

## ○研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

平成16年3月：大阪大学薬学部 卒業

平成18年3月：大阪大学大学院薬学研究科 修士課程修了

平成20年3月：大阪大学大学院薬学研究科 博士後期課程中退

平成20年4月～現在：医薬基盤研究所基盤的研究部・プロジェクト研究員  
この間、

平成17年4月～平成20年3月：医薬基盤研究所基盤的研究部・研修生

平成18年4月～平成20年3月：日本学術振興会特別研究員(DC1)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)、主な研究課題

研究代表者は、大阪大学在学中、眞弓忠範教授、中川晋作教授、堤康央博士（医薬基盤研 プロジェクトリーダー）のご指導の下、『フェージ表面提示法を利用した迅速かつ簡便なアンタゴニスト創出法を開発し、世界で初めて腫瘍壊死因子のアンタゴニスト構造変異体の創出に成功する等の成果を挙げている。医薬基盤研究所研修生時代より、山西弘一理事長、堤康央プロジェクトリーダーのご指導の下、プロテオーム技術を用いた疾患関連蛋白質の探索研究に従事し、

### ・これまでの研究実績

下記を含め、過去5年間に42報の論文を公表済み（印刷中を含む）である。また過去5年間で、国内学会15回、国際学会6回を発表している。（更に共同研究者として50件以上発表している。）

#### 【発表論文】

1. Kayamuro H.#, **Abe Y.#** (#equal contributor), Yoshioka Y., Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Kawai Y., Mayumi T., Hiroi T., Itoh N., Nagano K., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Mutant TNF-alpha, mTNF-K90R, is a novel mucosal vaccine adjuvant candidate against HIV., Pharmazie., in press.
2. Nomura T.#, **Abe Y.#** (#equal contributor), Kamada H., Inoue M., Kawara T., Arita S., Furuya T., Minowa K., Yoshioka Y., Shibata H., Kayamuro H., Yamashita T., Nagano K., Yoshikawa T., Mukai Y., Nakagawa S., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Creation of an improved mutant TNF with TNFR1-selectivity and antagonistic activity by phage display technology., Pharmazie, in press.
3. **Abe Y.**, Tsunoda S., Tsutsumi Y. : PEGylated tumor necrosis factor-alpha and its muteins., Biodrug Delivery Systems, in press.
4. **Abe Y.**, Nomura T., Kayamuro H., Yoshioka Y., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Creation and X-ray structural analysis of TNFR1-selective mutant TNF with antagonistic activity., Clin. Proteomics, 5S-1, 207-S207, 2009
5. **Abe Y. : Development of novel DDS technologies for optimized protein therapy by creating functional mutant proteins with antagonistic activity., Yakugaku Zasshi, 129(8):933-939, 2009.**

6. Mukai Y., Shibata H., Nakamura T., Yoshioka Y., **Abe Y.**, Nomura T., Taniai M., Ohta T., Ikemizu S., Nakagawa S., Tsunoda S., Kamada H., Yamagata Y., Tsutsumi Y. : Structure-function relationship of tumor necrosis factor (TNF) and its receptor interaction based on 3D structural analysis of a fully active TNFR1-selective TNF mutant., *J. Mol. Biol.*, 385:1221-1229, 2009.
7. **Abe Y.**, Kayamuro H., Yoshioka Y., Arita S., Katayama K., Kamada H., Nomura T., Itoh N., Yoshikawa T., Nagano K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : *Mast cells are required for interleukin-18 dependent mucosal immune responses.*, *Cytokine*, 48S(1-22): 111, 2009.
8. Yoshikawa T., Sugita T., Mukai Y., **Abe Y.**, Nakagawa S., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : The augmentation of intracellular delivery of peptide therapeutics by artificial protein transduction domains., *Biomaterials*, 30(19):3318-23, 2009.
9. Kayamuro H., Yoshioka Y., **Abe Y.**, Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Hiroi T., Itoh N., Kawai Y., Mayumi T., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : *TNF superfamily member, TL1A, is a potential mucosal vaccine adjuvant.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 384(3):296-300, 2009.
10. Kayamuro H., **Abe Y.**, Yoshioka Y., Katayama K., Yoshida T., Yamashita K., Yoshikawa T., Hiroi T., Itoh N., Kawai Y., Kamada H., Nagano K., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : *The use of a mutant TNF-alpha as a vaccine adjuvant for the induction of mucosal immune responses.*, *Biomaterials.*, 29:5869-76, 2009.
11. Nomura T., **Abe Y.**, Kamada H., Inoue M., Kawara T., Arita S., Furuya T., Yoshioka Y., Shibata H., Kayamuro H., Yamashita T., Nagano K., Yoshikawa T., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : *Novel protein engineering strategy for creating highly receptor-selective mutant TNFs.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 30;388(4):667-71, 2009.
12. Shibata H., Yoshioka Y., **Abe Y.**, Ohkawa A., Nomura T., Minowa K., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Tsunoda S., Kamada H., Tsutsumi Y. : The treatment of established murine collagen-induced arthritis with a TNFR1-selective antagonistic mutant TNF., *Biomaterials*, 30(34):6638-6647, 2009.
13. Shibata H., Yoshioka Y., Ohkawa A., Minowa K., Mukai Y., **Abe Y.**, Taniai M., Nomura T., Kayamuro H., Nabeshi H., Sugita T., Imai S., Nagano K., Yoshikawa T., Fujita T., Nakagawa S., Yamamoto A., Ohta T., Hayakawa T., Mayumi T., Vandeenabeele P., Aggarwal BB., Nakamura T., Yamagata Y., Tsunoda S., Kamada H., Tsutsumi Y. : Creation and X-ray structure analysis of the tumor necrosis factor receptor-1-selective mutant of a tumor necrosis factor-alpha antagonist., *J. Biol. Chem.*, 283:998-1007, 2008.
14. **Abe Y.**, Yoshikawa T., Kamada H., Shibata H., Nomura T., Minowa K., Kayamuro H., Katayama K., Miyoshi H., Mukai Y., Yoshioka Y., Nakagawa S., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Simple and highly sensitive assay system for TNFR2-mediated soluble- and transmembrane-TNF activity., *J. Immunol. Methods.*, 335(1-2):71-8, 2008.
15. Yoshikawa T., Sugita T., Mukai Y., Yamanada N., Nagano K., Nabeshi H., Yoshioka Y., Nakagawa S., **Abe Y.**, Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Organelle-targeted delivery of biological macromolecules using the protein transduction domain: Potential applications for peptide aptamer delivery into the nucleus., *J. Mol. Biol.*, 380(5):777-782, 2008.
16. Shibata H., Yoshioka Y., Ohkawa A., **Abe Y.**, Nomura T., Mukai Y., Nakagawa S., Taniai M., Ohta T., Mayumi T., Kamada H., Tsutsumi Y. : The therapeutic effect of TNFR1-selective antagonistic mutant TNF- $\alpha$  in murine hepatitis models., *Cytokine*, 44(2):229-233, 2008.
17. Mukai Y., Shibata H., Nakamura T., Yoshioka Y., **Abe Y.**, Nomura T., Taniai M., Ohta T., Ikemizu S., Nakagawa S., Tsunoda S., Kamada H., Yamagata Y., Tsutsumi Y. : Structure-function relationship of tumor necrosis factor (TNF) and its receptor interaction based on 3D structural analysis of a fully active TNFR1-selective TNF mutant., *J. Mol. Biol.*, 385:1221-1229, 2009.
18. Kamada H., Okamoto T., Kawamura M., Shibata H., **Abe Y.**, Ohkawa A., Nomura T., Sato M., Mukai Y., Sugita T., Imai S., Nagano K., Tsutsumi Y., Nakagawa S., Mayumi T., Tsunoda S. : Creation of novel cell-penetrating peptides for intracellular drug delivery using systematic phage display technology originated from Tat transduction domain., *Biol. Pharm. Bull.*,

30(2):218-223, 2007.

19. Shibata H., Kamada H., Nishibata K., Yoshioka Y., Nishibata T., **Abe Y.**, Nomura T., Nabeshi H., Minowa K., Mukai Y., Nakagawa S., Mayumi T., Tsunoda S., Tsutsumi Y. : Role of amino acid residue 90 in bioactivity and receptor binding capacity of tumor necrosis factor mutants., BBA-Proteins and Proteomics., 1774(8):1029-1035, 2007.
20. Nomura T., Kawamura M., Shibata H., **Abe Y.**, Ohkawa A., Mukai Y., Sugita T., Imai S., Nagano K., Okamoto T., Tsutsumi Y., Kamada H., Nakagawa S., Tsunoda S. : Creation of novel cell penetrating peptide, using random 18mer peptides library., Pharmazie, 62(8):569-573, 2007.
21. **Abe Y.**, Shibata H., Kamada H., Tsunoda S., Tsutsumi Y., Nakagawa S. : Promotion of optimized protein therapy by bioconjugation as a polymeric DDS., Anticancer Agents Med Chem., 6(3):251-8; 2006

#### 【国際学会発表】

1. **Abe Y.**, Kayamuro H, Yoshioka Y, Arita S, Katayama K, Kamada H, Nomura T, Itoh N, Yoshikawa T, Nagano K, Tsunoda S, Tsutsumi Y, Mast cells are required for interleukin-18 dependent mucosal immune responses. 2009 Annual Meeting of the Society for Leukocyte Biology, International Cytokine Society, & International Society for Interferon and Cytokine Research (Tri-Society), 18-21 October, 2009, Lisbon Portugal.
2. **Abe Y.**, Nomura T, Kayamuro H, Yoshioka Y, Kamada H, Tsunoda S, Tsutsumi Y : Creation and X-ray structural analysis of TNFR1-selective mutant TNF with antagonistic activity. HUPO 8th Annual World Congress, Toronto 2009, 26-30 September, 2009, Toronto Canada.
3. **Abe Y.**, Kayamuro H, Yoshioka Y, Katayama K, Nomura T, Hiroi T, Tsunoda S, Tsutsumi Y : Evaluation of efficacy of mutant TNF as a mucosal vaccine adjuvant against HIV-1 and influenza virus. 12th International TNF Conference, 26-29 April, 2009, Madrid Spain.
4. **Abe Y.**, Shibata H, Nomura T, Kayamuro H, Yoshikawa T, Yoshioka Y, Nakagawa S, Kamada H, Tsunoda S, Tsutsumi Y: Evaluation of safety and efficacy of TNFR1-selective antagonistic mutant TNF as a novel anti-inflammatory drug. Society of Toxicology 48th Annual Meeting & ToxExpo, 15-19 March, 2009, Baltimore, USA.

