

- the production of soluble MICA in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 61: 1425-1432, 2012.
3. Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Tsunematsu H, Miyagi T, Hosui A, Ishida H, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Fujita N, Yoshimori T, Hayashi N. Inhibition of autophagy potentiates the anti-tumor effect of the multi-kinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer.* 131: 548-557, 2012.
 4. Kodama T, Takehara T, Hikita H, Shimizu S, Shigekawa M, Tsunematsu H, Li W, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Kanto T, Hiramatsu N, Kubota S, Takigawa M, Tomimaru Y, Tomokuni A, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice. *J Clin Invest.* 121: 3343-3356, 2011.
 5. Hikita H, Takehara T, Kodama T, Shimizu S, Shigekawa M, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Shimizu S, Tsujimoto Y, Hayashi N. Delayed-onset caspase-dependent massive hepatocyte apoptosis upon Fas activation in Bak/Bax-deficient mice. *Hepatology.* 54: 240-251, 2011.
 6. Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Ohkawa K, Nagano H, Doki Y, Mori M, Hayashi N. The let-7 family of microRNAs negatively regulates Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 52: 698-704, 2010.
- 学会発表
- 第71回日本癌学会学術総会. 札幌, 2012年9月19-21日. 口演発表
Hayato Hikita, Takahiro Kodama, Satoshi Tanaka, Yoshinobu Saito, Satoshi Shimizu, Minoru Shigekawa, Wei Li, Takuya Miyagi, Tatsuya Kanto, Naoki Hiramatsu, Tomohide Tatsumi, Tetsuo Takehara. Oxidative stresses play a major role in cancer development in apoptosis-prone liver.
- 第54回日本消化器病学会総会. 神戸, 2012年10月10-12日. 口演発表
疋田隼人, 巽智秀, 竹原徹郎. 肝細胞障害が誘導する酸化ストレスと肝発癌.
- The 63rd Annual Meeting of the American Association for the study of Liver Disease. Boston, USA, November 8 - 12, 2012. Oral Presentation
Hayato Hikita, Takahiro Kodama, Satoshi Tanaka, Yoshinobu Saito, Satoshi Shimizu, Minoru Shigekawa, Wei Li, Takuya Miyagi, Tatsuya Kanto, Naoki Hiramatsu, Tomohide Tatsumi, Tetsuo Takehara. Oxidative stresses play a major role in

cancer development in apoptosis-prone liver.

Takahiro Kodama, Hayato Hikita, Tsukasa Kawaguchi, Hinako Tsunematsu, Kumiko Nishio, Takatoshi Nawa, Minoru Shigekawa, Satoshi Shimizu, Wei Li, Takuya Miyagi, Atsushi Hosui, Tomohide Tatsumi, Tatsuya Kanto, Naoki Hiramatsu, Tetsuo Takehara. Bid and Bim are essential regulators involving the intrinsic pathway of apoptosis in hepatocytes in the absence of anti-apoptotic Bcl-2 family proteins.

The American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD), 62nd Annual Meeting, November 4 -8, 2011,

San Francisco, CA. Oral Presentation

Hikita H, Kodama T, Shimizu S, Shigekawa M, Li W, Tanaka S, Hosui A, Miyagi T, Ishida H, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N, Takehara T #206 Continuous hepatocyte apoptosis is sufficient for liver cancer development.

Poster Presentation

Kodama T, Hikita H, Kawaguchi T, Shigekawa M, Tsunematsu H, Nishio K, Nawa T, Shimizu S, Miyagi T, Hosui A, Tatsumi T, Ishida H, Kanto T, Hiramatsu N, Takehara T. #303 Requirement of BH3-only activator proteins Bid and Bim for apoptosis by genetic ablation of Bcl-xL is completely different between hepatocytes and platelets.

Shimizu S, Tsunematsu H, Kodama T, Hikita H, Miyagi T, Hosui A, Ishida H,

Tatsumi T, Hiramatsu N, Kanto T, Hayashi N, Takehara T. #1959 Multi-kinase inhibitor sorafenib induces autophagy which confers anti-cancer drug resistance to human hepatoma cells.

F. 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

厚生労働科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

Heptatitis C Treatment by Peg-IFN plus Ribavirin in Special Populations (aged patients, patients with severe fibrosis and patients with normal ALT)

研究分担者 平松 直樹 大阪大学大学院医学系研究科消化器内科学 講師

研究要旨：平成 22 年度は、高齢者 C 型肝炎に対する Peg-IFN/RBV 併用療法の有用性を、肝発癌抑制効果の面から検討した。Peg-IFN/RBV 併用療法を施行された C 型慢性肝疾患 1996 例 (平均年齢:56.2±10.8 歳、M/F=989/1007 例、著効/再燃/無効=1087/459/434 例、平均観察期間:26.7±12.5 ヶ月) を対象とし、Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定、Cox 比例ハザードモデルを用いて累積発癌率、肝発癌に關与する因子を検討した。その結果、Peg-IFN/RBV 併用療法による治療介入により、著効・再燃例では肝発癌が有意に抑制され、肝発癌の高リスク群である高齢者においても同様の効果が認められた。また、非著効例では、ALT の低値維持が肝発癌抑制に重要であることが示唆された。平成 23 年度は、ALT 正常例において同様の検討を行った。この結果、特に血小板数 15 万/ μ l 未満の症例では、Peg-IFN/RBV 併用療法による治療介入により、著効・再燃例では肝発癌が有意に抑制されたが、血小板数 15 万/ μ l 以上の ALT 正常例では、同療法の治療効果のいかにかわかわらず、3 年発癌率は 1~2% と低率であった。平成 24 年度は、肝線維化進展 C 型肝炎における Peg-IFN/RBV 併用療法の短期治療効果と発癌抑制効果について検討した。対象は、同療法開始時に肝癌の既往を有さない C 型慢性肝疾患 3541 例であった。この結果、肝線維化進展症例に対する Peg-IFN/RBV 併用療法では、genotype1 型高ウイルス量群の著効率は約 2 割であったが、Late responder では延長投与にて著効率が向上すること、genotype1 型高ウイルス量以外群の著効率は約 6 割と比較的良好であること、また、肝線維化進展例においても、著効例や AFP が改善する症例では肝発癌が抑制されることが明らかとなった。

