

細胞分画)として存在することが証明された。この細胞は炎症、虚血、障害部位へ特異的に取り込まれるという特徴を有している。また一方で、近年、末梢血 CD34 陽性細胞はヘテロな細胞分画のため、その場の環境に応じてほかの lineage への多分化能を示すことがわかりつつある。我々は、急性肝不全モデルマウスに対し健全ヒト末梢血由来 *ex vivo* 増幅 EPC を経脾的に投与すると、死亡率が著明に低下することを明らかにし、さらに肝硬変症モデルラットに対しラット骨髄由来 *ex vivo* 増幅 EPC を経静脈的に投与すると、肝内の血管形成の促進と EPC より産生される各種増殖因子の周囲組織への供給により、肝線維化の抑制、肝再生の促進、予後の改善が認められることを明らかにした。しかし、我々がこれまでに報告してきた *ex vivo* 増幅 EPC では動物血清を使用していたため、臨床応用に際しては人畜感染症のリスクを有する。臨床応用を考慮するに、今後は無血清培地を用いた培養法の確立が必要になる。EPC は広義では CD34 陽性細胞と定義されていることより、早期に臨床応用可能な EPC としての cell source は CD34 陽性細胞と考える。そこで、最近、我々は末梢血より採取したヒト CD34 陽性細胞を用いた肝硬変症モデルラットに対する治療効果を検証した(前臨床研究)。ヌードラット肝硬変症モデルにおいて、移植したヒト CD34 陽性細胞は、肝内で血管内皮細胞、肝類洞内皮細胞、血管平滑筋細胞へ分化し、移植細胞数依存性に肝線維化の抑制のみならず、肝再生の促進、予後の改善が認められることを明らかにした。

以上のような基礎研究をもとに、平成 21 年 1 月から非代償性肝硬変症患者に対する自家 CD34 陽性移植による肝臓再生治療を開始した(臨床研究)。

B. 研究方法

本研究の治療プロトコールを示す。

[治療適応基準]

①非代償性肝硬変症患者、②同意取得時の年齢が 20 歳以上、75 歳以下の患者(性別不問)、③血清アルブミン濃度が 3.0g/dL 未満の患者、④食道・胃静脈瘤や腹水、浮腫の合併の有無は問わない、⑤肝移植治療を望まない患者、⑥6 カ月以上の生存が期待できる患者

1) 上記治療適応基準を満たしこの治療法についての承諾を得られた患者に対し治療前検査(採血検査、腹部・心臓超音波検査、全身 CT 検査、腹部 MRI 検査、上部消化管内視鏡検査、骨髄検査、肺機能検査等)をおこなう。

2) 入院後、5 日間連続して G-CSF 製剤(10 μ g/kg/day)を皮下投与する。

3) G-CSF 投与開始 4、5 日目に、末梢血単核球細胞を採取する。採取は 2 日間連続で行う。

4) G-CSF 投与開始 5 日目に採取した末梢血単核球(2日分)すべてから磁気細胞分離システムを用いて CD34 陽性細胞を分離し、経肝動脈的に投与(移植)する。(平成 20 年度に行っていた単核球細胞移植の際は CD34 陽性細胞に分離せず、そのまま経静脈的に[全身]投与した。)

5) 移植後 1 週間は副作用や合併症を生じないかどうか慎重に経過観察を行い、問題ないことが確認できたら、入院 14 日目に退院とする。

6) 治療後は 1 ヶ月ごとに 6 ヶ月まで肝機能の評価(採血等)、門脈血行動態の評価(血管造影検査、腹部超音波検査、腹部 CT 検査等)を行い、治療前の患者の肝機能、門脈血行動態と比較する。

(倫理面への配慮)

平成 20 年 11 月より「末梢血 CD34 陽性細胞を用いた非代償性肝硬変症に対する細胞移植療法の試み」と題して、久留米大学倫理委員会にて審

査・承認のもと、研究を行った。

C. 研究結果

平成 21 年度以降に行った、G-CSF 動員後自家末梢血 CD34 陽性細胞の肝動注投与(局所投与)による細胞移植結果のみを示す。2011 年 1 月までに 8 症例(HBV:1 例、HCV:6 例、アルコール:1 例)を経験した。治療群は、採取された細胞数により、低用量群 (Low, 5×10^5 cells/kg)、中用量群 (Mid, 1×10^6 cells/kg)、高用量群 (High, 2×10^6 cells/kg) の 3 群に分けた。対照群は、治療適応基準を満たしたものの、同意取得できなかった症例あるいは同意取得後の治療前検査にて適応外と判断された症例、合計 7 症例とした。なお、対照群に対しての治療制限はなく(特にアルブミン投与制限はない)、標準的な治療を継続した。

- 1) 現時点では統計学的な有意差はないものの、血清アルブミン値の変化率は、中・高用量治療群において対照群と比較し、治療後 12 週および 24 週において上昇した(12 週後; Low, $-7.5 \pm 5.2\%$; Mid, $5.2 \pm 6.6\%$; High, 9.8% ; 24 週後; Low, $-9.2 \pm 12.5\%$; Mid, $7.3 \pm 9.7\%$; High, 10.5%)。
- 2) 現時点では統計学的な有意差はないものの、血清 PT-INR 値の変化率は、中・高用量治療群において対照群と比較し、治療後 12 週および 24 週において低下した(12 週後; Low, $-0.2 \pm 12.1\%$; Mid, $-5.7 \pm 6.7\%$; High, -7.8% ; 24 週後; Low, $3.3 \pm 7.7\%$; Mid, $-4.0 \pm 9.3\%$; High, 0.7%)。
- 3) 現時点では統計学的な有意差はないものの、肝予備能の指標とされる Child-Pugh スコア、MELD スコアは、増悪傾向を示す対照群と比較し、低および中・高用量治療群において増悪傾向を抑制した。

- 4) 現時点では統計学的な有意差はないものの、血清学的な肝線維化マーカーである血清ヒアルロン酸、血清 7S コラーゲン、血清 IV 型コラーゲン値の変化率は、中・高用量治療群において治療後 24 週において低下した。
- 5) 現時点では統計学的な有意差はないものの、門脈血流量は、全治療群において治療後 4 週(早期)より増加し、24 週後においても持続していた。
- 6) 腹水を認めていた患者に対しては、腹水量の低下、内服利尿剤の減量・中止を可能にした。
- 7) SF-36v2 を用いた QOL(生活の質)評価は、全治療群において改善した。
- 8) 現時点まで、治療後に合併症が生じた症例はない。特に、G-CSF 製剤投与による脾破裂、肝発癌も認めていない。

D. 考察

現在、ヒト末梢血由来の血管内皮前駆細胞(末梢血 CD34 陽性細胞)の慢性閉塞性動脈硬化症に対する有用性が臨床において確認され、その機序は血管新生の促進によると考えられている。我々は、最近、末梢血より採取したヒト CD34 陽性細胞を用いた肝硬変症モデルヌードラットに対する治療効果を検証した(前臨床研究)。移植したヒト CD34 陽性細胞は、肝内で血管内皮細胞、肝類洞内皮細胞、血管平滑筋細胞へ分化し、移植細胞数依存性に肝線維化の抑制のみならず、肝再生の促進、予後の改善が認められることを明らかにした。

今後考えられる新たな課題として、十分な数の CD34 陽性細胞(EPC)をいかに確保するかである。末梢血より採取可能なため低侵襲ではあるが、採取可能な細胞数は限られており、肝硬変など広範