#### 【国内学会発表】

1. **阿部康弘**、鎌田春彦、角田慎一、堤 康央:アンタゴニスト活性を有したTNFR1指向性変異体の新規自己免疫疾患治療薬としての有用性評価、第59回日本薬学会近畿支部総会・大会、平成21年10月、大阪(日本薬学会近畿支部奨励賞 受賞講演)
2. **阿部康弘**、吉川友章、鍋師裕美、松山恵吾、近藤小百合、長野一也、吉岡靖雄、今澤孝喜、角田慎一、堤 康央:ナノマテリアルの安全確保に向けて-3 ナノマテリアルの細胞内動態と遺伝毒性、第98回日本食品衛生学会学術講演会、平成21年10月、北海道
3. **阿部康弘**、萱室裕之、吉岡靖雄、形山和史、野村鉄也、廣井隆親、角田慎一、堤 康央:生物学的DDSによる活性増強型TNF変異体の創出とその粘膜ワクチンアジュバントとしての有用性評価、第25回DDS学会、平成21年7月、東京(ベストポスター賞受賞)
4. **阿部康弘**、角田慎一、堤 康央:創薬プロテオミクス研究を有効活用したバイオ創薬、Cphi Japan 2009、平成21年4月、東京(招待講演)

#### 【受賞歴】

1. **阿部康弘**:日本薬学会近畿支部奨励賞、アンタゴニスト活性を有したTNFR1指向性変異体の新規自己免疫疾患治療薬としての有用性評価。2009年1月。
2. **阿部康弘**:日本DDS学会ベストポスター賞、生物学的DDSによる活性増強型TNF変異体の創出とその粘膜ワクチンアジュバントとしての有用性評価。2009年7月。

## 2 年目研究課題

## 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：肝癌早期発見を目的とした分子マーカーおよび画像診断システムの開発

課題番号：H20-肝炎一般-001

研究代表者：有井 滋樹

## I. 研究の意義

慢性肝疾患は我が国の国民病ともいえ、その最大の死因は肝癌である。以下を明らかにすることにより、より早期かつ精緻な肝癌診療体系が構築可能となり、国民の福祉に寄与する。

- 1) 早期肝癌の診断アルゴリズムが確立していない。新規に導入された画像診断（肝細胞性造影剤による MRI、造影超音波など）のデータを集積、解析してこれを解決する。
- 2) 早期診断、予後予測にかかわる分子マーカー、遺伝子マーカーを開発する。
- 3) 非侵襲的悪性度診断を開発する。
- 4) 慢性肝障害患者の発癌予測法を開発する。
- 5) 新規分子標的治療の開発に展開させる。

## II. 研究の目的、期待される成果

上記により肝癌の早期診断、悪性度診断を確立し、肝癌診療の向上を図ることが主たる目的である。期待される成果は以下のとおりである。1) 早期診断アルゴリズムの確立、2) 病態、悪性度に応じた適切な治療体系の確立、3) 発症予測診断から予防医療への展開 4) 分子標的治療開発への展開

## III. 2 年間の研究成果

当初の計画(300 症例)を上回る症例数(約 630 例)が登録された。紙面の制約上、班員個々の成果の詳細は割愛する。

## 【分子マーカーによる早期発見システムの開発】

- 1) 文献的に報告のある分子マーカー候補 (Glypican, TGF  $\beta$ -1, VEGF など) を測定し、治療前後の値などを解析したが、有用な分子マーカーとは成りえないと判定した。
- 2) 従来法より高感度な AFP L3 分画の有用性、とくに AFP 低濃度症例の解析、早期腫瘍進展の判定に貢献する可能性が示された。
- 3) 早期肝癌で過剰発現する Bmi-1、CAP2 を同定した。悪性度判定の分子マーカーとして腫瘍における CK19 発現の意義が明らかになりつつある一腫瘍生検による高発現例では RFA 後の予後不良との結果を得た。

## 【早期画像診断システムの開発】

- 1) EOB 造影 MRI, 造影超音波が微小な肝細胞癌の検出に優れることが明らかになった。
- 2) EOB 造影 MRI が多段階発癌を鋭敏に描出する可能性が示された。
- 3) EOB-MRI, 造影超音波が境界病変・早期肝細胞癌の検出に優れていることが明らかになった。
- 4) EOB-MRI, 造影超音波による高度異型結節と早期肝細胞癌の鑑別についてはさらなる検討が必要であると考えられた。

## 【新規悪性度診断・予後予測・発癌予測法の開発】

- 1) 造影超音波による血管相とクッパー相を相補的に解析すること、また血管相の microflow imaging の解析により非侵襲的悪性度判定の可能性が推察された。
- 2) 肝細胞膜トランスポーター OATP-8 が高度異型結節から早期肝癌の過程で消失することを見出した。
- 3) 生検標本による CK19 高発現症例が予後不良であり、悪性度判定・予後予測に有用との知見が得られた。
- 4) 比較的早期と考えられる肉眼的門脈侵襲のない切除標本を用いた網羅的遺伝子発現解析の結果、癌部から 6 遺伝子を、非癌部から 7 遺伝子を抽出することにより 1 年以内再発を予測することができた。癌部抽出遺伝子セットによる感度、特異度は各々 81.8%, 84.0%, 非癌部抽出遺伝子セットでは 90.9%, 96.0%であった。これらは臨床因子、病理因子による予測を凌駕した。AUC は臨床因子 0.89, 病理因子 0.60, 癌部抽出遺伝子セット 0.93, 非癌部抽出遺伝子セット 0.98 であった。とりわけ非癌部から抽出された遺伝子セットが最も予測能力が高く、これは慢性肝炎患者の肝生検による発癌予測に繋がる知見でもある。

## 【Tissue microarray の作成】

切除標本の癌部、非癌部より 178 症例の Tissue microarray を作成した。これにより効率よく免疫染色の解析などが可能となった。178 症例の CK19 染色を行ない 22 症例が陽性であった。

## 【分子標的治療への展開】

門脈侵襲に関与する遺伝子として細胞分裂キナーゼ aurora kinase B を同定し、その阻害剤が肝腫瘍増殖抑制に有効であることを動物実験モデルにて明らかにした。また、血管新生因子を標的とした分子イメージングを展開した。

## IV. 22年度の課題

全体研究としての症例集積は完了した。本年度は再発、生命予後を中心にフォローし、以下の各項目において詳細な解析を行い、すでに得られた知見の検証作業を行う。各班員の個別研究は紙面の制約上割愛する。

## 【分子マーカーによる早期診断システムの開発】

- 1) 治療後の早期再発予測、治療効果判定、早期診断における高感度L3分画の意義を明らかにする。
- 2) 早期肝癌マーカーとしてのBmi-1、CAP2の意義、悪性度判定の分子マーカーとしてのCK19の意義を予後調査から明らかにする。

## 【早期画像診断システムの開発】

- 1) 早期肝癌に対する画像診断のコンセンサスを確立する。
- 2) 高度異型結節と早期肝癌の鑑別についての総合的診断法を構築する。
- 3) 早期肝癌診断を含めた肝癌診断アルゴリズムの再構築を行う。

## 【新規悪性度診断・予後予測・発癌予測法の開発】

- 1) 造影超音波、EOB造影MRI、MRI拡散強調画像による悪性度診断を構築する。
- 2) 登録切除症例のCK19発現と生命予後、再発の関連性を明らかにし、CK19のバイオマーカーの意義を明らかにする。
- 3) 網羅的遺伝子発現解析から得られた遺伝子セットの登録症例切除標本における発現レベルを解析し、生命予後・再発予測における意義を検証する。また、非腫瘍性遺伝子セットの解析で有意な結果が得られたならば慢性肝障害患者の肝生検プロジェクトを立ち上げ、発癌予測診断へと展開させる。

## 【分子標的治療への展開】

新規分子標的治療への展開および分子標的治療の診断イメージングの開発を行う。

## V. 行政施策への貢献の可能性

- 1) 肝癌診療ガイドラインにおける肝癌診断アルゴリズムのより適正な策定が可能となる。
- 2) 精緻な悪性度診断などが構築されることにより適切な治療法選択、肝癌治療アルゴリズムの策定が可能となる。
- 3) 慢性肝炎・肝硬変患者の肝生検からの発癌診断の可能性がある。
- 4) 新規分子標的治療へと展開する可能性がある。

## VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)

研究代表者：有井 滋樹

1. Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Kudo A, Kurokawa T, Nakamura N, Inazawa J, Tanaka H, Arai S. Surgical contribution to recurrence-free survival in patients with macrovascular invasion-negative hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg*, 2009;208:368-374
2. Mahmut Y, Mizushima H, Mogushi K, Obulhasim G, Miyaguchi K, Inoue K, Nakahara I, Ohta T, Aihara A, Tanaka S, Arai S, Tanaka H. Expression of Aurora B and their alternative variant forms in hepatocellular carcinoma and the adjacent tissue. *Cancer Sci*, 2009;100:472-480
3. Gen Y, Yasui K, Zen K, Nakajima T, Tsuji K, Endo M, Mitsuyosi H, Minami M, Itoh Y, Tanaka S, Taniwaki M, Arai S, Okanoue T, Yoshikawa T. A novel amplification target, ARHGAP5, promotes cell spreading and migration by negatively regulating Rho A in Huh-7 hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett*, 2009;275:27-34
4. Zen K, Yasui K, Nakajima T, Zen Y, Zen K, Gen Y, Mitsuyosi H, Mimami M, Mitsufuji S, Tanaka S, Itoh Y, Nakanuma Y, Taniwaki M, Arai S, Okanoue T, Yoshikawa T. ERK5 is a target for gene amplification at 17p11 and promotes cell growth in hepatocellular carcinoma by regulating mitotic entry. *Genes Chromosomes Cancer*, 2009;48:109-120
5. Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, Arai S, Imoto I, Inazawa J. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*. in press
6. Aihara A, Tanaka S, Yasen M, Matsumura S, Mitsunori Y, Murakata A, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Arai S. The selective Aurora B kinase inhibitor AZD1152 as a novel treatment for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. in press
7. Tanaka S, Arai S. Medical treatments: in association or alone, their role and their future perspectives: Novel molecular-targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. in press
8. Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Miki Y, Inazawa J, Tanaka H, Arai S. Gene-expression phenotypes for vascular invasiveness of hepatocellular carcinomas. *Surgey*. in press
9. Tanaka S, Arai S, Yasen M, Mogushi K, Su N-T, Zhao C, Imoto I, Eishi Y, Inazawa J, Miki Y, Tanaka H. Aurora kinase B is a predictive factor for aggressive recurrence of hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy. *Br J Surg*, 2008;95:611-619
10. Yasui K, et al. CREB3L4, INTS3 and SNAPAP are targets for the 1q21 amplicon frequently detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 2008;180:30-36
11. Nakajima T, Yasui K, Keika Z, Inagaki Y, Fujii H, Minami M, Tanaka S, Taniwaki M, Itoh Y, Arai S, Inazawa J, Okanoue T. Activation of B-Myb by E2F1 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology Res*, 2008;38:886-895
12. Inagaki Y, Yasui K, Endo M, Nakajima T, Zen K, Tsuji K, Minami M, Tanaka S, Taniwaki M, Itoh Y, Arai S, Okanoue T. CREB3L4, INTS3, and SNAPAP are targets for the 1q21 amplicon frequently detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*, 2008;180:30-36
13. Kaneda M, Zhang D, Bhattacharjee R, Nakahama KI, Arai S, Morita I. Vitamin K(2) suppresses malignancy of Huh 7 hepatoma cells via inhibition of connexin 43. *Cancer Lett*, 2008;8:761-772
14. Eguchi S, Kanematsu T, Arai S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Ikai I, Kudo M, Kojiro M, Makuuchi M, Monden M, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Takayasu K. The Liver Cancer Study Group of Japan. Comparison of the outcomes between an anatomical resection and a non-anatomical minor hepatectomy for single hepatocellular carcinomas based on a Japanese nationwide survey. *Surgey*, 2008;143:469-475
15. Takamatsu S, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Kawamura T, Teramoto K, Igari T, Arai S. Influence of risk factors for metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease on the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepato gastroenterology*, 2008;55:609-614

研究分担者：松井 修

1. Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Nakashima Y, Ikeno H, Orito N, Matsui O. The March of Extrahepatic Collaterals: Analysis of Blood Supply to hepatocellular carcinoma located in the bare area of the liver after chemoembolization. *Cardiovasc Intervent*