<平成 22 年度>

用療法の肝発癌抑制効果について検討した。

A. 研究目的

本邦における肝細胞癌の死亡者数は年間 3 万人を超え、悪性新生物による死亡の第 3 位を占めている。肝細胞癌の 7-8 割は C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染を背景としており、HCV 感染の根絶により、多くの肝発癌が予防可能であると考えられる。そこで、本研究では C 型肝炎症例に対する Peg-IFN/RBV 併

B. 研究方法

大阪大学ならびに関連施設において Peg-IFN/RBV 併用療法を施行された C 型慢性肝疾患 1966 例を解析対象とした。平均年齢は 56.3±10.8 歳、男性 968 例/女性 998 例、Peg-IFN/RBV 併用療法の治療効果は、著効 1086 例/再燃 392 例/無効 479 例で、平均観

察期間は、 26.8 ± 12.5 ヶ月であった。累積発癌率、肝発癌に関与する因子は、Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定、Cox 比例ハザードモデルを用いて検討した。

C. 研究結果

全症例における肝癌発症は 68 症例で、累積発癌率は 1 年 0.8%/3 年 4.9%/5 年 9.6%であった。肝発癌に関与する因子についての多変量解析では、55 歳未満群に比し、55-65 歳群 (Hazard ratio; HR: 5.2, $p=0.002$)、65 歳以上群 (HR: 10.3, $p<0.001$) では高齢に伴って有意に発癌率が高く、男性 (HR: 2.9, $p<0.001$)、血小板 12 万未満群 (HR: 1.8, $p=0.02$) で有意に発癌が高率であった。治療効果別では、無効群に比し、再燃群 (HR: 0.40, $p=0.01$)、著効群 (HR: 0.27, $p<0.001$) では有意に発癌率が低く、3 年累積発癌率は、Peg-IFN/RBV 併用療法無効群 5.0%/再燃群 1.9%/著効群 1.1%であった。また、65 歳以上においても、性別、血小板数、治療効果は肝発癌に有意に関与し、無効群に比し、再燃群 (HR: 0.29, $p=0.024$)、著効群 (HR: 0.24, $p=0.002$) では有意に発癌率が低く、3 年累積発癌率は、無効群 15.6%/再燃群 3.4%/著効群 2.8%であった。一方、Peg-IFN/RBV 併用療法の非著効群では、平均 ALT 値が 30IU/ml 以下群において、30IU/ml 超群と比し有意に肝発癌率が低率であった ($p<0.01$)。

D. 考察

Peg-IFN/RBV 併用療法により、著効のみならず、再燃例においても肝発癌が有意に抑制された。また、肝発癌の高リスク群である高齢者においても同様の効果が認められた。高齢者においては、非高齢者に比し著効率が低いことが知られているが、発癌抑

制という点からは、Responder (再燃例+著効例) において、改善効果があることが示唆された。一方、Peg-IFN/RBV 併用療法の非著効例では、ALT の低値維持が肝発癌抑制に関連しているため、新規抗ウイルス剤までの bridge use として、肝庇護療法や IFN 少量投与などにより、積極的に肝炎を鎮静化させることが重要であると考えられた。

E. 結論

Peg-IFN/RBV 併用療法による治療介入により、C 型肝炎における肝発癌が抑制されることが示唆された。

<平成 23 年度>

A. 研究目的

本邦における ALT 正常 C 型肝炎例に対する抗ウイルス治療ガイドラインでは、基本的に ALT31~40IU/L の症例については抗ウイルス療法、ALT30IU/L 以下の症例については定期的な経過観察を推奨している。今回、同ガイドラインにおける各群の抗ウイルス療法による発癌抑制効果を明らかにし、治療適応の妥当性について検討した。

B. 研究方法

大阪大学ならびに関連施設において、2004 年 12 月から 2009 年 12 月に Peg-IFN/RBV 併用療法を施行された C 型慢性肝疾患 4640 例のうち、ALT 値 40IU/L 以下の 809 例を解析対象とした。平均年齢は 56.7 歳、男性 269 例、女性 540 例、平均血小板数は 18.8 万、PEG-IFN/RBV 併用療法開始からの平均観察期間は 36.2 カ月であった。ガイドライン通り、ALT 値、血小板値で 4 つの群 (A 群; $ALT \leq 30IU/L$ 、 $15 \times 10^4/mm^3 \leq PLT$ 、

B 群 ; ALT ≤ 30IU/L、PLT < 15 × 10⁴/mm³、C 群 ; 30 < ALT ≤ 40IU/L、15 × 10⁴/mm³ ≤ PLT、D 群 ; 30 < ALT ≤ 40IU/L、PLT < 15 × 10⁴/mm³) に分類し、累積発癌率を解析した。累積発癌率、肝発癌に関与する因子は、Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定を用いて検討した。

C. 研究結果

Genotype1 型では血小板 15 万/μL 以上の群 (A 群 + C 群) に比し、PLT15 万/μL 未満の群 (B 群 + D 群) では有意に著効率が低かった。血小板 15 万/μL 以上の群では、3 年累積発癌率は抗ウイルス療法の治療効果に関わらず、低率 (0~1.5%) であった。一方、血小板 15 万/μL 未満の群では ALT 値の 30IU/L 超、30IU/L 以下にかかわらず、NR 群に比し、SVR 群、Relapse 群で有意に発癌が抑制され、NR 群の 3 年累積発癌率が 9.5% であったのに対し、SVR 群、Relapse 群では発癌例を認めなかった。

