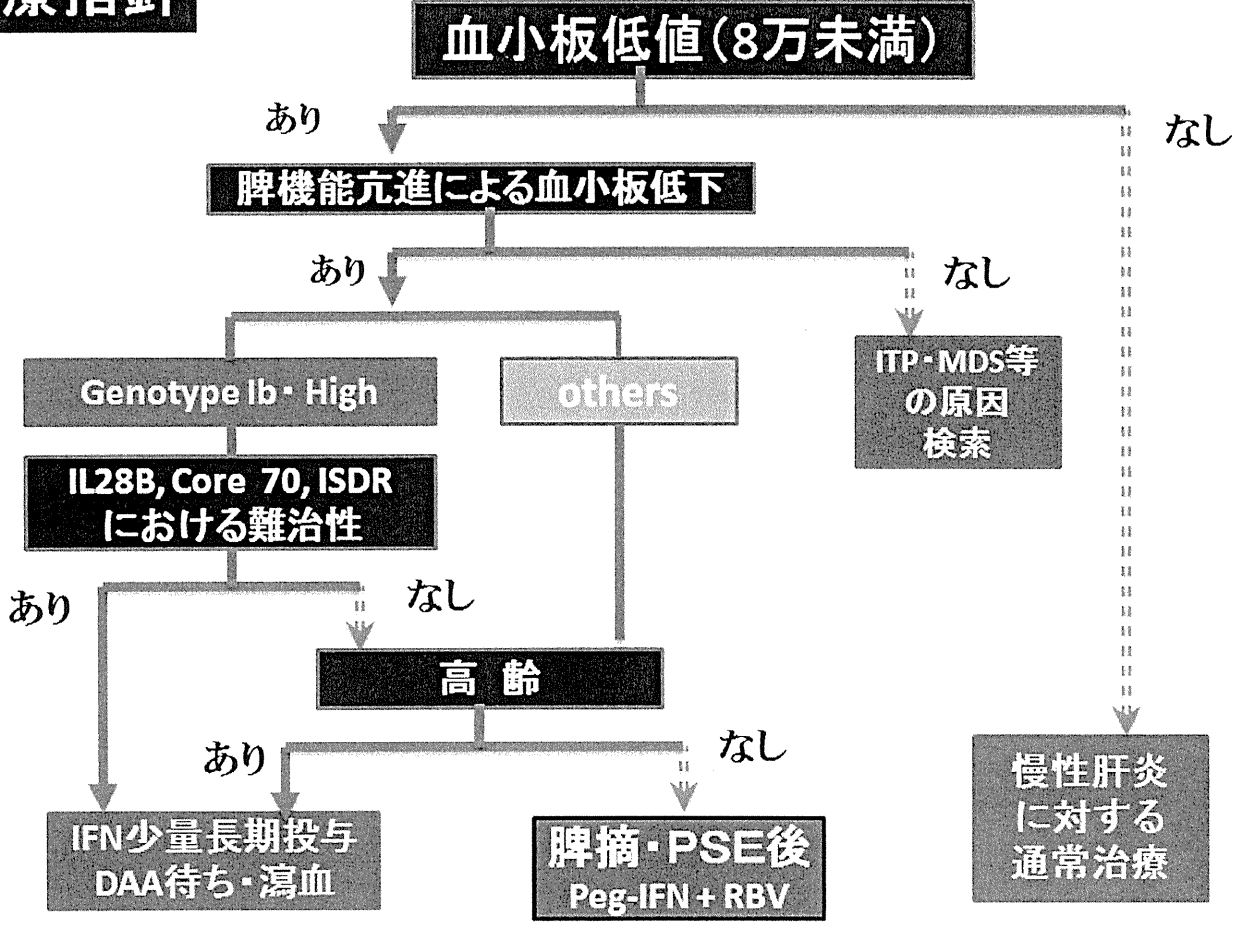


治療指針



II. 分担研究報告

血小板減少を有する肝硬変合併肝癌患者に対する脾摘併施肝切除の有用性

研究分担者 有井 滋樹（東京医科歯科大学 肝胆膵・総合外科 教授）

研究要旨 血小板減少、脾腫を有する肝硬変合併肝癌患者に対する肝切除は合併症頻度も高く、術後管理にもしばしば難渋する。本研究では上記病態を有する肝癌患者に対して脾摘併施肝切除が血小板増加、肝機能改善、インターフェロン（IFN）治療（主にC型肝硬変に対して）の忍容性向上をもたらすとの作業仮説を立て、これらを検証した。その結果、血小板増加、白血球増加が長期間持続し、一部の患者では肝機能が改善した。また、C型肝硬変治療のためのIFN投与の完遂率が向上し、肝切除後の生存率でも脾摘併施群では良好であった。脾摘の副作用としては軽度の門脈血栓、肺炎球菌にたいする感受性増大などが危惧されたが重篤な合併症は皆無であった。以上より、脾摘併施肝切除は血小板減少、脾腫を有する肝硬変合併肝癌患者に対する有用な治療法であることが示された。

A. 研究目的

肝硬変合併肝癌患者で脾機能亢進のため血小板低下が求められる場合、脾摘が血小板増加、肝機能改善、IFN 忍容性向上をもたらすとの作業仮説を検証することを目的とする。

B. 研究方法

末梢血の血小板8万/ml以下で脾腫を有する肝硬変合併肝癌患者を対象として脾摘出術の血小板増加作用、肝機能改善効果、IFN 忍容性につき検討する。脾摘出術は一般には肝切除と同時にを行うが、肝切除2-4週間前に行うこともある（2期的手術）。

（倫理面への配慮）ヘルシンキ宣言を遵守し、個人情報保護の立場から本研究を行った。

C. 研究結果

45例に上記手術を施行した。その結果、血小板および白血球は全例増加し、最長5年の観察期間中その値は維持された（血小板；5万/mlから15万/ml、白血球；3000/ μ から5000/ μ l）。

肝機能については血小板が8万/ml以上を有し肝

機能が同等な42例を対照とした場合、脾摘群では1年後の術後肝機能Child-Pugh score)が改善した症例は6例（13.3%）、不変18例（40.0%）、増悪21例（46.7%）、一方、対照群では各々、0例（0%）、27例（46.3%）、15例（35.7%）であり、脾摘群にのみ肝機能改善症例があった。IFN 忍容性については脾摘群では7例にIFN 施行し、全例が完遂したのに対し、対照群では3例に行ったがすべて有害事象により中止した。脾摘の合併症としては門脈血栓症が1例に認められたが臨床、特別な症状、肝機能低下は見られなかった。肺炎球菌感染は肺炎球菌ワクチン接種前の症例に1例認められたが、抗生剤により治癒した。

肝切除後の生存率を比較すると脾摘群の5年生存率は77.5%、対照群では51.6%であり、前者が良好な傾向があったが、両者間に統計学的有意差はない。少なくとも脾摘を併施することによる生存率の低下はないと考えられた。