**Radiol**, in press

2. Mizukoshi E, Nakamoto Y, Arai K, Yamashita T, Mukaida N, Matsushima K, Matsui O, Kaneko S. Enhancement of tumor-specific T cell responses by transcatheter arterial embolization with dendritic cell infusion for hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*; in press
3. Kitao A, Zen Y, Matsui O, Gabata T, Nakanuma Y. Hepatocarcinogenesis; multistep changes of drainage vessels at CT during arterial portography and hepatic arteriography--radiologic-pathologic correlation. *Radiology*, 2009 ;252(2):605-14
4. Ryu Y, Matsui O, Zen Y, Ueda K, Abo H, Nakanuma Y, Gabata T. Multicystic biliary hamartoma: imaging findings in four cases. *Abdom Imaging*, in press
5. Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Aburano H, Shigenari N, Morinaga K, Matsui O. Anastomosis between the hepatic artery and the extrahepatic collateral or between extrahepatic collaterals: observation on angiography. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2009 ;3(3):271-82.
6. Okuda M, Miyayama S, Yamashiro M, Yoshie Y, Sugimori N, Igarashi S, Nakashima Y, Sanada T, Kosaka S, Toya D, Matsui O. Sloughing of intraductal tumor thrombus of hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization. *Cardiovasc Intervent Radiol*, in press
7. Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Sugimori N, Igarashi S, Nakashima Y, Matsui O. Hepatocellular carcinoma supplied by the right lumbar artery. *Cardiovasc Intervent Radiol*, in press
8. Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Sanada J, Koda W, Minami T, Ryu Y. Radiological and histopathological manifestations of hepatocellular nodular lesions concomitant with various congenital and acquired hepatic hemodynamic abnormalities. *Jpn J Radiol*, 2009 ;27(2):53-68
9. Matsui O, Gabata T, Kobayashi S. Optimal imaging of hepatic mass lesions. *J Gastroenterol Hepatol*, 2008;23(10):1466-8
10. Miyayama S, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Sugimori N, Igarashi S, Nakashima Y, Matsui O. Usefulness of cone-beam computed tomography during ultraselective transcatheter arterial chemoembolization for small hepatocellular carcinomas that cannot be demonstrated on angiography. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2009 ;32(2):255-64
11. Miyayama S, Mitsui T, Zen Y, Sudo Y, Yamashiro M, Okuda M, Yoshie Y, Sanada T, Notsumata K, Tanaka N, Matsui O. Histopathological findings after ultraselective transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*, 2009;39(4):374-81
12. 小林 聡, 松井 修, 蒲田敏文, 眞田順一郎, 香田 渉, 南 哲弥, 龍 泰治: 動注CTを中心とした肝細胞性結節性病変の悪性度診断 (肝血流動態イメージ研究会シンポジウム記録集) 肝癌の組織学的分化度診断と生物学的悪性度の予知 森安史典監修 メディカルトリビューン、東京、2008
13. 南麻紀子, 松井 修: 肝癌の多段階発癌のCTHA/CTAPによる描出. 肝胆膵画像11(1): 11-16, 2009
14. 南 哲弥, 小林 聡, 香田 渉, 龍 泰治, 小坂一斗, 南麻紀子, 眞田順一郎, 蒲田敏文, 松井 修: 早期肝癌の診断におけるCTHA/CTAPの意義. 肝癌診療ガイドラインにおける位置づけ. 肝胆膵画像11(1): 17-23, 2009
15. Miyayama S, Matsui O, Yamashiro M, Ryu Y, Takata H, Takeda T, Aburano H, Shigenari N. Detection of hepatocellular carcinoma by CT during arterial portography using a cone-beam CT technology: comparison with conventional CTAP. *Abdom Imag*, in press
16. Shinmura R, Matsui O, Kadoya M, Kobayashi S, Terayama N, Sanada J, Demachi H, Gabata T. Detection of hypervascular malignant foci in borderline lesions of hepatocellular carcinoma: comparison of dynamic multi-detector row CT, dynamic MR imaging and superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging. *Eur Radiol*, 2008; 18(9):1918-24.
17. Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Sanada J, Koda W, Minami T, Kobayashi T. Hemodynamics of small sclerosing hepatocellular carcinoma without fibrous capsule: evaluation with single-level dynamic CT during hepatic arteriography. *Abdom Imag*, 2008; 33(4):425-7.

研究分担者: 佐田 通夫

1. Ishida Y, Nagamatsu H, Koga H, Yoshida H, Kojiro M, Sata M. Hepatocellular carcinoma with a "nodule-in-nodule" appearance reflecting an unusual dilated pseudoglandular structure. *Intern Med*, 2008; 47(13):1215-8.
2. Sivakumar R, Koga H, Selvendiran K, Maeyama M, Ueno T, Sata M. Autocrine loop for IGF-I receptor signaling in SLUG-mediated epithelial-mesenchymal transition. *International Journal of Oncology* 2009;34:329-338.
3. Maeyama M, Koga H, Selvendiran K, Yanagimoto C, Hanada S, Taniguchi E, Kawaguchi T, Harada M, Ueno T, Sata M. Switching in discoid domain receptor expressions in SLUG-induced epithelial-mesenchymal transition. *Cancer* 2008;113: 2823-2831.
4. Sumie S, Kuromatsu R, Okuda K, Ando E, Takata A, Fukushima N, Watanabe Y, Kojiro M, Sata M. Microvascular invasion in patients with hepatocellular carcinoma and its predictable clinicopathological factors. *Annals of Surgical Oncology* 2008;15:1375-1382

研究分担者: 青柳 豊

1. Kunita S, Ohkoshi S, Yano M, Yamazaki K, Suzuki K, Aoki YH, Matsuda Y, Wakai T, Shirai Y, Ichida T, Aoyagi Y. Progression of hypermethylation of the p16 (ink4a) gene from normal liver to nontumorous liver and hepatocellular carcinoma: An evaluation using quantitative PCR analysis. *Dig Dis Sci*, 2009; 54(1):80-8.
2. Tamura Y, Yamagiwa S, Aoki Y, Kunita S, Suda T, Ohkoshi S, Nomoto M, Aoyagi Y. Serum alpha-fetoprotein levels during and after interferon therapy and the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci*, 2009;54(11)2530-7

研究分担者: 田中博 研代表者の項参照

研究分担者: 森安 史典

1. Liu GJ, Xu HX, Xie XY, Xu ZF, Zheng YL, Liang JY, Lu MD, Moriyasu F. Does the echogenicity of focal liver lesions on baseline gray-scale ultrasound interfere with the diagnostic performance of contrast-enhanced ultrasound? *Eur Radiol* 2009;19(5):1214-1222.
2. Sugimoto K, Shiraishi J, Moriyasu F, Doi K. Computer-aided diagnosis of focal liver lesions by use of physicians' subjective classification of echogenic patterns in baseline and contrast-enhanced ultrasonography. *Acad Radiol*, 2009;16(4): 401-411,
3. Moriyasu F, Itoh K. Efficacy of perflubutane microbubble-enhanced ultrasound in the characterization and detection of focal liver lesions: phase 3 multicenter clinical trial. *AJR Am J Roentgenol*, 2009;193(1): 86-95.
4. Sugimoto K, Shiraishi J, Moriyasu F, Saito K, Doi K. Improved detection of hepatic metastases with contrast-enhanced low mechanical-index pulse inversion ultrasonography during the liver-specific phase of sonazoid: observer performance study with JAFROC analysis. *Acad Radiol*, 2009;16(7): 798-809.
5. Saito K, Sugimoto K, Nishio R, Araki Y, Moriyasu F, Kakizaki D, Tokuyue K. Perfusion study of liver lesions with superparamagnetic iron oxide: distinguishing hepatocellular carcinoma from focal nodular hyperplasia. *Clin Imaging*, 2009;33(6): 447-53.
6. Liu GJ, Moriyasu F, Hirokawa T, Rexiati M, Yamada M, Imai Y. Optical microscopic findings of the behavior of perflubutane microbubbles outside and inside Kupffer cells during diagnostic ultrasound examination. *Invest Radiol*, 2008;43:829-36
7. Shiraishi J, Sugimoto K, Moriyasu F, Kamiyama N, Doi K. Computer-aided diagnosis for the classification of focal liver lesions by use of contrast-enhanced ultrasonography. *Med Phys*, 2008;35:1734-46.
8. Sugimoto K, Moriyasu F, Kamiyama N, Metoki R, Yamada M, Imai Y, Iijima H. Analysis of morphological vascular changes of hepatocellular carcinoma by microflow imaging using contrast-enhanced sonography. *Hepatol Res*, 2008;37:790-9.
9. 脇英彦, 東浦晶子, 山平正浩, 肥塚明日香, 柴田陽子, 橋本眞里子, 吉川昌平, 池田直人, 西口修平, 佐々木俊一, 森安史典, 飯島尋子. 【ソナゾイドを用いた肝腫瘍の造影超音波検査】 Sonazoidによる肝動脈、門脈、肝静脈、肝実質のTime Intensity

Curveの検討. *Rad Fan*, 2008;6:1738-1749

研究分担者: 川崎誠治

1. Konishi N, Ishizaki Y, Sugo H, Yoshimoto J, Miwa K, Kawasaki S Impact of a left lobe graft without modulation of portal flow in adult-to-adult living donor liver transplantation. *Am J Transpl*. 2008, Jan 8(1):170-174.
2. Ishizaki Y, Kawasaki S. The evolution of liver transplantation for hepatocellular carcinoma (past, present, and future). *J Gastroenterol*. 2008, 43(1):18-26.
3. Shibata N, Shimazaki H, Sano N, Kawasaki S, Arai H. Psychiatric and psychological outcomes of Japanese living donors following liver transplantation. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2009 ;63(4): 583-5.
4. Omori S, Ishizaki Y, Sugo H, Yoshimoto J, Imamura H, Yamataka A, Kawasaki S. Direct measurement of hepatic blood flow during living donor liver transplantation in children. *J Pediatr Surg*, in press
5. Makino Y, Shimanuki Y, Fujiwara N, Morio Y, Sato K, Yoshimoto J, Gunji Y, Suzuki T, Sasaki S, Iwase A, Kawasaki S, Takahashi K, Seyama K. Peritoneovenous shunting for intractable chylous ascites complicated with lymphangioliomyomatosis. *Intern Med*, 2008, 47: 281-285.
6. 石崎陽一, 川崎誠治. 消化器癌 診断・治療のすべて: 肝細胞癌 治療の実際. *消化器外科*. 2009, 32(5); 830-837.

研究分担者: 泉 並木

1. 泉並木, 佐藤光明, 土谷薫. 早期肝細胞癌の診断にE0B・プリモビストをいかに用いるか. *日獨医報* 2009;54,174-183.
2. Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M Yasui Y, Komatsu N, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Enomoto N, Tasaka M, Sakamoto N, Miyake S. Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulatos involving innate immunity in antiviral response. *Gastroenterology*, 2008;134(5):1396-405.
3. Kurosaki M, Matsunaga K, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Umeda N, Hosokawa T, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Itakura J, Asahina Y, Miyake S, Enomoto N, Izumi N. The presence of steatosis and elevation of alanine aminotransferase levels are associated with fibrosis progression in chronic hepatitis C with non-response to interferon therapy. *J Hepatol*, 2008; 48(5):736-42.

