

C 型肝炎患者における WFA+M2BP と肝弾性値の発がん予測因子としての有用性比較

市田隆文 順天堂大学医学部附属静岡病院・消化器内科・教授

研究要旨:252 例の C 型肝炎患者を対象に、新規肝線維化マーカー WFA+M2BP と肝弾性値の発がん予測因子としての有用性を比較検討した。WFA+M2BP と LSM は共に肝発がんに関連する有意な要因であり、その測定により同程度に発がん予測能が向上することが期待できた。一方、両者のリスク評価は必ずしも一致せず、相補的に用いることでより有効な肝発がんリスク症例の拾い上げが可能になると考えられた。

研究協力者

玄田拓哉 順天堂大学医学部附属静岡病院・消化器内科・准教授

A. 研究目的

C 型肝炎患者の発がん予測因子としての WFA+M2BP 測定の有用性を、既存の非侵襲的肝線維化マーカーである肝弾性値測定と比較検討する。

B. 研究方法

順天堂静岡病院消化器内科において、FibroScan(R) による肝弾性値測定(liver stiffness measurement; LSM) を実施し 6 カ月以上の経過観察期間を有する C 型肝炎患者を対象に、LSM 測定時の血中 WFA+M2BP を測定し肝発がんに関与する要因を検討した。

C. 研究結果

対象症例は 252 例(男性 142 例、56.3%) で年齢の中央値は 62 歳(22-84 歳) であった(表 1)。LSM 測定後、全例に IFN 治療が行われ、ウイルス学的著効(SVR)は 153 例(60.7%) で得られた。LSM 測定後の観察期間中央値 1104 日で 252

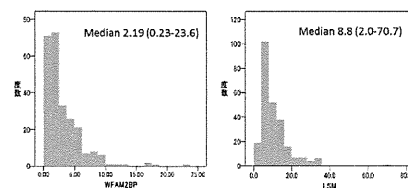
例中 18 例(7%) に肝発がんが認められた。

表 1: 患者背景

Variables	N=252
Age (year)	62 (22-84)
Male (%)	56.3
Observation period	1104 (181-2143)
HCC development	18 (7%)
HCV-genotype-1 (%)	54.8
IFN-Tx (%)	100
SVR (%)	60.7
Albumin (g/dL)	3.8 (3.1-5.0)
ALT (IU/L)	49 (9-410)
Total bilirubin (mg/dL)	0.7 (0.2-2.3)
γGTP (IU/L)	43 (4-517)
Platelet count (x10 ³ /μL)	16.4 (5.2-38.9)
Prothrombin time (%)	102 (58-187)

対象症例における WFA+M2BP の測定結果は中央値 2.19、範囲 0.23-23.6 であり、LSM は中央値 8.8kPa、範囲 2.0-70.7kPa であった(図 1)

図 1: WFA+M2BP と LSM の測定結果



次に、肝発がんに関連する要因を Cox 比例ハザードモデルで解析した。単変量解析では SVR、血中アルブミン値、血小板数と共に、WFA+M2BP と LSM 測定値が肝発がんに関連する有意な要因として抽出された(表 2)。

WFA+M2BP と LSM は、共に代替肝線維化マーカーであることから、個別に多変量モデルに投入し肝発がんに関連する要因を検討したところ、WFA+M2BP と LSM はそれぞれ SVR と共に有意な要因として抽出された(表 3)。

表 2：肝発がんに関連する要因：単変量解析

Variables	Univariate analysis	
	HR (95% CI)	P value
Age	1.06(1.01-1.12)	0.021
Male gender	1.22(0.47-3.16)	0.677
SVR	0.17(0.05-0.58)	0.005
WFA-M2BP	1.16(1.07-1.25)	<0.001
LSM	1.05(1.02-1.08)	<0.004
Alb	0.05(0.01-0.23)	<0.001
ALT	1.00(1.00-1.01)	0.544
γGTP	1.00(1.00-1.01)	0.356
T-bil	2.00(0.61-6.57)	0.255
AFP	1.01(1.00-1.02)	0.216
PII	0.86(0.78-0.95)	0.003

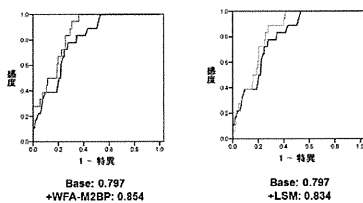
表 3：肝発がんに関連する要因：多変量解析

Model 1				
Variables	Category	HR	95%CI	P-value
SVR	SVR	1		
	non-SVR	5.62	1.62 - 19.44	0.006
WFA-M2BP	<3.6	1		
	≥3.6	3.65	1.37 - 9.74	0.010

Model 2				
Variables	Category	HR	95%CI	P-value
SVR	SVR	1		
	non-SVR	4.34	1.26 - 15.33	0.020
LSM	<10.0	1		
	≥10.0	8.50	1.94 - 37.31	0.005

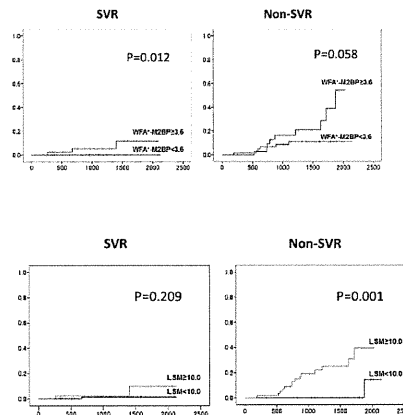
WFA+M2BP もしくは LSM の測定を施行した場合の肝発がん予測能の向上を比較するために、多変量モデルの ROC 曲線を検討した。その結果 WFA+M2BP もしくは LSM を測定しなかった場合に作成されたモデルの肝発がん予測に対する AUROC は 0.797 であったが、WFA+M2BP もしくは LSM を測定した場合、前者は AUROC を 0.858、後者は 0.834 へ増加させた(図 2)。

図 2：肝発がんの予測能：ROC 解析



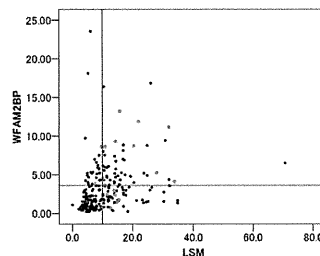
SVR 例と非 SVR 例での累積発がん率を検討したところ、WFA+M2BP で層別化した場合は SVR において有意な差が認められた。一方、LSM で層別化した場合は非 SVR 例において有意な差が認められた(図 3)。

