

平成 21 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：血小板低値例へのインターフェロン治療法の確立を目指した基礎および臨床的研究課題番号：H21-肝炎-一般-21280601研究代表者：西口修平**I. 研究の意義**

- (1) わが国の患者は高齢で線維化が進み、汎血球減少例が多いので、インターフェロン(IFN)やリバビリン(RBV)の副作用が強く発現し、薬剤の減量・中断が多い。肝炎治療における大きな障害であるが、患者背景の異なる海外では問題にされておらず、日本が独自に解決すべき課題である。
- (2) IFN 投与のために部分的脾動脈塞栓術(PSE)や脾臓摘出術(脾摘)を施行する是非について十分検討されておらず、基礎・臨床の両面から総合的な評価が必要である。
- (3) 欧米の研究では IFN 少量長期投与の有効性について否定的見解が示されたが、患者背景の異なる我が国において、特に血小板低値例を対象とした本治療法の意義について再検証が必要である。

II. 研究の目的、期待される成果

- (1) 汎血球減少例などの難治例に対する安全で有効性の高い IFN 投与法を確立すること。
- (2) 治療完遂率を向上させるため PSE や脾摘術などの治療法の効果と安全性を評価すること。また、IFN 少量長期投与の再検証を行うこと。さらに、これらの治療期間中の QOL を定量評価すること。
- (3) 安全で有効性の高い治療ガイドラインの策定により、肝炎診療の質の向上が期待できる。

III. 1 年間の研究成果

・研究代表者

- (1) 肝疾患専門病院 413 施設にアンケート調査を実施した。内科に対しては血小板低値例に対する IFN 治療の実態、摘脾や PSE について調査した。外科には摘脾、放射線科には PSE の適応や手技を調査した。その結果、IFN 投与前の下限血小板値が 8 万以上の施設が 32%、7 万以上が 23%、5 万以上が 25%、3 万以上が 11%であった。IFN 投与量が通常量の(100%以上, 100-80%, 80-60%, 60-40%, 40-20%, 20%未満)の症例は、血小板数 10 万-8 万の症例では(71%, 24%, 5%, 0%, 0%, 0%)であるが、8 万-5 万では(18%, 30%, 19%, 33%, 0%, 0%)、5 万未満では(6%, 6%, 19%, 37%, 13%, 19%)となり、血小板数 8 万以下では IFN の効果が期待できないレベルまで減量されていた。摘脾が 17 施設、PSE は 16 施設で行われ、その安全性や有効性に関する 2 次調査を予定している。
- (2) 血小板低値例への IFN 治療成績の集計を内科系班員に依頼した。投与前血小板数は、13 万以上 68%、10-13 万 17%、10 万未満 15%であった。血小板数が(13 万以上/未満)では、完遂率は(56%/16%)、SVR 率は(45%/24%)であり、低値例では、治療薬減量のため効果が半減していた。
- (3) 兵庫医大にて PEG-IFN・RBV 併用療法を施行した C 型肝硬変 71 症例(1b・高 HCV 量: 58 例, 2a/2b :

13 例) を対象とした。1b・高 HCV 量と 2a/2b 症例では、RVR は 2%, 38%、cEVR は 16%, 77%、SVR は 13%, 36% であった。投与終了 59 例中治療中止は 25 例で、副作用が 13 例、non-LVR が 5 例、肝癌が 7 例であった。脾摘 13 例・PSE2 症例では、血小板数は 5.0 ± 1.3 万から 16.3 ± 5.2 万まで上昇し、IFN と RBV 投与率の改善が得られた。しかし、SVR 率は、1b・高 HCV 量: 0% (0/7)、2a/2b: 67% (2/3) であり、血小板を上昇させても難治例では有効率が低いことが判明した。

・研究分担者(有井 滋樹)

(1) 約 40 症例に脾摘を施行した。その結果、術後血小板は有意に増加、肝機能も設定した対照群にくらべて若干良好に維持されていた。

・研究分担者(山本 和秀)

(1) 血小板数低値例では治療前に既に HRQOL (体の痛み、活力) が低下していた。

・研究分担者(工藤 正俊)

(1) 血小板低値を伴う C 型肝炎患者に対する脾臓摘出術前後における、造影超音波を用いた肝血流動態変化の定量的評価および術後肝機能に与える影響に関する研究を現在進行中である。

・研究分担者(日野 啓輔)

(1) 倫理委員会の承諾を得て前向き臨床研究を開始した(公開登録 No: R000003067)。

・研究分担者(河田 則文)

(1) C 型慢性肝炎 37 例を対象に、食生活実態や自覚症状をスコア化して評価した。IFN 治療中の疲労程度やうつ症状発現は年齢や性別には相関せず、喫煙やコーヒー摂取が抑制的に働いた。

・研究分担者(八橋 弘)

(1) 2005 年以降に IFN 治療を行った C 型慢性肝疾患の内、血小板数 10 万未満は 63 例で、うち 2 例は IFN 治療のために脾臓摘出術を受けていた。臨床成績を集計中である。

・研究分担者(福井 博)

(1) RBV が血管新生抑制効果を有することを確認した。

・研究分担者(内村 直尚)

(1) PEG-IFN+RBV を投与した C 型慢性肝炎 278 例中、不眠が 3.2%、抑うつ状態が 3.2% であり、従来の IFN+RBV (70 例中、不眠 6.0%、抑うつ状態 6.0%) と比較し、有意に少なかった。

・研究分担者(富山 佳昭)

(1) C 型慢性肝炎において PAIgG が増加している例が 16 例中 2 例に見られた。

・研究分担者(柏木 徹)

(1) 兵庫医科大学 PET センターでの本研究用の RI (Cu-64, Ga-68) の使用許可を文科省に申請し、今年度中に取得予定。さらに、SPECT/CT を用いた脾機能の定量的評価法の準備を行っている。

・研究分担者(渡辺 恭良)

(1) IFN α -2b 製剤をポジトロン核種で標識し、PET 研究を行う。今年度は、IFN の N 末端特異的ポジトロン核種標識に関する基礎検討を行い、モデルペプチドでの実験に成功した。

・研究分担者(筒井ひろ子)

(1) 脾摘マウスの病原細菌感染モデルを作成した。

・研究分担者(池田 一雄)

(1) 脾臓摘出術が肝障害に及ぼす影響についてのマイクロ RNA 発現、遺伝子発現を解析中。

IV. 22～23 年度の課題

(1) 血小板値に応じた IFN の治療指針を策定すること。すなわち、脾摘などの血小板対策が必要な血小板数を求め、それぞれの血小板数において血小板対策を講じた場合と講じなかった場合の IFN の治療法とそれぞれの有効性と安全性について、多施設研究で結論を出す。

(2) 脾摘と PSE の有効性や安全性について基礎及び臨床的に検討する。さらに、両者の対象症例や有効性に差が見られるのかを、全国アンケートの結果を踏まえて詳細に検討すること。

(3) 血小板数を増加させる新規の薬剤(Eltrombopag)についても、情報の収集を図る。

V. 行政施策への貢献の可能性

(1) 血小板低値例などの難治例に対する IFN の治療指針の作成。

(2) 治療有効性に見合った医療費の適正な使用。

(3) 治療中の患者の生活の質の評価と生活指導指針の作成。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

論文発表

(1) 西口修平

1. Hayashi T, Tamori A, Nishikawa M, Morikaw H, Enomoto M, Sakaguchi H, Habu D, Kawada N, Kubo S, Nishiguchi S, Shiomi S. Differences in molecular alterations of hepatocellular carcinoma between patients with a sustained virological response and those with hepatitis C virus infection. **Liver Int**, 29:126-132, 2009.