研究分担者: 高山 忠利

1. Yamazaki S, Takayama T, Watanabe Y, Oikawa T, Hayashi Y, Kochi M, Moriguchi M, Higaki T, Inoue K. Imaging modality of three-dimensional CT in caudate cholangioma: assessment for respectability. *Hepato-Gastroenterology*. 2007; 54: 397-399.
2. Yamamoto J, Kosuge T, Saiura A, Sakamoto Y, Shimada K, Sano T, Takayama T, Sugawara Y, Yamaguchi T, Kokudo N, Makuuchi M. Effectiveness of hepatic resection for early-stage hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients: subgroup analysis according to Milan criteria. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2008; 37: 287-295.
3. Yamazaki S, Takayama T. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma: Evidence-based outcomes. *World Journal of Gastroenterology*, 2008; 14: 685-692.
4. Takayama T, Makuuchi M, Kojiro M, Laurwers GY, Adams RB, Wilson SR, Jang HJ, Chamsangavej C, Taouli B. Early hepatocellular carcinoma: pathology, imaging, and therapy. *Annals of Surgical Oncology*, 2008; 15: 972-978.
5. Suzuki, K, Mazaki T, Mannmoto J, Ishii Y, Hideki, AMasuda Hennmi and Takayama T. Hepatic Angiomyolipoma Mimicking Malignancy: A Case Report. *The Nihon University Journal of Medicine*, 2008; 67: 238-241.
6. Sugitani M, Aramaki O, Kikuchi K, Sheikh A, Oinuma T, Mamiya T, Takayama T, Nemoto N. Two cases of Primary Malignant Fibrous Histiocytoma of the Liver: Immunohistochemical Expression of Ezrin and its Relationship with Prognosis. *Acta Histochemica et Cytochemica*, 2008; 43: 83-88

研究分担者: 國土 典宏

1. Xiang CH, Zhang W, Inagaki Y, Zhang KM, Nakano Y, Kokudo N, Sugawara Y, Dong JH, Nakata M, Tang W. Measurement of serum and tissue des-gamma-carboxyprothrombin in resectable hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res*, 2008; 28(4B):2219-24.
2. Inoue Y, Hasegawa K, Ishizawa T, Aoki T, Sano K, Beck Y, Imamura H, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Is there any difference in survival according to the portal tumor thrombectomy method in patients with hepatocellular carcinoma? *Surgery*, 2009; 145(1):9-19.
3. Ishizawa T, Fukushima N, Shibahara J, Masuda K, Tamura S, Aoki T, Hasegawa K, Beck Y, Fukayama M, Kokudo N. Real-time identification of liver cancers by using indocyanine green fluorescent imaging. *Cancer*, 2009; 115(11):2491-504.
4. Ishizawa T, Tamura S, Masuda K, Aoki T, Hasegawa K, Imamura H, Beck Y, Kokudo N. Intraoperative fluorescent cholangiography using indocyanine green: a biliary road map for safe surgery. *J Am Coll Surg*, 2009; 208(1):e1-4.
5. Kokudo N, Makuuchi M. Evidence-based clinical practice guidelines for hepatocellular carcinoma in Japan: the J-HCC guidelines. *J Gastroenterol*, 2009; 44 Suppl 19:119-21.
6. Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, Hasegawa K, Beck Y, Sugawara Y, Makuuchi M, Kokudo N. Significance of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxy prothrombin in patients with hepatocellular carcinoma undergoing hepatectomy. *Ann Surg Oncol*, 2009; 16(10):2795-804
7. Gao FJ, Cui SX, Chen MH, Cheng YN, Sun LR, Ward SG Kokudo N, Tang W, Qu XJ. Des-gamma-carboxy prothrombin increases the expression of angiogenic factors in human hepatocellular carcinoma cells. *Life Sci*, 2008; 83(23-24):815-20.
8. Ma M, Qu XJ, Mu GY, Chen MH, Cheng YN, Kokudo N, Tang W, Cui SX. Vitamin K(2) Inhibits the Growth of Hepatocellular Carcinoma via Decrease of Des-Gamma-Carboxy Prothrombin. *Chemother*, 2009 ;55(1):28-35.
9. Xiang CH, Zhang W, Inagaki Y, Zhang KM, Nakano Y, Kokudo N, Sugawara Y, Dong JH, Nakata M, Tang W. Measurement of serum and tissue des-gamma-carboxyprothrombin in resectable hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2008; 28(4B):2219-24.
10. Hasegawa K, Imamura H, Ijichi M, Matsuyama Y, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Inclusion of tumor markers improves the correlation of the Milan criteria with vascular invasion and tumor cell differentiation in patients with hepatocellular carcinoma undergoing liver resection (#JGSU-D-07-00462). *J Gastrointest Surg*, 2008;12(5):858-66.
11. Makuuchi M, Kokudo N, Arai S, Futagawa S, Kaneko S, Kawasaki S, Matsuyama Y, Okazaki M, Okita K, Omata M, Saida Y, Takayama T, Yamaoka Y. Development of evidence-based clinical guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma in Japan. *Hepatol Res*, 2008; 38(1):37-51.
12. Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M. Surgery or ablation for hepatocellular carcinoma? *Ann Surg* 2008; 247(3):557-8.
13. Hasegawa K, Makuuchi M, Takayama T, Kokudo N, Arai S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Kudo M, Kojiro M, Nakanuma Y, Takayasu K, Monden M, Matsuyama Y, Ikai I. Surgical resection vs. percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma: a preliminary report of the Japanese nationwide survey. *J Hepatol* 2008; 49(4):589-94

研究分担者: 稲澤 謙治

1. Furuta M, Kozaki K, Tanaka S, Arai S, Imoto I, Inazawa J: miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*, in press
2. Arai E, Ushijima S, Gotoh M, Ojima H, Kosuge T, Hosoda F, Shibata T, Kondo T, Yokoi S, Imoto I, Inazawa J, Hirohashi S, Kanai Y. Genome-wide DNA methylation profiles in liver tissue at the precancerous stage and in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*, 2009; 125:2854-62



研究分担者：山本 雅一

1. Seimiya M, Tomonaga T, Matsushita K, Sunaga M, Oh-Ishi M, Kodera Y, Maeda T, Takano S, Togawa A, Yoshitomi H, Otsuka M, Yamamoto M, Nakano M, Miyazaki M, Nomura F. Identification of novel immunohistochemical tumor markers for primary hepatocellular carcinoma; clathrin heavy chain and formiminotransferase cyclodeaminase. *Hepatology*, 2008; 48(2):519-30.
2. Yamamoto M, Ariizumi S, Katagiri S, Kotera Y, Takahashi Y. The value of anatomical liver sectionectomy for patients with a solitary hepatocellular carcinoma from 2 to 5 cm in greatest diameter. *J Surg Oncol.*, 2009; 100 (7): 585-588.
3. Ariizumi S, Yamamoto M, Takasaki K. Right hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with an indocyanine green retention rate at 15 minutes of 10% or higher. *Dig Surg*, 2009;26(2)135-142

研究分担者：飯島 尋子

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. and Nishiguchi, S. Involvement hepatoma-derived growth factor in the growth inhibition of hepatocellular carcinoma cells by vitamin K<sub>2</sub>. *J Gastroenterol*, 2009;44:228-235.
2. Sasaki, S., Iijima, H., Moriyasu, F., Waki, H. Definition of Contrast Enhancement Phases of the Liver Using a Perfluoro-Based Microbubble Agent, Perflubutane Microbubbles. *Ultrasound Med Biol*. 2009 ; 35:1819-1827
3. 田中弘教, 飯島尋子, 齋藤正紀, 會澤信弘, 坂井良行, 吉川昌平, 山本晃久, 榎本平之, 岩田恵典, 康典利, 今西宏安, 下村壯治, 中村秀次, 廣田誠一, 辻村亨, 藤元治朗, 西口修平. Sonazoid 造影超音波による新しい肝癌悪性度分類法の試み. *肝臓*, 2009;50:397-399.
4. Wilson SR, Jang HJ, Kim TK, Iijima H, Kamiyama N, Burns PN. Real-time temporal maximum-intensity-projection imaging of hepatic lesions with
5. Kudo M, Zheng RQ, Kim SR, Okabe Y, Osaki Y, Iijima H, Itani T, Kasugai H, Kanematsu M, Ito K, Usuki N, Shimamatsu K, Kage M, Kojiro M. Diagnostic accuracy of imaging for liver cirrhosis compared to histologically proven liver cirrhosis. *Intervirolgy*, 2008; 51 Suppl 1:17-26.
6. Wilson SR, Kim TK, Iijima H, Kamiyama N, Jang HJ, Burns NP. Real time temporal maximum intensity projection (MIP) imaging of liver lesions using contrast ultrasound. *Am J Roentgenol*, 2008;190(3):691-5

研究分担者：佐賀恒夫

1. Saga T, Koizumi M, Furukawa T, Yoshikawa K, Fujibayashi Y. Molecular imaging of cancer-evaluating characters of individual cancer by PET/SPECT imaging. *Cancer Sci*, 2009; 100:375-381

研究分担者：坂元亨宇

1. Effendi K, Mori T, Komuta M, Masugi Y, Du W, Sakamoto M. Bmi-1 gene is upregulated in early-stage hepatocellular carcinoma and correlates with ATP-binding cassette transporter B1 (ABCB1) expression. *Cancer Sci*, in press.
2. Sakamoto M. Early HCC: diagnosis and molecular markers. *J Gastroenterol*. 2009;44 Suppl 19:108-11. Yamazaki K, Takamura M, Masugi Y, Mori T, Du W, Hibi T, Hiraoka N, Ohta T, Ohki M, Hirohashi S, Sakamoto M. Adenylate cyclase-associated protein 1 overexpressed in pancreatic cancers is involved in cancer cell motility. *Lab Invest*, 2009;89(4):425-32.
3. International Consensus Group for Hepatocellular Neoplasia. Pathologic diagnosis of early hepatocellular carcinoma: a report of the international consensus group for hepatocellular neoplasia. *Hepatology*.2009;49(2):658-64.
4. Sakamoto M, Mori T, Masugi Y, Effendi K, Rie I, Du W. Candidate molecular markers for histological diagnosis of early hepatocellular carcinoma. *Intervirolgy*. 2008;51 Suppl 1:42-5. Review.

特許：坂元亨宇、他2名。血中のCAP2の測定方法、肝臓疾患の検出方法及び血中CAP2測定用検出キット。特願2009-060966、2009

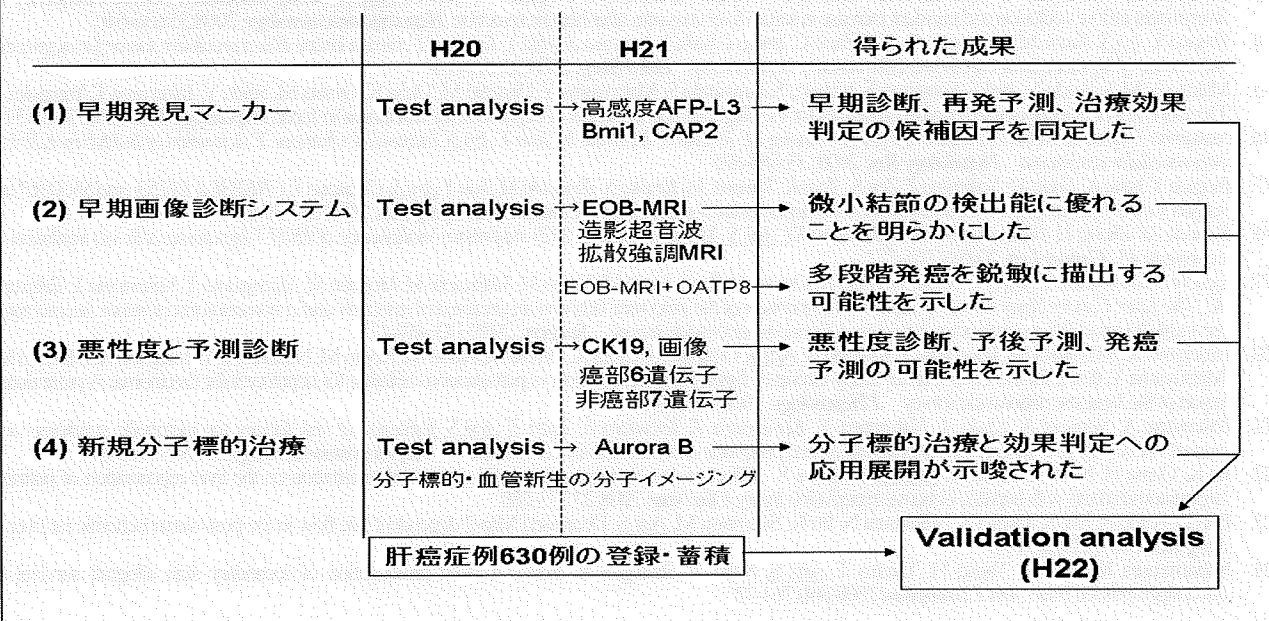
研究分担者：井本逸勢 研究代表者の項参照

研究分担者：田中 真二 研究代表者の項参照

研究課題の実施を通じた政策提言（寄与した指針又はガイドライン等）：科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン 2009年版（有井滋樹・川崎誠治・高山忠利・國土典宏・田中真二 他）