図 3：累積肝発がん率



WFA+M2BP と LSM の測定結果を比較したところ、どちらか一方の測定結果のみしかカットオフ値以上を示さない不一致例が少なからず存在していた。また、このようなリスク評価不一致例からも肝発がんが認められていた(図 4)。

図 4：WFA+M2BP と LSM の測定結果の相関



D. 考察

C 型肝炎患者において WFA+M2BP 測定は LSM と同程度のダイナミックレンジを持つ検査法であり、WFA+M2BP 測定を行うことで、LSM 測定と同程度に肝発がん予測能を向上させ得る可能性がある。一方、これら二つの検査で抽出される肝発がんリスク群は完全に一致す

るものではなく、相補的に用いることでより効果的な肝発がんリスク患者の拾い上げが可能になると考えられた。

E. 結論

WFA⁺-M2BP 測定は C 型肝炎患者における肝発がんリスク群の抽出に有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Genda T, Ichida T, Sakisaka S, Sata M, Tanaka E, Inui A, Egawa H, Umeshita K, Furukawa H, Kawasaki S, Inomata Y. Waiting list mortality of patients with primary biliary cirrhosis in the Japanese transplant allocation system. *J Gastroenterol*. 2014 Feb; 49(2):324-331.
- 2) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsushashi H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T, Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59(1):89-97.
- 3) Narita Y, Genda T, Tsuzura H, Sato S, Kanemitsu Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Hirano K, Iijima K, Wada R, Ichida T. Prediction of liver stiffness for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients on interferon-based

anti-viral therapy. *J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan; 29(1):137-143.

- 4) Sato A, Sata M, Ikeda K, Kumada T, Izumi N, Asahina Y, Osaki Y, Chayama K, Kaneko S, Sakai A, Onji M, Hiasa Y, Omura T, Ozeki I, Yokosuka O, Shiina S, Itsubo M, Nishiguchi S, Hirano K, Ide T, Sakisaka S, Yamasaki T, Hidaka I, Tanaka M, Kim SR, Ichida T. Clinical characteristics of patients who developed hepatocellular carcinoma after hepatitis C virus eradication with interferon therapy: current status in Japan. *Intern Med*. 2013 Jul; 52(24):2701-2706.
- 5) Hasegawa K, Kokudo N, Makuuchi M, Izumi N, Ichida T, Kudo M, Ku Y, Sakamoto M, Nakashima O, Matsui O, Matsuyama Y. Comparison of resection and ablation for hepatocellular carcinoma: A cohort study based on a Japanese nationwide survey. *J Hepatol*. 2013 Apr; 58(4):724-729.
- 6) Harada K, Hirohara J, Ueno Y, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. *Hepatology*. 2013 May; 57(5):1942-1949.

2. 学会発表

- 1) 甘樂 裕徳、玄田 拓哉、佐藤 俊輔、村田 礼人、金光 芳生、成田 諭隆、石川 幸子、菊池 哲、森 雅史、平野 克治、飯島 克順、市田 隆文. インターフェロン治療後の肝発癌予測因子としての AKR1B10 の有用性. 第 40 回日本肝臓学会西部会. 2013.12.09. 岐阜.

- 2) Tsuzura H, Genda T, Sato S, Murata A, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T.** Acquisition of aldo-keto reductase family 1 member B10 expression in early stage of human hepatocarcinogenesis. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington DC.
- 3) Tsuzura H, Genda T, Sato S, Murata A, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T.** Aldo-keto reductase family 1 member B10 and platelet count predict the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients receiving interferon therapy. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington DC.
- 4) Sato S, Genda T, Murata A, Tsuzura H, Kanemitsu Y, Narita Y, Ishikawa S, Kikuchi T, Mori M, Hirano K, Iijima K, **Ichida T.** The impact of aldo-keto reductase family 1 member B10 expression on the risk of hepatocellular

carcinoma in patients with chronic hepatitis C. AASLD 64th Annual Meeting. 2013.11.05. Washington D.C. USA.

- 5) 成田 諭隆、玄田 拓哉、村田 礼人、甘楽 裕徳、佐藤 俊輔、金光 芳生、石川 幸子、菊池 哲、森 雅史、平野 克治、飯島 克順、市田 隆文. Fibroscan(R) を用いた C 型慢性肝炎患者のインターフェロン治療後肝発癌予測. 第 17 回日本肝臓学会大会. 2013.10.11. 東京.
- 6) 佐藤 俊輔、玄田 拓哉、市田 隆文. C 型肝炎における発癌を予測する新規バイオマーカー-AKR1B10. 第 17 回日本肝臓学会大会. 2013.10.09. 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

C 型肝炎ウイルス学的著効後肝発癌と新規糖鎖マーカーWFA+-M2BP の検討

八橋 弘 国立病院機構長崎医療センター・臨床研究センター長

研究要旨:新規糖鎖マーカーWFA+-M2BP と C 型肝炎ウイルス駆除後肝発癌の関連を既存の因子とともに検討した。1989年11月～2010年12月に当院でIFNを施行しウイルス学的著効(SVR) が得られ、肝細胞癌既往症例・IFN 治療終了後1年以内肝発癌症例を除外し保存血清の存在する238例を対象とした。WFA+-M2BP 値は、発癌例・非発癌例にかかわらず治療前 1.69(range 0.28-12.04)、治療後 0.80(range 0.17-5.29)と有意に低下していた($p<0.001$)。SVR 判定時 WFA+-M2BP 値は発癌群 1.24(range 0.42-4.40)、非発癌群 0.79(0.17-5.29)有意差を認めた。Cox 比例ハザードにて発癌に寄与する因子を検討したところ年齢 ≥ 60 (HR 9.824, $p=0.001$)、血小板値 <15.0 万(HR 4.438, $p=0.015$)、男性(HR 4.668, $p=0.023$)、SVR 判定時 WFA+-M2BP >2.0 (HR 4.898, $p=0.009$)が有意な因子として抽出された。SVR 判定時 WFA+-M2BP は SVR 後発癌予測に有用な可能性がある。