な臓器障害に対する治療をするには十分な細胞数が必要不可欠である。細胞数の問題の解決策として、全身投与ではなく局所投与することは言うまでもないが、それは平成 21 年度より実行済みである。勿論、平成 20 年度に行った単核球細胞(約 1%の CD34 陽性細胞を含有する集団)の全身投与方法と比較すると、純化することで投与細胞数を減らし局所投与できるだけでなく、より安全でかつ有効性を増すことができたと考える。このほか、サイトカインや増殖因子を添加し、セル・プロセッシング・センター(CPC)などで効率よく培養・増幅させることが考えられる。得られる細胞数もさることながら、その細胞の質にも着目する必要がある。それは、実際に治療を受ける患者は高齢(細胞の老化)であったり様々な基礎疾患(高血圧、糖尿病等)、喫煙などの嗜好が存在することが多い。そのような場合、血管内皮細胞の機能が低下していることが知られているからだ。最適なサイトカインや増殖因子、抗酸化剤を添加し培養することにより、低下した機能まで回復するのではないかと期待している。

E. 結論

現時点では統計学的な有意差はないものの、肝予備能の指標とされる Child-Pugh スコア・MELD スコアの改善(増悪抑制)効果や、肝での合成能を示す血清アルブミン値の上昇、PT-INR 値の低下を確認した。また、腹水を認めた患者に対しては、腹水量の減少、内服利尿剤の減量・中止を可能にし、有効性が示されつつあると考えた。前癌病変と言われる肝硬変を母体とした再生において懸念される肝発癌の発生は現時点まで認めていないことより、安全面においても結果が得られつつあると考えている。

肝硬変等重篤な肝障害の根本的治療として肝(臓器)移植しかない現状のなか、脳死・生体部分

肝移植は確立した治療法ではあるが、医療経済的問題やドナー不足は深刻化しており、ドナー不足の解決策としても、本研究のような幹細胞を用いた細胞移植治療は、肝移植治療を解消できる治療法としても大変注目される位置づけにある研究と考えられ、社会的貢献度も大いに期待できるものと推測する。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 中村徹, 佐田通夫. 血管内皮前駆細胞を用いた肝臓再生療法. 肝胆膵, 2008; 9 月号, 459-466.
2. 中村徹, 佐田通夫. 自己末梢血単核球細胞を用いた非代償性肝硬変患者に対する肝臓再生医療の開始 -基礎研究から臨床研究へ-. 消化器疾患における Translational Research, 2008; 10 月, 63-68.
3. 中村徹. 非代償性肝硬変患者に対する自己末梢血単核球細胞移植再生療法. Liver Forum in Kyoto 第 10 回学術集会. 2008; 12 月, 41-46.

2. 学会発表

1. 中村徹. 血管内皮前駆細胞を用いた肝硬変症に対する肝臓再生療法 -基礎研究から臨床研究へ-. 第 1 回 肝疾患と肝再生研究会. 東京, 2008.
2. 中村徹. 血管内皮前駆細胞を用いた肝硬変の治療. 第 1 回 福岡県医学会総会. 福岡, 2009.
3. 中村徹. 血管内皮前駆細胞(末梢血 CD34 陽性細胞)を用いた肝臓再生療法 -基礎研究から臨床研究へ-. 第 8 回 九州 BMT 研究会. 福岡, 2010.
4. 中村徹, 鳥村拓司, 岩本英希, 黒木淳一, 住江修治, 福嶋伸良, 熊本政史, 岡村孝, 奥田誠也, 上野隆登, 佐田通夫. 第 18 回

浜名湖シンポジウム, 静岡, 2010.

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

特記事項なし。

2. 実用新案登録

特記事項なし。

3. その他

特記事項なし。

『肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究』

研究協力者：細田洋司

国立循環器病研究センター 再生医療部 室長

研究課題： グレリンはラット肝切除後の肝再生を促進する

研究要旨：末梢性グレリンは、迷走神経求心路を介して視床下部に作用して成長ホルモン分泌や摂食を促進し、さらに自律神経遠心路を介して全身のエネルギー代謝の調節、肝機能および消化管機能調節などに関与する。今回、研究協力者は、70%肝部分切除ラットに対してグレリン投与を行い、肝再生能に対するその効果を自由摂食及び摂食量制限下に検討した。その結果、グレリンは肝切除後の肝組織再生能の促進効果を示し、特に摂食量を抑制したエネルギー欠乏状態では有意な肝再生促進作用を認めた。グレリン投与によって、肝細胞増殖に関わる各種成長因子の遺伝子発現には有意な変化が認められなかったものの、核内増殖抗原（PCNA）の遺伝子発現が有意に増加した。グレリンによるエネルギー代謝調節作用が肝再生促進効果の一つと思われる。グレリンは肝切除後の肝組織再生を促進する効果を有し、これまでにないアプローチによる肝再生の改善薬として応用可能と思われる。

A. 研究目的

研究協力者らは、1999年にラットおよびヒトの胃組織から新規ペプチドホルモンであるグレリン(ghrelin)を発見した。グレリンは、主に胃から産生分泌され、求心性迷走神経路を経て中枢神経にそのシグナルを伝達し、強力な成長ホルモン(GH)分泌促進活性や摂食亢進作用、遠心性自律神経系を介した全身のエネルギー代謝調節作用、消化管機能調節作用等をもつ。我々はこれまでの研究から、グレリンが肝細胞増殖作用や肝血流量増加作用、薬剤性肝障害の軽減作用等を明らかにしている（論文投稿中）。

正常な肝臓は、他の臓器ではみられない強い再生能力をもつ。肝切除後の肝容量の回復は、ラットやマウスではほぼ1週間で回復するの

に対し、ヒトでは正常肝では1～2ヶ月、病的肝で3～5ヶ月ほど要する。肝容量回復のスピードは切除肝容量に比例して早くなり、肝切除後の肝再生は肝重量/体重比が一定になるまで続く。ヒトの病的肝臓では肝再生能は低下しており、各種治療に伴う肝臓への負担によって肝不全に陥ることもある。

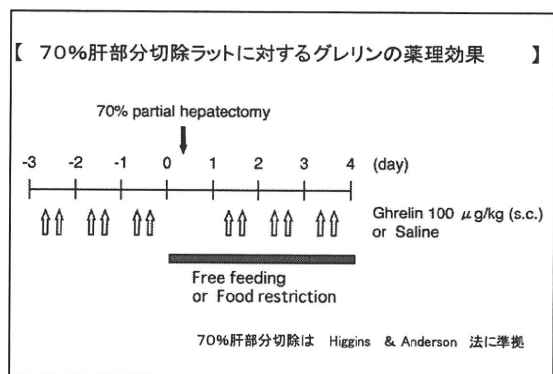
今回、我々は、70%肝部分切除ラットを製作し、グレリンによる肝組織再生能に対する改善効果を検討した。

B. 研究方法

Higgins GMとAnderson RMの肝切除法に準拠し、Wistar rat（オス、11週齢）に70%肝部分切除を行い、術前後3日間グレリン（100 µg/kg）

または生食を1日2回皮下投与を行った(図1)。肝切除後4日目に残存肝を摘出し肝組織重量の測定を行い、肝切除直前の体重と比較した。定量PCR法を用いて肝細胞増殖に関連する因子について遺伝子発現量を検討した。また、肝切除後に摂食制限(術前摂食量の40%)を行い、エネルギー欠乏が肝再生能に与える影響とグレリンによるその改善効果を検討した。

図1



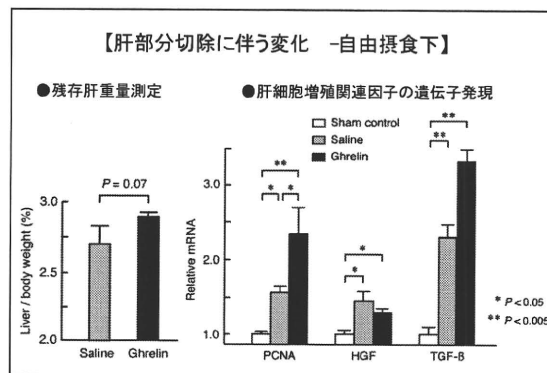
(倫理面への配慮)