2. Iwasaki Y, Shiratori Y, Hige S, Nishiguchi S, Takagi H, Onji M, Yoshida H, Izumi N, Kohgo Y, Yamamoto K, Sato N, Shibuya A, Saito H, Sata M, Suzuki K, Kaneko S, Moriyama M, Omata M. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon alpha-2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. **Hepatol Int**. 3: 468-479, 2009.

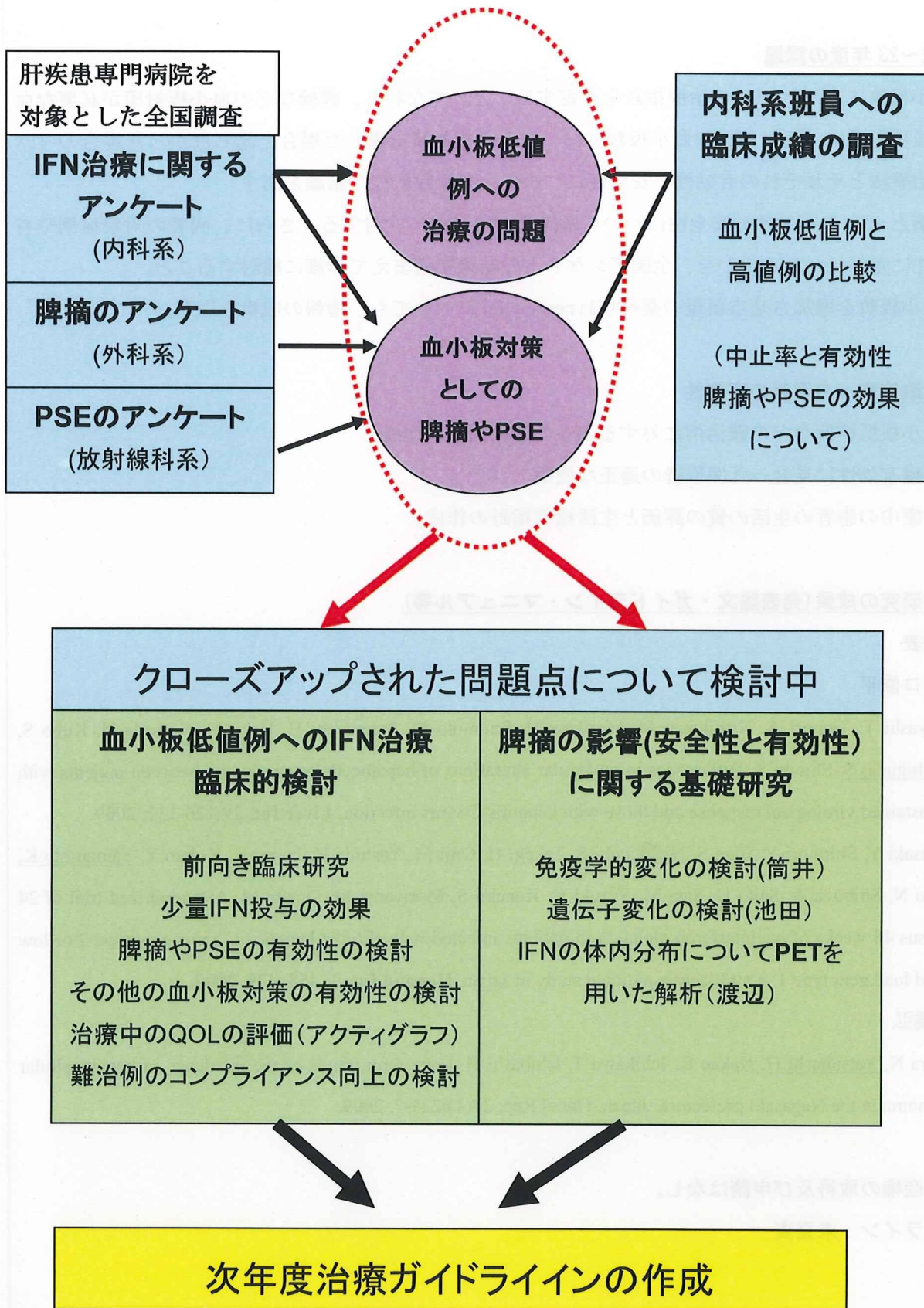
(2) 八橋弘

1. Taura N, Yatsunashi H, Nakao K, Ichikawa T, Ishibashi H. Long-term trends of the incidence of hepatocellular carcinoma in the Nagasaki prefecture, Japan. **Oncol Rep**. 21(1):223-7, 2009.

知的財産権の取得及び申請はなし。

ガイドライン：未発表

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等



○研究代表者の研究歴等

・過去に所属した研究機関の履歴

- 1981年 大阪市立大学医学部 卒業
- 1986年 大阪市立大学医学研究科 卒業 医学博士授与
- 1986年 大阪市立大学第三内科 助手
- 1993年 アメリカ ソーク研究所 (ダルベッコウ研究室) 客員研究員
- 1995年 大阪市立大学第三内科 講師
- 2000年 大阪市立大学 輸血部 副部長・第三内科助教授
- 2001年 大阪市立大学 肝胆膵病態内科学 助教授
- 2005年 兵庫医科大学 内科学 肝胆膵科 主任教授
- 2008年 同 治験センター長 および 肝疾患センター長兼務

・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

- 山本祐夫 (元大阪市立大学医学部第3内科、教授)
- 森澤誠司 (元大阪市立大学医学部生化学、教授)
- 黒木哲夫 (元大阪市立大学医学部第3内科、教授)
- Renato Dulbecco (元ソーク研究所所長)
- Saraswati Sukumar (Johns Hopkins Univ. 教授)
- 下遠野邦忠 (慶応義塾大学医学部、教授)
- 辻村 亨 (兵庫医科大学 分子病理部門、教授)
- 筒井ひろ子 (兵庫医科大学 病原微生物学)

・主な研究課題

- ウイルス性肝炎の診断と治療
- 肝細胞癌の発生機序の検討と発癌予防

・これまでの研究実績

- ・政策提言：1 肝機能正常例に対する IFN 治療の適応に関するガイドライン (Guidelines for the antiviral therapy of hepatitis C virus carriers with normal serum aminotransferase based on platelet counts. *Hepatol Res.* 38, 27-36. (2008)) 厚生労働省熊田班
- ・政策提言：2 原発性胆汁性肝硬変に対するベザフィブラートの有用性の報告 (Study group of intractable liver Diseases for research on a specific disease, health science research grant, ministry of health, labour and welfare of Japan. The efficacy of ursodeoxycholic acid and bezafibrate combination therapy for primary biliary cirrhosis: A prospective, multicenter study. *Hepatol Res.* 2008; 38: 557-64.)