特許：稲澤 譲治、井本 逸勢、有井 滋樹、他2名。マイクロRNAの発現量の変化を指標とする肝細胞癌の検出方法および癌抑制剤/整理番号P09-034/平成21年11月2日

Ⅶ. III (2年間の研究成果)の概要図等



### ・過去に所属した研究機関の履歴

昭和48年 京都大学医学部卒業 同第1外科入局  
 昭和57年8月 京都大学医学部第1外科 助手  
 昭和59年8月 米国ニューヨーク州立ローゼンバークメモリアル研究所留学  
 昭和60年12月 京都大学医学部第1外科 助手  
 平成5年5月 京都大学医学部第1外科 講師  
 平成10年7月 京都大学医学部第1外科 助教授  
 平成12年4月 東京医科歯科大学大学院 分子外科治療学分野 肝胆膵外科 教授  
 平成16年4月 分野の名称が分子外科治療学分野から肝胆膵・総合外科に変更、輸血部長兼任

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

特になし。

### ・主な研究課題

肝胆膵外科 ・ 癌の分子生物学的研究 ・ 肝類洞壁細胞研究

### ・これまでの研究実績

#### 発表業績

1. Gen Y, Yasui K, Zen K, Nakajima T, Tsuji K, Endo M, Mitsuyoshi H, Minami M, Itoh Y, Tanaka S, Taniwaki M, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. A novel amplification target, ARHGAP5, promotes cell spreading and migration by negatively regulating Rho A in Huh-7 hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Letter*. 2009;275:27-34
2. Zen K, Yasui K, Nakajima T, Zen Y, Zen K, Gen Y, Mitsuyoshi H, Mimami M, Mitsufuji S, Tanaka S, Itoh Y, Nakanuma Y, Taniwaki M, Arii S, Okanoue T, Yoshikawa T. ERK5 is a target for gene amplification at 17p11 and promotes cell growth in hepatocellular carcinoma by regulating mitotic entry. *Genes Chromosomes Cancer*. 2009; 48:109-120
3. Mahmut Y, Mizushima H, Mogushi K, Obulhasim G, Miyaguchi K, Inoue K, Nakahara I, Ohta T, Aihara A, Tanaka S, Arii S, Tanaka H. Expression of Aurora B and their alternative variant forms in hepatocellular carcinoma and the adjacent tissue. *Cancer Sci*. 2009;100:472-480
4. Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Kudo A, Kurokawa T, Nakamura N, Inazawa J, Tanaka H, Arii S. Surgical contribution to recurrence-free survival in patients with macrovascular invasion-negative hepatocellular carcinoma. *J Am Coll Surg*. 2009;208:368-374
5. Sui S, Kudo A, Suematsu M, Tanaka S, Nakamura N, Ito K, Arii S. Preservation solutions alter Mrp2-dependent bile flow in cold ischemic rat livers. *J Surg Res*. in press
6. Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, Arii S, Imoto I, Inazawa J. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis*. in press
7. Aihara A, Tanaka S, Yasen M, Matsumura S, Mitsunori Y, Murakata A, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Arii S. The selective Aurora B kinase inhibitor AZD1152 as a novel treatment for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. in press
8. Tanaka S, Arii S. Medical treatments: in association or alone, their role and their future perspectives: Novel molecular-targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. in press
9. Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Miki Y, Inazawa J, Tanaka H, Arii S. Gene-expression phenotypes for vascular invasiveness of hepatocellular carcinomas. *Surgery*. in press
10. Tanaka S, Taira K, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Arii S. Arterial approach for left-sided hepatic resection. *Hepatogastroenterology*. 2008; 55:1767-1763
11. Yasui K, et al. CREB3L4, INTS3 and SNAPAP are targets for the 1q21 amplicon frequently detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 2008;180:30-36
12. Ito K, Ozasa H, Noda Y, Arii S, Horikawa S. Effects of free radical scavenger on acute liver injury induced by D-galactosamine and lipopolysaccharide in rats. *Hepatol Res*. 2008;38:194-201
13. Teramoto K, Kawamura T, Takamatsu S, Nakamura N, Kudo A, Sanada T, Noguchi N, Ban D, Arii S. Strong association between frequency of intermittent inflow occlusion and transient increase in serum liver enzymes after hepatic resection. *Hepatogastroenterology*. 2008;55:636-640
14. Tanaka S, Arii S, Yasen M, Mogushi K, Su N-T, Zhao C, Imoto I, Eishi Y, Inazawa J, Miki Y, Tanaka H. Aurora kinase B is a predictive factor for aggressive recurrence of hepatocellular carcinoma after curative hepatectomy. *Brit J Surg*. 2008;95:611-619
15. Makuuchi M, Kokudo N, Arii S, Futagawa S, Kaneko S, Kawasaki S, Matsuyama Y, Okazaki M, Okita K, Omata M, Saida Y, Takayama T, Yamaoka Y. Development of evidence-based clinical guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma in Japan. *Hepatology Res*. 2008; 38:37-51
16. Nakajima T, Yasui K, Keika Z, Inagaki Y, Fujii H, Minami M, Tanaka S, Taniwaki M, Itoh Y, Arii S, Inazawa J, Okanoue T. Activation of B-Myb by E2F1 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology Res*. 2008; 38:886-895
17. Inagaki Y, Yasui K, Endo M, Nakajima T, Zen K, Tsuji K, Minami M, Tanaka S, Taniwaki M, Itoh Y, Arii S, Okanoue T. CREB3L4, INTS3, and SNAPAP are targets for the 1q21 amplicon frequently detected in hepatocellular carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2008;180:30-36
18. Kaneda M, Zhang D, Bhattacharjee R, Nakahama KI, Arii S, Morita I. Vitamin K(2) suppresses malignancy of HuH 7 hepatoma cells via inhibition of connexin 43. *Cancer Lett*. 2008;8:761-772
19. Eguchi S, Kanematsu T, Arii S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Ikai I, Kudo M, Kojiro M, Makuuchi M, Monden M, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Takayasu K. The Liver Cancer Study Group of Japan. Comparison of the outcomes between an anatomical resection and a non-anatomical minor hepatectomy for single hepatocellular carcinomas based on a Japanese nationwide survey. *Surgery*. 2008;143:469-475
20. Hasegawa K, Makuuchi M, Takayama T, Kokudo N, Arii S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Kudo M, Kojiro M, Nakanuma Y, Takayasu K, Monden M, Matsuyama Y, Ikai I, for the Liver Cancer Study Group of Japan. Surgical resection vs percutaneous ablation for hepatocellular carcinoma: A preliminary report of the Japanese nationwide survey. *J Hepatology*. 2008; 49:589-594
21. Takamatsu S, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Kawamura T, Teramoto K, Igari T, Arii S. Influence of risk factors for metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease on the progression and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology*. 2008;55:609-614
22. Ito K, Ozasa H, Noda Y, Koike Y, Arii S, Horikawa S. Effect of non-essential amino acid glycine administration on the liver regeneration of partially hepatectomized rats with hepatic ischemia/reperfusion injury. *Clin Nutr*. 2008;27:773-780
23. Ban D, Kudo A, Sui S, Tanaka S, Nakamura N, Ito K, Suematsu M, Arii S. Decreased Mrp-2 dependent bile flow in the post-warm ischemic rat liver. *J Surg Res*. 2009;153(2):310-6
24. Minamimura K, Sato K, Yagita H, Tanaka T, Arii S, Maki T. Strategies to induce marked prolongation of secondary skin allograft survival in alloantigen-primed mice. *Am J Transplant*. 2008;8(4):761-72

25. Liu HY, Teramoto K, Kawamura K, Oda K, Ishiwata K, Arai S. Evaluation of tumor growth in vivo in a rat model of liver metastasis, using a newly devised index obtained by positron emission tomography with [18F]FDG. *J Hepatobiliary Pancreas Surg* 2007;14:276-282
26. Tanaka S, Noguchi N, Ochiai T, Kudo A, Nakamura N, Ito K, Kawamura T, Teramoto K, Arai S. Outcome and recurrence of initially respectable hepatocellular carcinoma meeting Milan Criteria: Rationale for partial hepatectomy as first strategy. *J Am Coll Surg*, 2007; 204:1-6
27. Ito K, Ozasa H, Noda Y, Koike Y, Arai S, Horimawa S. Splenic artery ligation improves remnant liver function in partially hepatectomized rats with ischemia/reperfusion injury. *Liver International*, 2007;27:400-407
28. Zhang D, Kaneda M, Nakahama KI, Arai S, Morita I. Connexin 43 expression promotes malignancy of HuH 7 hepatocellular carcinoma cells via the inhibition of cell-cell communication. *Cancer Letter*; 2007;252: 208-215
29. Ikai I, Arai S, Okazaki M, Okita K, Omata M, Kojiro M, Takayasu K, Nakanuma Y, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M, Kudo M. Reports of the 17th Nationwide Follow-up survey of primary liver cancer in Japan. *Hepatol Res*. 37:676-691, 2007
30. Irie T, Asahina K, Teramoto K, Arai S, Teraoka H. Hepatic progenitor cells in the mouse extrahepatic bile duct after a bile duct ligation. *Stem Cells and Development*, 2007;16:979-987
31. Satoh E, Li XK, Hara Y, Ogata K, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima-Fujii N, Satoh T, Miyagi T, Teramoto K, Arai S, Kimura H. Sensitization to enhanced green fluorescence protein minor histocompatibility antigen by gene transduced cells and peritoneal exudate macrophages. *Transpl Immunol*, 2007; 18:73-84
32. Tanaka S, Wands JR, Arai S. Induction of angiotensin-2 gene expression by Cox-2. A novel role for Cox-2 inhibitors during hepatocarcinogenesis. *J Hepatology*, 2006; 44(1):233-5
33. Tanaka S, Pero SC, Taguchi K, Shimada M, Mori M, Krag DN, Arai S. A specific peptide ligand for Grb7 signal transduction protein inhibits invasion and metastasis of pancreatic cancer. *J Natl Cancer Inst*, 2006;98:491-498

### 知的財産権の取得及び申請状況

#### 国際出願

発明の名称：臓器機能維持改善液 出願番号 PCT/JP2006/304269

出願日：平成 18 年 3 月 6 日

出願人：国立大学法人 東京医科歯科大学、株式会社 ミノファーゲン製薬

発明者：工藤 篤、有井 滋樹、和氣健二郎、阪野 功

#### 特許

発明の名称：マイクロ RNA の発現量の変化を指標とする肝細胞癌の検出方法および癌抑制剤

整理番号：P09-034

出願日：平成 21 年 11 月 2 日

出願人：国立大学法人 東京医科歯科大学

発明者：稲澤 譲治、小崎 健一、井本 逸勢、古田 繭子、有井 滋樹

### 研究課題の実施を通じた政策提言 (寄与した指針又はガイドライン等)

科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン 2005 年版

科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン作成に関する研究班/編

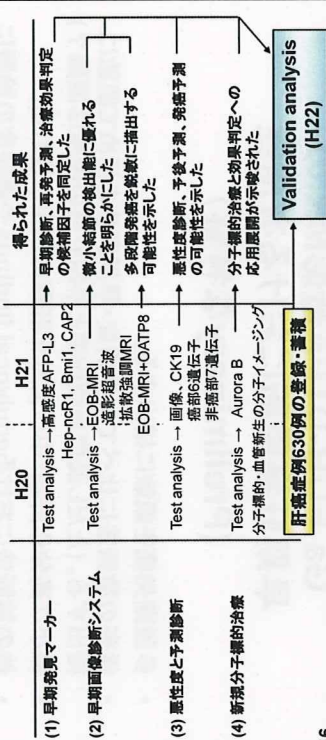
金原出版株式会社、 ISBN 4-307-20200-7

科学的根拠に基づく肝癌診療ガイドライン 2009 年版

日本肝臓学会/編、金原出版株式会社、 ISBN 978-4-307-20273-2

## 肝癌早期発見を目的とした分子マーカーおよび画像診断システムの開発 (H20 - 肝炎 - 一般 - 001)

1. 早期発見に関わる分子マーカーを開発する。
2. 早期診断のための画像診断システムを開発する。
3. 非侵襲的悪性度診断、慢性肝障害患者の発癌予測法を開発する。
4. 新規分子標的治療の開発へと展開させる。