D. 考察

脾摘術は血小板低下を示す肝硬変合併肝癌患者において、確実にかつ長期間にわたり血小板増加

(正常化)、白血球増加(正常化)をもたらすことが明らかとなった。増加の主たる要因は腫大した脾にプールされている血小板、白血球がなくなるために末梢血中レベルが上昇することによると考えられた。肝機能の改善効果は一部の症例に認められた。すべてが進行性疾患である肝硬変患者であり、肝切除後についても肝機能は良好になることは一般には考えがたいが、脾摘後一部の症例に肝機能の改善が見られた。脾摘による肝機能改善作用の機序については不明であるが、腫大した脾から放出されるサイトカインなどの液性因子の関与、脾摘による門脈圧亢進の軽減(脾摘により3-4mg/Hg低下)が関与している可能性が考えられる。動物実験においては脾摘によって肝切除の際の肝逸脱酵素上昇の抑制、肝再生の促進、また脾動脈遮断により肝の阻血再灌流障害の軽減を示す知見も得ている。長期予後に与える影響をみるため5年生存率を検討したが、脾摘群が対照群に比べて良好な傾向があり、少なくとも脾摘が免疫能を減弱させて長期予後を悪化させるといったことはないと考えられた。脾摘の副作用については術後の門脈血栓症、肺炎球菌に対する感受性亢進、易感染性の惹起などが予測されるが、ヘパリンの使用、肺炎球菌ワクチンの術前接種などにより回避することができると考えられた。

E. 結論

血小板低下、脾腫を有する肝硬変合併肝癌症例に対して肝切除とともに脾摘を行うことは血小板増加をもたらし、その後のIFN治療(C型肝硬変などに対して)の忍容性を高めることが示された。肝機能改善効果は限定的であったが、長期予後についての悪影響は認めず、5年生存率は向上する傾向がみられた。以上より、上記病態を有する肝癌患者に対する脾摘併施肝切除は有効な治療戦略と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Murakata. A, Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Noguchi N, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanaka H, Arii S. Gene expression signature of the gross morphology in hepatocellular carcinoma *Ann Surg.* 253:94-100, 2011
2. Yoshitake K, Tanaka S, Mogushi K, Aihara A, Murakata A, Matsumura S, Mitsunori Y, Yasen M, Ban D, Noguchi N, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanaka H, Arii S. Importin- α 1 as a novel prognostic target for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 18:2093-2103, 2011
3. Eguchi S, Kanematsu T., Arii S., Omata M, Kudo M, Sakamoto M, Takayasu K, Makuuchi M, Matsuyama Y, Monden M, for the Liver Cancer Study Group of Japan Recurrence-free survival more than 10 years after liver resection for hepatocellular carcinoma *Brit J Surg* 98:552-557, 2011
4. Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S., Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue T; Japan NASH Study Group, Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *ClinGastroenterol Hepatol* 9:428-433, 2011
5. Tanaka S, Mogushi K, Yasen M, Ban D, Noguchi N, Kudo A, Nakamura N, Tanaka H, Yamamoto M, Kokudo N, Takayama T, Kawasaki S, Sakamoto M, Arii S. Oxidative stress pathways in non-cancerous human liver tissue to predict hepatocellular carcinoma recurrence; a prospective multi-center study. *Hepatology*, 54:1273-1281, 2011.
6. Miyaguchi K, Fukuoka Y, Mizushima H, Yasen

M, Nemoto S, Ishikawa T, Uetake H, Tanaka S, Sugihara K, Arii S., Tanaka H. Genome-wide integrative analysis revealed a correlation between lengths of copy number segments and corresponding gene expression profile. *Bioinformatics* 7: 280-284, 2011.

7. Kudo A, Igari T, Kumagai J, Tanaka S, Ban D, Noguchi N, Irie T, Nakamura N, Arii S. A simple index to predict liver functional reserve after hepatectomy. *Hepato gastroenterology*. in press.
8. Tanaka S, Arii S. Molecular targeted therapy for hepatocellular carcinoma in the current and potential next strategies. *Journal of Gastroenterology*, 46:289-96, 2011.
9. Mitsunori Y, Tanaka S, Nakamura N, Ban D, Irie T, Noguchi N, Kudo A, Iijima H, Arii S. Contrast enhanced intraoperative ultrasound for hepatocellular carcinoma: High sensitivity of diagnosis and therapeutic impact. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, in press.

2. 学会発表

1. 入江 工, 中村典明, 伴 大輔, 野口典男, 工藤 篤, 田中真二, 有井滋樹, 堀川三郎. 肝硬変合併肝癌手術に対する脾摘の効果 - 臨床と動物実験モデルでの検討. 第 111 回日本外科学会定期学術集会, 東京, 2011.5. (ポスターセッション)
2. 入江 工, 中村典明, 伴 大輔, 野口典男, 工藤 篤, 田中真二, 有井滋樹, 猪狩 亨. 脾摘術が再発肝癌切除時の肝線維化進行に与える影響について. 第 66 回日本消化器外科学会総会, 名古屋, 2011.7.14 (ミニオーラル)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし。

2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

「全身倦怠感の定量評価を指標とした血小板低値例への IFN 治療の評価」に関する研究

研究分担者 山本 和秀（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授）

研究要旨 C 型慢性肝炎・肝硬変・肝細胞癌症例 205 人で QOL をアンケート(SF-36v2)により調査し、線維化や血小板数などの患者因子と QOL スコアの関連を評価した。線維化進行例や低血小板数症例で QOL スコア低値例が多く、多変量解析では血小板数と HCVRNA 量が QOL スコアとの有意な相関を認めた。また、血小板低値（10 万/ μ L 未満）の C 型慢性肝炎例について、治療前後の QOL を評価した。血小板低値群では対照群（血小板 10 万/ μ L 以上）に比較して、インターフェロン治療前に既に身体的・精神的 QOL の低下がみられ、インターフェロン治療により更に低下していた。特に治療中にウイルス消失の得られなかった症例でその傾向を認めた。血小板低値例では QOL 低下に対する対策が重要と考えられる。

共同研究者

岩崎良章 岡山大学保健管理センター 准教授

池田房雄 岡山大学大学院分子肝臓病学 助教

A. 研究目的

血小板数低値例に対するインターフェロン治療時の全身倦怠感を検討し、治療法・治療効果との関連を解析することにより、副作用軽減の方策開発の一助とする。

B. 研究方法

2005～2010 年の 5 年間に当院入院加療した C 型慢性肝炎・肝硬変・肝細胞癌症例 205 人で QOL をアンケート(SF-36v2)により調査し、線維化や血小板数などの患者因子と QOL スコアの関連を評価した。また、血小板低値（10 万/ μ L 未満）症例を対象に、インターフェロン(IFN)治療前後の QOL を調査し血小板以外の背景をマッチさせた対照例（血小板 10 万/ μ L 以上）も含め治療に及ぼす影響を解析・評価した。（倫理面への配慮）当該施設の IRB の承認が得られている。

C. 研究結果

C 型慢性肝炎・肝硬変・肝細胞癌症例 205 人での SF-36v2 による QOL 調査結果では、線維化進行例($p=0.02$)や低血小板数症例($p<0.001$)で QOL スコア低値例が多く、多変量解析では QOL スコア低値と血小板数 10 万/ μ L 未満(リスク比 2.56、 $p=0.004$)および HCVRNA 量 5logIU/mL 未満(リスク比 1.67、 $p=0.028$)が有意な相関を認めた。血小板低値群($n=24$)においては、対照群($n=24$)に比較して IFN 治療前に QOL スコアがやや低い傾向にあり、治療経過においていずれにおいても QOL スコアが低下した。