厚生労働省班会議大西班

主な英語論文 (過去10年の主な100論文):

1. Yamamoto T, Nakamura H, Liu W, Cao K, Yoshikawa S, Enomoto H, Iwata Y, Koh N, Saito M, Imanishi H, Shimomura S, Iijima H, Hada T, Nishiguchi S. Involvement of hepatoma-derived growth factor in the growth inhibition of hepatocellular carcinoma cells by vitamin K(2). **J Gastroenterol.** 2009; 44(3): 228-35.
2. *Iwasaki Y, Shiratori Y, Hige S, Nishiguchi S, Takagi H, Onji M, Yoshida H, Izumi N, Kohgo Y, Yamamoto K, Sato N, Shibuya A, Saito H, Sata M, Suzuki K, Kaneko S, Moriyama M, Omata M. A randomized trial of 24 versus 48 weeks of peginterferon alpha-2a in patients infected with chronic hepatitis C virus genotype 2 or low viral load genotype 1: a multicenter national study in Japan. **Hepatology Int.** 2009;3(3):468-479.*
3. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, Nakagawa M, Korenaga M, Hino K, Hige S, Ito Y, Mita E, Tanaka E, Mochida S, Murawaki Y, Honda M, Sakai A, Hiasa Y, Nishiguchi S, Koike A, Sakaida I, Imamura M, Ito K, Yano K, Masaki N, Sugauchi F, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. **Nat Genet.** 2009;41(10):1105-9.
4. Michitaka K, Nishiguchi S, Aoyagi Y, Hiasa Y, Tokumoto Y, Onji M; The Japan Etiology of Liver Cirrhosis Study Group. Etiology of liver cirrhosis in Japan: a nationwide survey. **J Gastroenterol.** 2009 Sep 30. [Epub ahead of print]
5. Okanoue T., Itoh Y., Minami M., Hashimoto H., Yasui K., Yotuyanagi H., Takehara T., Kumada T., Tanaka E., Nishiguchi S., Izumi N., Sata M., Onji M., Yamada G., Okita K., and Kumada H. Guidelines for the antiviral therapy of hepatitis C virus carriers with normal serum aminotransferase based on platelet counts. **Hepatology Res.** 2008; 38:27-36. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
6. Omata M., Yoshida H., Toyota J., Tomita E., Nishiguchi S., Hayashi N., Iino S., Makino I., Okita K., Toda G., Tanikawa K., Kumada H., and Japanese C-Viral Hepatitis Network. A large-scale, multicentre, double-blind trial of ursodeoxycholic acid in patients with chronic hepatitis C. **Gut.** 2008;56: 1747-53.
7. Takahara Y., Takahashi M., Zhang Q.W., Wagatsuma H., Mori M., Tamori A., Shiomi S. and Nishiguchi S. Serial changes in expression of functionally clustered genes in progression of liver fibrosis in hepatitis C patients. **World J Gastroenterol.** 2008;7(14), 2010-22.
8. Iwasaki S., Ohira H., Nishiguchi S., Zeniya M., Kaneko S., Onji M., Ishibashi H., Sakaida I., Kuriyama S., Ichida T., Onishi S., Toda G., Study group of intractable liver Diseases for research on a specific disease, health science research grant, ministry of health, labour and welfare of Japan. The

- efficacy of ursodeoxycholic acid and bezafibrate combination therapy for primary biliary cirrhosis: A prospective, multicenter study. **Hepatol Res.** 2008; 38: 557-64. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
9. Hayashi T., Tamori A., Nishikawa M., Morikawa H., Enomoto M., Sakaguchi H., Habu D., Kawada N., Kubo S., Nishiguchi S. and Shiomi S. Differences in molecular alterations of hepatocellular carcinoma between patients with a sustained virological response and those with hepatitis C virus infection. **Liver Int.** 2008;29(1):126-32.
 10. Enomoto M., Tamori A., Kohmoto MT., Hayashi, T., Morikawa H., Jomura H., Sakaguchi H., Habu D., Kawada N., Shiomi S. and Nishiguchi S. Optimal duration of additional therapy after biochemical and virological responses to lamivudine in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B: a randomized trial. **Hepatol Res.** 2008; 20(38):954-9.
 11. Ohfuji S., Fukushima W., Tanaka T., Habu D., Takeda T., Tamori A., Sakaguchi H., Seki S., Kawada M., Nishiguchi S., Shiomi S. and Hirota Y. Does a late evening meal reduce the risk of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C? **Hepatol Res.** 2008;38:860-868.
 12. Kobayashi S., Takeda T., Enomoto M., Tamori A., Kawada N., Habu D., Sakaguchi H., Kuroda T., Kioka K., Kim S R., Kanno T., Ueda T., Fujimoto S., Jomura H., Nishiguchi S., Seki S. Development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C who had a sustained virological response to interferon therapy: a multicenter, retrospective cohort study of 1124 patients. **Liver Intern.** 2007; 27: 186-191.
 13. Hamada T., Sato A., Hirano.T, Yamamoto T., Son G., Onodera M., Torii I., Nishigami T., Tanaka M., Miyajima A., Nishiguchi S., Fujimoto J., and Tujimura T. Oncostain M Gene Therapy Attenuates Liver Damage Induced by Dimethylnitrosamine in Rats. **Am J Pathol** . 2007;171: 872-881.
 14. Enomoto M., Tamori A., Toyama-Kohmoto M., Morikawa H., Habu D., Sakaguchi H., Takeda T., Seki S., Kawada N., Shiomi S and Nishiguchi S. Mutational patterns of hepatitis B virus genome and clinical outcomes after emergence of drug-resistant variants during lamivudine therapy: Analyses of the polymerase gene and full-length sequences. **J. Med. Virol.** 2007;79: 1664-1670.
 15. Iijima H., Moriyasu F., Tuchiya K., Suzuki S., Yoshida M., Shimizu M., Sasaki S., and Nishiguchi S. Decrease in accumulation of ultrasound contrast microbubbles in non-alcoholic steatohepatitis. **Hepatol Res.** 2007;37: 722-730.
 16. Nishiguchi S. A new era in the prevention of hepatocellular carcinoma., **Hepatol Res.** 2007;37: 784-6.
 17. Enomoto M., Tamori A., Kohmoto MT., Hayashi T., Jomura H., Habu D., Sakaguchi H., Takeda T., Kawada N., Seki S., Shiomi S., Koh N. and Nishiguchi S. Lamivudine and IFN-beta sequential therapy in HBe antigen-positive patients with chronic hepatitis B virus genotype C infection. **J**