本研究は国立循環器病研究センターが定める動物実験規定に沿って行われた。

C. 研究結果

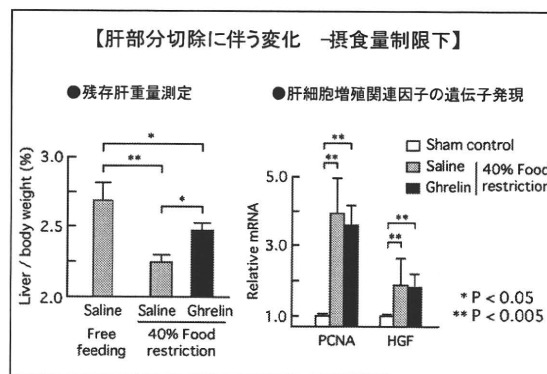
自由摂食下において、グレリン投与により残存肝重量は増加傾向を認めた(図2)。残存肝にて肝細胞増殖関連因子の遺伝子発現変化を探索したところ、グレリン投与群において核内増殖抗原(proliferative cell nuclear antigen、PCNA)の有意な増加が認められた。PCNAはDNAの複製部位に強く結合するDNAポリメラーゼδの補助タンパクとして同定され、PCNA合成レベルは細胞周期中の細胞増殖及びDNA合成の程度に相関する。強力なmitogenであるHGF遺伝子発現は、肝切除により有意に増加するが、グレリン投与による修飾効果は認められなかった。その

図2



他TNF-αやIL-6、TGF-α、EGF等に生食群と比較して有意な変化は認められなかった。一方、肝再生停止に関わるTGF-βの遺伝子発現はグレリン投与により有意な増加が認められた。

図3



摂食量制限によって、肝再生は約80%程度に抑制される(図3)。この抑制はグレリン投与によって有意に改善される。PCNAやHGF等の肝細胞増殖関連因子の遺伝子発現に、グレリン投与による有意な変化は認められなかった。

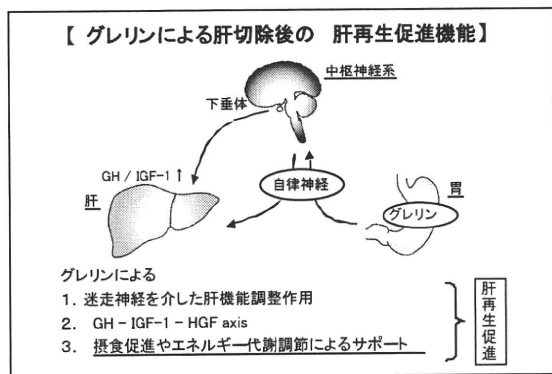
D. 考察

本研究班において、薬剤性肝硬変モデルラットを用いたグレリンによる薬剤性肝硬変の進展抑制効果を、これまでに報告している。グレリンは、①迷走神経を介した肝機能調整作用、②GH—IGF-1—HGF系を介した作用、③摂食促進やエネルギー代謝調節によるサポートによって、肝細胞増殖作用や肝保護作用、全身性及び肝細胞のエネルギー代謝改善効果を発揮すると考えられる(図4)。

今回の研究では、70%肝部分切除ラットにおいてグレリンは肝再生を促進し、特に摂食制限下での肝再生効果が明らかとなった。肝再生とエネルギー代謝系には密接な関連がある。齧歯類において70%肝部分切除を行うと、切除後数日間は脂肪肝様の外観を呈し、肝細胞内に脂肪滴を形成する。*Caveolin-1*ノックアウトマウスでは、この脂肪滴形成が見られず、また肝細胞内グリコーゲン量も減少し、肝細胞分裂が抑制され死亡率が上昇する。このマウスに肝切除後グルコース投与を行うと、肝再生能は回復し、死亡率も低下する。我々はこれまでの研究から、グレリンの肝グリコーゲン量増加作用を明らかとなった。70%肝部分切除ラットにおけるグレリン投与による肝再生促進効果は、少なくともグレリンの肝細胞に対するエネルギー代謝調節作用も寄与しているものと思われる。

- 1. 論文発表
なし（現在英文雑誌に投稿中）
- 2. 学会発表
なし
- H. 知的所得権の所得状況
なし

図4



E. 結論

グレリンは肝切除後の肝組織再生を促進する効果を有し、これまでにないアプローチによる肝再生の改善薬として応用可能と思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者: 伊東恭悟 久留米大学医学部免疫・免疫治療学講座 教授

研究課題:「ペプチドワクチンによる標準治療抵抗性・不適格 HCV 感染症例における発がんの抑制」

研究要旨:C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus :HCV)感染に伴う発がんに対するペプチドワクチンの基礎及び臨床研究を実施した。その結果以下の結果を得た。

基礎研究

1. HCV コアタンパク質由来 C35-44 ペプチドは HLA-A*0201 のみならず、HLA-A*1101 を除く HLA-A*0206, -A*0301, -A*2402, -A*2601, -A*3101, および -A*3303 分子に対しても結合能を示した。これにより全 HCV 感染者に対する単一ペプチドワクチン開発の可能性が示唆された。
2. 臨床試験付随研究にて投与したHCVペプチドへの抗体値の増強を確認し、ワクチン中止後の発がん と抗体値の低下が相関することを見出した。

臨床研究

1. HCVペプチドワクチンの肝がん予防目的の臨床試験では、HCV陽性インターフェロン治療抵抗性 肝炎・肝硬変症例35例において47カ月(中央値;22-76カ月)の観察期間での発がんは見られていない。
2. ワクチン投与中止後4例の発がんが認められたことより発がん予防効果が期待された。
3. ワクチン開始時に肝臓内 SOL を有する症例では3例中2例で発がんを認めた。
4. 現在 SOL 有しない症例に対して新たな臨床試験(再発予防目的)を実施中である。

A. 研究目的

ペプチドワクチンによる HCV 感染症例における発がん抑制を最終目的とし、新規 HCV ペプチドワクチンの基礎及び臨床研究を実施した

背景:C型肝炎ウイルス(HCV)は世界中で約1億8千万人が感染しているといわれ、感染者は肝細胞がん(HCC)を発症するリスクが未感染者に比較して高い。HCV 根治のためのインターフェロン(IFN)治療はHCVゲノタイプ2型及び3型の感染に対し約80%の効果を示すが、日本人や西洋人に感染が多いといわれる HCV ゲノタイプ 1b 型の感染に対しては 50%以下の効果しか示さない。加えて、IFN 治療は医学的制約や有害事象、高コストが問題となっている。

HCV 感染者の一部は自己治癒的にウイルスの排除が認められることから、治療ワクチンの開発が期待されるが、ウイルスの遺伝子多型や変異の多さなどから、そのワクチン開発は困難な課題が多い。我々は HCV 由来ペプチドで免疫系によって認識されるペプチドを新たに同定しそれらを用いて臨床試験を実施することによりHCC発がん予防の新規ワクチンの開発を目指した。

B. 研究方法

基礎研究:

- ① HLA-A 結合能を有する HCV 由来ペプチド分子が HCV 患者末梢血から細胞傷害性 T 細胞(CTL)を誘導可能か否かはインターフェロン遊離

法及び 51-Cr 遊離法での細胞傷害性試験を用いて検討した。②複数の HLA-A 分子への結合能は Stabilization assay にて実施した。③ペプチド特異性はペプチドによる抑制試験また CTL の特性は抗 HLA class I および抗 CD8 モノクローナル抗体によって抑制試験にて検証した。

臨床研究:これまでに我々が基礎研究で同定した HCV ペプチドを用いて3つの第1相・第2相臨床試験を実施した。臨床試験参加の条件として、① HCV 感染状態にあること、②病理学的診断で慢性肝炎、肝硬変と診断されるもの、③インターフェロン不応答性であるもの、④臨床試験参加時に肝細胞がんの発がんのないこと等である。2003 年から2010 年までに41名が登録され、その内40名は6 回以上のワクチン投与を受けた、当該研究班での3年間は長期観察による発がん予防効果のフォローアップ研究を実施した。また平成 22 年度は、HCV 陽性肝臓がん再発予防目的の新たな臨床試験を開始した。対象は HCV 陽性肝臓がん術後症例で SOL を認めない症例でかつ HLA-A2, -A2, -A11, -A24, -A26, -A31, もしくは-A33 のうちいずれかが陽性症例である。投与ペプチドは HCV 由来ペプチド 3 種類及びがん抗原由来ペプチド 10 種類である。