QOL スコア低下率に明らかな差を認めなかった。IFN 治療成績への関与では、対照群については IFN 治療中にウイルス消失が得られた症例(non-NR 症例)と得られなかった症例(NR 症例)で治療前の QOL スコア、治療中の変化に明らかな差を認めなかった。一方、血小板低値群の中でも non-NR 症例は治療前の QOL スコアや治療中の変化も対照群と明らかな差を認めなかったが、NR 症例では QOL スコアが治療前から低く、治療中も低値で推移、IFN 治療終了後の QOL の回

復が血小板低値群で遅い傾向にあった。血小板低値群では IFN 治療 NR 症例で QOL スコアが低い傾向を認めた。

D. 考察

血小板低値の C 型慢性肝炎例では、身体的精神的 QOL スコアが低い事が明らかとなった。特に血小板低値群で IFN 治療前の QOL スコアが低値の症例では IFN 治療成績も NR である傾向にあるため、元々 QOL スコアの低下を認める症例では IFN 治療前に QOL スコアを改善する配慮が必要と考えられる。IFN 治療成績と QOL との関連について今後更に症例数を増やして継続評価を行い、治療成績予測因子としての有用性を確立する。

E. 結論

血小板低値の C 型慢性肝炎例では、身体的のみならず精神的な QOL の低下が見られ、IFN 治療によりさらに低下する。IFN 治療に際して QOL への十分な配慮が必要である。

F. 健康危険情報

特記すべき事なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Iwasaki Y, et al. 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. *Hepatol Int* 2009;3(3):468-79.
- 2) Tanioka D, et al. Factors associated with adherence to combination therapy of interferon and ribavirin for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2009;29(5):721-9.
- 3) 岩崎良章ほか 慢性ウイルス肝炎に対する抗ウイルス療法 C 型肝硬変のインターフ

ェロン療法 カレントセラピー
2010;28(8):735-740.

- 4) 岩崎良章ほか C 型慢性肝炎(1 型高ウイルス量)に対する peg-IFN/RBV 療法における非著効例の解析と対策 *消化器内科* 2010;50(6):565-568.
 - 5) 岩崎良章ほか C 型肝炎 症例別にみたインターフェロン治療の実際 高齢者 *消化器の臨床* 2010;13(3):277-282.
 - 6) 岩崎良章ほか ガイドラインの補完 C 型肝炎に対する Add-On 療法の可能性について *肝・胆・膵* 2010;60(2):213-221.
 - 7) 山本和秀ほか Partial splenic embolization facilitates the adherence to peginterferon in chronic hepatitis C with thrombocytopenia. *Intern Med.* 2011;50:2731-2736.
 - 8) 岩崎良章, 池田房雄, 山本和秀 C 型肝炎 C 型慢性肝炎に対する治療学の進歩 C 型慢性肝炎に対するインターフェロン療法 PEG-IFN・リバビリン併用療法を中心に I FN の副作用とその対策 *日本臨床 69 巻増刊 4 新時代のウイルス性肝炎学* 215-220
 - 9) 池田房雄, 岩崎良章, 山本和秀 C 型慢性肝炎に対する治療学の進歩 高齢者の C 型慢性肝炎に対する治療 *日本臨床 69 巻増刊 4.* 221-226
- ##### 2. 学会発表
- 1) 岩崎良章、他. 1 型高ウイルス量の C 型慢性肝炎に対するペグインターフェロン+リバビリン併用療法における効果関連因子の解析. 第 95 回日本消化器病学会総会
 - 2) 池田房雄, 山本和秀, 岩崎良章ほか 第 18 回日本門脈圧亢進症学会総会, 血小板減少を伴う C 型慢性肝炎・肝硬変症例へのインターフェロン治療に関する QOL 評価の解析

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

造影超音波による脾摘効果予測に関する検討
非侵襲的肝線維化診断方法に関する研究

研究分担者 工藤 正俊（近畿大学医学部消化器内科 主任教授）

研究要旨

①ソナゾイドを用いた造影超音波検査における post-vascular phase は、肝の網内系細胞の貪食能を反映する。肝臓の血流動態に密接に関連のある脾臓摘出の肝予備能に与える影響が、本手法により定量的に評価可能である可能性が示唆された。

②C型慢性肝炎の症例の肝生検を結果と FibroScan および Real-time Tissue Elastography (RTE) の有用性を検討した。RTE は、炎症・黄疸・鬱血などの影響を受けない優れた非侵襲的肝硬度測定方法であり、PSE や脾臓摘出術（脾摘）の適切な対象者の絞り込みに有用である。

A. 研究目的

①脾臓摘出が肝予備能に与える影響について、造影超音波検査にて検討を行った。

②非侵襲的肝硬度測定方法が確立できれば脾摘症例の絞り込みが可能である。

B. 研究方法

①脾摘前後の肝輝度と肝-脾輝度比（肝輝度／脾輝度）の変化を肝予備能と比較検討した。

②肝生検結果と FibroScan および Real-time Tissue Elastography (RTE) を用いて肝硬度を測定し、肝生検組織診断結果と比較した。

（倫理面への配慮）

本研究は当院倫理委員会にて承認された。

C. 研究結果

①脾摘後に肝予備能の改善を認めた1例では、術後の肝輝度が上昇を認めたのに対し、肝予備能の悪化を認めた2例では肝輝度は低下および不変であった。また、肝予備能が改善した症例では肝-脾輝度比は、1未満であったが、悪化した2例では1未満、1以上を示した症例が1例ずつであ