- Interferon Cytokine Res.** 2007;27: 201-7.
18. Omata M., Yoshida H., Toyota J., Tomita E., Nishiguchi S., Hayashi N., Iino S., Makino I., Okita K., Toda G., Tanikawa K., Kumada H., and Japanese C-Viral Hepatitis Network. A large-scale, multicentre, double-blind trial of ursodeoxycholic acid in patients with chronic hepatitis C. **Gut.** 2007;56: 747-53.
 19. Ohfuji S., Fukushima W., Tanaka T., Habu D., Tamori A., Sakaguchi H., Takeda T., Kawada N., Seki S., Nishiguchi S., Shiomi S. and Hirota Y. Coffee consumption and reduced risk of hepatocellular carcinoma among patients with chronic type C liver disease: A case-control study. **Hepatol Res.** 2006;36: 201-208.
 20. 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. and Mizokami M. Spatial and chronological differences in hepatitis B virus genotypes from patients with acute hepatitis B in Japan. **Hepatol Res.** 2006;36: 107-114. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
 21. Ogata K., Ide T., Kumashiro R., Kumada H., Yotsuyanagi H., Okita K., Akahane Y., Kaneko S., Tsubouchi H., Tanaka E., Moeiwaki H., Nishiguchi S., Kakumu S., Mizokaki M., Iino S., Sata M. Timing of interferon therapy and sources of infection in patients with acute hepatitis C. **Hepatology Res.** 2006;34: 35-40. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
 22. Ikura Y., Ohsawa M., Suekane T., Fukushima H., Itabe H., Jomura H., Nishiguchi S., Inoue T., Naruko T., Ehara S., Kawada N., Arakawa T., Ueda M. Localization of Oxidized phosphatidylcholine in nonalcoholic fatty liver disease: impact on disease progression. **Hepatology.** 2006;43: 506-514.
 23. Enomoto M., Tamori A., Kawada N., Jomura H., Nishiguchi S., Saibara T., Onishi S., Mochida S., Fujiwara K. Interferon- β plus ribavirin for patients with hepatitis C virus genotype 1: a randomised pilot trial. **Gut.** 2006;55: 139-140.
 24. Muto Y., Sato S., Watanabe A., Moriwaki H., Suzuki K., Kato A., Kato M., Nakamura T., Higuchi K., Nishiguchi S., Kumada H., Ohashi Y., for the Long-Term Survival Study (LOTUS) Group. Overweight and obesity increase the risk for liver cancer in patients with liver cirrhosis and long-term oral supplementation with branched-chain amino acid granules inhibits liver carcinogenesis in heavier patients with liver cirrhosis. **Hepatol Res.** 2006;35: 204-214. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
 25. Chang B., Nishikawa M., Nishiguchi S., Inoue M. L-carnitine inhibits hepatocarcinogenesis via protection of mitochondria. **Int J Cancer.** 2005;113: 719-29.

26. Kohmoto M., Enomoto M., Tamori A., Habu D., Takeda T., Kawada N., Sakaguchi H., Seki S., Shiomi S., Nishiguchi S. Quantitative detection of hepatitis B surface antigen by chemiluminescent microparticle immunoassay during lamivudine treatment of chronic hepatitis B virus carriers. **J Med Virol.** 2005;75(2): 235-9.
27. Enomoto M., Nishiguchi S., Kohmoto M., Tamori A., Habu D., Takeda T., Seki S., Shiomi S. Effects of ribavirin combined with interferon- α 2b on viral kinetics during first 12 weeks of treatment in patients with hepatitis C virus genotype 1 and high baseline viral loads. **J. Viral Hepat.** 2005;11: 448-4542.
28. Tamori A., Nishiguchi S., Shiomi S., Hayashi T., Kobayashi S., Habu D., Takeda T., Seki S., Hirohashi K., Tanaka H., Kubo S. Hepatitis B virus DNA integration in hepatocellular carcinoma after interferon-induced disappearance of hepatitis C Virus. **Am. J. Gastroenterol.** 2005;100: 1748-1753.
29. Nishikawa M., Nishiguchi S., Kioka K., Tamori A., Inoue M. Interferon reduces somatic mutation of mitochondrial DNA in liver tissues from chronic viral hepatitis patients. **J. Viral Hepat.** 2005;12: 494-498.
30. Muto Y., Sato S., Watanabe A., Moriwaki H., Suzuki K., Kato A., Kato M., Nakamura T., Higuchi K., Nishiguchi S., Kumada H. Lpng-Term Survival Study Group. Effects of oral Branched-Chain Amino Acid Granules on Event-Free Survival in Patients With Liver Cirrhosis. **Clinical Gastroenterol Hepatol.** 2005;3: 705-713. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
31. Tamori A., Yamanishi Y., Kawashima S., Kaneshima M., Enomoto M., Tanaka H., Kubo S., Shiomi S., Nishiguchi S. Alteration of gene expression in human hepatocellular carcinoma with intergrated hepatitis B virus DNA. **Clin. Cancer Res.** 2005;11: 5821-5826.
32. Yotsuyanagi H., Okuse C., Yasuda K., Orito E., Nishiguchi S., Toyoda J., Tomita E., Hino K., Okita K., Murashima S., Sata M., Hoshino H., Miyakawa Y., Iino S. Japanese Acute Hepatitis B Group. Distinct Geographic Distributions of Hepatitis B Virus Genotypes in Patients With Acute Infection in Japan. **J. Med. Virol.** 2005;77: 39-46. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
33. Enomoto M., Nishiguchi S., Tamori A., Kohmoto M., Habu D., Sakaguchi H., Takeda T., Kawada N., Seki S. Shiomi S. Chemiluminescence enzyme immunoassay for monitoring hepatitis C virus core protein during interferon- α 2b and ribavirin therapy in patients with genotype 1 and high viral loads. **J. Med. Virol.** 2005;77: 77-82.
34. Orito E., Sugauchi F., Tanaka Y., Ichida T., Sata M., Tanaka E., Okanoue T., Sakugawa H., Watanabe H., Miyakawa H., Nishiguchi S., Kumada H., Ueda R., Mizokami M. Differences of hepatocellular carcinoma patients with hepatitis B virus genotypes of Ba, Bj or C in Japan. **Intervirol.** 2005;48: 239-245. (厚生労働省班研究の成果を論文化)