D. 考察

ガイドラインでは、ALT31~40IU/L の症例を主に治療の対象としているが、本研究の結果からは、血小板 15 万/μL 未満が治療の適応の指標と考えられた。血小板 15 万/μL 以上の症例では、抗ウイルス療法の治療効果に関わらず、3 年発癌は低率であり、次世代の抗ウイルス療法まで待機可能と考えられた。一方、血小板 15 万/μL 未満の症例は現時点での抗ウイルス療法の対象であると考えられた。

E. 結論

ALT 正常 C 型肝炎症例に対する

PEG-IFN/RBV 併用療法では、PLT15 万/μL 未満の著効または再燃例で発癌抑制効果を認め、同療法の適応と考えられた。

<平成 24 年度>

A. 研究目的

肝発癌の高リスク群である C 型肝炎硬変においては発癌抑制が重要な課題である。今回、肝線維化進展 C 型肝炎における Peg-IFN/RBV 併用療法の短期治療効果と発癌抑制効果について検討した。

B. 研究方法

大阪大学ならびに関連施設において、2004 年 12 月から 2008 年 12 月に Peg-IFN/RBV 併用療法を施行された Peg-IFN α 2b/RBV 併用療法を施行した C 型肝炎 3541 例を対象とした。治療前血小板数は、A 群:10 万未満:genotype1 型高ウイルス量症例 (1H) 247 例、genotype1 型高ウイルス量以外の症例 (Non-1H) 77 例、B 群:10-15 万:1H 875 例、Non-1H 237 例、C 群:15 万以上:1H 1396 例、Non-1H 709 例であった。肝線維化進展例と考えられる A 群における短期治療効果を、B、C 群と比較検討し、さらに A 群における累積発癌率を、Kaplan-Meier 法、Log-rank 検定を用いて検討した。

C. 研究結果

治療中止率は、1H で A/B/C 群:19/16/11% (p < 0.001)、Non-1H で A/B/C 群:10/8/7% (p = 0.43) と 1H では血小板低値例で中止率が高率となった。治療完遂例における著効率は、1H (response-guided therapy) で A/B/C 群:26/43/58% (p < 0.001)、Non-1H で A/B/C 群:68/76/85% (p < 0.001) と、特に 1H において

血小板低値例での著効率は低率であったが、1HのA群で治療開始13週以降24週までにHCV-RNA陰性化が得られた症例における著効率は、48週投与の18%に比し、72週投与で71%と有意に高率であった($p=0.004$)。一方、A群における3、5年累積発癌率は、無効例の13.3%、30.6%に比し、再燃例で2.0%、13.6%、著効例で3.6%、7.9%と有意に発癌が低率であった(無効 vs. 再燃、 $p=0.03$ 、無効 vs. 著効、 $p=0.01$)。また、A群での非著効例における発癌の検討では、治療前のAFP値が5ng/ml未満の症例からは、3年間発癌を認めなかった。一方、治療前のAFP値が5ng/ml以上の症例における、3、5年累積発癌率は、治療終了後24週時点のAFP値が、10ng/ml以上の症例で16.6%、30.3%に比し、5-10ng/mlの症例で3.3%、22.5%、5ng/ml未満の症例で0%、0%と治療終了後24週のAFPが低値になるにつれて、発癌が低率になる傾向を認めた(10ng/ml以上 vs. 5-10ng/ml、 $p=0.24$ 、10ng/ml以上 vs. 5ng/ml未満、 $p=0.09$)。

D. 考察

肝線維化進展症例に対する Peg-IFN/RBV 併用療法では、Non-1H は中止率が比較的 low で、著効率も高く、全体で約 6 割に著効を認めた。一方、1H では、中止率が高く、全体での著効率は約 2 割が low であったが、HCV-RNA 陰性化例においては長期投与において著効率が向上した。また、肝線維化進展例においても著効例や再燃例、あるいは AFP 値が改善する症例では肝発癌が抑制された。したがって、肝線維化進展症例に対する Peg-IFN/RBV 併用療法では、Non-1H が良い適応であり、1H では同療法を施行した場合、Stopping rule を十分に念頭におく必要がある

と考えられた。

E. 結論

肝線維化進展症例に対する Peg-IFN/RBV 併用療法では、治療効果予測を十分に検討する必要があり、治療効果不十分と考えられる症例では、次世代治療も考慮に入れる必要があると考えられた。

<平成 22-24 年度>

G. 研究発表

1. 論文発表:

- 1) Imai Y, Tamura S, Tanaka H, Hiramatsu N, Kiso S, Doi Y, Inada M, Nagase T, Kitada T, Imanaka K, Fukuda k, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N. Reduced risk of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in aged patients with chronic hepatitis C is limited to sustained virological responders. *J Viral Hepat.* 2010 ;17 (3) :185-91.
- 2) Tomimaru Y, Nagano H, Eguchi H, Kobayashi S, Marubashi S, Wada H, Tanemura M, Umeshita K, Hiramatsu N, Takehara T, Doki Y, Mori M. Effects of preceding interferon therapy on outcome after surgery for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol.* 2010 15;102 (4) :308 -14.
- 3) Hikita H, Takehara T, Shimizu S, Kodama T, Shigekawa M, Iwase K, Hosui A, Miyagi T, Tatsumi T, Ishida H, Li W, Kanto T, Hiramatsu N, Hayashi N. The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses

- growth of hepatoma cells in combination with sorafenib. *Hepatology*. 2010;52 (4) :1310-21.
- 4) Hiramatsu N, Inoue Y, Oze T, Kurashige N, Yakushijin T, Mochizuki K, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Takehara T, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y, Hayashi N. Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels; a matched case-control study. *J Gastroenterol*. 2011 Nov;46 (11) :1335-43.
- 5) Shimizu S, Takehara T, Hikita H, Kodama T, Tsunematsu H, Miyagi T, Hosui A, Ishida H, Tatsumi T, Kanto T, Hiramatsu N, Fujita N, Yoshimori T, Hayashi N. Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer*. 2012 Aug 1;131 (3) :548-57.
- 6) Oze T, Hiramatsu N, Song C, Yakushijin T, Iio S, Doi Y, Oshita M, Hagiwara H, Mita E, Ito T, Inui Y, Hijioka T, Tamura S, Yoshihara H, Inoue A, Imai Y, Hayashi E, Kato M, Miyazaki M, Hosui A, Miyagi T, Yoshida Y, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Hayashi N, Takehara T. Reducing Peg-IFN doses causes later virologic response or no response in HCV genotype 1 patients treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin. *J Gastroenterol*. 2012 Mar;47 (3) :334-42.
- 7) Harada N, Hiramatsu N, Oze T, Yamada R, Kurokawa M, Miyazaki M, Yakushijin T, Miyagi T, Tatsumi T, Kiso S, Kanto T, Kasahara A, Oshita M, Mita E, Hagiwara H, Inui Y, Katayama K, Tamura S, Yoshihara H, Imai Y, Inoue A, Hayashi N, Takehara T. Incidence of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients with normal alanine aminotransferase levels categorized by Japanese treatment guidelines. *J Gastroenterol*. in press
2. 学会発表：
- 1) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性C型肝炎に対する Peg-IFN/Ribavirin 併用療法の個別化治療による治療効果改善の可能性” シンポジウム「C型肝炎における抗ウイルス療法の近未来」第46回日本肝臓学会総会(山形)2010
- 2) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性C型肝炎に対する新薬開発を踏まえた Peg-IFN/Ribavirin 併用療法の適応と限界” パネルディスカッション「C型肝炎に対する新たな治療戦略」第14回日本肝臓学会大会、第52回日本消化器病学会大会(横浜)2010
- 3) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性C型肝炎に対する Peg-IFN/Ribavirin 併用療法 - 高齢者における問題と対策 -” シンポジウム「ウイルス性肝炎の標準治療の変遷と将来像」第97回日本消化器病学会総会

- (東京) 2011
- 4) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性 C 型肝炎に対する新薬を踏まえた PegIFN/Ribavirin 併用療法の適応と限界” パネルディスカッション「C型肝炎治療 - 新たな時代へ」第 47 回日本肝臓学会総会 (東京) 2011
 - 5) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “難治性 C 型肝炎に対する新薬を踏まえた Peg-IFN/Ribavirin 併用療法の適応と限界” シンポジウム「C型肝炎治療の新たな展開」第 15 回日本肝臓学会大会、第 53 回日本消化器病学会大会 (福岡) 2011
 - 6) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “C 型慢性肝炎の新たな治療展開” シンポジウム「C 型肝炎に対する第 2 世代 Protease 阻害剤 (TMC435) の治療効果と現時点での治療待機の妥当性について」第 98 回日本消化器病学会総会 (東京) 2012
 - 7) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “C 型肝炎に対する第 2 世代 Protease 阻害剤 (TMC435, MK-7009) の治療効果と安全性について” シンポジウム「C 型慢性肝炎の最新治療」第 48 回日本肝臓学会総会 (金沢) 2012
 - 8) 平松直樹、林 紀夫、竹原徹郎. “新薬を踏まえた C 型肝炎に対する Peg-IFN/RBV 併用療法 - 肝発癌抑制の見地から -” ワークショップ「C 型慢性肝炎における臨床背景の違いと治療法選択の現状と展開」第 48 回日本肝臓学会総会 (金沢) 2012
 - 9) 平松直樹、竹原徹郎、林 紀夫. “C 型肝炎に対する PegIFN/Ribavirin 併用療法における IL28B 遺伝子多型の意義” シンポジウム「C 型肝炎治療の最前線」第 16 回日本肝臓学会大会、第 54 回日本消化器病学会大会 (神戸) 2012
- H. 知的所有権の出願・登録状況
1. 特許取得：なし
 2. 実用新案登録：なし
 3. その他：なし

原発性肝癌における TIE2 陽性単球（TEM）の意義

研究分担者 考藤達哉 大阪大学大学院医学系研究科樹状細胞制御治療学
寄附講座准教授

研究の要旨

肝癌は血流の豊富な腫瘍であり、その発生、進展に血管新生が重要な役割を果たしている。肝癌における腫瘍血管の形成機序に関しては詳細は明らかではない。本研究では、肝癌患者を対象として、血液中や癌組織における血管内皮細胞や免疫細胞の頻度、分布、機能解析を行い、血管新生の前駆細胞の同定や癌組織への遊走機序を解明すること、また血管新生前駆細胞の臨床的意義を明らかにすることを目的とした。これによって、血管新生の制御に基づく肝癌に対する新規治療法の開発を目指す。

HCC 群において、末梢血中 TIE2 陽性単球(TEM: CD14+CD16+TIE2+)は肝硬変群に比べて有意に増加していた。肝癌組織浸潤リンパ球中の TEM 頻度は、末梢血と比べ有意に増加していた。また TEM は肝癌部の血管支持組織周囲に集積していた。血中、組織中の TEM 頻度と血管新生の程度（肝組織 CD34 陽性細胞頻度）は有意に正相関しており、肝癌における血管新生に TEM が関与する可能性が示された。血中 TEM 頻度はラジオ波焼灼や腫瘍切除後に低下し、再発例では再増加した。ROC 解析では、TEM 頻度による肝硬変と肝癌の判別度は既存の腫瘍マーカーより良好であった。in vitro の検討では、M-CSF と TNF- α 刺激によって、CD16 陰性 TIE2 陰性単球から TEM が誘導された。