4/16

## 分子マーカーの開発

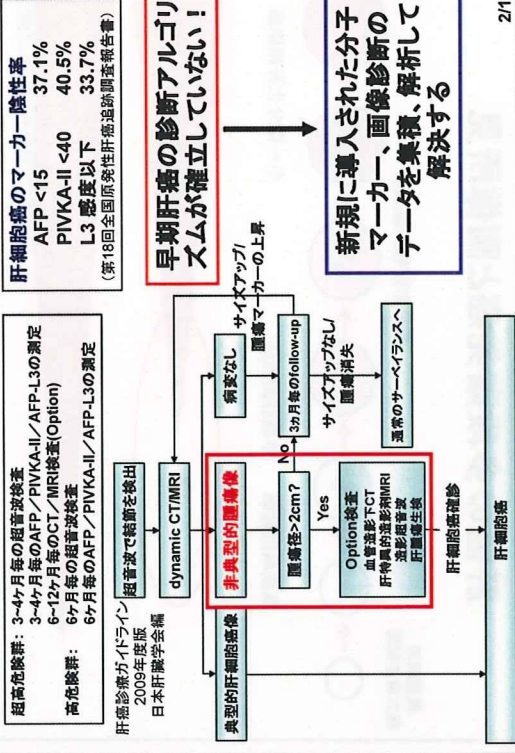
1. Glypican3, VEGF, IGF-2, TGF-β1, Osteopontin, Ang-2  
有用な血清マーカーではないと判定
2. Hep-ncR1, Bmi1, CAP2, OATP8  
癌組織における新たな早期診断マーカーの可能性
3. AFP高感度L3分画

従来の測定法では、186/394例186例が「検出せず」。



3/16

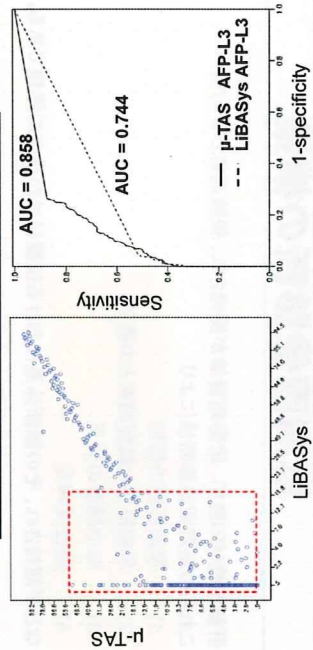
## 「肝癌診療ガイドライン」サーベイランス・診断アルゴリズム



2/16

## 血清高感度AFP-L3分画

肝癌	慢性肝疾患
LIBASys assay L3%, median (range) 1.3 (0.5-94.5)	(n = 295) 0.5 (0.5-16.5)
μ-TAS assay L3%, median (range) 9.2 (0.5-97.0)	(n = 350) 0.5 (0.5-17.3)



4/16

## 早期画像診断の構築

肝細胞性MRI造影、造影超音波が開発され、保険適応となった。

これらの新規画像診断法により

- 1) 早期肝癌の診断
- 2) 早期肝癌と異型結節との鑑別
- 3) 微小結節の発見
- 4) 悪性度判定

などが期待され、その診断体系における位置付けが現在の課題である。

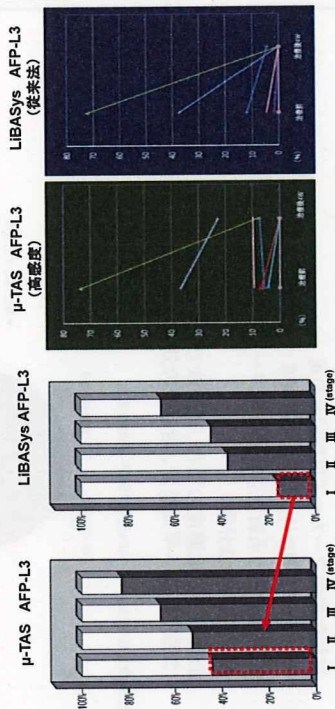
本研究では、両者の画像診断法を中心として多段階発生過程に対応する画像所見を明らかにし、上記1)～4)の診断能の向上を図ることを主たる目的とする。

小結節・乏血性結節の画像所見と生検所見との対比、乏血性結節の経時的観察、切除標本の肉眼所見・病理所見と画像所見の対比などが具体的研究方法である。

6/16

治療前後のL3分画の変化(例)

腫瘍進展度別 AFP-L3陽性率



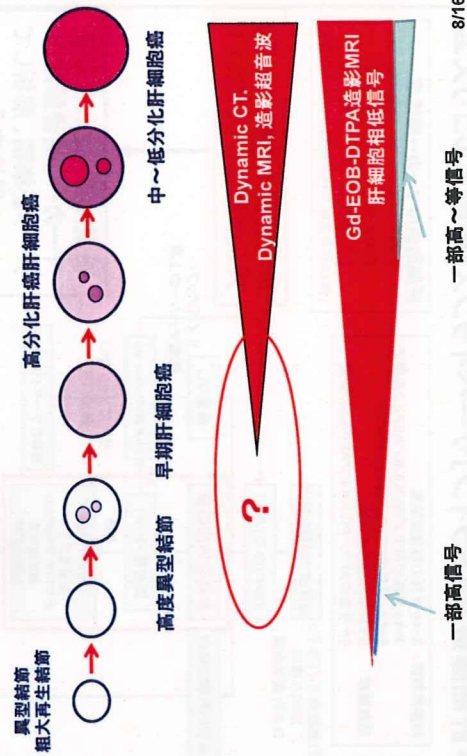
5/16

## Ga-EOB-DTPA造影MRIの 早期肝癌診断における有用性 (Preliminaryな考察)

- 多段階発癌を鋭敏に描出する。
- 従来の診断法に比べて境界病変・早期肝癌を極めて鋭敏に描出する。(ただし高度異型結節と早期肝癌の鑑別は困難?)
- 微小な高分化肝癌・中～低分化肝癌の検出に優れる。
- 他の診断法におけるequivocal findingsや偽病変の診断に優れる
- 問題点:  
肝機能等による診断能の低下  
A-P shuntや炎症・実質性病変などによる偽病変の増加?

7/16

## 肝癌の多段階発癌と画像所見



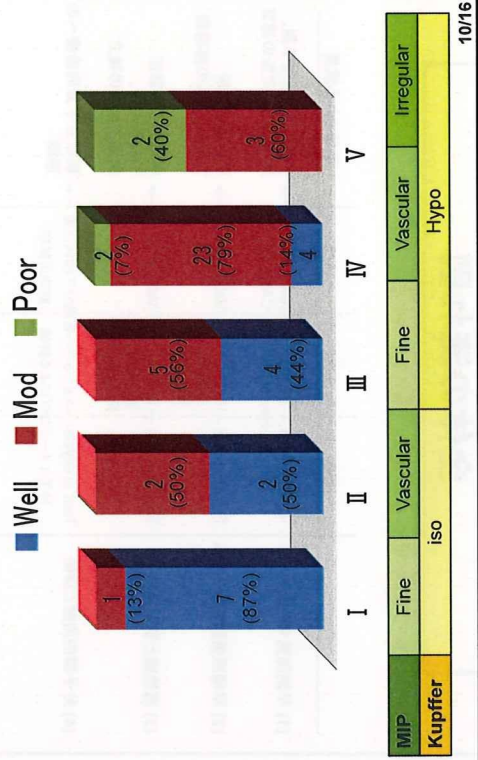
8/16

# 造影超音波による肝癌異常血管の解析



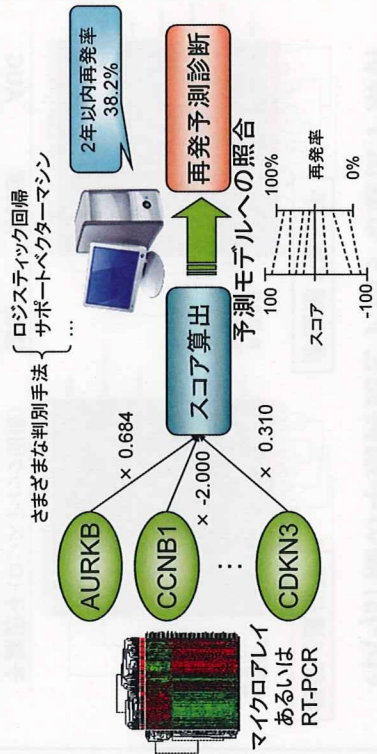
9

# 造影超音波による肝癌悪性度分類



# 再発予知、発癌予知、予後予測に関する遺伝子診断の構築

各遺伝子の発現量をもとに再発リスクのスコアを算出



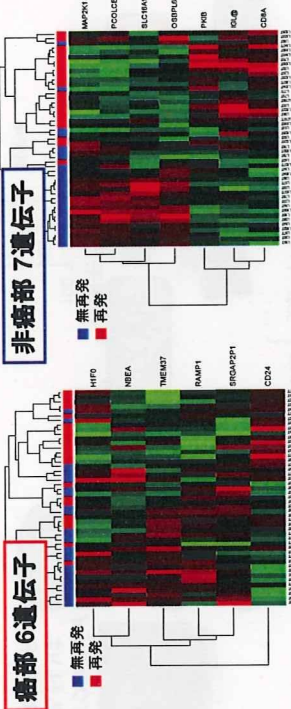
# Vp(-)肝癌の早期再発を予測する臨床病理解析

臨床因子	単変量		p*	多変量		p*		
	ハザード比	95% 下限		95% 上限	ハザード比		95% 下限	95% 上限
Age (year)	1.04	0.14	7.89	0.157	1.05	0.98	1.11	0.162
Sex (M:35/F:12)	1.79	0.05	59.09	0.206	1.04	0.36	2.99	0.947
Child-Pugh (A:40/B:7)	0.56	0.19	1.70	0.288	2.05	0.57	7.44	0.274
ALT	1.00	0.14	7.15	0.646	1.00	0.99	1.02	0.611
Alb	0.20	0.14	0.30	<b>0.002</b>	0.14	0.04	0.54	<b>0.004</b>
HBV (+:13/-:34)	1.18	0.12	12.08	0.727	4.71	1.31	16.97	0.018
HCV (+:22/-:25)	2.90	0.01	856.98	<b>0.016</b>	3.47	1.18	10.19	<b>0.023</b>