35. Watanabe M., Goto N., Watanabe Y., Nishiguchi S., Shimada K., Yasunga T., Yamanishi H. Evolution of interleukin-18 binding proteins and interleukin-1 receptor, type 2 proteins. **Int. J. Mol. Med.** 2005;15: 561-566.
36. Watanabe A., Matsuzaki S., Moriwaki H., Suzuki K., and Nishiguchi S. Problems in serum albumin measurement and clinical significance of albumin microheterogeneity in cirrhotics. **Nutrition.** 2004;20: 351-357. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
37. Kubo S., Tamori A., Tanaka H., Takemura S., Shuto T., Hirohashi K., Kinoshita H., Nishiguchi S. Polyamine metabolism and recurrence after resection for hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterol.** 2004;51: 208-210.
38. Yoshida H., Tateishi R., Arakawa Y., Sata M., Fujiyama S., Nishiguchi S., Ishibashi H., Yamada G., Yokosuka O., Shiratori Y., and Omata M.¹ Benefit of interferon therapy in hepatocellular carcinoma prevention for individual patients with chronic hepatitis C. **Gut.** 2004;53: 425-430 (厚生労働省班研究の成果を論文化)
39. Habu D., Shiomi S., Tamori A., Takeda T., Tanaka T., Kubo S., Nishiguchi S. Role of vitamin K2 in the development of hepatocellular carcinoma in women with viral cirrhosis of the liver. **JAMA.** 2004;292(3):358-61.
40. Enomoto M., Nishiguchi S., Seki S., Yamane T., Hino M. Adefovir dipivoxil to prevent exacerbation of lamivudine-resistant hepatitis B infection during chemotherapy for non-Hodgkin's lymphoma. **Am J Gastroenterol.** 2004;99: 1619-20.
41. Boxall S., Stanton T., Hirai K., Ward V., Yasui T., Tahara H., Tamori A., Nishiguchi S., Shiomi S., Ishiko O., Inaba M., Nishizawa Y., Dawes R., Bodmer W., Beverley PC., Tchilian EZ. Disease associations and altered immune function in CD45 138G variant carriers. **Hum Mol Genet.** 2004; 13: 2377-84.
42. Enomoto M., Nishiguchi S., Kohmoto M., Tamori A., Habu D., Takeda T., Seki S., Shiomi S. Effects of ribavirin combined with interferon-alpha 2b on viral kinetics during first 12 weeks of treatment in patients with hepatitis C virus genotype 1 and high baseline viral loads. **J Viral Hepat.** 2004;11(5): 448-54.
43. Tamori A., Nishiguchi S., Nishikawa M., Kubo S., Koh N., Hirohashi K., Shiomi S., Inoue M. Correlation between clinical characteristics and mitochondrial D-loop DNA mutations in hepatocellular carcinoma. **J Gastroenterol.** 2004;39: 1063-8.
44. Nishiguchi S., Habu D. Effect of oral supplementation with branched-chain amino acid granules in the early stage of cirrhosis. **Hepatol Res.** 2004; 30S:36-41.
45. Nishiguchi S., Kaneshiro S., Tanaka M., Enomoto M., Akihiro T., Habu D., Takeda T., Fujino K., Tanaka T., Yano Y., and Shiomi S Association of HLA alleles with response (especially

- biochemical response) to interferon therapy in Japanese patients with chronic hepatitis C. **J Interferon Cytokine Res.** 2003;23: 135-141.
46. Habu D., Nishiguchi S., Nakatani S., Kawamura E., Lee C., Enomoto M., Tamori A., Takeda T., Tanaka T., and Shiomi S. Effect of oral supplementation with branched-chain amino acid granules on serum albumin level in the early stage of cirrhosis: a randomized pilot trial. **Hepatol Res.** 2003;25: 312-318.
47. Habu D., Nishiguchi S., Kawamura E., Lee C., Enomoto M., Nakatani S., Tamori A., Sakaguchi H., Takeda T., Seki S., Ogami M., Fukushima W., Tanaka T., Asai H., and Shiomi S. Meshwork pattern is an important risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with HBV-related chronic hepatitis and cirrhosis. **Hepatol Res.** 2003;25:166-173.
48. Kubo S., Nishikawa M., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Tamori A., Kinoshita H., Inoue M., Nishiguchi S. Multicentric occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with a somatic mutation of mitochondrial DNA and hepatitis C virus. **Hepatol Res.** 2003;25(1): 78-82.
49. Kubo S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Takemura S., Yamamoto T., Uenishi T., Kinoshita H., Nishiguchi S. Usefulness of viral concentration measurement by transcription-mediated amplification and hybridization protection as a prognostic factor for recurrence after resection of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. **Hepatol Res.** 2003;25(1):71-77.
50. Nishiguchi S., Habu D., Kubo S., Shiomi S., Tatsumi N., Tamori A., Takeda T., Ogami M., Tanaka T., Hirohashi K., Kinoshita H., Nakatani T. Effects of alanine in patients with advanced primary biliary cirrhosis: preliminary report. **Hepatol Res.** 2003;25(1): 8-13.
51. Tamori A., Nishiguchi S., Kubo S., Enomoto M., Koh N., Takeda T., Shiomi S., Hirohashi K., Kinoshita H., Otani S. Sequencing of human-viral DNA junctions in hepatocellular carcinoma from patients with HCV and occult HBV infection. **J Med Virol.** 2003;69(4): 475-81.
52. Nishiguchi S., Shiomi S., Ishizu H., Iwata Y., Sasaki N., Tamori A., Habu D., Takeda T., and Ochi H. Usefulness of per-rectal portal scintigraphy with technetium-99m pertechnetate for prognosis of primary biliary cirrhosis. **Hepatogastroenterol.** 2003;50:1783-1786.
53. Nishiguchi S., Shiomi S., Kurooka H., Iwata Y., Sasaki N., Tamori A., Habu D., Takeda T., Seki S., and Ochi H. Portal hemodynamics in primary biliary cirrhosis as evaluated by per-rectal portal scintigraphy with Tc-99m pertechnetate. **Hepatogastroenterol.** 2003;50:1535-1538.
54. Nishiguchi S., Fukuda K., Shiomi S., Takeda T., Kuroki T., Ogami M., Morimoto H., Otani S., Sakurai M., and Matsuhisa A. Peripheral blood mononuclear cells are possible extrahepatic replication sites for hepatitis C virus. **Hepatogastroenterol.** 2003;50:1301-1304.
55. Kawamura E., Shiomi S., Ishizu H., Torii K., Kawabe J., Habu D., and Nishiguchi S. Natural