TEM は肝発癌に伴って増加しており、肝癌における血管新生に関与する可能性が示唆された。TEM 誘導機序の解明は、血管新生制御を目指す治療標的の同定に繋がる可能性がある。

A.研究目的

肝癌は血流の豊富な腫瘍であり、その発生、進展、転移に血管新生が重要な役割を果たしている。肝癌における腫瘍血管の形成機序に関しては、流血中に存在する血管内皮細胞の前駆細胞が関与するという報告があるが、組織への遊走や浸潤機序、血管への分化過程の詳細は世界的にも明らかではない。また、種々の癌患者において、免疫抑制作用を持つ制御性 T 細胞や骨髄系抑制細胞が増加、活性化しており、癌の増大、転移や治療抵抗性に関与している可能性がある。本研究

では、肝癌患者を対象として、血液中や癌組織における血管内皮細胞や免疫細胞の頻度、分布、機能解析を行い、血管新生の前駆細胞の同定やそれらの癌組織への遊走、浸潤の機序、肝癌組織での細胞分化や抗腫瘍免疫細胞の機能低下の機序、免疫抑制細胞の誘導の機序を解明することを目的とする。これによって、血管新生と免疫抑制の制御に基づく肝癌に対する新規治療法の開発を目指す。

B.研究方法

肝癌（HCC）と診断されたHCV陽性患

者を対象とした。また慢性肝疾患患者（慢性肝炎、肝硬変）、健康成人を比較対照とした。末梢血PBMC中、肝癌浸潤リンパ球中のTIE2陽性単球（TEM）の頻度と表現型を解析した。切除肝癌組織を用いて、TEMの癌組織での局在を検討した。また肝癌部、非癌部組織の血管新生をCD34陽性細胞の染色で評価し（Micro vessel density, MVD）、TEMとの関連性を検討した。TEM高頻度群とTEM低頻度群とで、治療後の再発や生存率を比較した。また、TEM頻度の診断マーカーとしての有用性を既存の腫瘍マーカーや血管新生因子とROC解析にて比較した。末梢血、肝癌組織からTIE2陰性単球をソーティングし、種々の造血因子、サイトカインによるTEM誘導の有無を検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪大学医学部倫理委員会、臨床試験部審査評価委員会の承認を受けており、事前に被験者の同意を得ており倫理的問題はないと考える。

C.研究結果

HCC群において、末梢血中TIE2陽性単球(TEM: CD14+CD16+TIE2+)は他群に比べて有意に増加していた。肝癌組織浸潤リンパ球中のTEM頻度は、同一患者での末梢血と比べ有意に増加しており、TEMは血中から肝癌組織へ浸潤・集積する可能性が示唆された。TEMはCD14+CD16-TIE2-単球に比べてCD80, CD86, HLA-DRが高発現であり、より活性化した細胞群であった。TEMは肝癌部の血管支持組織周囲に集積していた。血中、組織中のTEM頻度とCD34陽性細胞頻度(MVD)は有意に正相関しており、肝癌における血管新生にTEMが関与す

る可能性が示唆された。TEM高頻度群では低頻度群に比べて、PT値、Alb値が有意に低く、肝予備能の低下とTEMは関連していた。またRFAや手術前のTEM頻度が高い群では、有意に再発率が高かった。ROC解析では、肝硬変と肝癌の判別において、TEM頻度はAFP、PIVKA-IIよりも良好であった。in vitroの検討では、M-CSFとIL-1 β 、TNF- α 刺激によって、CD16陰性TIE2陰性単球からCD16+TIE2+単球(TEM)が誘導された。

D.考察

TEMは肝癌の発症や治療後再発に密接に関連していた。肝癌患者におけるTEMの誘導機序として、肝癌由来の造血因子や癌に伴う炎症が関与する可能性が示唆された

E.結論

TEMは肝癌の診断・再発・予後を反映するBiomarkerとして有用である。TEM誘導機序の解明は、肝癌における血管新生制御を目指す新たな治療標的の同定に繋がる可能性がある。

F.健康危険情報 なし

G.研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsubara, T., Kanto, T., Kuroda, S., Yoshio, S., Higashitani, K., Kakita, N., Miyazaki, M., Sakakibara, M., Hiramatsu, N., Kasahara, A., Tomimaru, Y., Tomokuni, A., Nagano, H., Hayashi, N. and Takehara, T., TIE2-expressing monocytes as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma correlated with angiogenesis. *Hepatology*. 2012 in press
- 2) Kanto, T., Inoue, M., Oze, T., Miyazaki, M., Sakakibara, M., Kakita, N., Matsubara, T., Higashitani, K., Hagiwara, H., Iio, S.,

Katayama, K., Mita, E., Kasahara, A., Hiramatsu, N., Takehara, T. and Hayashi, N., Dynamics of regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells as immune markers for virological response in pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients. *J Gastroenterol.* 2012; 47: 169-178.

3) Kakita, N., Kanto, T., Itose, I., Kuroda, S., Inoue, M., Matsubara, T., Higashitani, K., Miyazaki, M., Sakakibara, M., Hiramatsu, N., Takehara, T., Kasahara, A. and Hayashi, N., Comparative analyses of regulatory T cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma: a crucial role of CD25(-) FOXP3(-) T cells. *Int J Cancer.* 2012; 131: 2573-2583.

4) Kohga, K., Tatsumi, T., Tsunematsu, H., Aono, S., Shimizu, S., Kodama, T., Hikita, H., Yamamoto, M., Oze, T., Aketa, H., Hosui, A., Miyagi, T., Ishida, H., Hiramatsu, N., Kanto, T., Hayashi, N. and Takehara, T., Interleukin-1beta enhances the production of soluble MICA in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol Immunother.* 2012; 61: 1425-1432.