った。

②FibroScan および RTE と新犬山分類 F Stage は共に有意な相関関係を示した。いずれの stage 間でも有意差を認めた。

AUROC は、RTE の方が高値であった。

D. 考察

①症例を重ねて検討が必要である。

②Real-time Tissue Elastography は、炎症・黄疸・鬱血などの影響を受けない優れた非侵襲的肝硬度測定方法である。

E. 結論

①超音波造影検査は脾摘後の肝予備能を予測できる可能性がある。

②RTE は脾摘の適切な対象を予測する上で有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

①なし

②

- 1) Ando K, Kim SR, Imoto S, Nakajima T, Mita K, Fukuda K, Taniguchi M, Sasase N, Muramatsu A, Matsuoka T, Kudo M, Hayashi Y: Acute pancreatitis associated with pegylated interferon and ribavirin treatment of chronic hepatitis C, genotype 1b with high viral load. *Case Rep Gastroenterol* 3: 372-376, 2009.
- 2) Wada M, Marusawa H, Yamada R, Nasu A, Osaki Y, Kudo M, Nabeshima M, Fukuda Y, Chiba T, Matsuda F: Association of genetic polymorphisms with interferon-induced haematologic adverse effects in chronic hepatitis C patients. *J Viral Hepatol* 16: 388-396, 2009.
- 3) Kim SR, Imoto S, Mita K, Taniguchi M, Sasase N, Muramatsu A, Kudo M, Kitai S, El-Shamy A, Hotta H, Hayashi Y: Pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for chronic hepatitis C with high viral load of serum hepatitis C virus RNA, genotype 1b, discontinued on attaining sustained virological response at week 16 after onset of acute pancreatitis. *Digestion* 79: 36-39, 2009.
- 4) Chung H, Watanabe T, Kudo M*, Chiba T: Hepatitis C virus core protein induces homotolerance cross-tolerance to Toll-like receptor ligands by activation of Toll-like receptor 2. *J Infect Dis* 202: 853-861, 2010.
- 5) Kim SR, Imoto S, Kudo M, Nakajima T, Ando K, Mita K, Fukuda K, Hong HS, Lee YH, Nakashima K, Shoji I, Nagano-Fujii M, Hotta H, Hayashi Y: Autoimmune thrombocytopenic purpura during pegylated interferon α treatment for chronic hepatitis C. *Intern Med* 49: 1119-1122, 2010.
- 6) Tatsumi C, Kudo M*, Ueshima K, Kitai S, Ishikawa E, Yada N, Hagiwara S, Inoue T, Minami Y, Chung H, Maekawa K, Fujimoto K, Kato M, Tonomura A, Mitake T, Shiina T: Non-invasive evaluation of hepatic fibrosis for type C chronic hepatitis. *Intervirology* 53: 76-81, 2010.
- 7) Yada N, Kudo M*, Chung H, Hayaishi S, Takita M, Ueda T, Tatsumi C, Hatanaka K, Kitai S, Ishikawa E, Inoue T, Hagiwara S, Ueshima K: PEG-IFN α /RBV combination therapy for chronic hepatitis C patients increases serum ferritin level while it improves sustained viral response rate. *Intervirology* 53: 60-65, 2010.
- 8) Ueda T, Chung H, Kudo M*, Ishikawa E, Hayaishi S, Tatsumi C, Inoue T, Yada N, Hagiwara S, Minami Y, Ueshima K: Prolonged PEG-IFN and RBV is effective in patients with HCV genotype 1 and high viral load who achieved virological response later than 24 weeks. *Intervirology* 53: 55-59, 2010.
- 9) Sasase N, Kim SR, Kudo M, Kim KI, Taniguchi M, Imoto S, Mita K, Hayashi Y, Shouji I, El-Shamy A, Hotta H: Outcome and early viral dynamics with viral mutation in PEG-IFN/RBV therapy for chronic hepatitis in patients with high viral loads of serum HCV RNA genotype 1b. *Intervirology* 53: 49-54, 2010.
- 10) Kim SR, Imoto S, Kudo M, Mita K, Taniguchi M, Kim KI, Sasase N, Shouji I, Ngano M, El-Shamy A, Hotta H, Nagai T, Nagata Y, Hayashi Y: Double-filtration plasmapheresis plus IFN for non-su

stained virological response to previous combination therapy: early viral dynamics. *Intervirology* 53: 44-48, 2010.

- 11) Chung H, Ueda T, Kudo M*: Changing trends in hepatitis C infection over the past 50 years in Japan. *Intervirology* 53: 39-43, 2010.
- 12) Hayaishi S, Chung H, Kudo M, Ishikawa E, Takita M, Ueda T, Kitai S, Inoue T, Yada N, Hagiwara S, Minami Y, Ueshima K: Oral branched-chain amino acid granules reduce the incidence of hepatocellular carcinoma and improve event-free survival in patients with liver cirrhosis. *Digest Dis* 29: 326-332, 2011
- 13) Chung H, Watanabe T, Kudo M, Chiba T: Correlation between hyporesponsiveness to Toll-like receptor ligands and liver dysfunction in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Viral Hepatol* 18: e561-567, 2011
- 14) Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Nakajima T, Ando K, Fukuda K, Otono Y, Kim KI, Ohtani A, Sugimoto K, Hasegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Hotta H, Maekawa Y, Hayashi Y, Kudo M: Correlation between insulin resistance and outcome of pegylated interferon and ribavirin therapy, hepatic steatosis, hepatic fibrosis in chronic hepatitis C-1b and high viral load. *Digestion* 84: 5-9, 2011
- 15) Kim SR, Saito J, Imoto S, Komaki T, Nagata Y, Kim KI, Sasase N, Kimura N, Sasatani K, Konishi E, Hasaegawa Y, Fujinami A, Ohta M, Ei-Shamy A, Tanaka Y, Sugano M, Sakashita M, Nakamura A, Tsuchida S, Makino T, Kawada T, Nakajima T, Morikawa T, Muram

atsu A, Kasugai H, Hotta H, Kudo M: Double-filtration plasmapheresis plus interferon- β for HCV-1b patients with non-sustained virological response to previous combination therapy. *Digestion* 84: 10-16, 2011

- 16) Takita M, Hagiwara S, Arizumi T, Hayaishi S, Ueda T, Kitai S, Yada N, Inoue T, Minami Y, Chung H, Ueshima K, Sakurai T, Kudo M: Association of interleukin-28B and hepatitis C genotype 1 with a high viral load and response to pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Digestion* 84: 56-61, 2011

2. 学会発表

①なし

②矢田典久、工藤正俊. 日本超音波医学会第84回学術集会特別演題企画 硬さの基礎 硬さを測る方法を整理して理解する「肝疾患診断と硬さ計測」-各モダリティにおける測定原理と結果の解釈-

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

インターフェロン（IFN）少量長期投与における酸化ストレスと鉄代謝-基礎的、臨床的検討

分担研究者 日野 啓輔（川崎医科大学 肝胆膵内科学 教授）

研究要旨 最近 HALT-C study において肝線維化が進展した C 型慢性肝炎に対するインターフェロン（IFN）少量長期投与の肝発癌抑制効果が示された。しかし、その発癌抑制機序については不明のままである。そこで C 型肝炎の肝発癌機序と密接な関係にある酸化ストレス、鉄代謝の観点から IFN の肝発癌抑制効果について検討した。

臨床的検討：IFN 無効、年齢などの理由により HCV 排除を目指さない C 型慢性肝炎患者のうち同意の得られた症例に対して PEG-IFN α 2a 90 μ g の皮下注射を週 1 回行い（IFN 群）、3 ヶ月ごとに酸化ストレスマーカーと鉄代謝関連マーカーを測定し、同意の得られなかった症例をコントロールとした。登録を行った IFN 群 10 例とコントロール 12 例では開始前の臨床背景に差を認めなかった。36 週目まで経過観察し得た結果では、IFN 群はコントロールに比べて ALT 値が 36 週目、AFP 値が 24、36 週目、血中の酸化ストレスマーカーである dROM が 24、36 週目に有意に低く、鉄代謝を負に制御する hepcidin は 12、24、36 週目に有意に高かった。

基礎的検討：8 週齢の HCV トランスジェニックマウス（HCV TgM）を鉄過剰餌で 24 週飼育後、マウス IFN（ 1×10^5 IU）を連日 5 日間投与し肝を摘出した。IFN 投与群は ALT 値、肝内鉄濃度、dROM が有意に低く、hepcidin 値/肝内鉄濃度比、血中における酸化ストレスに対する抗酸化能（BAP/dROM）比は有意に高かった。さらに、IFN 群は血清、肝臓ともに IL-6 値が高く、肝臓内の STAT3 のリン酸化が亢進していた。

結論：IFN は IL6/STAT3 の系を介して hepcidin の転写を活性化し肝内鉄濃度を下げ、酸化ストレスを軽減した。これは IFN の肝発癌抑制機構のひとつである可能性が示唆された。

研究協力者

是永匡紹 川崎医科大学 肝胆膵内科学 准教授

A. 研究目的

血小板低値の C 型慢性肝炎は肝線維化進展症例が多く、肝発癌抑制の観点からも C 型肝炎ウイルス（HCV）排除を目指した抗ウイルス療法の適応であることが多い。しかし、一方で血小板低値のためインターフェロン（IFN）による更なる血小板数の減少が危惧され、十分量の IFN 投与が行えずに HCV 排除が不成功に終わる場合も多い。このため摘脾や脾動脈部分塞栓術を行い、血