- course of changes in hepatic functional reserve in patients with chronic liver diseases evaluated by scintigraphy with GSA. **Hepato Res.** 2003;27:129-135.
56. Tamori A., Nishiguchi S., Kubo S., Narimatsu T., Habu D., Takeda T., Hirohashi K., and Shiomi S. HBV DNA integration and HBV-transcript expression in non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan. **J Med Virol.** 2003;71:492-498.
57. Habu D., Nishiguchi S., Nakatani S., Kawamura E., Ishizu H., Lee C., Ohfuji S., Fukushima W., Tanaka T., Kawamura T., and Shiomi S. Relationship between branched-chain amino acid to tyrosine ratio (BTR) and porto-systemic shunt in the Child-Pugh grade A cirrhosis determined by per-rectal portal scintigraphy. **Hepato Res.** 2003; 27:57-61.
58. Kohmoto M., Enomoto M., Yano Y., Otani S., Minamitani S., Tamori A., Habu D., Takeda T., Shiomi S., Seki S., Arakawa T., and Nishiguchi S. Detection of serum hepatitis B virus DNA by real-time quantitative polymerase chain reaction (TaqMan PCR) during lamivudine treatment: comparison with three other assays. **Hepato Res.** 2003;26:125-133.
59. Uenishi T., Kubo S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Yamamoto T., and Nishiguchi S. Cytokeratin-19 fragments in serum (CYFRA 21-1) as a marker in primary liver cancer. **Br J Cancer.** 2003; 88:1894-1899.
60. Tamori A., Nishiguchi S., Tanaka M., Kurooka H., Fujimoto S., Nakamura K., and Shiomi S. Lamivudine therapy for hepatitis B virus reactivation in a patient receiving intra-arterial chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma. **Hepato Res.** 2003; 26:77-80.
61. Kubo S., Tsukamoto T., Kawai S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Takemura S., Nishiguchi S., and Kinoshita H. Effects of marker for hepatic fibrosis and viral status on recurrence after resection of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterol.** 2003;50:497-499.
62. Nishiguchi S., Tamori A., Shiomi S., Enomoto M., Tatsumi N., Koh N., Habu D., Sakaguchi H., Takeda T., Seki S., Nakamura K., Kubo S., and Kinoshita H. Cimetidine reduces impairment of cellular immunity after transcatheter arterial embolization in patients with hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterol.** 2003;50:460-462.
63. Tanaka T., Hirota Y., Kuriyama M., Nishiguchi S., and Otani S. Cessation of Long-term Alcohol Administration and Two-day Cycling of Exposure Respectively Promote and Inhibit Hepatocarcinogenesis in Rats. **Asian Pac J Cancer Prev.** 2003;1:325-328.
64. Uenishi T., Kubo S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Yamamoto T., Tamori A., Hai S., Kinoshita H., and Nishiguchi S. Relationship between response to previous interferon therapy and postoperative recurrence of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma.

- Hepatol Res.** 2002;24: 404-412.
65. Nishiguchi S., Habu D., Shiomi S., Montani A., Nakatani S., Takeda T., Seki S., Arakawa T., Matsumura Y., Yamashita Y., Hirakawa K., Ogami M., Nishida N., Asai H., and Suga Y. Sporadic intra-abdominal desmoid with acute abdomen. **Indian J Gastroenterol.** 2002;21: 199-200.
 66. Habu D., Nishiguchi S., Shiomi S., Tamori A., Sakaguchi H., Takeda T., Seki S., Ishibashi C., and Asai H. Portal vein thrombosis following percutaneous ethanol injection therapy for hepatocellular carcinoma. **Indian J Gastroenterol.** 2002;21:162-163.
 67. Nishiguchi S., Tanaka M., Shiomi S., Kaneshiro S., Enomoto M., Fukuda K., Tamori A., Habu D., Takeda T., Tohdoh N., Otani S., and Tatsumi N. Changes in hypervariable region 1 in patients with chronic hepatitis C of genotype 1b with biochemical response to interferon. **Hepatol Res.** 2002;23:237.
 68. Yoshida H., Arakawa Y., Sata M., Nishiguchi S., Yano M., Fujiyama S., Yamada G., Yokosuka O., Shiratori Y., and Omata M. Interferon therapy prolonged life expectancy among chronic hepatitis C patients. **Gastroenterology.** 2002; 123:483-491. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
 69. Nishiguchi S., Enomoto M., Tanaka M., Fukuda K., Tamori A., Habu D., Takeda T., Shiomi S., Tanaka T., Yano Y., and Otani S. Accurate prediction of response to interferon therapy by repeated measurement of hepatitis C virus core protein in patients with chronic hepatitis C. **Intervirology.** 2002;45:105-110.
 70. Ishizu H., Shiomi S., Kawamura E., Iwata Y., Nishiguchi S., Kawabe J., Ochi H. Gastric emptying in patients with chronic liver diseases. **Ann Nucl Med.** 2002;16(3):177-82.
 71. Kubo S., Hirohashi K., Yamazaki O., Matsuyama M., Tanaka H., Horii K., Shuto T., Yamamoto T., Kawai S., Wakasa K., Nishiguchi S., Kinoshita H. Effect of the presence of hepatitis B e antigen on prognosis after liver resection for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B. **World J Surg.** 2002;26(5):555-60. Epub 2002 Feb 19.
 72. Enomoto M., Nishiguchi S. SEN viruses and treatment response in chronic hepatitis C virus. **Lancet.** 2002;18:359(9319), 1780-1.
 73. Enomoto M., Nishiguchi S., Tanaka M., Fukuda K., Ueda T., Tamori A., Habu D., Takeda T., Shiomi S., Yano Y., Otani S. Dynamics of hepatitis C virus monitored by real-time quantitative polymerase chain reaction during first 2 weeks of IFN-beta treatment are predictive of long-term therapeutic response. **J Interferon Cytokine Res.** 2002; 22(3):389-95.
 74. Shiomi S., Nishiguchi S., Kubo S., Tamori A., Habu D., Takeda T., Ochi H. Vitamin K2 (menatetrenone) for bone loss in patients with cirrhosis of the liver. **Am J Gastroenterol.** 2002;97(4): 978-81.
 75. Nishiguchi S., Tamori A., Koh N., Fujimoto S., Takeda T., Shiomi S., Oka H., Yano Y., Otani S.,