5) Hosui, A., Klover, P., Tatsumi, T., Uemura, A., Nagano, H., Doki, Y., Mori, M., Hiramatsu, N., Kanto, T., Hennighausen, L., Hayashi, N. and Takehara, T., Suppression of signal transducers and activators of transcription 1 in hepatocellular carcinoma is associated with tumor progression. *Int J Cancer.* 2012; 131: 2774-2784

6) Sakakibara, M., Kanto, T.*, Hayakawa, M., Kuroda, S., Miyatake, H., Itose, I., Miyazaki, M., Kakita, N., Higashitani, K., Matsubara, T., Hiramatsu, N., Kasahara, A., Takehara, T. and Hayashi, N., Comprehensive immunological analyses of colorectal cancer patients in the phase I/II study of quickly

matured dendritic cell vaccine pulsed with carcinoembryonic antigen peptide. *Cancer Immunol Immunother* 60: 1565-1575, 2011.

7) Tomimaru, Y., Eguchi, H., Nagano, H.*, Wada, H., Kobayashi, S., Marubashi, S., Tanemura, M., Tomokuni, A., Takemasa, I., Umeshita, K., Kanto, T., Doki, Y. and Mori, M., Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*; 56: 167-175, 2012

8) Yamamoto, M., Tatsumi, T., Miyagi, T., Tsunematsu, H., Aketa, H., Hosui, A., Kanto, T., Hiramatsu, N., Hayashi, N. and Takehara, T.*, alpha-Fetoprotein impairs activation of natural killer cells by inhibiting the function of dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 165: 211-219, 2011

9) Tsunematsu, H., Tatsumi, T., Kohga, K., Yamamoto, M., Aketa, H., Miyagi, T., Hosui, A., Hiramatsu, N., Kanto, T., Hayashi, N. and Takehara, T.*, Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells. *Int J Cancer.* 130: 356-364, 2012.

10) Kanto T. Dendritic cells in hepatitis virus infection: a legatus within. *Current Immunology Review*:1-33, 2010.

11) Yamaguchi, S., Tatsumi, T., Takehara, T., Sasakawa, A., Yamamoto, M., Kohga, K., Miyagi, T., Kanto, T., Hiramastu, N., Akagi, T., Akashi, M. and Hayashi, N., EphA2-derived peptide vaccine with amphiphilic poly(gamma-glutamic acid) nanoparticles elicits an anti-tumor effect against mouse liver tumor. *Cancer Immunol Immunother* 59: 759-767, 2010.

2.学会発表

1) Matsubara T, Kanto T., Kuroda S, Yoshio S, Higashitani K, Miyazaki M,

- Hiramatsu N, Kasahara A, Takehara T.** TIE2-expressing monocytes are feasible angiogenesis-related cellular diagnostics for hepatocellular carcinoma: Involvement of inflammatory cytokines in the generation.
The Liver Meeting AASLD 63rd Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA, 2012
- 2) **Yoshio S, Kanto T, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Ishida H, Hiramatsu N, Nagano H, Sugiyama M, Murata K, Fukuhara T, Matsuura Y, Mizokami M, Hayashi N, Takehara T.** Human BDCA3+ dendritic cells in blood and in the liver are a potent producer of IFN- λ in response to hepatitis C virus.
The Liver Meeting AASLD 63rd Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA, 2012.
- 3) **Higashitani K, Kanto T, Kuroda S, Yoshio S, Matsubara T, Kakita N, Oze T, Hiramatsu N, Mita E, Imai Y, Kasahara A, Okuno A, Takikawa O, Hayashi N, Takehara T.** Association of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells with the generation of regulatory T cells in chronic hepatitis C patients.
The Liver Meeting AASLD 63rd Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA, 2012
- 4) **Matsubara T, Kanto T, Kuroda S, Yoshio S, Higashitani K, Kakita N, Miyazaki M, Hiramatsu N, Kasahara A, Takehara T.** Pro-angiogenic receptor TIE2-expressing monocytes/TEM as novel diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma
The Liver Meeting AASLD 62d Annual Meeting and Postgraduate Course San Francisco, CA, USA, 2011
- 5) **Kakita N, Kanto T, Miyazaki M, Yoshio S, Kuroda S, Matsubara T, Higashitani K, Sakakibara M, Hiramatsu N, Kasahara S, Takehara T, Hayashi N.** Enhanced ability of IL28A and IL28B induction in plasmacytoid dendritic cells in chronic hepatitis C patients with major allele of IL28B single nucleotide polymorphism. The Liver Meeting AASLD 62d Annual Meeting and Postgraduate Course, San Francisco, CA, USA, 2011
- 6) **Higashitani K, Kanto T, Miyazaki M, Matsubara T, Kakita N, Itose I, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Active role of tryptophan catalyzing enzyme, indoleamine 2, 3-dioxygenase, in the generation of regulatory T cells in chronic hepatitis C patients
The Liver Meeting AASLD 61st Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA 10.29-11.2, 2010
- 7) **Matsubara M, Kanto T, Higashitani K, Kakita N, Miyazaki M, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Pro-angiogenic receptor TIE2 expressing monocytes/TEMs as novel diagnostic biomarker for hepatocellular carcinoma
The Liver Meeting AASLD 61st Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA 10.29-11.2, 2010
- 8) **Kakita N, Kanto T, Matsubara M, Higashitani K, Miyazaki M, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Distinctive roles of IL-10-producing Type 1 regulatory T cells (Tr1) in the pathogenesis of hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma

The Liver Meeting AASLD 61st Annual Meeting and Postgraduate Course, Boston, MA, USA 10.29-11.2, 2010