これら全ての臨床試験は久留米大学倫理委員会の承認を得て実施し、患者に対するインフォームド・コンセントの後、同意を得られた方にのみワクチンを投与した。また臨床研究に関する倫理指針に準拠して実施した。

臨床試験で用いるペプチドワクチンは GMP 施設で製造され、製剤化の後、側腹部皮下に2-4 週間間隔で投与した。

免疫解析:それぞれのペプチドに対する IgG 抗体はマイクロサスペンションアレイにて実施し、ALT

や AFP、HCV コア抗体やウイルス量測定は検査会社に委託した。

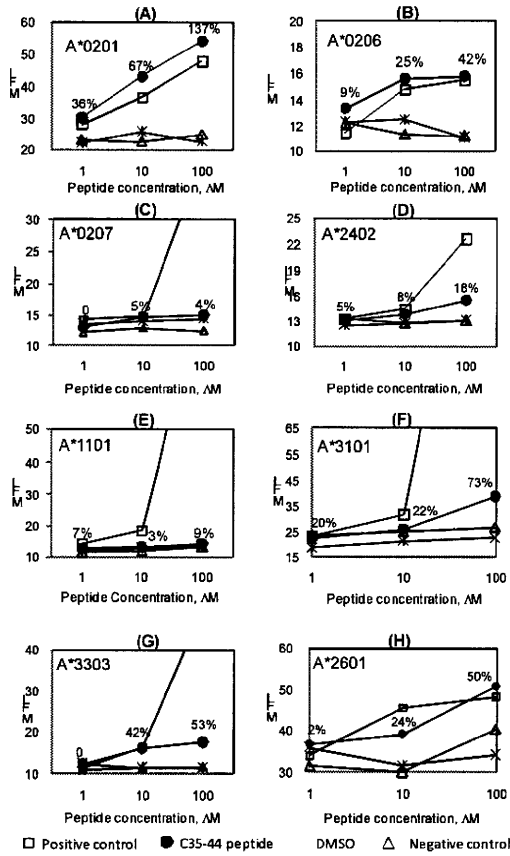
(倫理面への配慮)

本臨床試験は、以下のプロトコールに基づいて行い、倫理委員会の承認を得た。研究番号 課題番号:06029「インターフェロン治療の適応とならない C 型慢性肝炎症例に対するペプチドワクチン療法第 I 相臨床試験」;課題番号 2576 「C 型慢性肝炎症例に対するペプチドワクチン療法第 II 相臨床試験」。また、付随研究に用いた患者検体は患者自身に対しインフォームドコンセントを行い承諾を得た。なお、本研究では動物実験及びヒトゲノムの実験は含まれていない。

C. 研究結果

基礎研究:HCV コアタンパク質由来が C35-44 ペプチドは HLA-A*0201 のみならず HLA-A*1101 を除く HLA-A*0206, -A*0301, -A*2402, -A*2601, -A*3101, および -A*3303 分子に対しても結合能を示した(図 1)。

図 1: Stabilization assay of C35-44 peptide to various HLA molecules



✕

臨床研究: (1) 登録症例、ペプチドワクチンの安全性の検討及び臨床的応答: すでに報告済みであるが評価可能な40名中1名がHCVゲノタイプ2a型でそれ以外はHCVゲノタイプ1b型であった。臨床試験参加時において35名がIFN治療に対し不応答であり、4名はIFN治療を拒否した。6名の肝硬変患者はいずれもHCCの既往歴を有していた。ペプチドワクチンの有害事象については、投与部皮膚反応が主体で重篤な有害事象は認められなかった。ALTの減少を認めた症例が39名中11例、血小板の著しい減少はワクチン単独投与の28名中ゼロであり、1名は増加した。IFN療法を併用した11名においては4名の患者で血小板の減少を認めた。AFPの著しい減少をワクチン単独投与の28名中1名に認め、IFN療法を併用した

11名のうち4名に減少を認めた。SVR症例はワクチン単独投与群にはゼロで、インターフェロン併用の群で4名認められた。

(2) 長期観察での肝臓がん発症

ワクチン投与期間中における発がんはSOLsを有した慢性肝炎患者の2名で認められた。残りの37名はワクチン投与期間中の発がんを認めなかった。しかしながら4名の患者においてワクチン投与終了後の観察期間に発がんを認めた。内訳としては2名の慢性肝炎患者(最終ワクチン投与後46カ月と29カ月)と2名の肝硬変患者(最終ワクチン投与後49カ月と18カ月)であった。発がんの4名中3名はワクチン投与終了後にIFN治療を実施していたが、応答しなかった。

(3) 免疫応答と発がん

HLA-A24陽性患者におけるワクチン臨床試験において、13名すべての患者で少なくとも一つの投与ペプチドに対するIgG抗体の増加を認めた(図2-A)。

図 2-A) HLA-A24 陽性患者におけるワクチンペプチドに対する抗体価の変化

Fig. 1A

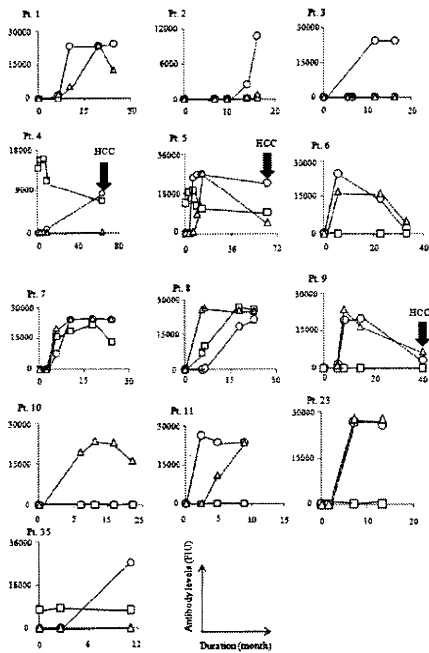


図 2-B) 汎 HLA 臨床試験におけるワクチンペプチドに対する抗体価の変化その1

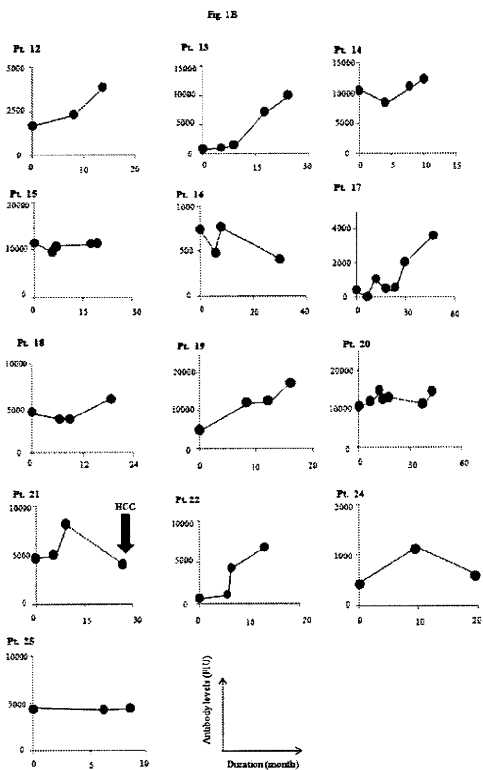
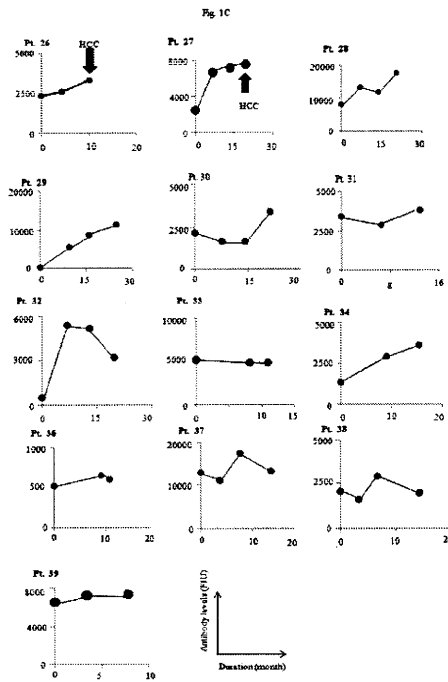