- Kuroki T. Erythrocyte-binding polyamine as a tumor growth marker for human hepatocellular carcinoma. **Hepatogastroenterol.** 2002;49(44):504-7.
76. Nishiguchi S., Kubo S., Shiomi S. Bone scintigraphy reveals a solid and papillary epithelial neoplasm of the pancreas. **Am J Roentgenol.** 2002;178(5):1291-2.
77. Kubo S., Nishiguchi S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Kinoshita H. Randomized clinical trial of long-term outcome after resection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma by postoperative interferon therapy. **Br J Surg.** 2002;89(4):418-22.
78. Ishizaki-Koizumi S., Sonaka I., Fujitani S., Nishiguchi S. Mechanisms of the protective effect of L-alanine to D-galactosamine-induced hepatocellular injury: comparative studies of L-alanine and pyruvate. **Biochem Biophys Res Commun.** 2002;291(4):738-43.
79. Enomoto M., Nishiguchi S., Shiomi S., Tanaka M., Yokogawa T., Fukuda K., Ueda T., Tamori A., Habu D., Takeda T., Yano Y., Otani S. Changes in serum levels of hepatitis C virus genotype 1b monitored by real-time quantitative polymerase chain reaction as a predictor of long term response to interferon-alpha treatment. **Am J Gastroenterol.** 2002;97(2):420-6.
80. Nishiguchi S., Shiomi S., Kurooka H., Iwata Y., Sasaki N., Tamori A., Habu D., Takeda T., Kawabe J., Ochi H. Randomized trial assessing gastric emptying in patients with chronic hepatitis C during interferon- α or β therapy and effect of cisapride. **Dig Dis Sci.** 2002;47(1): 73-8.
81. Shiomi S., Nishiguchi S., Kurooka H., Tamori A., Habu D., Takeda T., Ochi H. Cyclical etidronate for treatment of osteopenia in patients with cirrhosis of the liver. **Hepatol Res.** 2002;22(2):102-106.
82. Nishiguchi S., Enomoto M., Shiomi S., Obata N., Tanaka M., Fukuda K., Tamori A., Habu D., Takeda T., Tanaka T., Yano Y., Otani S. GB virus C and TT virus infections in Japanese patients with autoimmune hepatitis. **J Med Virol.** 2002;66(2): 258-62.
83. Kubo S., Nishiguchi S., Hirohashi K., Tanaka H., Tsukamoto T., Shuto T., Takemura S., Yamamoto T., Ikebe T., Wakasa K., Shiomi S., and Kinoshita H. Influence of previous interferon therapy on recurrence after resection of hepatitis c virus-related hepatocellular carcinoma. **Jpn J Cancer Res.** 2001;92: 59-66.
84. Koh N., Fujimori T., Nishiguchi S., Tamori A., Shiomi S., Nakatani T., Sugimura K., Kishimoto T., Kinoshita S., Kuroki T., and Nabeshima Y. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney. **Biochem Biophys Res Commun.** 2001;280:1015-1020.
85. Kubo S., Nishiguchi S., Hamba H., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Kinoshita H., and Kuroki T. Reactivation of viral replication after liver resection in patients infected with hepatitis B virus. **Ann Surg.** 2001;233:139-145.
86. Nishiguchi S., Ueda T., Itoh T., Enomoto M., Tanaka M., Tatsumi N., Fukuda K., Tamori A., Habu

- D., Takeda T., Otani S., and Shiomi S. Method to detect substitutions in the interferon-sensitivity-determining region of hepatitis C virus 1b for prediction of response to interferon therapy. **Hepatology**. 2001;33:241-247.
87. Fukuda K., Tsuchihara K., Hijikata M., Nishiguchi S., Kuroki T., and Shimotohno K. Hepatitis C virus core protein enhances the activation of the transcription factor, Elk1, in response to mitogenic stimuli. **Hepatology**. 2001;33:159-165.
88. Kubo S., Tamori A., Ohba K., Shuto T., Yamamoto T., Tanaka H., Nishiguchi S., Wakasa K., Hirohashi K., and Kinoshita H. Previous or occult hepatitis B virus infection in hepatitis C virus-associated hepatocellular carcinoma without hepatic fibrosis. **Dig Dis Sci**. 2001;46:2408-2414.
89. Nishiguchi S., Shimoi S., Kurooka H., Tamori A., Habu D., Takeda T., and Kubo S. Randomized pilot trial of vitamin K2 for bone loss in patients with primary biliary cirrhosis. **J Hepatol**. 2001;35:543-545.
90. Nishiguchi S., Shiomi S., Enomoto M., Lee C., Jomura H., Tamori A., Habu D., Takeda T., Yanagihara N., and Shiraki K. Does ascorbic acid prevent retinopathy during interferon therapy in patients with chronic hepatitis C? **J Gastroenterol**. 2001;36:486-491.
91. Shiomi S., Nishiguchi S., Ishizu H., Iwata Y., Sasaki N., Tamori A., Habu D., Takeda T., Kubo S., and Ochi H. Usefulness of positron emission tomography with fluorine-18-fluorodeoxyglucose for predicting outcome in patients with hepatocellular carcinoma. **Am J Gastroenterol**. 2001;96:1877-1880.
92. Kubo S., Nishiguchi S., Hirohashi K., Tanaka H., Shuto T., Yamazaki O., Shiomi S., Tamori A., Oka H., Igawa S., Kuroki T., and Kinoshita H. Effects of long-term postoperative interferon-alpha therapy on intrahepatic recurrence after resection of hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. A randomized, controlled trial. **Ann Intern Med**. 2001;134:963-7.
93. Moriyama Y., Nishiguchi S., Tamori A., Koh N., Yano Y., Kubo S., Hirohashi K., and Otani S. Tumor-suppressor effect of interferon regulatory factor-1 in human hepatocellular carcinoma. **Clin Cancer Res**. 2001;7:1293-8.
94. Nishikawa M., Nishiguchi S., Shiomi S., Tamori A., Koh N., Takeda T., Kubo S., Hirohashi K., Kinoshita H., Sato E., and Inoue M. Somatic mutation of mitochondrial DNA in cancerous and noncancerous liver tissue in individuals with hepatocellular carcinoma. **Cancer Res**. 2001;61:1843-1845.
95. Nishiguchi S., Shiomi S., Nakatani S., Takeda T., Fukuda K., Tamori A., Habu D., and Tanaka T. Prevention of hepatocellular carcinoma in patients with chronic active hepatitis C and cirrhosis. **Lancet**. 2001;357:196-197

96. Morikawa H., Hachiya K., Mizuhara H., Fujiwara H., Nishiguchi S., Shiomi S., Kuroki T., and Kaneda K. Sublobular veins as the main site of lymphocyte adhesion/transmigration and adhesion molecule expression in the porto-sinusoidal-hepatic venous system during concanavalin A-induced hepatitis in mice. **Hepatology**. 2000;31:83-94.
97. Nishiguchi S., Enomoto M., Shiomi S., Tanaka M., Fukuda K., Tamori A., Tanaka T., Takeda T., Seki S., Yano Y., Otani S., and Kuroki T. TT virus infection in patients with chronic liver disease of unknown etiology. **J Med Virol**. 2000;62:392-398.
98. Seki S., Sakaguchi H., Kitada T., Tamori A., Takeda T., Kawada N., Habu D., Nakatani K., Nishiguchi S., and Shiomi S. Outcomes of dysplastic nodules in human cirrhotic liver: a clinicopathological study. **Clin Cancer Res**. 2000;6: 3469-3473.
99. Shiratori Y., Imazeki F., Moriyama M., Yano M., Arakawa Y., Yokosuka O., Kuroki T., Nishiguchi S., Sata M., Yamada G., Fujiyama S., Yoshida H., and Omata M. Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. **Ann Intern Med**. 2000;132:517-524. (厚生労働省班研究の成果を論文化)
100. Kubo S., Hirohashi K., Tanaka H., Tsukamoto T., Shuto T., Yamamoto T., Ikebe T., Wakasa K., Nishiguchi S., and Kinoshita H. Effect of viral status on recurrence after liver resection for patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. **Cancer**. 2000;88:1016-1024