- 9) **Kakita N, Kanto T, Matsubara M, Higashitani K, Miyazaki M, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Crucial roles of IL-10-producing Type 1 regulatory T cells (Tr1) in the pathogenesis of hepatitis C virus-infected hepatocellular carcinoma
17th International Meeting on Hepatitis C virus and related viruses, Yokohama, Japan, September 10-14, 2010
- 10) **Higashitani K, Kanto T, Kakita N, Matsubara M, Miyazaki M, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Indoleamine 2, 3-dioxygenase as an active inducer of regulatory T cells in chronic HCV infection”
17th International Meeting on Hepatitis C virus and related viruses, Yokohama, Japan, September 10-14, 2010
- 11) **Matsubara M, Kanto T, Kakita N, Higashitani K, Miyazaki M, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Pro-angiogenic receptor TIE2-expressing monocytes/TEMs as novel diagnostic marker for HCV-infected hepatocellular carcinoma
17th International Meeting on Hepatitis C virus and related viruses, Yokohama, Japan, September 10-14, 2010
- 12) **Miyazaki M, Kanto T, Matsubara M, Kakita N, Higashitani K, Inoue M, Sakakibara M, Hiramatsu N, Takehara T, Kasahara A, Hayashi N.** Type-I and type-III interferon induction from myeloid and plasmacytoid dendritic cells in chronic hepatitis C patients; lack of association

with single nucleotide polymorphism near IL28B gene

17th International Meeting on Hepatitis C virus and related viruses, Yokohama, Japan, September 10-14, 2010

H.知的財産権の出願・登録状況
特に予定なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Ueda, K, (上田)	Kaposi's sarcoma-associated Virus governs gene expression profiles toward B cell transformation.	Magel, D. G. and Tyring, S.	Herpesviruses	In-Tech	Rijeka, Croatia	2012	pp93-104
上田啓次 (上田)	HHV-8	新居志郎ら編	病原細菌・ウイルス図鑑	北海道大学出版会			編集中
平松直樹、 (平松)	肝発癌予防	日本肝臓学会	肝癌診療マニュアル(第2版)	医学書院	東京	2010	21-26.

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshio S, (林)	Human BDCA3(+) dendritic cells are a potent producer of IFN-λ in response to hepatitis C virus.	Hepatology			in press
Higashitani K, (林)	Association of enhanced activity of indoleamine 2,3-dioxygenase in dendritic cells with the induction of regulatory T cells in chronic hepatitis C infection.	J Gastroenterol			in press
Harada N, (林)	Incidence of hepatocellular carcinoma in HCV-infected patients with normal alanine aminotransferase levels categorized by Japanese treatment guidelines.	J Gastroenterol.			in press
Matsubara T, (林)	TIE2-expressing monocytes as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma correlated with angiogenesis.	Hepatology			in press
Nawa T, (林)	Interferon-α suppresses hepatitis B virus enhancer II activity via the protein kinase C pathway.	Virology	432	452-459	2012
Kakita N, (林)	Comparative analyses of regulatory T cell subsets in patients with hepatocellular carcinoma: A crucial role of CD25(-) FOXP3(-) T cells.	Int J Cancer	131	2573-2583	2012

Hosui A, (林)	Suppression of signal transducers and activators of transcription 1 in hepatocellular carcinoma is associated with tumor progression.	Int J Cancer	131	2774-2784	2012
Kurokawa M, (林)	Long-term effect of lamivudine treatment on the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection.	J Gastroenterol	47	577-585	2012
Hikita H, (林)	Bak deficiency inhibits liver carcinogenesis: A causal link between apoptosis and carcinogenesis.	J Hepatol	57	92-100	2012
Kohga K, (林)	Interleukin-1 β enhances the production of soluble MICA in human hepatocellular carcinoma.	Cancer Immunol Immunother	61	1425-1432	2012
Oze T, (林)	Reducing Peg-IFN doses causes later virologic response or no response in HCV genotype 1 patients treated with Peg-IFN alfa-2b plus ribavirin.	J Gastroenterol	47	334-342	2012
Kanto T, (林)	Dynamics of regulatory T cells and plasmacytoid dendritic cells as immune markers for virological response in pegylated interferon- α and ribavirin therapy for chronic hepatitis C patients.	J Gastroenterol	47	169-178	2012
Shimizu S, (林)	Inhibition of autophagy potentiates the antitumor effect of the multikinase inhibitor sorafenib in hepatocellular carcinoma.	Int J Cancer	131	548-557	2012
Tsunematsu H, (林)	Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells.	Int J Cancer	130	356-364	2012
Oze T (林)	Indications and limitations for aged patients with chronic hepatitis C in pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin combination therapy.	J Hepatol	54	604-611	2011
Tatsumi T (林)	Hepatitis C virus-specific CD8+ T cell frequencies are associated with the responses of pegylated interferon- α and ribavirin combination therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection.	Hepatol Res	41	30-38	2011

Tatsumi T (林)	α -galactosylceramide activates antitumor immunity against liver tumor.	Hepatol Res	41	160-169	2011
Inoue Y (林)	Amino acid substitution in the core protein has no impact on relapse in hepatitis C genotype 1 patients treated with peginterferon and ribavirin.	J Med Virol	83	419-427	2011
Shigekawa M (林)	Involvement of STAT3-regulated hepatic soluble factors in attenuation of stellate cell activity and liver fibrogenesis in mice.	Biochem Biophys Res Commun	406	614-620	2011
Kodama T (林)	BH3-only activator proteins, Bid and Bim, are dispensable for Bak/Bax-dependent thrombocyte apoptosis induced by Bcl-xL deficiency: Molecular requisites for the mitochondrial pathway to apoptosis in platelets.	J Biol Chem	286	13905-13913	2011
Hikita H (林)	Delayed-onset caspase-dependent massive hepatocyte apoptosis upon Fas activation in Bak/Bax-deficient mice.	Hepatology	54	240-251	2011
Oze T (林)	The efficacy of extended treatment with pegylated interferon plus ribavirin in patients with HCV genotype 1 and slow virologic response in Japan.	J Gastroenterol	46	944-952	2011
Miyagi T (林)	Differential alteration of CD56-bright and CD56-dim NK cells in frequency, phenotype and cytokine response in chronic hepatitis C virus infection.	J Gastroenterol	46	1020-1030	2011
Oze T (林)	Efficacy of re-treatment with pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for patients with chronic hepatitis C in Japan.	J Gastroenterol	46	1031-1037	2011