図 2-C) 汎 HLA 臨床試験におけるワクチンペプチドに対する抗体価の変化その3



汎 HLA の臨床試験では 26 名中 22 名において C_35-44 ペプチドに対する IgG 抗体の増加を認められた(図 2-B、図 2-C)。

一方、発がんした4症例(図 2-A 及び-B の矢印症例)においては発がん前にワクチンにより抗体が増加していたものが、発がん時に投与ペプチドに対する抗体価の減少が確認された、但し HCV コア抗体に対しては著しい変化を認めなかった。

これらの成績を継承して平成 22 年度は新たな臨床試験を実施し当該ワクチンによる再発予防効果について更に検証している。現在1症例が登録されており臨床試験を継続中である。

D. 考察

HCV の感染は慢性肝炎から年率 1-5%、肝硬変から年率 5-8%、HCC の既往者の場合年率で 10-20%の確率で発がんするといわれている。本研

究では慢性肝炎患者及び肝硬変患者(HCC 既往を含む)に対するペプチドワクチン臨床試験を施行し、6 回以上のワクチン投与を行った。それらの方々は、ワクチン投与回数の中央値が 26 回(6 から 89 回まで)で、ワクチン投与期間の中央値が 16 カ月(2 から 61 カ月)、及びその後の観察期間中央値は 47 カ月(22 から 76 カ月)であった。投与期間中のワクチンペプチドに対する抗体価は増加する傾向が多く症例で認められ、ワクチン投与 12 回後に 68% の患者で増加した。また、ワクチン投与に伴う EBV や FLU に対する CTL 活性の抑制は認められなかった。ウイルス量の低下はほとんどの症例で認められなかったものの、AFP といった発がんマーカーの低下が認められた。

発がん症例における抗体価を測定したところワクチン投与により惹起された抗体価が減少していることが確認されたことから、発がんワクチンの効果に関係があると示唆された。

E. 結論

基礎研究

1. HCV コアタンパク質由来 C35-44 ペプチドは HLA-A*0201 のみならず、HLA-A*1101 を除く HLA-A*0206, -A*0301, -A*2402, -A*2601, -A*3101, および -A*3303 分子に対しても結合能を示した。これにより全 HCV 感染者に対する単一ペプチドワクチン開発の可能性が示唆された。

2. 臨床試験付随研究にて投与した HCV ペプチドへの抗体値の増強を確認し、ワクチン中止後の発がん抗体値の低下が関連することを見出した。

臨床研究

1. HCV ペプチドワクチンの肝がん予防目的の臨床試験では、HCV 陽性インターフェロン治療抵抗性肝炎・肝硬変症例 35 例において 47 カ月(中央

値; 22-76 カ月)の観察期間での発がんは見られていない。

2. 一方、ワクチン投与中止後 4 例の発がんが認められたことより、発がん予防効果が期待された。

3. 一方ワクチン開始時に肝臓内 SOL を有する症例では 3 例中 2 例で発がんを認めた。

4. 現在 SOL 有しない症例に対して新たな臨床試験(再発予防目的)を実施中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Komatsu N, Yutani S, Yamada A, Shichijo S, Yoshida K, Itou M, Kuromatsu R, Ide T, Tanaka M, Sata M, and Itoh K. Prophylactic effect of peptide vaccination against hepatocellular carcinoma associated with hepatitis C virus. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2010; 1(4):619-626
2. Yutani S, Komatsu N, Shichijo S, Yoshida K, Takedatsu H, Itou M, Kuromatsu R, Ide T, Tanaka M, Sata M, Yamada A, and Itoh K. Phase I clinical study of a peptide vaccination for hepatitis C virus-infected patients with different HLA-class I-A alleles. *Cancer Science*, 100, 1935-42, 2009
3. Gohara S, Shichijo S, Komatsu N, Okuda S, Yutani S, Itoh K. Detection of IgE antibody specific to a hepatitis C virus-derived peptide being recognized by cellular immunity in patients with HCV infection. *Viral Immunol*. 2008 Sep;21(3):365-9.

2. 学会発表

1. 小松誠和、由谷茂、山田亮、七條茂樹、田中正俊、佐田通夫、伊東恭悟: Study of hepatic C virus vaccine from the viewpoint of cancer prophylaxis。第 13 回日本がん免疫学会総会 6/24-24, 2009. 北九州。
2. 伊東恭悟: HCV ペプチドワクチン開発の現状: 発がん予防の可能性について。第 5 回肝免疫・ウイルス・フロンティア、4/18/2009, 金沢。
3. Yutani Shigeru, Komatsu Nobukazu, Yamada Akira, Shichijo Shigeki, Yoshida Kazumi, Takedatsu Hiroko, Kuromatsu Ryoko, Ida Tatsuya, Tanaka Masatoshi, Sata Michio, Itoh Kyogo: 種々の HLA-class IA アレルを有する HCV 感染患者のためのペプチドワクチン第 I 相臨床試験。第 38 回日本免疫学会総会・学術集会 12/1-3/2008, 京都
4. 山田 亮、由谷 茂、佐田通夫、伊東恭悟: Clinical trial of therapeutic peptide vaccine for Hepatitis C virus infection. (C 型肝炎ウイルス感染症に対する治療を目的としたペプチドワクチンの臨床試験)。第 67 回日本癌学会学術総会。10/28-30/2008, 名古屋。
5. 牛 亜梅、寺崎康展、小松誠和、野口正典、七條茂樹、山田 亮、伊東恭悟: Determination of vaccine candidates for HLA-A26 positive patients with prostate cancer or HCV-related diseases. (HLA-A26 前立腺癌患者および HCV 感染者に対するワクチン候補ペプチドの解析)。第 67 回日本癌学会学術総会 10/28-30/2008, 名古屋

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

名称: C型肝炎ウイルスによる肝臓の発症および再発予防ワクチン、発明者: 伊東 恭悟, 佐田 通夫, 山田 亮, 由谷 茂、権利者: 久留米大学、種類: 日本特許、番号: 特願 2008-276163、出願年月日: 平成 20 年 10 月 27 日、国内外の別: 国内

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

厚生労働科学研究費補助金(肝炎等克服緊急対策研究事業)
総合分担研究報告書(平成20年度～22年度)

肝炎・肝硬変に対する抗ウイルス剤以外の治療法に関する研究

研究分担者:久留米大学医学部 消化器疾患情報講座 講師 川口 巧

研究課題:肝疾患関連インスリン抵抗性に対する新規治療法の開発

研究要旨:慢性肝疾患患者は高インスリン血症を特徴とするインスリン抵抗性を高頻度に合併する。インスリンは線維芽細胞活性化や細胞増殖作用を有する事から、インスリン抵抗性は肝硬変の進展や肝癌を含む合併症の発症に関与する。肝疾患に特徴的なインスリン抵抗性の原因として、分岐鎖アミノ酸濃度の低下や骨格筋量の減少によるインスリン作用の減弱が報告されているが、未だそれらの病態に対する治療法は考案されていない。本研究の目的は、(1)糖尿病治療薬の肝発癌に及ぼす影響、(2)分岐鎖アミノ酸(BCAA)含有食品と(3)新規運動療法の肝疾患関連インスリン抵抗性に対する改善効果を検討することである。糖尿病治療薬が肝疾患に及ぼす影響を横断的研究により検討した結果、高齢、男性、肝硬変といった既知の肝発癌危険因子に加えて、インスリン製剤や第2世代スルホニル尿素(SU)剤の使用も、肝細胞癌と関連する独立した危険因子であることが明らかとなった。また、慢性肝疾患患者の栄養状態改善を目的に開発された“BCAA含有食品”および宇宙ステーション滞在にともなう筋萎縮予防を目的に開発された新規運動療法“ハイブリッド訓練”により、慢性肝疾患患者におけるインスリン抵抗性が改善する事を明らかにした。本研究事業により、インスリン製剤やSU剤は肝発癌に対して促進的に働く可能性が示された。また、肝疾患関連インスリン抵抗性に対する新規栄養および運動療法である“BCAA含有食品”と“ハイブリッド訓練”の有効性が示された。