平成 21 年度 肝炎等克服緊急対策研究事業 成果概要

研究課題：日本人の細胞に由来する iPS 細胞からの誘導ヒト肝細胞を用いたキメラマウス肝炎モデル開発とその前臨床応用

課題番号：H21-肝炎-一般-008

研究代表者：池田一雄

I. 研究の意義

- (1) 日本人の iPS 細胞から分化させたヒト肝細胞を uPA/SCID マウスに移植したモデルにより、日本人肝細胞における感染肝炎ウイルスのサイクルの解明やウイルス感染に関わる宿主要因を検討できる。
- (2) そのための iPS 細胞から高効率に肝芽様細胞を分化する技術が確立されていない。
- (3) また、uPA/SCID マウスの肝臓に移植した未熟ヒト肝細胞が、成熟ヒト肝細胞に分化するか明らかにされていない。
- (4) 日本人の iPS 細胞から分化させたヒト肝細胞を利用して、in vivo より簡便に効率良く、肝炎の感染実験が可能な in vitro モデルを作成することも肝炎研究の推進に大きな貢献をするものと考えられる。

II. 研究の目的、期待される成果

肝炎モデル開発のため、日本人 iPS 細胞由来ヒト肝細胞を有するキメラマウスを作製する。そのため、

- (1) uPA/SCID マウスに生着可能な iPS 細胞由来肝芽細胞様細胞、肝細胞様細胞分化誘導技術を確立する。
- (2) 種々の年齢のドナー肝細胞を uPA/SCID マウスに移植し、年齢と共に発現量が変化することが知られている薬物代謝酵素のヒト肝細胞キメラマウス肝臓中の mRNA 発現量を測定し、uPA/SCID マウスの肝臓において未熟肝細胞が成熟肝細胞に分化するかどうか調べる。
- (3) iPS 細胞由来ヒト肝細胞を利用した肝炎ウイルスの感染実験が可能な in vitro 系の開発。これは、簡便な抗肝炎ウイルス剤のスクリーニング系として高い利用価値が期待される。
- (4) Alb promoter-uPA マウス胚盤胞へヒト iPS 細胞注入によるヒト肝臓キメラマウス作製

III. 1 年間の研究成果

・研究代表者

- (1) ヒト iPS 細胞の長期安定培養の確立
- (2) レトロウイルス産生細胞を用いたヒト細胞 iPS 化技術確立

(3) ヒト iPS 細胞からの肝芽細胞様細胞への分化誘導

・研究分担者(吉里勝利)

(1) ヒト iPS 細胞由来ヒト肝細胞を利用した肝炎ウイルスの感染実験が可能な in vitro モデル系の開発。(3次元コラーゲン線維格子体の中で肝細胞を長期培養すること及びこの培養体に血流に似せた送液を行ない新鮮な栄養物と酸素を常時供給することである。)

(2) Alb promoter-uPA マウス胚盤胞へのヒト iPS 細胞注入によるヒト肝臓キメラマウスの作製のための予備実験開始

・研究分担者(立野知世)

(1) 成長の過程で発現量に変化するヒト薬物代謝酵素 9 種の遺伝子発現解析により移植された未熟な若年ドナー肝細胞はマウス肝臓内に生着・増殖する過程で成熟することが判明。このことから、iPS 細胞から分化させたヒト肝細胞が未熟であった場合でも、uPA/SCID マウスに移植することにより成熟ヒト肝細胞に分化する可能性が高い。

・研究分担者(寺岡弘文)

(1) マウス iPS 細胞から肝芽細胞様細胞の分化誘導に成功

(2) センダイウイルスベクターを用いたヒト線維芽細胞の iPS 化に着手

・研究分担者(河田則文)

(1) マウス iPS 細胞の長期安定培養の確立

(2) マウス iPS 細胞から肝細胞様細胞の分化誘導

・研究分担者(田中靖人)

(1) HCV および HBV の感染実験のため、それぞれの感染源の準備完了

・研究分担者(中西真)

(1) レンチウイルスを用いたマウス iPS 細胞への遺伝子導入技術の確立

(2) マウス iPS 細胞を用いた細胞周期関連遺伝子のプロモーター領域におけるエピジェネティック修飾の解析技術の確立

(3) レンチウイルスを用いたヒト細胞 iPS 化技術の確立

IV. 22~23 年度の課題

(1) ヒト iPS 細胞からの高効率な肝芽細胞様細胞の分化誘導

(2) ヒト iPS 細胞由来肝芽様細胞の uPA/SCID マウス肝臓内での分化・増幅

(3) ヒト iPS 細胞由来ヒト肝細胞を利用した肝炎ウイルスの感染実験が可能な in vitro モデル系の開発。(3次元ナノフロー培養系)

(4) Alb promoter-uPA マウス胚盤胞へのヒト iPS 細胞注入によるヒト肝臓キメラマウスの作製のための予備実験

(5) iPS 細胞の分子レベルでの解析 (iPS 化に伴うエピジェネティック制御機構、老化細

胞からの iPS 化技術開発、肝細胞分化過程におけるエピジェネティック修飾変化の解析
および遺伝子発現パターンの解析)

V. 行政施策への貢献の可能性

- (1) このモデル動物を開発して大量生産ラインが確立できれば、人種間のジェノタイプ別の感染・複製効率、インターフェロン感受性、の差異が解決でき、日本人肝疾患、特にウイルス性肝疾患の宿主要因での病態解明、診断法や治療薬の開発が容易となる。
- (2) iPS 化に伴う細胞記憶のリプログラミングの本体を理解することは、細胞 iPS 化効率を向上させるのみならず、移植後のガン化防止法の確立にも貢献すると考えられる。

VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等) (関連深いもの)

- (1) Yoshizato K, Tateno C. In vivo modeling of human liver for pharmacological study using humanized mouse. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2009. In press.
- (2) Yoshizato K, Tateno C. A human hepatocyte-bearing mouse: An animal model to predict drug metabolism and effectiveness in humans. PPAR Research; 2009: Article ID 476217, 11 pages doi:10.1155/2009/476217
- (3) Nakanishi, M. Katsuno, Y., Niida, H., Murakami, H., and Shimada, M. Regulation of origin firing program in mammals through Chk1-cyclin A/Cdk1 axis. Chromosomal Res. in press
- (4) Katsuno, Y., Suzuki, A., Sugimura, K., Okumura, K., Zineldeen, D.H., Shimada, M., Niida, H., Mizuno, T., Hanaoka, F., and Nakanishi, M. Cyclin A-Cdk1 regulates the origin firing program in mammalian cells. Proc. Natl. Acad. Sci. 2009;106, 3184-3189.
- (5) Higashiyama R, Moro T, Nakao S, Mikami K, Fukumitsu H, Ueda Y, Ikeda K, Adachi E, Bou-Gharios G, Okazaki I, Inagaki Y. Negligible contribution of bone marrow-derived cells to collagen production during hepatic fibrogenesis in mice. Gastroenterology. 2009;137(4):1459-66.

Ⅶ. Ⅲ (1年間の研究成果)の概要図等

