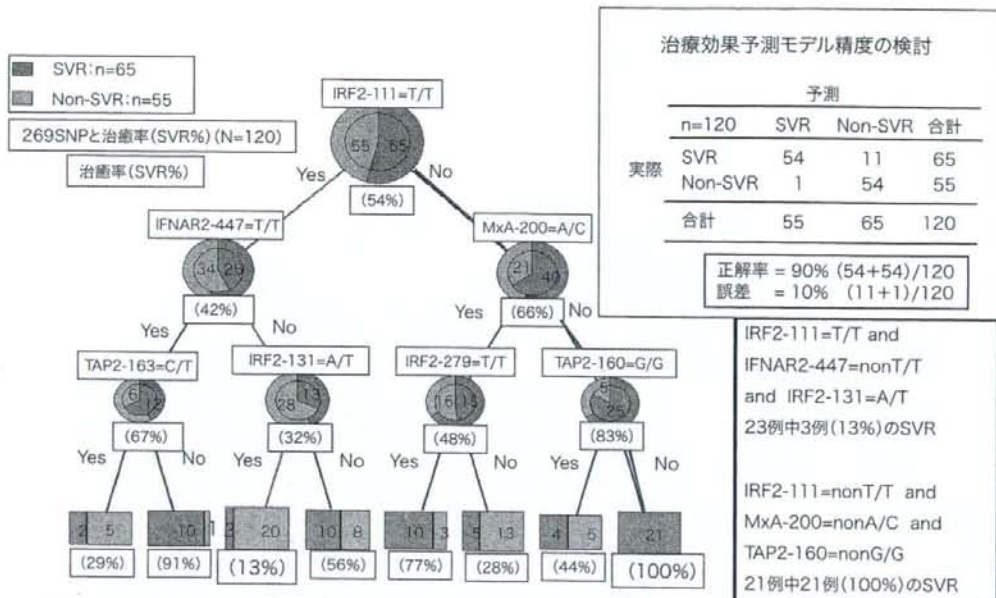


図7 IFN治療に関係する遺伝子多型(SNP)の組み合わせによる治療効果予測：データマイニング解析

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7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) vIFNAR2(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。なお現在、われわれの研究班でのSNP解析研究はこの120例から681例に症例数を増やしてさらなる解析を行っている。

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、ひとつの遺伝子を吊り上げ同定したのち、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、ひとつのSNPの発見やハプロタイプのみ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と思われる。Dmは、今後SNPの組み合わせ解析、特に薬剤感受性の解明や治療効果予測を目的とする場合の膨大な情報処理、精緻な解析方法として今後、その活躍が期待されている。

文 献

- 1) Hijikata M, Mishiro S, Miyamoto C 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. *Intervirolgy* 44 : 379-382, 2001
- 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* 30 : 526-530, 1999
- 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* 33 : 708-712, 2001
- 4) Morgan TR, Lambrecht RW, Bonkovsky HL et al : DNA polymorphisms and response to treatment in patients with chronic hepatitis C: Results from the HALT-C trial. *J Hepatol* 49 : 548-556, 2008
- 5) Saito H, Tada S, Wakabayashi K et al : The Detection of IRF-1 promoter polymorphisms and their possible contribution to T helper 1 response in chronic hepatitis C. *J Interferon Cytokine Res* 22 : 693-670, 2002
- 6) Dai CY, Chuang WL, Chang WY et al : Tumor necrosis factor- alpha promoter polymorphism at position -308 predicts response to combination therapy in hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 193 : 98-101, 2006
- 7) Naito M, Matsui A, Inao M et al : SNPs in the promoter region of the osteopontin gene as a marker predicting the efficacy of interferon-based therapies in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 40 : 381-388, 2005
- 8) Matsuyama N, Mishiro S, Sugimoto M et al : The dinucleotide microsatellite polymorphism of the IFNARI gene promoter correlates with responsiveness of hepatitis C patients to interferon. *Hepatol Res* 25 : 221-225, 2003
- 9) 八橋 弘 : 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. *肝臓* 46 : 599-603, 2005

*

*

*