小板数を増加させた後に IFN 治療を行う場合も多いが、HCV 排除を目指すのではなく、肝発癌抑制を目的として IFN の少量長期投与が行われることもしばしば認められる。

本邦ではいくつかの retrospective な大規模コホートにおいて、IFN 治療でたとえ sustained viral response (SVR) が得られなくても、治療終了後のトランスアミナーゼが安定化している症例は肝発癌が抑制されることが明らかにされてきた。加えて、線維化進展例の C 型慢性肝炎に対する IFN 少量長期投与の病態進展抑制効果を前向きに検証した HALT-C study において、約 8

年間の経過観察の後に肝硬変症例に対しては IFN 少量長期投与が肝発癌抑制効果を示すことが明らかとなった。しかし、HCV 排除を伴わない IFN 投与がどのようにして肝発癌を抑制するのかその機序については不明のままである。

C 型慢性肝疾患からの肝発癌において酸化ストレスが重要な役割を果たすことはよく知られている。さらに、われわれは C 型慢性肝疾患において鉄代謝異常に伴う肝内の鉄蓄積が酸化ストレス増強因子となり、肝発癌を促進させることを明らかにしてきた。そこで本分担研究においては IFN 少量長期投与がどのように肝発癌抑制効果を発揮するのかを明らかにする目的で、IFN 少量投与時における酸化ストレス、鉄代謝の変化について臨床的ならびに基礎的に検討を行った。

B. 研究方法

1. 臨床的検討

過去の IFN 治療が無効、ペグインターフェロン＋リバビリン治療の null responder、高齢などの理由で HCV 排除を目指さない C 型慢性肝炎患者のうち、IFN 少量長期投与の同意が得られた症例に対して、PEG-IFN α 2a 90 μ g の皮下注射を週 1 回行い (IFN 群)、通常の血液検査に加えて 3 ヶ月ごとに酸化ストレスマーカーと鉄代謝関連マーカーを測定した。なお、IFN 少量長期投与の同意が得られなかった症例をコントロールとした。本研究は「ヘルシンキ宣言」、厚生労働省「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、川崎医科大学倫理委員会の承認を得て行った。

2. 基礎的検討

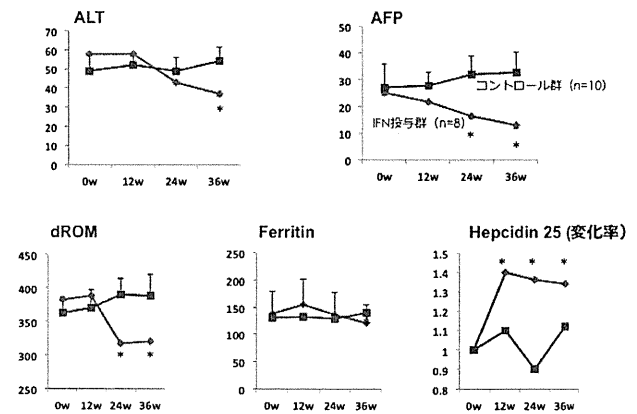
8 週齢の HCV 全遺伝子が組み込まれたトランスジェニックマウス (HCV TgM) を 24 週間鉄過剰餌 (carbonyl iron 225 mg/kg diet) で飼育後、マウス IFN (1 \times 10⁵ IU) を連日 5 日間投与して肝臓を摘出し、酸化ストレスと鉄代謝関連マーカーを測定した。

C. 研究結果

1. 臨床的検討

IFN 群 10 例、コントロール群 12 例を登録したが登録開始時の臨床的背景に差を認めなかった。このうち 36 週まで IFN 投与あるいは経過観察が可能であった IFN 群 8 例、コントロール群 10 例について血液生化学検査、酸化ストレスマーカー、鉄代謝関連マーカーを比較検討した。IFN 群はコントロール群に比べて血清 ALT 値が 36 週目、AFP 値が 24 週、36 週目に有意に低かった。また、IFN 群は血液中の酸化ストレスマーカーとして dROM (ヒドロキシペルオキシド ; R-OOH の量) が 24 週、36 週目で有意に低く、鉄吸収を抑制するペプチドホルモンである hepcidin の血清濃度が 12 週、24 週、36 週目で有意に高かった。しかし、血清フェリチン値は両群間で明らかな差を認めなかった (図 1)。

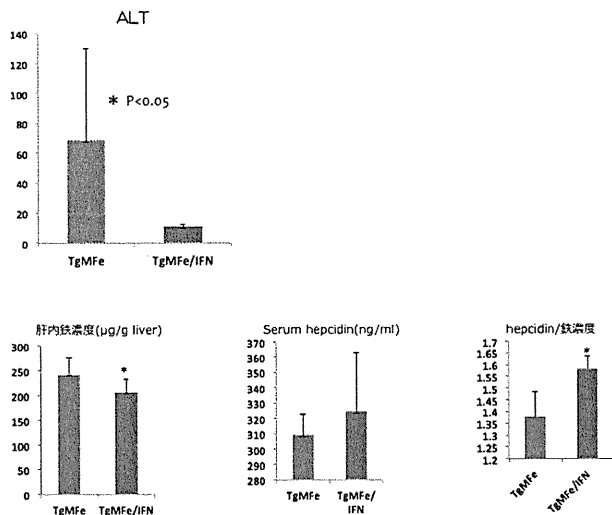
図 1



2. 基礎的検討

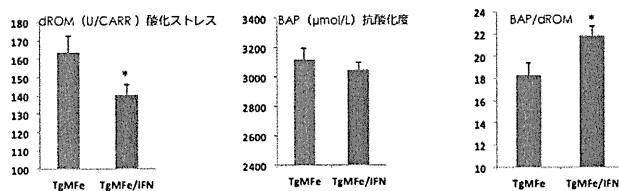
IFN 投与マウスはコントロールに比べて血清 ALT 値、肝内の鉄濃度が有意に低く、hepcidin 値/肝内鉄濃度比は有意に高かった (図 2)。

図 2



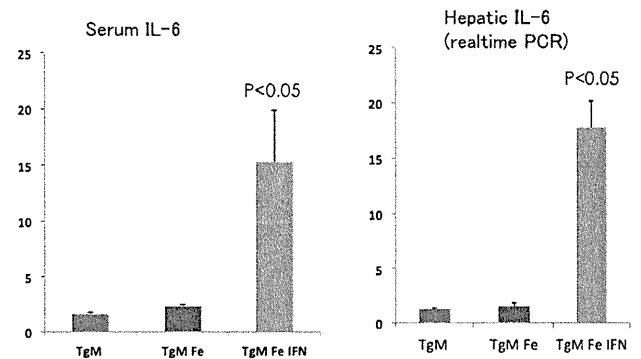
血清中の酸化ストレスマーカーである dROM は IFN により有意に低下し、酸化ストレスに対する抗酸化能は (dROM/BAP) 有意に上昇しており、hepcidin の上昇による鉄代謝改善により酸化ストレスが改善していると考えられた (図 3)。