A. 研究目的

肝臓は糖質代謝の中心臓器であり、慢性肝疾患患者は高頻度にインスリン抵抗性を合併する。インスリンは線維芽細胞活性化作用や、細胞増殖作用を有する事から、高インスリン血症を特徴とするインスリン抵抗性は肝疾患の病期進展や肝癌を含む合併症の発症に関与する。

肝疾患関連インスリン抵抗性の主な原因は、肝臓におけるインスリン作用の減弱であり、インスリン分泌能は保たれていると考えられている。また、慢性肝疾患にともなう分岐鎖アミノ酸濃度の低下や骨格筋量の減少もその原因と考えられている。このように、肝疾患関連インスリン抵抗性の原因は、生活習慣関連インスリン抵抗性のものとは異なり、

その病因に基づいた新規治療法の開発が必要である。

本研究の目的は、(1)糖尿病治療薬の肝発癌に及ぼす影響、(2)慢性肝疾患患者の栄養状態改善を目的に開発された“分岐鎖アミノ酸(BCAA)含有食品”および(3)宇宙ステーション滞在にともなう筋萎縮予防を目的に開発された新規運動療法“ハイブリッド訓練”のインスリン抵抗性改善効果を検討することである。

B. 研究方法

(1)糖尿病治療薬の肝発癌に及ぼす影響

外来通院中の患者で下記の基準を満たす 449名を対象とした。

【適応基準】

- ① Anti-HCV 陽性もしくは HCV-RNA 陽性
- ② 40 歳以上

【除外基準: 下記のいずれかに該当する者】

- ① B型慢性肝炎を合併する者
- ② 自己免疫性肝疾患を合併する者
- ③ 遺伝性肝疾患を合併する者
- ④ 1型糖尿病を合併する者
- ⑤ 急性膵炎もしくは慢性膵炎の既往を有する者
もしくは罹患中の者
- ⑥ ステロイド薬内服中の者
- ⑦ 転移性肝癌を合併する者
- ⑧ 胆管細胞癌を合併する者

肝細胞癌合併の有無により、肝癌群 (n = 230) もしくは非肝癌群 (n = 219) に群分けし、登録時に収集した血液生化学検査と糖尿病治療薬に関するデータをもとに、肝細胞癌と関連する因子を多変量解析にて検討した。

(2) BCAA 含有食品のインスリン抵抗性改善効果

下記の基準を満たす 12 名を対象とした。

【適応基準: 下記2項目を満たす者】

- ① ウイルス性慢性肝疾患患者
- ② 食事摂取量が保たれているにも関わらず、低アルブミン血症 (3.5 - 4.0 g/dL) を認める者

【除外基準: 下記のいずれかに該当する者】

- ① 肝性脳症を認める者
- ② 腹水を認める者
- ③ 肝細胞癌を認める者
- ④ 腎不全を認める者

BCAA 含有食品 (アミノフィール[®]・, 生活文化舎, 東京) 2 包を 90 日間連日投与し、BCAA 含有食品のインスリン抵抗性に及ぼす影響を前後比較試験にて検討した。

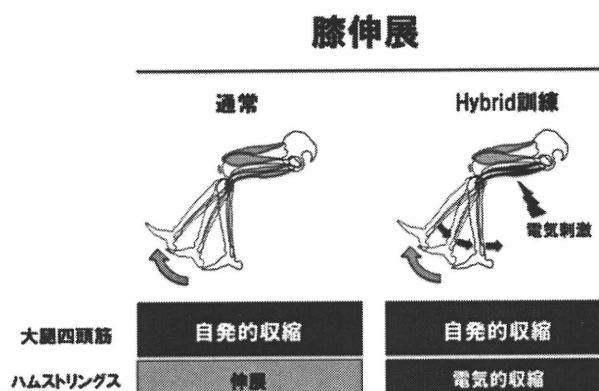
(3) 新規運動療法“ハイブリッド訓練”のインスリン

抵抗性改善効果

久留米大学病院 消化器病センターを受診した 136 名の NAFLD 患者のうち、生活指導を 3 ヶ月間行ったにも関わらず肝障害の改善を認めなかった 35 名を対象とした。

両大腿部の筋肉に対し、主動筋の自発的収縮に対し、拮抗筋を電氣的に収縮させることで抵抗を作り出す新規運動療法“ハイブリッド訓練 (図 1)”を 3 ヶ月間行った (1回 19 分・週 1~2 回; 12 名)。口頭にて 3 ヶ月間生活指導を行った NAFLD 患者をコントロール群 (23 名) とし、ハイブリッド訓練のインスリン抵抗性改善効果を比較検討した。

図1. ハイブリッド訓練のメカニズム



(倫理面への配慮)

本研究の研究内容はヘルシンキ宣言 (1975 年) に準じており、久留米大学倫理委員会にて承認を受けている。本研究では、通常の日常診療における医療従事者が行うべき守秘義務に加え、個人が識別できる情報 (I.D., 氏名) は、暗号化し、プライバシーの保護に留意した。また、本研究により得られたデータは本試験の目的以外には利用していない。

C. 研究結果

(1) 糖尿病治療薬の肝発癌に及ぼす影響

肝細胞癌に関連する独立危険因子を検討した結果、年齢 (60 歳以上)、男性、肝硬変といった既知の肝発癌危険因子に加えて、インスリン製剤や

第2世代スルホニル尿素(SU)剤の使用も、肝細胞癌と関連する独立した危険因子であった(HR 3.37, 95% CI 1.691 - 6.717, $P < 0.01$, 表1)。

表1. 肝細胞癌の独立危険因子 (n = 449)

Variable	Multivariate		
	Hazard ratio	95% CI	P value
年齢 (≥ 60 yr)	3.710	2.050 - 6.714	< 0.0001
男性	2.342	1.421 - 3.860	0.0008
肝硬変	4.935	2.739 - 8.891	< 0.0001
インスリン製剤もしくはSU剤(第2世代)	3.371	1.691 - 6.717	0.0006
アルブミン (< 3.5 g/dL)	1.729	1.011 - 2.957	0.0456
血小板 (< $1 \times 10^5 / \mu\text{L}$)	1.226	0.708 - 2.123	0.4664

(2) BCAA 含有食品のインスリン抵抗性改善効果

全症例を対象とした検討では、BCAA 含有食品投与後30日、60日、90日のHbA1c、インスリン値、HOMA-IRは投与前と比較して有意な変化を認めなかった。しかし、性別による層別解析を行った結果、男性群では、BCAA 含有食品投与後60日のインスリン値、HOMA-IRは投与前と比較して有意な低下を認めた(図2)。

(3) 新規運動療法“ハイブリッド訓練”のインスリン抵抗性改善効果

空腹時血糖とHbA1cはコントロール群とハイブリッド群の間で有意な変化を認めなかったが(図3A, B)、ハイブリッド群の空腹時インスリン値(-17.2 ± 8.4 vs. $3.4 \pm 2.8 \mu\text{U/mL}$; $P < 0.05$)とHOMA-IR値(-6.2 ± 3.2 vs. 0.4 ± 0.6 ; $P < 0.05$)はコントロール群と比較して有意に低下した(図3C, D)。