Kodama T (林)	Increases in p53 expression induce CTGF synthesis by mouse and human hepatocytes and result in liver fibrosis in mice.	J Clin Invest	121	3343-3356	2011
Sakakibara M (林)	Comprehensive immunological analyses of colorectal cancer patients in the phase I/II study of quickly matured dendritic cell vaccine pulsed with carcinoembryonic antigen peptide.	Cancer Immunol Immunother.	60	1565-1575	2011.
Ishida H (林)	Alteration in microRNA expression profile in HCV-infected hepatoma cells: Involvement of miR-491 in regulation of HCV replication via the PI3 kinase/Akt pathway.	Biochem Biophys Res Commun	412	92-97	2011
Hiramatsu N (林)	Efficacy of pegylated interferon plus ribavirin combination therapy for hepatitis C patients with normal ALT levels: a matched case-control study.	J Gastroenterol	46	1335-1343	2011
Kamada Y (林)	Estrogen deficiency worsens steatohepatitis in mice fed high fat and high cholesterol diet.	Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol	301	G1031-G1043	2011
Tsunematsu H (林)	Fibroblast growth factor-2 enhances NK sensitivity of hepatocellular carcinoma cells.	Int J Cancer	130	356-364	2011
Uemura A, (林)	Natural killer cell is a major producer of interferon γ that is critical for the IL-12-induced anti-tumor effect in mice.	Cancer Immunol Immunother	59	453-463	2010
Inoue Y, (林)	Factors affecting efficacy in patients with genotype 2 chronic hepatitis C treated by pegylated interferon alpha-2b and ribavirin: reducing drug doses has no impact on rapid and sustained virological	J Viral Hepat	17	336-344	2010

Imai Y, (林)	Reduced risk of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in aged patients with chronic hepatitis C is limited to sustained virological responders.	J Viral Hepat	17	185-191	2010
Sakamori R, (林)	STAT3 signaling within hepatocytes is required for anemia of inflammation in vivo.	J Gastroenterol	45	244-248	2010
Yamaguchi S, (林)	EphA2-derived peptide vaccine with amphiphilic poly(γ -glutamic acid) nanoparticles elicits an antitumor effect against mouse liver tumor.	Cancer Immunol Immunother	59	759-767	2010
Kohga K, (林)	Sorafenib inhibits the shedding of MICA on hepatocellular carcinoma cells by downregulating ADAM9.	Hepatology	51	1264-1273	2010
Shimizu S, (林)	The let-7 family of microRNAs inhibits Bcl-xL expression and potentiates sorafenib-induced apoptosis in human hepatocellular carcinoma.	J Hepatol	52	698-704	2010
Kohga K, (林)	Expression of CD133 confers malignant potential by regulating metalloproteinases in human hepatocellular carcinoma.	J Hepatol	52	872-879	2010
Kodama T, (林)	Thrombocytopenia exacerbates cholestasis-induced liver fibrosis in mice.	Gastroenterology	138	2487-2498	2010
Ohkawa K, (林)	Fatal exacerbation of type B chronic hepatitis triggered by changes in relaxed circular viral DNA synthesis and virion secretion.	Biochem Biophys Res Commun	394	87-93	2010
Ohkawa K, (林)	Alterations in hepatitis B virus nucleotide sequences in a chronic virus carrier from immunotolerant to immunoactive phase.	Biochem Biophys Res Commun	394	574-580	2010
Miyagi T, (林)	Altered interferon-alpha-signaling in NK cells from patients with chronic hepatitis C virus infection.	J Hepatol	53	424-430	2010
Miyagi T, (林)	Absence of invariant natural killer T cells deteriorates liver inflammation and fibrosis in mice fed high-fat diet.	J Gastroenterol	45	1247-1254	2010

Hikita H, (林)	The Bcl-xL inhibitor, ABT-737, efficiently induces apoptosis and suppresses growth of hepatoma cells in combination with sorafenib.	Hepatology	52	1310-1321	2010
Tamai T, (坪内)	Serum manganese superoxide dismutase and thioredoxin are potential markers for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma.	World J Gastroenterol	17(44)	4890-4898	2011
Oda K, (坪内)	Highly sensitive lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein is useful for early detection of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease.	Oncol Rep	26(5)	1227-1233	2011
Kanmura S, (坪内)	The complement component C3a fragment is a potential biomarker for hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma.	J Gastroenterol	45(4)	459-467	2010
Ogawa E, (野村)	Efficacy of pegylated interferon alpha-2b and ribavirin treatment on the risk of hepatocellular carcinoma of patients with chronic hepatitis C: A prospective, multicenter study J	J Hepatol			in press
Miyagi Y, (野村)	Estimation of two real-time RT-PCR assays for quantitation of hepatitis C virus RNA during PEG-IFN plus ribavirin therapy by HCV genotypes and IL28B genotype.	J Infect Chemother			in press
Ogawa E, (野村)	An inadequate dose of ribavirin is related to virological relapse by chronic hepatitis C patients treated with pegylated interferon alpha-2b and ribavirin.	J Infect Chemother	18	689-697	2012
Saito H, (野村)	Factors responsible for the discrepancy between IL28B polymorphism prediction and the viral response to peginterferon plus ribavirin therapy in Japanese chronic hepatitis C patients.	Hepatol Res.	42	958-965	2012