研究協力者

山崎一美 長崎医療センター・臨床研究センター・臨床疫学研究室長
佐々木龍 長崎医療センター・肝臓内科・医師

2013年に報告された(Kuno, et al. Sci. Rep 2013)。

IFN 治療でウイルス学的著効(Sustained virological response: SVR)が得られれば肝発癌は大きく抑制できるが、SVR 症例においても一部発癌例は認める。当院の SVR 症例において発癌寄与因子を解析したところ年齢、治療後 AFP 値、血小板、飲酒が有意な因子として抽出された。そこで WFA+-M2BP を検討項目に追加し、SVR 後発癌予測に有用であるか検討した。

A. 研究目的

C 型慢性肝疾患は慢性肝炎から肝硬変、肝癌への進展をきたす。我が国において C 型肝炎は肝癌の主要な原因となっている。肝癌発生率は背景肝組織と関連し、線維化の進展とともに肝癌発生率は高くなり、肝硬変からの発癌率が最も高い。C 型肝炎の肝組織評価は肝生検で評価される。血清で測定する Mac2 binding protein(M2BP)値は肝線維化ステージと関連していることが以前から報告され、M2BP の糖鎖抗原の変化を測定する WFA+-M2BP は、さらなる特異性をもって肝線維化と関連することが

B. 研究方法

対象は、独立行政法人国立病院機構長崎医療センターで、1989年11月～2010年12月にIFN 施行し SVR が得られた症例において、HBs 抗原陽性、自己免疫性肝炎/原発性胆汁性肝硬変、観察期間 12 か月未満、肝細胞癌既往、IFN 終了後1年以内発癌、少量長期投与例を除外し保存血清が存在する238例を対象とした。

WFA⁺-M2BP 値は IFN 治療前、SVR 判定時、発癌/最終観察時の 3 ポイント測定した。

C. 研究結果

(1) 対象の背景

対象患者 238 名の背景を表 1 に示す。

表 1. 患者背景

年齢(才)	55 (18-75)
男性(%)	147 (61.8)
観察期間(年)	9.1
線維化スコア F 1/2/3/4	104/68/42/24
治療前AST (IU/mL)	60 (12-365)
治療前ALT (IU/mL)	100 (12-519)
Alb (g/dl)	4.3 (2.9-5.5)
T.bil (mg/dl)	0.7 (0.3-1.9)
治療前AFP (ng/mL)	5 (1-200)
治療血小板 (*10 ⁴ /mm ³)	16.0 (6.4-33.2)
SVR時AST (IU/mL)	20 (10-54)
SVR時ALT (IU/mL)	17 (7-64)
SVR時AFP (ng/mL)	3 (1-46)
SVR時血小板 (*10 ⁴ /mm ³)	16.8 (6.5-36.3)
IFN regimen(%)	
IFN monotherapy	123(51.6)
PEG-IFN monotherapy	28(11.8)
IFN/PEG-IFN+RBV	87(36.6)
抗HBc抗体陽性	26(10.9)
飲酒(>20g/day)	64 (26.9)

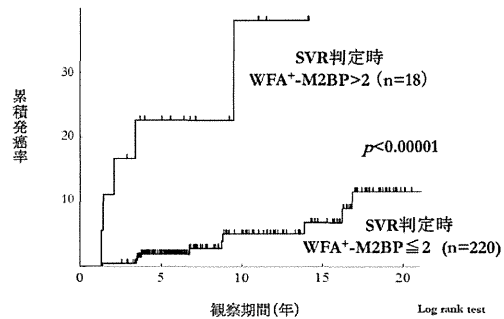
(2) WFA⁺-M2BP 値の推移

観察期間中に 16 例の発癌を認めた。

WFA⁺-M2BP 値は発癌群(n=16)で治療前 2.07(0.99-8.04)、SVR 判定時 1.24(0.42-4.44)、発癌時 0.79(0.41-2.79)、非発癌群(n=222)で治療前 1.68(0.28-12.0)、SVR 判定時 0.79(0.17-5.29)、最終観察時 0.74(0.14-7.24)と発癌・非発癌に関わらず経時的に低下を認めた。SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値のみ発癌群・非発癌群で有意差を認めた(p<0.01)。

(3) SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値と肝発癌

SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値≤2.0(n=220)での累積肝発癌率は 5 年で 5.0%に対し、SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値>2.0(n=18)の症例では 38.1%であった(p<0.0001) (下図)。



SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値と累積発癌率

(4) SVR 後発癌に寄与する因子

SVR 後発癌に寄与する因子を検討し単変量解析では年齢・肝線維化・治療前 AFP・Alb・血小板値・飲酒・SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値が有意な因子として抽出された。Cox 比例ハザードモデルを用いた多変量解析では年齢 ≥60(HR 9.824, p=0.001)、血小板値<15.0 万 (HR 4.438, p=0.015)、男性(HR 4.668, p=0.023)、SVR 判定時 WFA⁺-M2BP>2.0(HR 4.898, p=0.009)が有意な因子として抽出された。

D. 考察

C 型肝炎ウイルス駆除により肝発癌は有意に抑制される。一方で SVR 後の肝発癌も少なからず報告されている。これまで高齢、男性、高度線維化、飲酒等がリスク因子と報告されており、近年では IFN 治療前・SVR 判定時の AFP 等も予測に有用であることが報告されている。C 型肝炎ウイルス治療の進歩に伴い SVR 率は向上し、新規薬剤の登場によりさらなる著効率の改善が期待される。それに伴い発癌高リスク群で

ある高齢・線維化進展例での SVR 症例が増えることで SVR 後発癌の予測・リスク評価は非常に重要な課題である。

今回われわれは、この新規マーカーが SVR 後発癌予測に有用であるか検討した。

WFA⁺-M2BP 値はウイルス駆除により経時的に低下するが、SVR 判定時の WFA⁺-M2BP 値は発癌群で有意に高値であった。SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値>2.0 の症例では有意に累積肝発癌率が高く、その後の肝発癌予測に有用である可能性が示唆された。

E. 結論

SVR 判定時 WFA⁺-M2BP 値は肝発癌を予測するマーカーとして有用である。

F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ito K, Yotsuyanagi H, Yatsunami H, Karino Y, Takikawa Y, Saito T, Arase Y, Imazeki F, Kurosaki M, Umemura T,