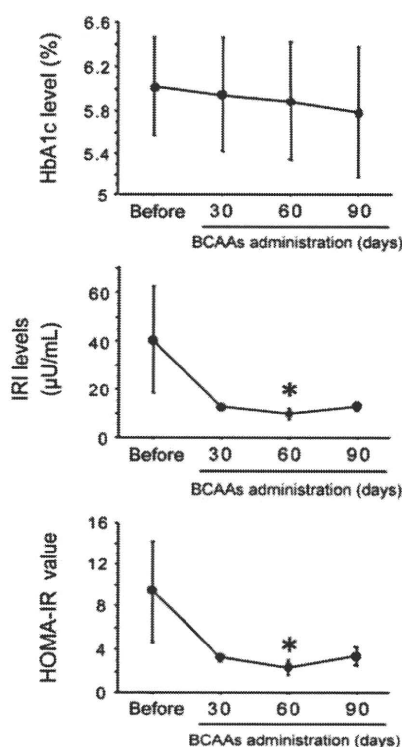


図2. BCAAのインスリン抵抗性改善効果

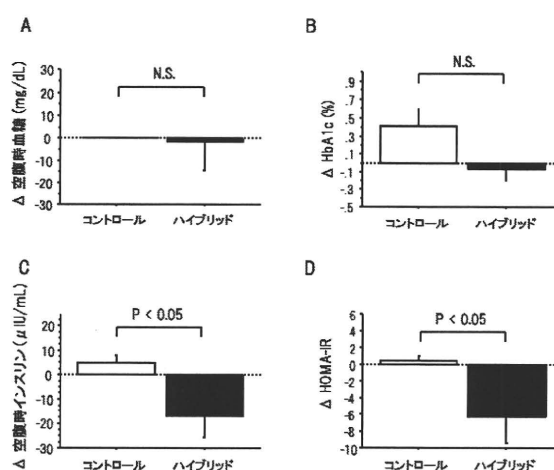


図3. ハイブリッド訓練のインスリン抵抗性改善効果

D. 考察

本研究事業により、(1)インスリン製剤や第2世代SU剤の使用はHCV関連肝細胞癌の独立した危険因子であること、(2)BCAA含有栄養剤は、男性の慢性ウイルス性肝疾患患者においてインス

リン抵抗性を改善すること、(3)ハイブリッド訓練は、NAFLD 患者のインスリン抵抗性改善効果を有する事が明らかとなった。

インスリン製剤や第 2 世代 SU 剤の使用が、HCV 関連肝細胞癌の独立した危険因子である理由は未だ明らかではないが、仮説としてインスリン製剤や第 2 世代 SU 剤使用による血中インスリン濃度の上昇が、肝発癌に促進的に働いたと考えられる。インスリンは mitogen-activated protein kinase を活性化し、細胞増殖を促すホルモンである。また、高インスリン血症では、強力な発癌因子である insulin-like growth factor (IGF)-1 とその受容体の結合が妨げられ、血清 IGF-1 濃度が上昇する。このように、インスリン抵抗性によって引き起こされた高インスリン血症と高 IGF-1 血症が肝発癌を促進したと考えられる。

また、BCAA 含有栄養剤摂取により、男性群では有意なインスリン抵抗性改善作用が認められた。性差によってインスリン抵抗性改善効果に差異がみられた理由として、性ホルモン的一种であるテストステロンの関与が考えられる。テストステロンは、チロシン合成酵素を活性化し、インスリン抵抗性を惹起するチロシンの産生を高める。一方、BCAA は、細胞内にチロシンを取り込むため、血中チロシン値は低下する。このように、BCAA は、テストステロンにより制御されているチロシンを減少させることにより、インスリン抵抗性を改善したと考えられる。

さらに、我々は、新規運動療法“ハイブリッド訓練”のインスリン抵抗性改善効果も明らかにした。その機序として、電気刺激により筋細胞の glucose transporter (GLUT)-1 および GLUT-4 の発現が亢進することや、嫌気的および好氣的解糖系酵素を有し糖質代謝に深く関わる type IIa 筋線維の割合が増える事が考えられる。また、近年、筋肉は内分泌臓器として認識され、Interleukin (IL)-6をはじめ様々なサイトカインを分泌する事が報告されている。このように、電気刺激による①GLUT の発現

亢進、②type IIa 筋線維の増加、③IL-6 を含むマイトカインの変化などにより、インスリン抵抗性が改善した可能性が考えられる。

E. 結論

本研究事業により、(1)インスリン製剤や第 2 世代 SU 剤の使用は、HCV 陽性肝細胞癌と関連する独立した危険因子であること、(2)BCAA 含有栄養剤は、男性の慢性ウイルス性肝疾患患者においてインスリン抵抗性を改善すること、(3)ハイブリッド訓練は、NAFLD 患者のインスリン抵抗性改善効果を有する事が明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawaguchi T, Nagao Y, Matsuoka H, Ide T, Sata M. Branched-chain amino acid-enriched supplementation improves insulin resistance in patients with chronic liver disease. *Int J Mol Med* 2008;22:105-12.
2. Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Mutou M, Ibi R, Shiraishi S, Okada T, Uchida Y, Otsuka M, Tonan T, Fujimoto K, Oriishi T, Tanaka S, Takakura M, Sata M. Supplement improves nutrition and stresses caused by examination-associated fasting in patients with liver cirrhosis. *Hepatol Res.* 2008;38:1178-85.
3. Kawaguchi T, Kuromatsu R, Ide T, Taniguchi E, Itou M, Sakata M et al. Thrombocytopenia, an important interfering factor of antiviral therapy and hepatocellular carcinoma treatment for chronic liver diseases. *Kurume Med J* 2009;56:9-15.
4. Kawaguchi T, Yamagishi S, Sata M. Branched-chain amino acids and pigment

- epithelium-derived factor: novel therapeutic agents for hepatitis c virus-associated insulin resistance. *Curr Med Chem* 2009,16:4843-57.
5. Nagao Y, Matsuoka H, Seike M, Yamasaki K, Kato J, Nakajima T, Miyazaki Y, Ohno T, Inuzuka S, Ohira H, Yokosuka O, Yatsunami H, Mori T, Honda K, Kawaguchi T, Ide T, Sata M. Knowledge of *Vibrio vulnificus* infection among Japanese patients with liver diseases: a prospective multicenter study. *Med Sci Monit* 2009,15:PH115-20.
 6. Kawaguchi T, Sata M. Importance of hepatitis C virus-associated insulin resistance: therapeutic strategies for insulin sensitization. *World J Gastroenterol* 2010,16:1943-52.
 7. Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Sumie S, Yamagishi S, Sata M. The pathogenesis, complications and therapeutic strategy for hepatitis C virus-associated insulin resistance in the era of anti-viral treatment. *Rev Recent Clin Trials* 2010,5:147-57.
 8. Kawaguchi T, Taniguchi E, Morita Y, Shirachi M, Tateishi I, Nagata E et al. Association of exogenous insulin or sulphonylurea treatment with an increased incidence of hepatoma in patients with hepatitis C virus infection. *Liver Int* 2010,30:479-86.
 9. Kawaguchi T, Yamagishi S, Itou M, Okuda K, Sumie S, Kuromatsu R et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits lysosomal degradation of Bcl-xL and apoptosis in HepG2 cells. *Am J Pathol* 2010,176:168-76.
 10. Kawaguchi T, Yamagishi SI, Sata M. Structure-function relationships of PEDF. *Curr Mol Med* 2010,10:302-11.
 11. Nagao Y, Matsuoka H, Kawaguchi T, Sata M. Aminofeel improves the sensitivity to taste in patients with HCV-infected liver disease. *Med Sci Monit* 2010,16:PI7-12.
 12. Sakata M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Nakayama A, Ishizaki S, Sonaka I et al. Oxidized albumin is associated with water retention and severity of disease in patients with chronic liver diseases. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2010,5:e247-e53.
 13. Sakata S, Kawaguchi T, Taniguchi E, Nakayama A, Ishizaki S, Sonaka I et al. Redox state of albumin is not associated with colloid osmotic pressure. *Molecular Medicine Reports* 2010,3:685-7.
 14. Fujimoto K, Kawaguchi T, Nakashima O, Ono J, Ohta J, Kawaguchi A et al. Periostin, a matrix protein, has potential as a novel serodiagnostic marker for cholangiocarcinoma. *Oncol Rep* 2011 in press.
 15. Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Oriishi T, Suetsugu T, Egashira R et al. Supplementation before Endoscopic Therapy for Esophageal Varices Reduces Mental Stress in Patients with Liver Cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2011 in press.
 16. Kawaguchi T, Itou M, Taniguchi E, Sakata M, Abe M, Koga H et al. Serum Level of Free Fatty Acids is Associated with Nocturnal Hypoglycemia in Cirrhotic Patients with HCV Infection: A Pilot Study. *Hepatogastroenterology* 2011 in press.
 17. Taniguchi E, Kawaguchi T, Itou M, Oriishi T, Ibi R, Torii M et al. Subjective global assessment is not sufficient to screen patients with defective hepatic metabolism. *Nutrition* 2011 in press.