図 3



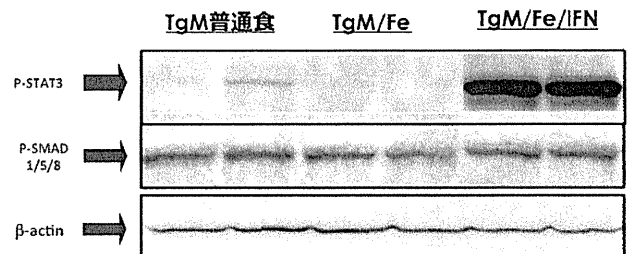
IFN により hepcidin の発現が亢進していたので、hepcidin の転写調節シグナルのひとつである IL-6/STAT3 の系について検討した。図 3 に示すように IFN 投与により血清中 IL-6 濃度および肝内 IL-6 mRNA 発現量が有意に上昇していた (図 4)。

図 4



続いて肝臓内の STAT3 のリン酸化について検討を行ったところ、IFN 投与により明らかに亢進していた。一方、もうひとつの hepcidin 転写調節シグナルである BMP/SMD の系について検討する目的で、SMAD のリン酸化についても解析したが IFN による変化は認めなかった (図 5)。

図 5



D. 考察

HALT-C study の結果を受けて線維化が進展した C 型慢性肝炎に対する IFN 少量長期投与の肝発癌抑制効果は広く認められつつある。しかし、HCV 排除を伴わないにもかかわらず肝発癌を抑制する機序はこれまで明らかにされていない。今回の分担研究において IFN は IL-6 の発現を亢進させ C 型慢性肝炎に付随する鉄代謝異常を改善し、酸化ストレスを抑制する可能性が示唆された。Hepcidin の転写を亢進させ鉄吸収を抑制するこ

とで肝内の鉄含有量が低下すると考えられるが、鉄濃度の低下が酸化ストレス、さらには酸化的 DNA 障害を抑制するのではないかと推察される。今後は IFN のより長期投与により鉄代謝、酸化ストレスに及ぼす臨床的な効果について検証して行く必要があると考えられる。

E. 結論

HCV TgM モデルにおいて IFN は IL6/STAT3 の系を介して hepcidin の転写を活性化し肝内鉄濃度を下げ、酸化ストレスを軽減した。C 型慢性肝炎患者において IFN 少量長期投与は ALT、AFP 値を低下させ、血清 hepcidin 濃度を上昇させ、酸化ストレス状態を改善した。これらの作用は IFN の肝発癌抑制機構のひとつである可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

論文発表

1. Matsuura, K, Tanaka, Hino K, et al. Distribution of hepatitis B virus genotypes among patients with chronic infection in Japan shifting toward an increase of genotype A. *J Clin Microbiol* 2009;47; 1476-83.
2. Sugiyama M, Tanaka Y, Hino K, et al. Direct cytopathic effects of particular hepatitis B virus genotypes in severe combined immunodeficiency transgenic with urokinase-type plasminogen activator mouse with human hepatocytes. *Gastroenterology* 2009;136; 652-662.
3. Tanaka, Y, Nishida, N, Hino K, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis

C. Nat Genet 2009;41; 1105-9.

4. Nishina S, Korenaga M, Hino K, et al. Hepatitis C virus protein and iron overload induce hepatic steatosis through the unfolded protein response in mice. *Liver Int* 2010;30; 683-92.
5. Namiki, I.Nishiguchi, S.Hino, K, et al. Management of hepatitis C; Report of the Consensus Meeting at the 45th Annual Meeting of the Japan Society of Hepatology (2009). *Hepatol Res* 2010;40; 347-68.
6. Tomiyama Y, Yoshioka N, Hino K, et al. Type 1 interferon receptor in peripheral blood mononuclear cells may predict response to intra-arterial 5-fluorouracil + interferon therapy for advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatic Medicine : Evidence and Research* 2011;3;45-52.
7. Korenaga M, Nishina S, Hino K, et al. A glycyrrhizin-containing preparation reduces hepatic steatosis induced by hepatitis C virus protein and iron in mice. *Liver Int* 2011;31;552-60.
8. Doi N, Tomiyama Y, Hino K, et al. Focal nodular hyperplasia-like nodule with reduced expression of organic anion transporter 1B3 in alcoholic liver cirrhosis. *Intern Med* 2011;50;1193-9.
9. Ito K, Higami K, Hino K, et al. The rs8099917 Polymorphism, Determined by a Suitable Genotyping Method, is a Better Predictor for Response to Pegylated Interferon- α /Ribavirin Therapy in Japanese Patients than Other SNPs Associated with IL28B. *J Clin Microbiol* 2011;49;1853-60.
10. Matsuura K, Tanaka Y, Hino K, et al.

Recommendation of lamivudine-to-entecavir switching treatment in chronic hepatitis B responders: Randomized controlled trial. *Hepatol Res* 2011;41:505-11.

11. Tanaka Y, Kurosaki, M, Hino K, et al. Genome-wide association study identified ITPA/DDRGGK1 variants reflecting thrombocytopenia in pegylated interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Hum Mol Genet* 2011;20:3507-16
12. Matsui M, Motoki Y, Hino K, et al. Temperature-related effects of adenosine triphosphatase-activated microglia on pro-inflammatory factors. 2012 in press.
13. 仁科惣治, 是永匡紹, 日野啓輔 HCV感染にかかわる病態 HCV感染と酸化ストレス *日本臨床* 2011;69;149-55
14. 仁科惣治, 是永匡紹, 日野啓輔 肝炎ウイルスによる発癌のメカニズム *Medical Practice* 2011;28;1402-7
15. 仁科惣治, 是永匡紹, 日野啓輔 Glycyrrhizin はミトコンドリア保護作用を介してHCV蛋白と鉄負荷による肝脂肪化を抑制する *G.I.Research* 20011;19;400-1

H. 知的所有権の取得状況
特になし。

厚生労働科学研究費補助金（肝炎等克服緊急対策研究事業）
分担研究報告書

C型慢性肝疾患に対するインターフェロン治療における血小板数低値例と全身倦怠感に関する研究

分担研究者 河田 則文（大阪市立大学 教授）

研究要旨 C型慢性肝炎に対するインターフェロン(IFN)治療の問題点である精神症状と血小板数低値例について検討した。I) 全身倦怠感の血清マーカーの探索。II) 血小板数低値例に対する脾臓摘出・脾動脈部分塞栓術(PSE)を先行させた抗HCV治療の現状。III) IFN単独治療における血小板数低下とITPA遺伝子多型について関連性。PEG-IFN単独治療においてはITPA遺伝子多型による血小板数低下を予測することは、困難であると考えられた。I) 抗HCV療法前後の自覚症状と生活習慣に関する疲労感と関連する要因のいくつかが明らかになった。生活習慣を指導することにより、精神症状を軽減させる可能性が示唆された。また慢性疲労マーカーであるalpha-MSHがIFN治療中に変動することを明らかにした。II) 脾臓摘出術12例にPSE2例では重篤な合併症は認めなかった。全例IFN治療に適した血小板数増加を認めたが、セロ1型高ウイルス量症例に対する効果は、乏しい。III) PEG-IFN単独治療においてはITPA遺伝子多型による血小板数低下を予測することは、困難であると考えられた。