Ichida T, Toyoda H, Yoneda M, Mita E, Yamamoto K, Michitaka K, Maeshiro T, Tanuma J, Tanaka Y, Sugiyama M, Murata K, Masaki N, Mizokami M. Risk factors for long-term persistence of serum hepatitis B surface antigen following acute hepatitis B virus infection in Japanese adults. *Hepatology*. 2014 Jan; 59(1):89-97.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

NAFLD における肝線維化評価と WFA+-M2BP の有用性

髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長

研究要旨：近年、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD) の症例は増加傾向にあり、臨床的重要性が増しているが、正確な診断のためには、現時点では肝生検が必須である。そこで、線維化マーカーとして新規に開発された WFA+-M2BP を用いて肝生検施行 NAFLD 症例の線維化を評価し、他の血液生化学検査や線維化マーカーとの比較検討を行った。その結果、NAFLD 症例における WFA+-M2BP 測定値は、肝生検組織所見と良好な相関を示し、線維化レベル別の判定法として優れていることが明らかにされた。

A. 研究目的

非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD) は、近年、増加傾向にあり、我が国の慢性肝障害の原因としても注目が高まっている。なかでも、肝組織の壊死・炎症や線維化を伴う非アルコール性脂肪肝炎(NASH) への進展により、肝硬変や肝発癌のリスクが高まるため、疾患群の診断が重要となる。しかし、現時点で NASH 症例を診断するためには肝の組織学的診断が必須であり、観血的検査が必要となるが、その一方で、検体採取量は限定的であるため組織診断が不十分となる可能性も指摘されている。そこで、NAFLD を対象として、本研究班で明らかにされた新規マーカーである WFA+-M2BP を測定し、肝予備能、他の線維化マーカーとの関連を検討する。

B. 研究方法

(1) 検討対象

2003 年から 2013 年の間に当科にて肝生検を実施し、同時期に採取された血清が保存されている NAFLD 症例 66 例を対象とした。肝生検組織は、組織学的評価に十分な大きさを採取されたものに限定した。

対象は、男性/女性が 25/41 例、年齢は中央値 60.5 歳(29 歳～92 歳)、BMI は 27.6(17.1～42.4) であった。肝癌合併例は 7 例認めた。糖尿病合併は 32 例(薬物治療例 14 例)、高血圧合併 31 例、脂質異常症合併 30 例であった。

(2) 測定方法

肝生検を施行した時期と同一の凍結保存血清を用いて WFA+-M2BP を測定した。さらに、血清ヒアルロン酸、IV 型コラーゲン 7S、フェリチン、サイトケラチン 18(CK18) についても同様に測定した。また、血液凝固系検査、生化学検査として、白血球、ヘモグロビン、血小板、PT 活性、アルブミン、コリンエステラーゼ、ICG 負荷試験 15 分値の測定結果を検討に用いた。

(3) 検討項目

- 1) WFA+-M2BP 測定値と肝生検組織線維化(staging) の関連
- 2) 他のマーカーと肝組織線維化の関連
- 3) WFA+-M2BP 測定値と他のマーカーとの関連
- 4) 線維化判別のための各マーカーの ROC 解

析

5) WFA+-M2BP と血液生化学検査結果との関連

なお、FIB-4 index は以下の式を用いて算出した。FIB-4 = age (years) ×AST (U/L) / platelets (10⁹/L)×ALT (U/L)^{1/2}

C. 研究結果

(1) 肝の組織学的所見と WFA+-M2BP 測定値

肝生検組織による stage 0/1/2/3/4 それぞれの症例の WFA+-M2BP 測定値(平均±標準偏差)は、0.54±0.16/0.95±0.40/1.31±0.36/1.73±0.80/4.16±2.68 との結果で、stage の進展と WFA+-M2BP 値に相関傾向を認めた。

(2) 他のマーカーとして、ヒアルロン酸、IV 型

コラーゲン 7S、フェリチン、CK18 の肝線維化(staging) との関連を示す。stage 0/1/2/3/4 別の測定値(平均±標準偏差) は、ヒアルロン酸では 34.0±16.6/58.1±45.4/115.5±93.2/137.3±118.8/383.7±263.4、IV 型コラーゲン 7S では 3.34±0.93/4.73±1.62/6.44±1.89/6.34±1.00/9.13±1.92 で線維化の程度と相関する傾向を示したが、フェリチンでは 181.4±180.7/351.1±292.5/422.0±370.4/456.2±348.2/187.4±171.5、CK18 では 229.5±130.9/625.0±354.5/816.0±314.6/644.4±377.8/432.5±263.3 との結果で、良好な相関を示さなかった。

(3) WFA+-M2BP 測定値と他のマーカーとの相関につき検討した。WFA+-M2BP と有意な相関関係を認めたのは、ヒアルロン酸(r=0.75、p<0.001) 、IV 型コラーゲン 7S(r=0.67、p<0.001) 、FIB-4 index(r=0.63、p<0.001) であった。一方、フェリチンや CK18 とは相関を認めなかった。

(4) 肝生検の各線維化スコア間の鑑別能に関し

て、ROC 解析の AUC 値を用いて比較を行った。F0/F1 以上、F1 以下/F2 以上、F2 以下/F3 以上、F3 以下/F4 のそれぞれの判別について、WFA+-M2BP による AUC は、それぞれ、0.942、0.907、0.901、0.908 であり、いずれの stage 間でも 0.90 以上の AUC 値を示した。IV 型コラーゲン 7S では、0.928、0.894、0.865、0.955、ヒアルロン酸では、0.842、0.865、0.864、0.944、FIB-4 index では、0.867、0.890、0.837、0.901 の結果で、比較 stage によっては AUC が低下するところもみられた。

(5) WFA+-M2BP と、血液生化学検査結果との相関性につき検討した。WFA+-M2BP と良好な相関関係を認めた検査項目は、白血球(r=-0.37、p=0.002) 、ヘモグロビン(r=-0.48、p<0.001) 、血小板(r=-0.62、p<0.001) 、PT 活性(r=-0.52、p<0.001) 、アルブミン(r=-0.69、p<0.001) 、コリンエステラーゼ(r=-0.50、p<0.001) 、ICG 負荷試験 15 分値(r=0.77、p<0.001) であった。

D. 考察

今回、肝生検組織で stage を評価可能な NAFLD 症例を対象として、WFA+-M2BP を含めて血液検査にて測定可能なマーカーによる検討を行った。肝線維化の程度と相関を示すものには、WFA+-M2BP、ヒアルロン酸、IV 型コラーゲン 7S、FIB-4 index が挙げられた。その中で、WFA+-M2BP は、線維化の進行と一致して段階的に測定値の上昇を示し、また、ROC 解析結果から示された stage 間の判別能もそれぞれにバランスのよい結果を示した。