病理因子	単変量		p*	多変量		p*		
	ハザード比	95% 下限		95% 上限	ハザード比		95% 下限	95% 上限
Pathological vp (1:32/0:14)	2.20	0.03	164.32	0.080	2.05	0.81	5.17	0.128
最大径 (cm)	1.04	0.14	7.91	0.614	0.99	0.81	1.22	0.942
癌数:34/多発:12	0.57	0.19	1.73	0.236	0.46	0.17	1.28	0.137
肉眼型:SN:27	1.00	-	-	0.724	1.00	-	-	-
SNEG:13	1.31	0.10	17.18	-	1.17	0.42	3.25	0.769
CM:6	0.73	0.17	3.08	-	0.39	0.07	2.07	0.268
AFP (log10値)	1.11	0.13	9.74	0.541	1.15	0.74	1.76	0.538
PIVKA-II (log10値)	1.05	0.13	8.12	0.815	0.90	0.52	1.54	0.690

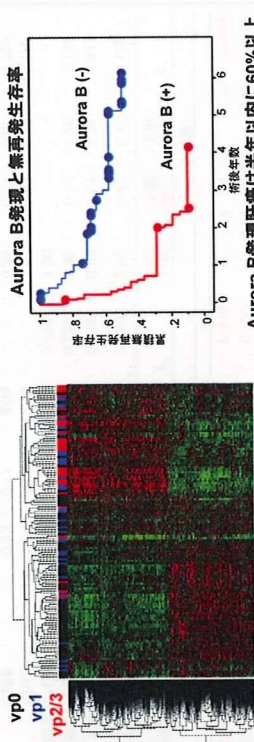
# Vp(-)肝癌の早期再発を予測する遺伝子解析



予測因子 (ロジスティック回帰)	感度	特異度	AUC
臨床因子	81.8%	88.0%	0.893
病理因子	40.9%	79.2%	0.600
癌部6遺伝子	81.8%	84.0%	0.933
非癌部7遺伝子	90.9%	96.0%	0.976

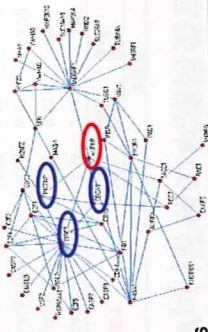
13/16

# 肝癌のVp遺伝子解析と分子標的治療の開発



Aurora B発現と無再発生存率  
Aurora B発現肝癌は半年以内に60%以上、2.5年以内に90%以上が再発する!!

## Network analysis

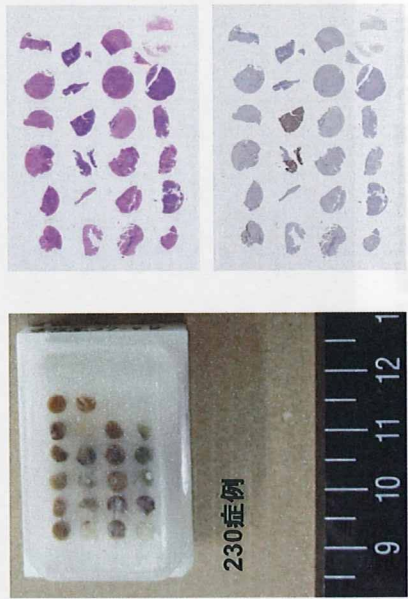


Aurora B特異的阻害剤による前臨床試験



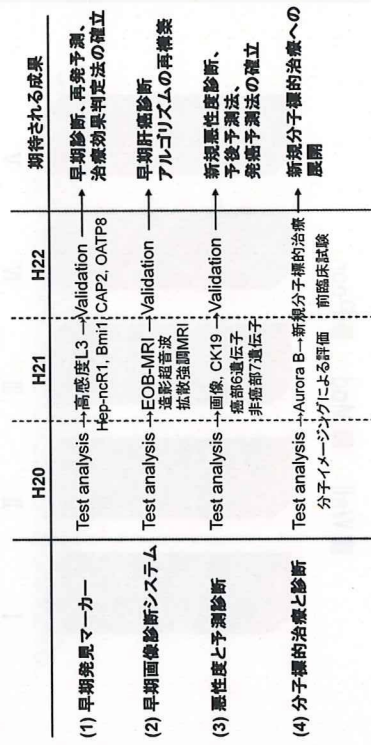
14/16

# Tissue microarray (TMA)



15/16

# 全体の流れ図



16/16

## 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： 癌胎児性抗原を利用した肝がんの超早期診断法と発症予防ワクチンの開発課題番号： H20-肝炎-一般-002研究代表者： 中面 哲也**I. 研究の意義**

- (1) 予後不良の肝がんの治療成績向上のためには、肝がんの超早期診断マーカーの開発や新規治療法さらには予防法の開発が必要である。

**II. 研究の目的、期待される成果**

- (1) 本研究は肝細胞がんの超早期診断法と発症予防ワクチンの開発を目的とする。
- (2) 臨床第I相試験で進行肝細胞がんに対しても有効性を示したGPC3ペプチドを用いて、ワクチンを用いた予防法と免疫細胞療法などの新規治療法の開発を目指すと共に、肝細胞がんの超早期診断法を開発する。
- (3) 我が国に350万人存在するともいわれている肝炎ウイルスキャリアの肝細胞がん発症の抑制と肝細胞がんの治療成績の向上を目指す。
- (4) ヒト iPS 細胞由来の樹状細胞を用いた免疫療法の開発により、iPS 細胞の有用性も社会的に広く認知されうる。

**III. 2年間の研究成果**

- ・研究代表者 (中面哲也)、研究分担者 (木下 平、古瀬純司、池田公史、千住 覚、河島光彦、野村和弘、小井戸薫雄)
- (1) 肝細胞がんの超早期診断法の開発においては、一部の慢性肝炎・肝硬変患者の末梢血中に検出される CTL や様々な血清マーカーが、CT で検出されない超早期のがんを診断している可能性を示し、多くの肝硬変患者をもつ4施設と超早期診断法の有効性を検証する大規模な臨床疫学研究をスタートした。(中面、野村、小井戸)
  - (2) 肝細胞がんのワクチンの開発においては、30例の進行肝細胞がん患者を対象にした臨床第I相試験を完了し、安全性と免疫学的有効性、一定の臨床効果を証明し、現在第II相試験を計画中である。また、手術・ラジオ波の根治的治療後40例の再発予防効果を検証する第II相試験もスタートした。その結果、本研究の4本柱の一つである GPC3 ペプチドワクチンの迅速な創薬化を目指した研究が先端医療開発特区 (スーパー特区) での医療技術実用化総合研究事業にも採択され、製薬企業にも注目されるようになった。(中面、木下、古瀬、池田、河島)
  - (3) CTL 療法の開発では、GPC3 ペプチド特異的 CTL の培養法を確立し、GPC3 ペプチド特異的 CTL 細胞株、さらには GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンを多数樹立して解析を行った。(中面)
  - (4) ES-DC ワクチン及び細胞療法の開発については、ヒト iPS 細胞の作製および iPS 細胞からの樹状細胞への分化誘導技術を確立できた。(千住)



**IV. 22年度の課題**

- (1) 肝細胞がんの超早期診断法の開発においては、大規模な臨床疫学研究等により、我々が提唱する超早期診断法の有効性を検証するとともに、血中循環がん細胞検出技術の臨床的有用性の検討の研究を開始する。
- (2) 肝細胞がんのワクチンの開発においては、手術・ラジオ波による根治的治療後の再発予防ワクチンと進行がんを対象とする治療ワクチンの開発は、新たに採択された医療技術実用化総合研究事業で実施することとし、本研究では、慢性肝炎・肝硬変患者を対象とした予防ワクチンの開発のための臨床試験を計画し実施する。陽子線との併用も検討する。
- (3) CTL療法の開発においては、平成22年5月に国立がんセンター東病院臨床開発センターにCPCが完成予定であり、細胞療法の臨床試験の実施も可能になるため、GPC3ペプチド特異的CTLの効率的な誘導増幅技術の確立を目指す。
- (4) ES-DCワクチン及び細胞療法の開発については、ヒトiPS細胞由来の樹状細胞を用いた免疫療法の有効性をヒト化マウスを用いて検討する。(千住)

**V. 行政施策への貢献の可能性**

- (1) 我が国に350万人存在するともいわれている肝炎ウイルスキャリアの肝細胞がんの発症を抑制する、または遅らせることができる可能性がある。
- (2) 医療費の削減にも大いに貢献できる可能性がある。
- (3) iPS細胞の有用性も社会的に広く認知されうる。

**VI. 本研究の成果(発表論文・ガイドライン・マニュアル等)**

(中面哲也、木下平、野村和弘)

- (1) Saito Y, Oba N, Nishinakagawa S, Mizuguchi Y, Kojima T, Nomura K, Nakatsura T. Identification of  $\beta$ 2-microglobulin as a candidate for early diagnosis of imaging invisible hepatocellular carcinoma in patient with liver cirrhosis. *Oncol. Rep.* 2009 in press.
- (2) Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 100(8):1403-1407, 2009.
- (3) Hayashi E, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Oba N, Nishinakagawa S, Mizuguchi Y, Kojima T, Nomura K, Nakatsura T. Detection of glypican-3-specific CTLs in chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Oncol. Rep.* 22:149-54, 2009.
- (4) Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer. *Int. J. Oncol.* 34:649-656, 2009.
- (5) Motomura Y, Ikuta Y, Kuronuma T, Komori H, Ito M, Tsuchihara M, Tsunoda Y, Shirakawa H, Baba H, Nishimura Y, Kinoshita T, Nakatsura T. HLA-A2 and -A24-restricted Glypican-3-derived peptide vaccine induce Specific CTLs: Preclinical study using mice. *Int. J. Oncol.* 32(5):985-990, 2008.

(古瀬純司)

- (6) Thomas MB, O'Beirne JP, Furuse J, Chan AT, Abou-Alfa G, Johnson P. Systemic Therapy for Hepatocellular Carcinoma: Cytotoxic Chemotherapy, Targeted Therapy and Immunotherapy. *Ann Surg Oncol* 15(4):1008-1014, 2008.
- (7) Furuse J. Growth factors as therapeutic targets in HCC. *Crit Rev Oncol Hematol* 67(1):8-15, 2008.

(池田公史)