共同研究者

田守昭博 大阪市立大学 准教授

A. 研究目的

C型慢性肝炎に対するインターフェロン治療では、種々の副作用が出現し十分な治療を実施できないことがある。薬剤の減量や中止は抗HCV効果を大きく減じるためその対策は急務である。今回、我々はIFN治療例に多くみられる倦怠感の実態を把握するとともに、その症状と反映する血清マーカーを探索した。また血小板数低下例に対する脾摘やPSEについてその安全性と抗HCV効果を評価した。さらPEG-IFN単独治療においてITPA(rs-1127354)の遺伝子多型が血小板数低下の予測因子に成り得るか否かを検討した。

B. 研究方法

I) 大阪市立大学病院と関連施設においてPEG-IFN α 2b・リバビリン療法を実施した高ウ

イルス量C型肝炎例の内、アンケート調査に同意を得られた79例である。治療開始前と治療中(6週から16週)と治療後の3ポイントにて調査を実施した。疲労程度の評価は、疲労の持続時間、Visual Scale、Performance Status、CES-D(妥当性の検証されている“うつ”の指標)を用いた。また慢性疲労マーカーであるalpha-MSHの推移を末梢血にてモニタリングした。II) 処置前に血小板数7万未満であった17例に摘脾(14例)かPSE(3例)を実施した、その後、血小板数が11万以上へ増加したことを確認し、IFN治療を実施した。III) PEG-IFN単独で治療を実施した46例である。内訳は男性29例、女性17例であり年齢の中央値60歳(24歳—77歳)。セロ1型19例、セロ2型27例。19例は慢性腎不全例であり、RBV禁忌のためPEG-IFN単独で治療した。治療方法は、透析例ではPEG-IFN2aを135 μ g/週、それ以外では180 μ g/週を皮下注射。ITPAの遺伝子は既報に従ってrs-1127354の多

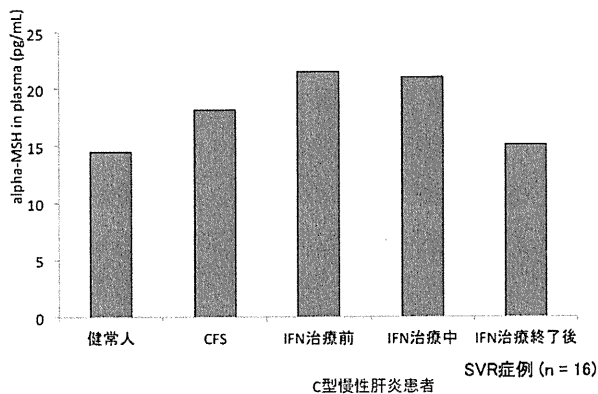
型を解析し、CC, CA, AA に分類した。

C. 研究結果

I) いずれの疲労 Score も IFN 治療前と比較して治療中は疲労程度の悪化を認めた。IFN 治療終了後には改善し、その変化は統計学的な有意差を認めた。

IFN 中の疲労度と生活習慣要因との関連についての解析を実施し以下の関連を認めた。

- 1) 高齢では IFN 中の疲労度が低い
- 2) 女性では IFN 中の疲労度が高い
- 3) 肥満者では IFN 中の疲労度が高い
- 4) 喫煙習慣があるものでは、IFN 中の疲労度が高い
- 5) IFN 前の臨床検査所見では、治療中の疲労との関連は明らかではない
- 6) 食習慣では、洋菓子摂取・せんべい・もち・お好み焼きなどの摂取習慣があるヒトでは IFN 中の疲労が高い
- 8) コーヒー摂取習慣があるものでは、インターフェロン中の疲労が低い。



IFN 治療による血漿中 α MSH の推移。CSF;慢性疲労症候群。SVR; HCV 完全排除例

血漿中 α MSH は健常人と比較して CSF 例では上昇し血清マーカーと考えられている。C 型慢性肝炎例では CSF 例よりも α MSH 上昇しており IFN 治療中も高値を持続している。しかし治療により HCV が排除されると健常人と同等に低下した。

II) 脾臓摘出あるいは PSE 例の背景と効果

性別	年齢	HCV タイプ	IFN 産量 (IU/L)	術式	血小板数 (治療前)	血小板数 (治療後)	治療法	治療結果
男	53	G1	282 KUJ	脾臓摘出術	5.6	18.1	PEG-IFN/RBV	NR
女	37	G1	837 KUJ	脾臓摘出術	5.8	55.8	PEG-IFN/RBV	NR
女	58	G1	6.5	脾臓摘出術	6.0	14.9	PEG-IFN/RBV	NR
女	59	G1	6.0	脾臓摘出術	6.8	26.8	PEG-IFN/RBV	継続
女	49	G1	6.4	脾臓摘出術	6.5	33.1	PEG-IFN/RBV	TR
女	51	G1	6.3	脾臓摘出術	4.1	26.6	PEG-IFN/RBV	SVR
女	63	G1	5.8	脾臓摘出術	6.8	24.4	PEG-IFN/RBV	NR
男	46	G1	7	脾臓摘出術	4.4	18.5	PEG-IFN/RBV	TR
女	67	G1	7.1	脾臓摘出術	4.3	20.2	PEG-IFN/RBV	継続
女	65	G1	6.4	PSE	5.7	11.2	PEG-IFN/RBV	NR
女	52	G1	1050 KUJ	PSE	5.0	11.7	PEG-IFN/RBV	TR
男	65	G2a	1.7	脾臓摘出術	5.0	13.8	PEG-IFN	SVR
男	66	G2b	7.0	脾臓摘出術	***	20.1	PEG-IFN/RBV	TR
女	59	G2	4.7	脾臓摘出術	3.3	16.4	PEG-IFN/RBV	SVR
男	56	G1	3.8	脾臓摘出術	5.6	24.0	PEG-IFN	SVR
女	58	G2b	6.7	脾臓摘出術		12.8	PEG-IFN/RBV	SVR
女	54	G2b	141 KUJ	PSE	3.1	11.1	PEG-IFN/RBV	SVR

脾臓摘出例での血小板数の増加は良好であり 8 例で 20 万以上に改善した。死亡例はなく、血栓や感染症などにて処置を要した症例もなかった。なお摘脾例には全例で肺炎球菌ワクチンを接種した。現時点において SVR となった症例は 6 例であるがセロ 1 型高ウイルス量での SVR 例は 1 例のみである。

III) TPA 遺伝子多型解析の結果: CC 36 例、CA 10 例、AA は存在しなかった。両群における治療前の血小板数は CC 型 17.6×10^4 (11.4-36.3)、CA 型 15.4×10^4 (10.1-27.6) でありヘモグロビン値は CC 型 11.7 g/dl (9.2-16.5)、CA 型 12.1 g/dl (10.3-16.7) であった。図に PEG-IFN 治療開始後の血小板数とヘモグロビン値の推移を示している。血小板数は両群ともに同等の割合で現象している。一方、ヘモグロビン値はほとんど低下することなく推移しており ITPA 遺伝子多型による差異は認められなかった。