今回の結果から、WFA+-M2BP を用いた NAFLD 症例の線維化評価は有用であることが明らかとなった。今後、NASH 症例や NASH への進行が懸念される症例の絞り込み、対象症例の経時的変化の評価などに、WFA+-M2BP の測定は臨床的に有用な情報を提供するものと期待

される。

一方で、これまでの肝線維化マーカーの評価は、肝生検組織所見を基準として行われてきたが、今回の検討においても、組織検体の大きさ、不均一性など、肝生検の限界も明らかである。今後は、WFA+M2BP など有効な定量的検査結果による評価が重要であると思われる。

今回の解析対象は NAFLD 症例であったが、ウイルス性など他の慢性肝疾患における肝内線維化の状態とは異なる所見を示す。この差異は、線維化マーカー測定値にも少なからず影響を及ぼす可能性があり、今後、病態別の判定基準を検討する必要もあるものと考えられる。

E. 結論

NAFLD 症例の肝生検組織所見と血液による線維化マーカーとの関連を検討した。その結果、WFA+M2BP は他のマーカーと同等以上の線維化判別能があることが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chuma M, Sakamoto N, Nakai A, Hige S, Nakanishi M, Natsuzaka M, Suda G, Sho T, Hatanaka K, Matsuno Y, Yokoo H, Kamiyama T, Taketomi A, Fujii G, Tashiro K, Hikiba Y, Fujimoto M, Asaka M, Maeda S. Heat shock factor 1 accelerates hepatocellular carcinoma development by activating nuclear factor κ B/mitogen-activated protein kinase. *Carcinogenesis*. 2014 Feb; 35(2):272-281.
- 2) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH,

Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. *PLoS One*. 2014 Feb; 9(2):e86449.

2. 学会発表

- 1) Hige S, Karino Y, Kimura M, Arakawa T, Nakajima T, Kuwata Y, Ozeki I, Sato T, Ohmura T, Toyota J. Paradoxical progression of anemia at delayed phase of triple therapy with telaprevir for ITPA non-CC patients with chronic hepatitis C. *AASLD The Liver Meeting 2013*. 2013.11.05. Washington D.C. USA..
- 2) 髭 修平、狩野 吉康、小関 至、木村 睦海、荒川 智宏、中島 知明、桑田 靖昭、赤池 淳、佐藤 隆啓、大村 卓味、豊田 成司. C 型慢性肝炎に対する simeprevir 併用治療の有効性 -telaprevir 併用との比較. 第 17 回日本肝臓学会大会(肝臓. 54(Suppl 2):A621). 2013.10.10. 東京.
- 3) 髭 修平、狩野 吉康、豊田 成司. C 型肝炎に対する 3 剤併用療法における治療成績と至適投与量の検討. 第 49 回日本肝臓学会総会(肝臓. 54(Suppl 1):A20). 2013.06.06. 東京. SY1-10.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)	2. 実用新案登録
1. 特許取得	なし
なし	3. その他
	なし

NASH における耐糖能異常と肝線維化
日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授

研究要旨：NASH は高率に耐糖異常・糖尿病を合併し、糖尿病は肝線維化・肝発癌の危険因子である。NASH の耐糖能異常をより早期の段階で発見すれば薬物療法を行わずとも生活習慣の改善のみで耐糖能異常が是正され、肝病変進展を抑制しうる可能性がある。そこで血糖値、HbA1c 値からは耐糖能異常・糖尿病の合併を認めない 47 人の NAFLD 患者に経口糖負荷試験を行い、耐糖能異常・糖尿病の合併を検索するとともに、どの糖代謝マーカーが NAFLD における肝線維化と関連するかについて検討を行った。糖負荷試験では全体で 74%、線維化進展例に限ると 83%に耐糖能異常・糖尿病を認めた。一方、NAFLD の肝線維化予測には本研究班で開発された WFA⁺-M2BP が優れており、WFA⁺-M2BP 高値の NAFLD 症例は糖負荷試験を行うことで高率に耐糖能異常を見出せる可能性が示唆された。

研究協力者

原 裕一 川崎医科大学・肝胆膵内科学・
講師

仁科惣治 川崎医科大学・肝胆膵内科学・
講師

A. 研究目的

NASH は高率に耐糖異常・糖尿病を合併し、糖尿病は肝線維化・肝発癌の危険因子である。NASH の耐糖能異常をより早期の段階で発見すれば薬物療法を行わずとも生活習慣の改善のみで耐糖能異常が是正され、肝病変進展を抑制しうる可能性がある。そこで血糖値、HbA1c 値からは耐糖能異常・糖尿病の合併を認めない NAFLD 患者に経口糖負荷試験を行うことで、より早期の耐糖能異常・糖尿病を見出し、加えて NAFLD における肝線維化進展と関連する糖代謝マーカーを同定することを目的とした。

B. 研究方法

2009 年 1 月から 2014 年 2 月までに当科において肝生検を行い糖尿病と診断されていない NAFLD 患者 47 例に対して 75g OGTT と肝生検を行った。また、線維化進展群(Brunnt stage 2-4) と非線維化進展群(線維化なし又は Brunnt stage 1) の 2 群において、種々の糖代謝マーカーを比較検討した。

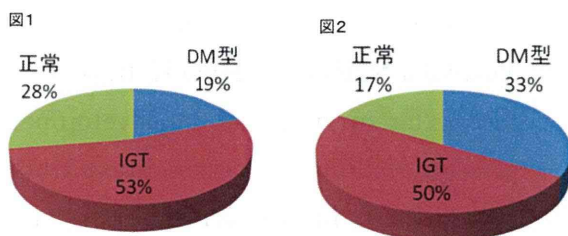
なお本研究は臨床研究に関する倫理委員会の承諾を得て行った。

C. 研究結果

(1) 75g OGTT の結果

血糖値、HbA1c 値からは耐糖能異常・糖尿病の合併を認めない NAFLD 患者の 53%に耐糖能異常、19%に糖尿病を認めた(図 1)。さらに線維化進展群に限ると 50%に耐糖能異常、33%に糖尿病を認めた(図 2)。このように NAFLD 患者では血糖値、HbA1c 値に異常を認めなくとも、高率に耐糖能異常・糖尿病を合