18. Kawaguchi T, Shiba N, Maeda T, Matsugaki T, Takano Y, Itou M et al. Hybrid-Training of Voluntary and Electrical Muscle Contractions Reduces Steatosis, Insulin Resistance and IL-6 Levels in Patients with NAFLD. *J Gastroenterol* 2011 in press.
 19. Kawaguchi T, Shiba N, Takano Y, Maeda T, Sata M. Hybrid-Training of Voluntary and Electrical Muscle Contractions Decreased Fasting Blood Glucose and Serum Interleukin-6 Levels in Elderly People: A Pilot Study. *Appl Physiol Nutr Metab* 2011 in press.
 20. Kawaguchi T, Nagao Y, Sata M: Taste Alteration in Palliative Care. New York: CRC press; 2011 in press.
2. 学会発表
1. Morita Y, Taniguchi E, Kawaguchi T, Shirachi M, Iwamoto H, Ide T, Nagata E, Sata M. An association between use of sulfonylureas or exogenous insulin and the presence of hepatocellular carcinoma in hepatitis c patients with diabetes mellitus. 43th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver. Milano, Italy, 2008.
 2. Sakata M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Itou M, Abe M, Yanagimoto C, Miyajima I, Koga H, Harada H, Oriishi T, Sata M. Oxidized albumin is associated with water retention and severity of disease in patients with liver cirrhosis. Digestive Disease Week 2008 (Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases). San Diego, USA, 2008.
 3. Taniguchi E, Kawaguchi T, Morita Y, Sata M. Use of exogenous insulin or sulfonylureas is a potential risk factor for hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients with diabetes mellitus. The Liver Meeting® 2008 American Association for the Study of Liver Diseases's 59th Annual Meeting. San Francisco, USA, 2008.
 4. Itou M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Oriishi T, Sumie S, Mitsuyama K, Tsuruta O, Ueno T, Sata M. Decreased active glucagon-like peptide-1 and increased dipeptidyl peptidase-4 expression in patients with HCV-related insulin resistance. The Liver Meeting® 2008 American Association for the Study of Liver Diseases's 59th Annual Meeting. San Francisco, USA, 2008.
 5. Kawaguchi T, Taniguchi T, Morita Y, Shirachi M, Tateishi Y, Nagata E, Sata M. Use of exogenous insulin or sulfonylurea associated with an increased incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. 44th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver, Copenhagen, Denmark, 2009.
 6. Kawaguchi T, Yamagishi S, Itou M, Okuda K, Sumie S, Kuromatsu R, Taniguchi E, Koga H, Harada M, Ueno T, Sata M. Pigment Epithelium-derived factor suppresses apoptosis through lysosomal degradation of Bcl-xL in HepG2 cells. 60th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA, 2009.
 7. 川口巧, 志波直人, 佐田通夫. 無重力状態における筋萎縮予防“ハイブリッド訓練”の非アルコール性脂肪性肝障害に対する効果. 第13回 日本肝臓学会大会, 京都, 2009.
 8. 谷口英太郎, 川口巧, 佐田通夫. 肝疾患患者を対象とした握力による栄養状態のスクリーニング. 第13回 日本肝臓学会大会, 京都, 2009.

9. 坂田雅浩, 川口 巧, 安倍満彦, 谷口英太郎, 佐田通夫. ウイルス性慢性肝疾患における酸化型アルブミンと体水分貯留及び肝疾患重症度との関連. 第 13 回 日本肝臓学会大会, 京都, 2009.
10. 伊藤実, 川口 巧, 谷口英太郎, 居石哲治, 光山慶一, 鶴田 修, 上野隆登, 佐田通夫. 消化管ホルモンGLP-1 ミメティクス“exenatide”の不死化ヒト肝細胞の糖取り込み能におよぼす影響. 第 51 回 日本消化器病学会大会, 京都, 2009.
11. Kawaguchi T, Shiba N, Maeda T, et al. Hybrid-Training of Voluntary and Electrical Muscle Contractions Improves Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Reduces Insulin Resistance and Interleukin-6 Levels. 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA, 2010.
12. Kawaguchi T, Fujimoto K, Nakashima O, et al. Periostin, a Matrix Protein, is a Novel Serodiagnostic Marker for Cholangiocarcinoma. 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA, 2010.
13. Kawaguchi T, Yamagishi SI, Matsui T, et al. Branched-chain Amino Acid (BCAA) Treatment May Improve Insulin Resistance by Elevating Circulating Levels of Pigment Epithelium-derived Factor (PEDF) in Cirrhotic Patients with HCV Infection. 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA, 2010.
14. Kawaguchi T, Yatsushashi H, Watanabe H, et al. Data Mining Revealed Clinical Feature Profiling Associated with Staging of non HBV- and non HCV-related Hepatocellular Carcinoma. 61st Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases, Boston, USA, 2010.
15. Taniguchi E, Kawaguchi T, Itou M, Oriishi T, Sata M. Assessment of anti-obese effect in obese patients with metabolic disorders. 11th International Congress on Obesity, Stockholm, Sweden, 2010.
16. 川口巧, 谷口英太郎, 森田恭代, 白地美紀, 佐田通夫. 糖尿病治療薬とHCV陽性肝細胞癌の関連. 第 95 回日本消化器病学会九州支部例会, 福岡, 2010.
17. 川口 巧, 谷口英太郎, 佐田通夫. 糖尿病治療薬とHCV陽性肝細胞癌. 第 46 回日本肝臓学会総会, 山形, 2010.
18. 大津山樹理, 伊藤実, 武藤美智子, 末継拓郎, 荻原ゆかり, 川口巧, 谷口英太郎, 居石哲治, 内田夕希, 大塚百香, 永松あゆ, 田中粹子, 佐田通夫, 秋山良子, 小野緑. 肝癌・食道胃静脈瘤治療の栄養状態におよぼす影響. 第 2 回 日本静脈経腸栄養学会 九州支部学術集会, 福岡, 2010.
19. 後藤恵美子, 小川由美, 友永愛美, 川口巧, 谷口英太郎, 伊藤実, 居石哲治, 石橋紀子, 上田真理子, 佐田通夫, 平川道子. 消化器疾患患者における肥満の実態調査. 第 26 回日本静脈経腸栄養学会, 愛知, 2011.
20. 今永美波, 荻原ゆかり, 末継拓郎, 武藤芳哲子, 大津山樹理, 谷口英太郎, 伊藤実, 川口巧, 居石哲治, 内田夕希, 大塚百香, 田中粹子, 小野緑, 佐田通夫. 肝硬変患者に対する疾患・栄養療法・生活習慣認知からみた患者教室の有効性. 第 26 回日本静脈経腸栄養学会, 愛知, 2011.
21. 谷口英太郎, 川口巧, 伊藤実, 居石哲治, 今永美波, 荻原ゆかり, 末継拓郎, 武藤芳哲子, 大津山樹理, 内田夕希, 大塚百香, 田中粹子, 小野緑, 佐田通夫. 主観的包括的評価による栄