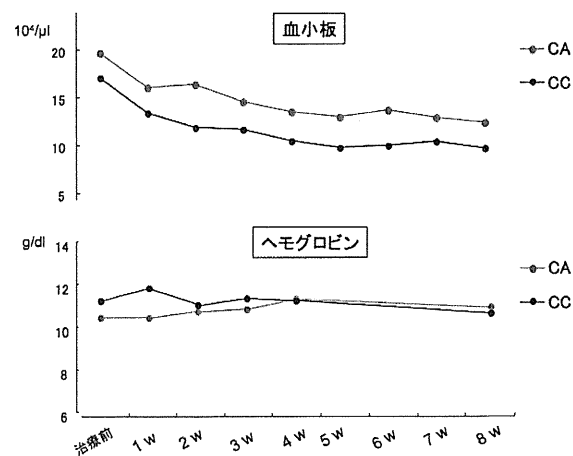


図. ITPA 遺伝子型別の末梢血検査データ推移

D. 考察

IFN 治療中の C 型慢性肝炎患者に対する Health related quality of life (HRQOL) は治療効果との相関が報告されている。これまでの検討では、HRQOL の評価方法として SF-36 Health Survey や Fatigue Severity Scale (FFS) が用いられている。今回、我々は疲労の評価法として疲労の持続時間、Visual Scale、Performance Status、CES-D、倉恒らの疲労 Score を用いてアンケート調査を実施した。評価方法により、統計解析の結果が異なることが明らかとなり、今後の検討課題と考える。一方、これまで生活習慣(特に食生活)と IFN 治療中の自覚症状の関係は報告もなく、本研究は新たな知見を提示したものと考える。抗ウイルス治療患者の生活習慣へ介入することで薬剤の副作用(自覚症状)を軽減させる可能性があるものと期待する。

慢性疲労症候群の血清マーカーである α MSH は C 型慢性肝炎例では高値を示し、IFN 治療中の倦怠感を反映した推移は示さなかった。一方、IFN 治療に HCV が消失した例では、 α MSH が健常人レベルにまで低下しており、C 型慢性肝炎の病態を反映する新たなマーカーである可能性が示唆された。

次に血小板数低値例に対する対策を検討した。一般に PEG-IFN 使用に際して血小板数が 10 万以上であることが推奨されている。これは治療後の血小板数低下により 8 万未満で減量、5 万未満では投与を中止しなければならないことから治療効果に大きな影響があるためである。摘脾や PSE による血小板数増加の試みは、十分な成果を得たが、引き続き抗ウイルス治療では HCV 排除に至る症例は少なく今後課題を残す結果となった。しかし摘脾例において IL28b 遺伝子 major 型では治療中に HCV RNA が陰性化しており再発防止の治療工夫により完治になる可能性はある。ウイルス因子や宿主因子を上し完治の可能性が高い症例を選択した摘脾や PSE が血小板数低値例の有効な抗ウイルス治療と考えられ

る。

最後に PEG-IFN 単独治療における貧血と血小板数減少について ITPA 遺伝子多型との関係を検討した。RBV 併用治療では、ITPA 遺伝子多型が貧血と関係し、CC 群では CA, AA 群と比較して急速に貧血が進行することが知られている。一方、血小板数は代償性の造血反応により、貧血が進行する CC 群にてその低下が抑制されると報告されている。今回の検討では、RBV を併用しない場合においては ITPA 遺伝子多型と血小板数の低下には相関がないことが確認された。すなわち ITPA 遺伝子多型の血小板数への影響は、貧血による生体反応を介するものであり、直接的な関係がないことが明らかになった。

E. 結論

抗ウイルス療法前後の自覚症状と生活習慣に関するアンケートを実施し、疲労感と関連する要因のいくつかが明らかになった。この点を利用して生活習慣を指導することにより IFN 投与中の症状を軽減させる可能性が示唆された。

α MSH が C 型慢性肝炎の病態を反映する新たなマーカーである可能性が示唆された。

摘脾や PSE は血小板数の増加に有用であったが、続く抗ウイルス治療の効果はセロ 2 型に限られ、1 型高ウイルス例では SVR を達成することが困難であった。

PEG-IFN 単独治療においては ITPA 遺伝子多型による血小板数低下を予測することは、困難であると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Response-guided therapy for patients with chronic hepatitis who have high viral loads of hepatitis C virus genotype 2. Yamaguchi Y, Tamori A, Tanaka Y, Iwai S, Kobayashi S, Fujii H, Morikawa H, Hagihara A, Enomoto M, Kawada N.

- Hepatol Res. 2012 in press
2. Data mining model using simple and readily available factors could identify patients at high risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. Kurosaki M, Hiramatsu N, Sakamoto M, Suzuki Y, Iwasaki M, Tamori A, Matsuura K, Kakinuma S, Sugauchi F, Sakamoto N, Nakagawa M, Izumi N. *J Hepatol.* 2012;56:602-8.
 3. Could trastuzumab suppress hepatitis C virus in a patient with chronic hepatitis and breast cancer? Tamori A, Kawajiri H, Takashima T, Motoyama H, Morikawa H, Enomoto M, Hirakawa K, Kawada N. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:1865-6.
 4. Favorable factors for re-treatment with pegylated interferon α 2a plus ribavirin in patients with high viral loads of genotype 1 hepatitis C virus. Tamori A, Kioka K, Kurai O, Sakaguchi H, Enomoto M, Fujii H, Kobayashi S, Iwai S, Morikawa H, Yamaguchi S, Kawasaki Y, Oka H, Tanaka Y, Kawada N. *Hepatol Res.* 2011;41:1169-77.
 5. High prevalence of hepatitis C virus infection in Airin district, Osaka, Japan: A hospital-based study of 1162 patients. Yamaguchi Y, Enomoto M, Fujii H, Tamori A, Sakaguchi H, Tanigawa T, Watanabe K, Fujiwara Y, Arakawa T, Harihara S, Monna T, Kawada N. *Hepatol Res.* 2011;41:731-7.
 6. Pretreatment prediction of anemia progression by pegylated interferon α -2b plus ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C infection: decision-tree analysis. Hiramatsu N, Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Sugauchi F, Tamori A, Kakinuma S, Matsuura K, Izumi N. *J Gastroenterol.* 2011;46:1111-9.
 7. Association of IL28B polymorphism with response to pegylated-interferon alpha plus ribavirin combination therapy in patients with chronic genotype 2 hepatitis C. Sakamoto N, Nakagawa M, Tanaka Y, Sekine-Osajima Y, Ueyama M, Kurosaki M, Nishida N, Tamori A, Nishimura-Sakurai Y, Itsui Y, Azuma S, Kakinuma S, Hige S, Ito Y, Tanaka E, Hiasa Y, Izumi N, Tokunaga K, Mizokami M, Watanabe M. *J Med Virol.* 2011;83:871-8.
 8. Investigation of Interferon- α Response by a Single Amino Acid Substitution of Nonstructural Protein 5A in Hepatitis C Virus Infected Patients. Noguchi N, Tamori A, Ogura N, Hori Y, Ikeda S, Nishiguchi S. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31: 589-99.
 9. Sequences in the Interferon Sensitivity Determining Region and Core Region of Hepatitis C Virus Impact Pretreatment Prediction of Response to Peg-interferon Plus Ribavirin: Data Mining Analysis. Kurosaki M, Sakamoto N, Iwasaki M, Sakamoto M, Suzuki Y, Hiramatsu N, Sugauchi F, Tamori A, Nakagawa M, Izumi N. *J Med Virol.* 2011;83:445-52.
 10. Real-time tissue elastography as a tool for the noninvasive assessment of liver stiffness in patients with chronic hepatitis C. Morikawa H, Fukuda K, Kobayashi S, Fujii H, Iwai S, Enomoto M, Tamori A, Sakaguchi H, Kawada N. *J Gastroenterol.* 2011;46:350-8.
 11. Management of hepatitis C; Report of the