併していると考えられた。



(2) 線維化進展群(Brunt stage 2-4) と非線維化進展群(線維化なし又は Brunt stage 1) の比較
非線維化進展群(Brunt stage 0-1) と線維化進展群(stage 2-4) の2群において、性別($p < 0.01$)、AST($p < 0.01$)、PLT($p < 0.05$)、ALB($p < 0.05$)、4型コラーゲン7S($p < 0.01$)、ヒアルロン酸($p < 0.01$)、WFA⁺-M2BP($p < 0.01$)、IRI($p < 0.05$)、HOMA-IR($p < 0.01$)、0-2時間の血糖曲線下面積(血糖 AUC 0-2h) ($p < 0.05$)、およびインスリン AUC 0-2h($p < 0.01$)で有意差を認めた。また有意差を認めた項目で多変量解析を行ったところ、血糖値、HbA1c値からは耐糖能異常・糖尿病の合併を認めないNAFLDにおける肝線維化と有意に関連する因子は血糖 AUC 0-2h 値のみであった(Odds ratio 10.241 $P=0.034$)。また、有意差こそ認めなかったもののWFA⁺-M2BPもNAFLDにおける肝線維化との関連が強かった(Odds ratio 7.4 $P=0.057$)。

D. 考察

血糖値、HbA1c値からは耐糖能異常・糖尿病の合併を認めないNAFLDにおいて経口糖負荷試験を行うことにより高率に耐糖能異常・糖尿病を見出すことが可能であり、また血糖 AUC 0-2h 値は肝線維化の進展を予測しうるパラメーターであった。しかし、臨床の現場においてNAFLD 全例に対して経口糖負荷試験を行うことは不可能であり、糖負荷試験を行う対象症例の絞り込みが必要である。より肝病変が進行し

たNAFLD症例の耐糖能異常を是正するという観点からは、肝線維化進展例において経口糖負荷試験を行う意義があると考えられた。この点においてWFA⁺-M2BPはNAFLDの肝線維化進展と強く関連するマーカーであるため、WFA⁺-M2BP高値のNAFLD症例は経口糖負荷試験を行うよい対象ではないかと考えられた。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishida N, Sawai H, Kashiwase K, Minami M, Sugiyama M, Seto WK, Yuen MF, Posuwan N, Poovorawan Y, Ahn SH, Han KH, Matsuura K, Tanaka Y, Kurosaki M, Asahina Y, Izumi N, Kang JH, Hige S, Ide T, Yamamoto K, Sakaida I, Murawaki Y, Itoh Y, Tamori A, Orito E, Hiasa Y, Honda M, Kaneko S, Mita E, Suzuki K, Hino K, Tanaka E, Mochida S, Watanabe M, Eguchi Y, Masaki N, Murata K, Korenaga M, Mawatari Y, Ohashi J, Kawashima M, Tokunaga K, Mizokami M. New Susceptibility and Resistance HLA-DP Alleles to HBV-Related Diseases Identified by a Trans-Ethnic Association Study in Asia. PLoS One. 2014 Feb; 9(2):e86449.
- 2) Hino K, Hara Y, Nishina S. Mitochondrial reactive oxygen species as a mystery voice in hepatitis C. Hepatol Res. 2014 Feb; 44(2):123-132.
- 3) Korenaga K, Korenaga M, Teramoto F, Suzuki T, Nishina S, Sasaki K, Nakashima Y, Tomiyama Y, Yoshioka N, Hara Y, Moriya T, Hino K. Clinical usefulness of non-protein respiratory quotient measurement in non-alcoholic fatty liver disease. Hepatol Res. 2013

- Dec; 43(12):1284-1294.
- 4) **Hino K**, Nishina S, Hara Y. Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: mechanisms and relevance to hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013 Nov; 28(Suppl 4):93-98.
 - 5) Tomiyama Y, Nishina S, Hara Y, Kawase T, **Hino K**. Hepatic oxidative stress in ovariectomized transgenic mice expressing the hepatitis C virus polyprotein is augmented through suppression of AMPK/PGC-1alpha signaling. *Hepatol Res*. 2013 Oct; In press.
 - 6) Nakamura M, Nakashima H, Tsutsumi K, Matsumoto H, Muta Y, Ueno D, Yoshida K, **Hino K**, Urakami A, Tanaka M. First jejunal vein oriented mesenteric excision for pancreatoduodenectomy. *J Gastroenterol*. 2013 Aug; 48(8):989-995.

- 7) Tomiyama Y, Takenaka K, Kodama T, Kawanaka M, Sasaki K, Nishina S, Yoshioka N, Hara Y, **Hino K**. Risk factors for survival and the development of hepatocellular carcinoma in patients with primary biliary cirrhosis. *Intern Med*. 2013 Jul; 52(14):1553-1559.

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

NAFLD における血清 WFA+-M2BP の線維化予測に対する有用性
阿部雅則 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・准教授

研究要旨：非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)における血清 WFA+-M2BP 値の線維化予測に対する有用性を解析した。対象は国内の 4 施設で肝生検を行い診断した NAFLD 289 症例。肝組織診断は病理医 3 名により統一した見解を得た。肝組織での線維化(stage)と血清 WFA+-M2BP 値との関係を解析した。血清 WFA+-M2BP 値は線維化の進展に伴って増加し、特に stage 3 以上の線維化進展例の抽出に有用な因子であった。また、今回検討した他の血清マーカーやスコアに比し、NAFLD の線維化進展例の判別能が優れていた。

研究分担者(共同研究者)

今井康陽 市立池田病院・病院長
日野啓輔 川崎医科大学・肝胆膵内科学・教授
髭 修平 札幌厚生病院・第 3 消化器内科・主任部長
坂元亨宇 慶應義塾大学・医学部・病理学・教授

研究協力者

山田剛太郎 川崎医科大学附属川崎病院・総合内科学 2・特任教授
鹿毛政義 久留米大学病院・病理部・教授
是永匡昭 国立国際医療研究センター・肝炎・免疫研究センター・肝疾患研修室長
三宅映己 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・特任講師
日浅陽一 愛媛大学大学院・消化器・内分泌・代謝内科学・教授