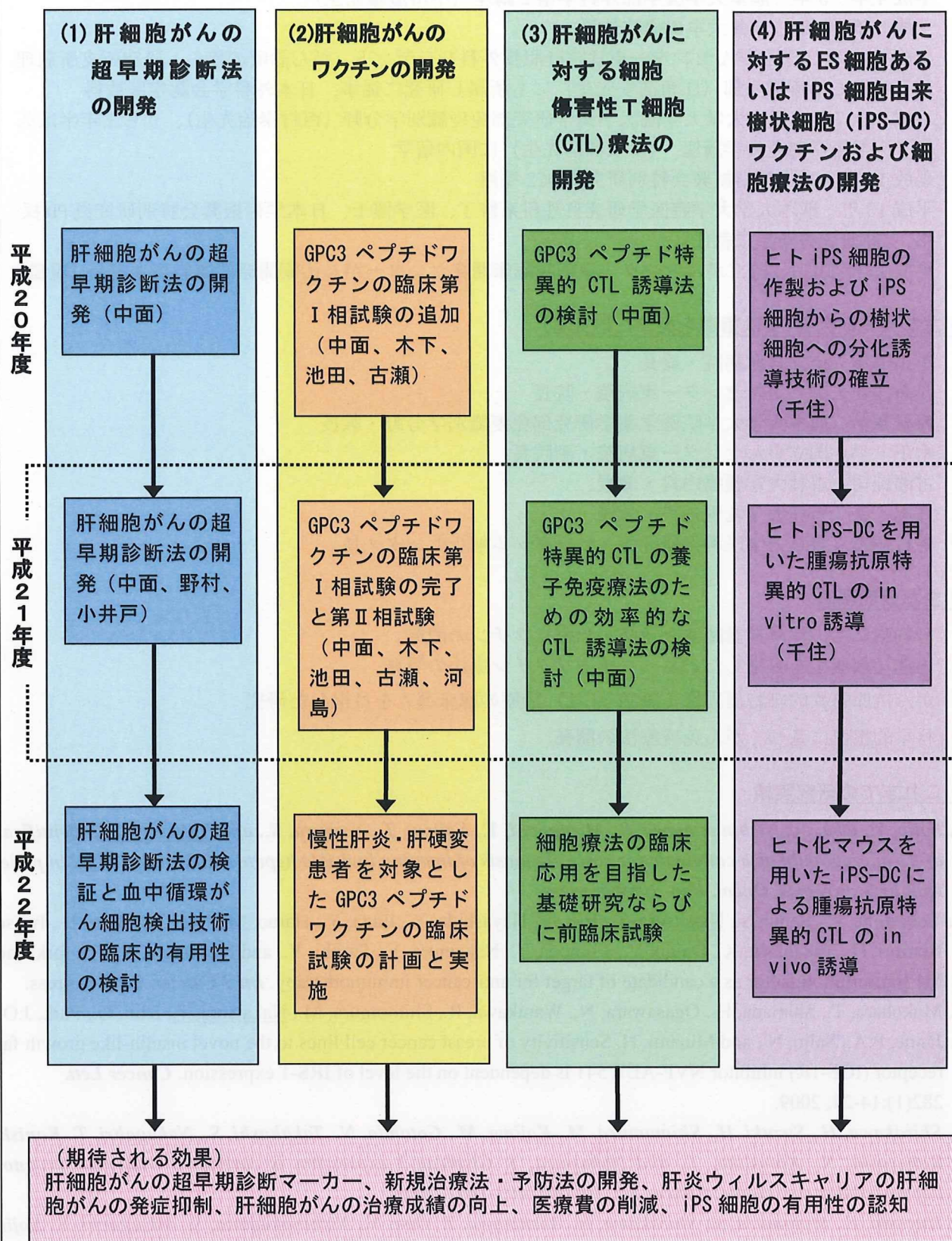
- (8) Ikeda M, Maeda S, Ashihara H, Nagahama H, Tanaka M, Sasaki Y. Transcatheter arterial infusion chemotherapy with cisplatin-lipiodol suspension in patients with hepatocellular carcinoma. *J. Gastroenterol.* 2009 in press.

(千住 覚)

- (9) Senju S, Haruta M, Matsunaga Y, Fukushima S, Ikeda T, Takahashi K, Okita K, Yamanaka S, and Nishimura Y. Characterization of dendritic cells and macrophages generated by directed differentiation from mouse induced pluripotent stem cells. *Stem Cells.* 27:1021-1031, 2009.
- (10) Matsunaga Y, Fukuma D, Hirata H, Fukushima S, Haruta M, Ikeda T, Negishi I, Nishimura Y, and Senju S. Activation of antigen-specific cytotoxic T lymphocytes by  $\beta$ 2-microglobulin or TAP1 gene disruption and the introduction of recipient-matched MHC class I gene in allogeneic ES cell-derived dendritic cells. *J. Immunol.* 181:6635-6643, 2008.

Ⅶ. Ⅲ (2年間の研究成果)の概要図等

癌胎児性抗原を利用した肝がんの超早期診断法と発症予防ワクチンの開発



## ○研究代表者の研究歴等

### ・過去に所属した研究機関の履歴

平成4年-5年 熊本大学医学部外科学第2講座 (小川道雄先生)  
 平成5年-6年 三井大牟田病院外科  
 平成6-9年; 国立がんセンター東病院肝胆膵外科レジデント、がん診療の傍ら、研究所支所病理部及びがん治療開発部 (江角浩安先生) にも所属し研究に従事、日本外科学会認定医取得  
 平成9-17年; 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野 (西村泰治先生)、うち1年半は久留米大学医学部免疫学講座 (伊東恭悟先生) に国内留学  
 平成12年; 日本学術振興会特別研究員DC2採用  
 平成13年; 熊本大学大学院医学研究科外科系修了、医学博士、日本学術振興会特別研究員PD採用、同研究科助手に就任  
 平成17年10月; 国立がんセンター東病院臨床開発センターがん治療開発部機能再生室長 (現職)

### ・主な共同研究者(又は指導を受けた研究者)

小川道雄 市立貝塚病院・総長  
 江角浩安 国立がんセンター東病院・院長  
 西村泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野・教授  
 木下 平 国立がんセンター東病院・副院長  
 古瀬純司 杏林大学腫瘍内科・教授  
 井本 滋 杏林大学乳腺外科・教授  
 中村祐輔 東京大学医科学研究所・ヒトゲノム解析センター長

### ・主な研究課題

肝細胞がんの超早期診断法と予防・治療ワクチンの開発  
 迅速な創薬化を目指したがんペプチドワクチン療法の開発  
 がん抗原特異的細胞傷害性T細胞 (CTL) 治療の臨床導入を目指した研究  
 科学的根拠に基づくがん免疫療法の開発

### ・これまでの研究実績

1. Saito, Y., Oba, N., Nishinakagawa, S., Mizuguchi, Y., Kojima, T., Nomura, K., and Nakatsura, T. Identification of  $\beta 2$ -microglobulin as a candidate for early diagnosis of imaging invisible hepatocellular carcinoma in patient with liver cirrhosis. *Oncol. Rep.* 2009 in press.
2. Yokomine, K., Senju, S., Nakatsura, T., Irie, A., Hayashida, Y., Ikuta, Y., Harao, M., Imai, K., Baba, H., Iwase, H., Nomori, H., Takahashi, K., Daigo, Y., Tsunoda, T., Nakamura, Y., Sasaki, Y., and Nishimura, Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. *Int J Cancer.* 2009 in press.
3. Mukohara, T., Shimada, H., Ogasawara, N., Wanikawa, R., Shimomura, M., Nakatsura, T., Ishii, G., Park, J.O., Jänne, P.A., Saijo, N., and Minami, H. Sensitivity of breast cancer cell lines to the novel insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) inhibitor NVP-AEW541 is dependent on the level of IRS-1 expression. *Cancer Lett.* 282(1):14-24, 2009.
4. Shirakawa, H., Suzuki, H., Shimomura, M., Kojima, M., Gotohda, N., Takahashi, S., Nakagohri, T., Konishi, M., Kobayashi, N., Kinoshita, T., and Nakatsura, T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 100(8):1403-1407, 2009.
5. Hayashi, E., Motomura, Y., Shirakawa, H., Yoshikawa, T., Oba, N., Nishinakagawa, S., Mizuguchi, Y., Kojima, T., Nomura, K., and Nakatsura, T. Detection of glypican-3-specific CTLs in chronic hepatitis and liver cirrhosis. *Oncol. Rep.* 22:149-54, 2009.

6. Shirakawa, H., Kuronuma, T., Nishimura, Y., Hasebe, T., Nakano, M., Gotohda, N., Takahashi, S., Nakagohri, T., Konishi, M., Kobayashi, N., Kinoshita, T., and Nakatsura, T. *Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer. Int. J. Oncol.* 34:649-656, 2009.
7. Ikuta, Y.\*, Hayashida, Y.\*, Hirata, S., Irie, A., Senju, S., Kubo, T., Nakatsura, T., Monji, M., Sasaki, Y., Baba, H., and Nishimura, Y. (\*These two authors contributed equally.) Identification of the H2-K<sup>d</sup>-restricted cytotoxic T lymphocyte epitopes of a tumor-associated antigen, SPARC, which can stimulate antitumor immunity without causing autoimmune disease in mice. *Cancer Sci.* 100(1):132-137, 2009.
8. Harao, M., Hirata, S., Irie, A., Senju, S., Nakatsura, T., Komori, H., Ikuta, Y., Yokomine, K., Imai, K., Inoue, M., Harada, K., Mori, T., Tsunoda, T., Nakatsuru, S., Daigo, Y., Nomori, H., Nakamura, Y., Baba, H., and Nishimura, Y. HLA-A2-restricted CTL epitopes of a novel lung cancer-associated cancer testis antigen, cell division cycle associated 1, can induce tumor-reactive CTL. *Int J Cancer.* 123(11):2616-25, 2008.
9. Muchemwa, F.C., Nakatsura, T., Fukushima, S., Nishimura, Y., Kageshita, T., and Ihn, H. Differential Expression of Heat Shock Protein 105 in melanoma and melanocytic naevi. *Melanoma Res.* 18(3):166-171, 2008.
10. Motomura, Y., Ikuta, Y., Kuronuma, T., Komori, H., Ito, M., Tsuchihara, M., Tsunoda, Y., Shirakawa, H., Baba, H., Nishimura, Y., Kinoshita, T., and Nakatsura, T. *HLA-A2 and -A24-restricted Glypican-3-derived peptide vaccine induce Specific CTLs: Preclinical study using mice. Int. J. Oncol.* 32(5):985-990, 2008.
11. Yokomine, K., Nakatsura, T., Senju, S., Nakagata, N., Minohara, M., Kira, JI., Motomura, Y., Kubo, T., Sasaki, Y., and Nishimura, Y. Regression of intestinal adenomas by vaccination with heat shock protein 105-pulsed bone marrow-derived dendritic cells in Apc<sup>Min/+</sup> mice. *Cancer Sci.* 98(12):1930-1935, 2007.
12. Muchemwa, F.C., Nakatsura, T., Ihn, H., and Kageshita, T. Heat shock protein 105 is overexpressed in squamous cell carcinoma and extramammary Paget disease but not in basal cell carcinoma. *Br. J. Dermatol.* 155: 582-585, 2006.
13. Komori, H., Nakatsura, T., Senju, S., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Ikuta, Y., Fukuma, D., Yokomine, K., Harao, M., Beppu, T., Matsui, M., Torigoe, T., Sato, N., Baba, H., and Nishimura, Y. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 12(9): 2689-2697, 2006.
14. Hosaka, S., Nakatsura, T., Tsukamoto, H., Hatayama, T., Baba, H., and Nishimura, Y. Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces apoptosis of various cancer cells both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Sci.* 97: 623-632, 2006.
15. Yokomine, K., Nakatsura, T., Minohara, M., Kira, JI., Kubo, T., Sasaki, Y., and Nishimura, Y. Immunization with heat shock protein 105-pulsed dendritic cells leads to tumor rejection in mice. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 343: 269-278, 2006.
16. Motomura, Y., Senju, S., Nakatsura, T., Matsuyoshi, H., Hirata, S., Monji, M., Komori, H., Fukuma, D., Baba, H., and Nishimura, Y. Embryonic stem cell-derived dendritic cells expressing glypican-3, a recently identified oncofetal antigen, induce protective immunity against highly metastatic mouse melanoma, B16-F10. *Cancer Res.* 66(4): 2414-2422, 2006.
17. Ikuta, Y., Nakatsura, T., Kageshita, T., Fukushima, S., Ito, S., Wakamatsu, K., Baba, H., and Nishimura, Y. Highly sensitive detection of melanoma at an early stage based on the increased serum SPARC and Glypican-3 levels. *Clin. Cancer Res.* 11(22): 8079-8088, 2005.
18. Matsuyoshi, H., Hirata, S., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Fukuma, D., Kurisaki, A., Nakatsura, T., Nishimura, Y., and Senju, S. Therapeutic effect of  $\alpha$ -galactosylceramide-loaded dendritic cells genetically engineered to express SLC/CCL21 along with tumor antigen against peritoneally disseminated tumor cells. *Cancer Sci.* 96(10): 889-896, 2005.
19. Miyazaki, M.\*, Nakatsura, T.(\*Equal contribution), Yokomine, K., Senju, S., Monji, M., Hosaka, S., Komori, H., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Minohara, M., Kubo, T., Ishihara, K., Hatayama, T., Ogawa, M., and Nishimura, Y. DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells. *Cancer Sci.* 96: 695-705, 2005.