A. 研究目的

近年、肥満人口の急増により非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)が増加し、最も高頻度な肝疾患として注目されている。そのなかには進行する非アルコール性脂肪肝炎(NASH)が含まれ、肝硬変への進行や肝癌の合併を視野に入れた診療が必要となる。NAFLD の線維化進展については血液マーカーや画像診断を用いた診断法が開発されてきているが、いまだ信頼されるマーカーはなく、肝組織診断がゴールドスタンダードであり、新たな非侵襲的診断マーカーが求められている。

今回、C 型慢性肝炎の線維化診断マーカーとして報告された WFA+-Mac-2 binding protein (M2BP)の NAFLD の線維化予測に対する有用性について解析した。

B. 研究方法

愛媛大学、市立池田病院、川崎医科大学、札幌厚生病院において肝生検を施行し、NAFLD と診断した 289 例を対象とした。男性 159 例、女性 130 例。平均年齢は 54.8±14.6 歳。肝組織診断については Brunt 分類を用いて 3 人の病理医がブラインドで診断し、全体で討議を行って

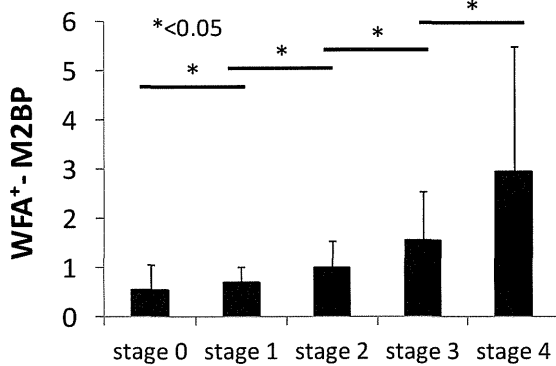
統一した見解を得た。生検時に採取した血清を用いて WFA⁺-M2BP 値を測定し、肝組織での線維化(stage)との関係を解析した。

C. 研究結果

(1) 肝組織診断は stage 0 35 例、stage 1 113 例、stage 2 49 例、stage 3 41 例、stage 4 51 例であった。

(2) 血清 WFA⁺-M2BP 値は、stage 0: 0.57±0.49、stage 1: 0.70±0.33、stage 2: 1.02±0.53、stage 3: 1.57±0.98、stage 4: 2.96±2.53 であり、線維化の進展に伴って上昇した(図)。

(図) 血清 WFA⁺-M2BP 値と線維化進展との関連



(3) 単変量解析で、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4、stage 0-3 と stage 4 との鑑別に有用であった(ともに p<0.001)。

(4) 多変量解析では、血清 WFA⁺-M2BP 値は stage 0-2 と stage 3-4 (Odds 比 6.650 [2.476-21.975], p<0.001)、stage 0-3 と stage 4 (Odds 比 5.072 [2.006-16.979], p=0.003)との鑑別に有用な独立した因子であった。

(5) ROC 解析で線維化進展の予測に有用なカットオフ値を解析すると、stage 3 以上 0.94、stage 4 1.46 であり、正診率はそれぞれ 78.2%、84.4%であった。(表 1)

(表 1) 血清 WFA⁺-M2BP による線維化進展例の予測

Patient Group	AUC (95% CI)	Cutoff level	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Predictive accuracy(%)
Stage 3 [≤]	0.94 (0.832-0.911)	0.94	85.9	74.6	61.2	91.9	78.2
Stage 4	0.879 (0.835-0.914)	1.46	72.6	87	54.4	93.7	84.4

(6) 他の線維化マーカーやスコアとの有用性を ROC 曲線下面積(AUCROC)で比較した。血清 WFA⁺-M2BP 値は血小板数、ヒアルロン酸、AST/ALT 比、APRI、Fib-4 に比べて stage 3 以上 (AURROC 0.876)、stage 4 (AURROC 0.878)の判別に有用であった。(表 2)

(表 2) 血清マーカー、スコアによる線維化進展例の予測

Marker and Score	Stage 3-4 AUROC Curve	Stage 4 AUROC Curve
WFA ⁺ -M2BP	0.876	0.879
Platelet count	0.81	0.815
Hyaluronic acid	0.856	0.858
AST/ALT ratio	0.77	0.752
APRI	0.758	0.745
Fib-4	0.857	0.849

D. 考察

今回の検討で、血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の進行例の拾い上げに有用であることが示された。NAFLD の診断には肝組織診断が必要であるが、肝生検には侵襲性、サンプリングエラーなどの問題点がある。特に、NAFLD では施設間、病理医間の不一致も多いことも報告されている。本研究は 3 人の病理医で統一した見解に至った 289 例という多数例を用いた解析であり、線維化診断マーカーの有用性を判定するのに最適なコホートの一つではないかと考えられる。

また、今回の血清 WFA⁺-M2BP 値が既報の C 型慢性肝炎と比べて全体的に低くなっているが、NAFLD とウイルス性肝炎との進展様式の違いを示唆しているものと思われる。脂肪化、肝細

胞壊死・変性などの関連についても検討していく必要がある。

E. 結論

血清 WFA⁺-M2BP 値は NAFLD の線維化診断マーカーとして有用であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyake T, Abe M, Tokumoto Y, Hirooka M, Furukawa S, Kumagi T, Hamada M, Kawasaki K, Tada F, Ueda T, Hiasa Y, Matsuura B, Onji M. B cell-activating factor is associated with the histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Int.* 2013 Jun; 7(2):539-547.
- 2) Takeji S, Hirooka M, Koizumi Y, Tokumoto Y, Abe M, Ikeda Y, Nadano S, Hiasa Y, Onji M. Des-gamma-carboxy prothrombin identified by P-11 and P-16 antibodies reflects prognosis for patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013 Apr; 28(4):671-677.

2. 学会発表

- 1) 徳本 良雄、阿部 雅則、日浅 陽一. 非アルコール性脂肪性肝疾患診断における腹腔鏡検査の有用性. 第 17 回日本肝臓学会大会 2013.10.09-12. 東京.
- 2) 川崎 敬太郎、阿部 雅則、徳本 良雄、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD) の肝脂肪化における B 細胞活性化因子 (BAFF) の役割. 第 49 回日本肝臓学会総会. 2013.06.06. 東京. O-67.
- 3) 阿部 雅則、陳 式儀、姚 立穎、ほか. 非アルコール性脂肪性肝疾患の病態における骨髄由来抑制細胞の役割. 第 50 回日本消化器免疫学会. 2013.05.30. 東京. O-379.
- 4) 阿部 雅則、三宅 映己、藤堂 裕彦、ほか. 高齢者における糖尿病を合併した脂肪肝の特徴. 第 56 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2013.05.16-18. 熊本.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

原発性胆汁性肝硬変における疾患特異的遺伝子発現の基礎検討

上野義之 山形大学・内科学第二講座・教授

研究要旨：原発性胆汁性肝硬変(PBC)は、肝内胆管の進行性破壊と消失が特徴的な原因不明の疾患である。しかしその病因の詳細は不明であり、一定の見解を得るに至っていない。本研究では、より感度が高く定量性にもすぐれている次世代シーケンサーを用いて、PBCに特徴的に発現される血清内の短鎖遺伝子断片についてその特徴的な発現プロファイルを検討した。前年に引き続き検討を重ね、血清内の遊離 miRNA の内数種類で PBC と他のウイルス性肝疾患で異なる発現プロファイルを持つものを同定した。この解析法が、PBC の病態解析及び亜病型の診断にも有用である可能性が示唆された。

原発性胆汁性肝硬変(PBC)は原因不明の疾患で、その病因は未だ不明である。一方、近年次世代シーケンサーを用いた遺伝子発現の超大量解析が進んでおり、肝疾患領域でも次世代シーケンサーを用いた解析、とりわけマイクロ RNA の報告が散見されている。マイクロ RNA(以下 miRNA)は短鎖 RNA であり、標的となる分子の発現を調整する多彩な役割を有している。肝疾患では主にウイルス性肝炎でそれぞれ発現が特徴的な miRNA の報告がなされてきた。今回、PBC の患者の血清より得られた検体を用いて、血清内の遊離 miRNA を網羅的に検討した。本年度は、特に技術的な検討を行うために、PBC と他の肝疾患と比較することにより miRNA プロファイリングによる階層的クラスタ分類が技術的に可能かということについて、少数例での端索的検討を行った。

A. 研究方法

PBC 患者の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを検討。血清より Trizol LS を用いて Total RNA を抽出、TruSeq small RNA sample prep kit を用いて、ライブラリーを作成し、シ

ークエンシングを行った。疾患コントロールとして同数の慢性 B 型肝炎、同数の慢性 C 型肝炎、そして健常者からの検体を用いて検討した。ミスマッチの許容は 1%で行い、ANOVA による有意差検討で統計学的さを認めたものについてはさらに定量的 PCR 法にて発現の多少を検討した。

B. 研究結果

(1) PBC 患者血清 5 検体の血清内遊離 miRNA のプロファイリングを行い、B 型肝炎、C 型肝炎、健常者と多群比較しクラスタリング ANOVA(分散分析)で $P < 0.05$ を抽出した。P-value が計算できたものは 670 個あり、解析の結果得られたものは、110 個の miRNA。110 個の miRNA について発現パターンによるクラスタリングを行い、ヒートマップを作成したところ、PBC は一つの群を形成した。さらに定量的 PCR 法で発現を定量したところ、次世代シーケンサーで特徴的に低値であった miRNA はこの方法でも低値であることが確認された。

(2) 亜病型ごとの検討では、門亢症型と、肝不全型で特異的に低下する miRNA が拾い上げられ、定量的 RT-PCR でも低下が確認された。

C. 考察

血清内遊離 miRNA を解析することにより、疾患の新たな特徴を見い出せる可能性があり、発症原因の解明に迫ることができる。今後、さらに症例数を増やして PBC に特徴的な miRNA や新規 miRNA の同定を行い、さらに肝線維化マーカーとの比較を行う予定である。

D. 結論

次世代シーケンサーによる miRNA 解析は、PBC の発症に関係する miRNA の探索に有用であり、さらに、亜病型ごとに異なる発現プロファイルを有している可能性が示された。PBC での線維化マーカーの探索にも有用なツールになる可能性が示された。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mancinelli R, Franchitto A, Glaser S, Meng F, Onori P, Demorrow S, Francis H, Venter J, Carpino G, Baker K, Han Y, Ueno Y, Gaudio E, Alpini G. GABA induces the differentiation of small into large cholangiocytes by activation of Ca(2+)/CaMK I-dependent adenylyl cyclase 8. *Hepatology*. 2013 Jul; 58(1):251-263.
- 2) Ninomiya M, Kondo Y, Funayama R, Nagashima T, Kogure T, Kakazu E, Kimura O, Ueno Y, Nakayama K, Shimosegawa T. Distinct microRNAs

expression profile in primary biliary cirrhosis and evaluation of miR 505-3p and miR197-3p as novel biomarkers. *PLoS one*. 2013 Jun; 8(6):e66086.

- 3) Harada K, Hirohara J, Ueno Y, Nakano T, Kakuda Y, Tsubouchi H, Ichida T, Nakanuma Y. Incidence of and risk factors for hepatocellular carcinoma in primary biliary cirrhosis: National data from Japan. *Hepatology*. 2013 May; 57(5):1942-1949.

2. 学会発表

- 1) Katsumi T, Ninomiya M, Shimosegawa T, Mizuno K, Tomita K, Sato C, Okumoto K, Nishise Y, Watanabe H, Saito T, Ueno Y. Ability of miRNA Profiling to Distinguish the Clinical Course of Patients with Primary Biliary Cirrhosis: Comprehensive Analysis with Deep Sequencing. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington DC.
- 2) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, Ueno Y. Knockout of the histidine decarboxylase (HDC) gene reduces biliary hyperplasia in cholestatic bile duct ligated (BDL) mice. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.
- 3) Meng FY, Francis H, Glaser S, Han YY, DeMorrow S, Stokes A, Staloch D, Venter J, White M, Ueno Y, Reid LM, Alpini G. Role of stem cell factor and granulocyte colony-stimulating factor in remodeling during liver regeneration. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Boston.

4) Graf A.B, Francis H.L, Hargrove L, Kennedy L, Hodges K.M, Greene J.F, **Ueno Y**. The mast cell stabilizer, cromolyn sodium, reduces bile duct ligated-induced biliary hyperplasia: a novel role for the in vivo paracrine influence of mast cells on biliary proliferation. AASLD annual meeting. 2013.11.01-05. Washington D.C. USA.

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし