

- Aoyama K, Harada S, Takebayashi T, Gunji T, Ohnishi S, Seto S, Yoshida Y, Hiasa Y, Koike K, Yamamura KI, Inoue KI, Miyazaki T. Circulating AIM as an Indicator of Liver Damage and Hepatocellular Carcinoma in Humans. *PLoS On*. 2014 Oct 10;9(10):e109123. doi:10.1371/journal.pone.0109123. eCollection 2014. P
- 19) Horiuchi Y, Takagi A, Kobayashi N, Moriya O, Nagai T, Moriya K, Tsutsumi T, Koike K, Akatsuka T. The effect of the infectious dose and the presence of HCV core gene on mouse intrahepatic CD8 T-cells. *Hepatol Res* 2014;44(10):E240-E252.
- 20) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. The impact of PNPLA3 polymorphisms on the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus Infection. *Hepatol Res* 2014;44(10):E137-44.
- 21) Ikeda K, Izumi N, Tanaka E, Yotsuyanagi H, Takahashi Y, Fukushima J, Kondo F, Fukusato T, Koike K, Hayashi N, Tsubouchi H, Kumada H. Discrimination of fibrotic staging of chronic hepatitis C using multiple fibrosis markers. *Hepatol Res* 2014;44(11):1047-1055.
- 22) Minami T, Tateishi R, Shiina S, Fujiwara N, Mikami S, Sato M, Uchino K, Enooku K, Asaoka Y, Kondo Y, Yoshida H, Koike K. Spontaneous clearance of serum hepatitis C virus RNA during the clinical course of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *Hepatol Res* 2014;44(10):E32-37.
- 23) Shibata C, Ohno M, Otsuka M, Kishikawa T, Goto K, Muroyama R, Kato N, Yoshikawa T, Takata A, Koike K. The flavonoid apigenin inhibits hepatitis C virus replication by decreasing mature microRNA122 levels. *Virology* 2014;462-463:42-48.
- 24) Kondo M, Ishizawa T, Enooku K, Tokuhara Y, Ohkawa R, Uranbileg B, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Kokudo N, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum autotaxin levels in hepatocellular carcinoma patients were caused by background liver fibrosis but not by carcinoma. *Clin Chim Acta* 2014;433:128-134.
- 25) Nguyen T, Xu J, Chikuma S, Hiai H, Kinoshita K, Moriya K, Koike K, Marcuzzi GP, Pfister H, Honjo T, Kobayashi M. Activation-induced cytidine deaminase is dispensable for virus-mediated liver and skin tumor development in mouse models. *Int Immunol* 2014;26(7):397-406.
- 26) Kumada H, Suzuki Y, Ikeda K, Toyota J, Karino Y, Chayama K, Kawakami Y, Ido A, Yamamoto K, Takaguchi K, Izumi N, Koike K, Takehara T, Kawada N, Sata M, Miyagoshi H, Eley T, McPhee F, Damokosh A, Ishikawa H, Hughes E. Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection. *Hepatology* 2014;59(6):2083-2091.
- 27) Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines and the Japan Society of Hepatology. JSH Guidelines for the Management of Hepatitis B Virus Infection. *Hepatol Res* 2014 Jan;44 Suppl S1:1-58.
- 28) Drafting Committee for Hepatitis Management Guidelines, the Japan Society of Hepatology. JSH Guidelines for the Management of Hepatitis C Virus Infection: A 2014 Update for Genotype 1. *Hepatol Res* 2014 Jan;44 Suppl S1:59-70.
- 29) Enooku K, Nakagawa H, Soroida Y, Ohkawa R, Kageyama Y, Uranbileg B, Watanabe N, Tateishi R, Yoshida H, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. Increased serum mitochondrial creatine kinase activity as a risk for hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C patients. *Int J Cancer* 2014;135(4):871-879.
- 30) Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, Goto K, Otsuka M, Shiina S, Yoshida H, Omata M, Koike K. IL28B minor allele is associated with a younger age of onset of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol* 2014;49(4):748-754.
- 31) Sato M, Tateishi R, Yasunaga H, Horiguchi H, Yoshida H, Matsuda S, Fushimi K, Koike K. Acute liver disease in Japan: a nationwide analysis of the Japanese Diagnosis Procedure

- Combination database. *J Gastroenterol* 2014;49(3):547-554.
- 32) Nakagomi R, Tateishi R, Shiina S, Imamura J, Fujiwara N, Asaoka Y, Kondo Y, Koike K. Drastically reduced neoplastic seeding related to radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2014;109(5):774-776.
- 33) Sato M, Kondo M, Tateishi R, Fujiwara N, Kato N, Yoshida H, Taguri M, Koike K. Impact of IL28B Genetic Variation on HCV-Induced Liver Fibrosis, Inflammation, and Steatosis: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2014 Mar 17;9(3):e91822. doi: 10.1371/journal.pone.0091822. eCollection 2014.
- 34) Otsuka M, Kishikawa T, Yoshikawa T, Ohno M, Takata A, Shibata C, Koike K. The role of microRNAs in hepatocarcinogenesis: current knowledge and future prospects. *J Gastroenterol* 2014;49(2):173-184. PubMed PMID:24258409.
- 35) Uchino R, Isayama H, Tsujino T, Sasahira N, Ito Y, Matsubara S, Takahara N, Arizumi T, Toda N, Mohri D, Togawa O, Yagioka H, Yanagihara Y, Nakajima K, Akiyama D, Hamada T, Miyabayashi K, Mizuno S, Kawakubo K, Kogure H, Sasaki T, Yamamoto N, Nakai Y, Hirano K, Tada M, Koike K. Results of the Tokyo Trial of Prevention of Post-ERCP Pancreatitis with Risperidone-2: a multicenter, randomized, placebo-controlled, double-blind clinical trial. *Gastrointest Endosc* 2013;78(6):842-850.
- 36) Mikoshiha N, Miyashita M, Sakai T, Tateishi R, Koike K. Depressive symptoms after treatment in hepatocellular carcinoma survivors: prevalence, determinants, and impact on health-related quality of life. *Psychooncology* 2013;22(10):2347-2353. PubMed PMID: 23686523.
- 37) Yotsuyanagi H, Ito K, Yamada N, Takahashi H, Okuse C, Yasuda K, Suzuki M, Moriya K, Mizokami M, Miyakawa Y, Koike K. High levels of HBV after the onset lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2013;57(7):935-942.
- 38) Uranbileg B, Enooku K, Soroida Y, Ohkawa R, Kudo Y, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Shinzawa S, Moriya K, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Tomiya T, Kojima S, Matsuura T, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. High ubiquitous mitochondrial creatine kinase expression in hepatocellular carcinoma denotes a poor prognosis with highly malignant potential. *Int J Cancer* 2014;134(9):2189-2198.
- 39) Nakagawa H, Hikiba Y, Hirata Y, Font-Burgada J, Sakamoto K, Hayakawa Y, Taniguchi K, Umemura A, Kinoshita H, Sakitani K, Nishikawa Y, Hirano K, Ikenoue T, Ijichi H, Dhar D, Shibata W, Akanuma M, Koike K, Karin M, Maeda S. Loss of liver E-cadherin induces sclerosing cholangitis and promotes carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111(3):1090-1095.
- 40) Shibata C, Kishikawa T, Otsuka M, Ohno M, Yoshikawa T, Takata A, Yoshida H, Koike K. Inhibition of microRNA122 decreases SREBP1 expression by modulating suppressor of cytokine signaling 3 expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2013;438(1):230-235.
- 41) Ohki T, Tateishi R, Akahane M, Mikami S, Sato M, Uchino K, Arano T, Enooku K, Kondo Y, Yamashiki N, Goto T, Shiina S, Yoshida H, Matsuyama Y, Omata M, Ohtomo K, Koike K. CT with hepatic arteriography as a pretreatment examination for hepatocellular carcinoma patients: a randomized controlled trial. *Am J Gastroenterol* 2013;108(8):1305-1313.
- 42) Yuhashi K, Ohnishi S, Kodama T, Koike K, Kanamori H. In vitro selection of the 3'-untranslated regions of the human liver mRNA that bind to the HCV nonstructural protein 5B. *Virology* 2014 Feb;450-451:13-23.
- 43) Yasui K, Kawaguchi T, Shima T, Mitsuyoshi H, Seki K, Sendo R, Mizuno M, Itoh Y, Matsuda F, Okanoue T. Effect of PNPLA3 rs738409 variant (I148M) on hepatic steatosis, necroinflammation, and fibrosis in Japanese patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2014 Nov 28. [Epub ahead of print]
- 44) Yamaguchi K, Nishimura T, Ishiba H, Seko Y, Okajima A, Fujii H, Tochiki N, Umemura A, Moriguchi M, Sumida Y, Mitsuyoshi H,

- Yasui K, Minami M, Okanoue T, Itoh Y. Blockade of interleukin 6 signaling ameliorates systemic insulin resistance through upregulation of glucose uptake in skeletal muscle and improves hepatic steatosis in high –fat diet mice. *Liver Int* 2014 Jul 26. Doi: 10.1111/liv.12645. [Epub ahead of print]
- 45) Shima T, Seki K, Umemura A, Ogawa R, Horimoto R, Oya H, Sendo R, Mizono M, Okanoue T. Influence of life-style-related diseases and age on the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatol Res* 2014 Jun 30. Doi 10.1111/hepr.12384. [Epub ahead of print]
- 46) Tateishi R, Okanoue T, Fujiwara N, Okita K, Kiyosawa K, Omata M, Kumada H, Hayashi N, Koike K. Clinical; characteristics treatment and prognosis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma: a large retrospective multicenter cohort study. *J Gastroenterol* 2014 Jun 15. [Epub ahead of print]
- 47) Kessoku T, Ogawa Y, Yoneda M, Imajo K, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Chayama K, Tanaka S, Fujimoto K, Anzai K, Saibara T, Sata M, Itoh Y, Nakajima A, Okanoue T; Japan Study Group of NAFLD. Simple scoring system for predicting cirrhosis in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 10108-10114
- 48) Nakamura A, Yoneda M, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Aoki N, Okanoue T, Nakajima A, Maeda S, Terauchi Y. Modification of a simple clinical scoring system as a diagnostic screening tool for non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Invest* 2013; 4: 651-658
- 49) Noto H, Tokushige K, Hashimoto E, Taniai M, Shiratori K. Questionnaire survey on lifestyle of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Biochem Nutr.* 2014;55: 191-195
- 50) Kogiso T, Nagahara H, Hashimoto E, Ariizumi S, Yamamoto M, Shiratori K. Efficient induction of apoptosis by weel kinase inhibition in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2014; 24: e100495.
- 51) Matsushita N, Hashimoto E, Tokushige K, Kodama K, Tobari M, Kogiso T, Torii N, Taniai M, Shiratori K, Murayama H. Investigation of ornithine carbamoyltransferase as a biomarker of liver cirrhosis. *Intern Med.* 2014;53: 1249-1257
- 52) Tokushige K, Hashimoto E, Horie Y, Taniai M, Higuchi S. Hepatocellular carcinoma based on cryptogenic liver disease: The most common non-viral hepatocellular carcinoma in patients aged over 80 years. *Hepatol Res.* 2014; Jun 13. doi: 0.1111/hepr.12372.
- 53) Okajima C, Arii S, Tanaka S, Matsumura S, Ban D, Ochiai T, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanabe M. Prognostic role of Child-Pugh score 5 and 6 in hepatocellular carcinoma patients who underwent curative hepatic resection. *American Journal of Surgery,* 2015;209(1):199-205.
- 54) Kudo A, Tanaka S, Ban D, Matsumura S, Irie T, Ochiai T, Nakamura N, Arii S, Tanabe M. Alcohol consumption and recurrence of non-B or non-C hepatocellular carcinoma after hepatectomy: a propensity score analysis. *Journal of Gastroenterology,* 2014;49(9): 1352-1361.
- 55) Katsuta E, Tanaka S, Mogushi K, Matsumura S, Ban D, Ochiai T, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanaka H, Tanabe M, Arii S. Age-related clinicopathological and molecular features of patients received curative hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *American Journal of Surgery,* 2014;208(3):450-456.
- 56) Ogawa K, Tanaka S, Matsumura S, Murakata A, Ban D, Ochiai T, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Tanabe M, Arii S. EpCAM-targeted therapy for human hepatocellular carcinoma. *Annals of Surgical Oncology,* 2014;21(4):1314-1322.
- 57) Matsunaga H, Tanaka S, Aihara A, Ogawa K, Matsumura S, Murakata A, Ban D, Ochiai T, Irie T, Kudo A, Nakamura N, Arii S, Tanabe M. A novel therapeutic combination targeting sequentially Aurora B and Bcl-xL in hepatocellular carcinoma. *Annals of Surgical Oncology,* in press.
- 58) Tanaka S. Molecular pathogenesis and targeted therapy of pancreatic cancer. *Annals*

- of Surgical Oncology, in press.
- 59) Tanaka S. Cancer stem cells as therapeutic targets of hepato-biliary-pancreatic cancers. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences*, in press.
- 60) Ono M, Ogasawara M, Hirose A, Mogami S, Ootake N, Aritake K, Higuchi T, Okamoto N, Sakamoto S, Yamamoto M, Urade Y, Saibara T, Oben JA. Bofutsushosan, a Japanese herbal (Kampo) medicine, attenuates progression of nonalcoholic steatohepatitis in mice. *J Gastroenterol* 2014;49:1065-1073
- 61) Taketani H, Sumida Y, Tanaka S, Imajo K, Yoneda M, Hyogo H, Ono M, Fujii H, Eguchi Y, Kanemasa K, Chayama K, Itoh Y, Yoshikawa T, Saibara T, Fujimoto K, Nakajima A; Japan Study Group of NAFLD (JSG-NAFLD). The association of insomnia with gastroesophageal reflux symptoms in biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol* 2014;49:1163-1174
- 62) Kessoku T, Ogawa Y, Yoneda M, Imajo K, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Chayama K, Tanaka S, Fujimoto K, Anzai K, Saibara T, Sata M, Itoh Y, Nakajima A, Okanoue T; Japan Study Group of NAFLD (JSG-NAFLD). Simple scoring system for predicting cirrhosis in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014;20:10108-10114.
- 63) Tanaka K, Hyogo H, Ono M, Takahashi H, Kitajima Y, Ono N, Eguchi T, Fujimoto K, Chayama K, Saibara T, Anzai K, Eguchi Y, Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD). The upper limit of normal serum alanine aminotransferase levels in Japanese subjects. *Hepatology* 2014;44:1196-1207
- 64) Nakahara T, Hyogo H, Yoneda M, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Ono M, Kawaguchi T, Imajo K, Aikata H, Tanaka S, Kanemasa K, Fujimoto K, Anzai K, Saibara T, Sata M, Nakajima A, Itoh Y, Chayama K, Okanoue T; Japan Study Group of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (JSG-NAFLD). Type 2 diabetes mellitus is associated with the fibrosis severity in patients with nonalcoholic fatty liver disease in a large retrospective cohort of Japanese patients. *J Gastroenterol* 2014; 49:1477-1484.
- 65) Miyake Y, Yamamoto K, Matsushita H, Abe M, Takahashi A, Umemura T, Tanaka A, Nakamuta M, Nakamoto Y, Ueno Y, Saibara T, Takikawa H, Yoshizawa K, Ohira H, Zeniya M, Onji M, Tsubouchi H. Multicenter validation study of anti-programmed cell death-1 antibody as a serological marker for type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2014;44:1299-1307
- 66) Hashimoto S, Kubota N, Sato H, Sasaki M, Takamoto I, Kubota T, Nakaya K, Noda M, Ueki K, Kadowaki T: Insulin Receptor Substrate-2 (Irs2) in Endothelial Cells Plays a Crucial Role in Insulin Secretion. *Diabetes* 2014 Oct 2. pii: DB_140432. [Epub ahead of print]
- 67) Moller JB, Dalla Man C, Overgaard RV, Ingwersen SH, Tornøe CW, Pedersen M, Tanaka H, Ohsugi M, Ueki K, Lynge J, Vasconcelos NM, Pedersen BK, Kadowaki T, Cobelli C: Ethnic differences in insulin sensitivity, beta-cell function, and hepatic extraction between Japanese and Caucasians: a minimal model analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:4273-4280.
- 68) Awazawa M, Futami T, Sakada M, Kaneko K, Ohsugi M, Nakaya K, Terai A, Suzuki R, Koike M, Uchiyama Y, Kadowaki T, Ueki K: Dereglulation of Pancreas-Specific Oxidoreductin ERO1beta in the Pathogenesis of Diabetes Mellitus. *Mol Cell Biol* 2014;34:1290-1299
- 69) Akuta N, Suzuki F, Fukushima T, Kawamura Y, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Hara T, Kobayashi M, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Utility of telaprevir-resistant variant detection for prediction of treatment efficacy in HCV genotype 1. *J Clin Microbiol* 2014;52:193-200, 2014.
- 70) Akuta N, Suzuki F, Sezaki H, Suzuki Y, Hosaka T, Kobayashi M, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Evolution of simeprevir-resistant variants over time by ultra-deep sequencing in HCV genotype 1b. *J Med Virol* 2014;86:1314-22.
- 71) Sezaki H, Suzuki F, Hosaka T, Akuta N, Fukushima T, Hara T, Kawamura Y,

- Kobayashi M, Suzuki Y, Saitoh S, Arase Y, Ikeda K, Kumada H. Effectiveness and safety of reduced-dose telaprevir-based triple therapy in chronic hepatitis C patients. *Hepatol Res* 2014;44:163-171.
- 72) Arase Y, Kobayashi M, Kawamura Y, Suzuki F, Suzuki Y, Akuta N, Kobayashi M, Sezaki H, Saito S, Hosaka T, Ikeda K, Kumada H, Kobayashi T. Impact of virus clearance for the development of hemorrhagic stroke in chronic hepatitis C. *J Med Virol* 2014;86:169-175.
- 73) Ikeda K, Kawamura Y, Kobayashi M, Fukushima T, Sezaki H, Hosaka T, Akuta N, Saitoh S, Suzuki F, Suzuki Y, Arase Y, Kumada H. Prevention of disease progression with anti-inflammatory therapy in patients with HCV-related cirrhosis: a Markov model. *Oncology* 2014;86:295-302.
- 74) Kawaguchi T, Itou M, Taniguchi E, Sata M. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, modulates hepatic fatty acid composition and Δ -5-desaturase index in a murine model of non-alcoholic steatohepatitis. *Int J Mol Med*. 2014;34:782-787.
- 75) Yamada S, Kawaguchi A, Kawaguchi T, Fukushima N, Kuromatsu R, Sumie S, Takata A, Nakano M, Satani M, Tonan T, Fujimoto K, Shima H, Kakuma T, Torimura T, Charlton MR, Sata M. Serum albumin level is a notable profiling factor for non-B, non-C hepatitis virus-related hepatocellular carcinoma: A data-mining analysis. *Hepatol Res*. 2014;44:837-845.
- 76) Fukuhara T, Wada M, Nakamura S, Ono C, Shiokawa M, Yamamoto S, Motomura T, Okamoto T, Okuzaki D, Yamamoto M, Saito I, Wakita T, Koike K, and Matsuura Y. Amphipathic α -Helices in apolipoproteins are crucial to the formation of infectious hepatitis C virus particles. *PLoS Pathogens* 2014; DOI: 10.1371/journal.ppat.1004534
- 77) Shiokawa M, Fukuhara T, Ono C, Yamamoto S, Okamoto T, Watanabe N, Wakita T, and Matsuura Y. Novel permissive cell lines for a complete propagation of hepatitis C virus. *J. Virol.* 2014; 88: 5578-5594
- 78) Ratnoglik SL, Jang DP, Aoki C, Sudarmono P, Shoji I, Deng L, and Hotta H. Induction of cell-mediated immune responses in mice by DNA vaccines that express hepatitis C virus NS3 mutants lacking serine protease and NTPase/RNA helicase activities., *PLoS One*, 2014, 9 (6): e98877.
- 79) Ratnoglik SL, Aoki C, Sudarmono P, Komoto M, Deng L, Shoji I, Fuchino H, Kawahara N, and Hotta H. Antiviral activity of extracts from *Morinda citrifolia* leaves and chlorophyll catabolites pheophorbide a and pyropheophorbide a, against hepatitis C virus. *Microbiology and Immunology*, 2014, 58 (3): 188-94.
- 80) Adianti M, Aoki C, Komoto M, Deng L, Shoji I, Wahyuni T, Lusida M, Soetjipto S, Fuchino H, Kawahara N, and Hotta H. Anti-hepatitis C virus compounds obtained from *Glycyrrhiza uralensis* and other *Glycyrrhiza* species. *Microbiology and Immunology*, 2014, 58 (3): 180-7.
- 81) Tao RR, Huang JY, Lu YM, Hong LJ, Wang H, Masood MA, Ye WF, Zhu DY, Huang Q, Fukunaga K, Lou YJ, Shoji I, Wilcox CS, Lai EY, Han F. Nitrosative stress induces peroxiredoxin 1 ubiquitination during ischemic insult via E6AP activation in endothelial cells both in vitro and in vivo. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2014, 21 (1): 1-16.

I. 知的所有権の出願・取得状況

なし

J. その他

なし

分担研究報告書

NASH, C 型肝炎の発症・進展における遺伝的要因の研究

研究分担者 岡上 武 大阪府済生会吹田医療福祉センター 総長

共同研究者 川口喬久 京都大学ゲノム医学センター 助教

松田文彦 京都大学ゲノム医学センター 教授

研究要旨：肝生検で診断した 888 例の NAFLD を Matteoni 分類に従い組織学に 4 つのタイプに分類し、網羅的遺伝子関連解析 (GWAS) を行い、22 番染色体上に存在する patatin like phospholipase domain containing 3 (*PNPLA3*) の rs738409 の SNP が NASH の発症・進展 (脂肪蓄積、線維化) の感受性遺伝子である事が判明した。さらに *PNPLA3* の SNP は NASH 肝発癌にも関係している事が明らかになった。さらに、肝生検で診断した 276 例の C 型肝炎を対象に TaqMan PCR で *PNPLA3* の rs738409 を解析すると、rs738409 の SNP は C 型肝炎の脂肪蓄積と線維化進展にも関与している事が判明した。

A. 研究目的

NAFLD の 2 割前後が NASH に進展すると言われ、進行した NASH からはしばしば肝癌が発症する。また C 型肝炎では高頻度に脂肪蓄積が見られ、脂肪蓄積は線維化進展例に多い。脂肪蓄積、線維化進展、発癌に関与する遺伝的要因を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

1. NASH の検討：肝生検で診断した 888 例の NAFLD を Matteoni 分類に従い組織学的に type 1~4 に分類し、脂肪蓄積、炎症、線維化の程度や患者背景・臨床検査成績を解析し、コントロール 2524 例を対象に網羅的遺伝子関連解析 (GWAS) を施行した (京都大学ゲノム疫学解析センター松田文彦教授との共同研究)。また NASH 肝癌 58 例で

の GWAS も行った。

2. C 型肝炎の検討：肝生検で grade, stage, steatosis の程度などを解析した C 型肝炎 276 例を対象に、NAFLD の GWAS 検討で NASH 発症・進展の感受性遺伝子として同定された 22 番染色体上の遺伝子 patatin-like phospholipase domain containing 3 (*PNPLA3*) の rs738409 の SNP 解析を TaqMan PCR で検討した。

(倫理面の配慮)

遺伝子解析を含む本臨床研究に関しては済生会吹田病院と京都府立医科大学の倫理委員会の承認を受けた。患者の同意を得たうえで、採血を行った。

C. 研究結果

当初 NAFLD 529 例に網羅的遺伝子関連解析 (GWAS) を行い *PNPLA3* の rs738409 の

SNP (I148M) が NASH 発症・進展感受性遺伝子と報告したが (PLoS ONE 2012)、Matteoni type 3 の症例数が少なかったため、今回 NASH 肝癌 58 例を含む NAFLD397 例を追加し、888 例 NAFLD (control2525 例) と 58 例の NASH 肝癌で GWAS を行った (表 1)。その結果 I148M は type 4 NASH に特異的 (p -value 1.34×10^{-29} , HWE $p < 10^{-7}$) かつ発症感受性遺伝子である事が判明した (表 2) (p -value 1.7×10^{-9}) (論文作成中)。

(2) I148M は C 型肝炎の線維化、脂肪蓄積にも関与している事も明らかになった (図 1) (J Gastroenterol in press)。

D. 考察

Matteoni らは NAFLD を組織学的に 4 つの type に分類し、予後の解析から type 1, 2 が NAFL で type 3, 4 が NASH と分類した。NAFLD の 20%前後が NASH に進展すると言われているが NAFLD から NASH へ進展や NASH 発症・進展の遺伝的要因は充分明らかにされていない。今回肝生検で診断した多数例の NAFLD を対象に GWAS を行い、遺伝的には type 3 は type 1, type 2 と同じで、典型的な NASH である type 4 の発症・進展と発症に *PNPLA3* の SNP が深く関与していることが明らかになった。また C 型肝炎では 40%以上に脂肪蓄積が見られ、脂肪蓄積は線維化進展例に多いが、*PNPLA3* (rs738409) の SNP が C 型肝炎における脂肪蓄積と線維化進展に関与していることが明らかになった。

E. 結論

22 番染色体上に位置する *PNPLA3* は NASH 発症・進展の感受性遺伝子であり、NASH 肝癌にも関与している。また C 型肝炎の脂肪蓄積や線維化進展にも *PNPLA3* の SNP が関与している。

F. 健康危険情報

C 型肝炎で肝硬変・肝癌に進展する例は 30%前後と考えられており、今回の結果は C 型肝炎患者の予後推定に役立つ可能性がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yasui K, Kawaguchi T, Shima T, Mitsuyoshi H, Seki K, Sendo R, Mizuno M, Itoh Y, Matsuda F, Okanoue T. Effect of *PNPLA3* rs738409 variant (I148M) on hepatic steatosis, necroinflammation, and fibrosis in Japanese patients with chronic hepatitis C. J Gastroenterol 2014 Nov 28. [Epub ahead of print]
- 2) Yamaguchi K, Nishimura T, Ishiba H, Seko Y, Okajima A, Fujii H, Tochiki N, Umemura A, Moriguchi M, Sumida Y, Mitsuyoshi H, Yasui K, Minami M, Okanoue T, Itoh Y. Blockade of interleukin 6 signaling ameliorates systemic insulin resistance through upregulation of glucose uptake in skeletal muscle and improves hepatic steatosis in high-fat diet mice. Liver Int 2014 Jul 26. Doi: 10.1111/liv.12645. [Epub ahead of print]
- 3) Shima T, Seki K, Umemura A, Ogawa R, Horimoto R, Oya H, Sendo R, Mizono M,

- Okanoue T. Influence of life-style-related diseases and age on the development and progression of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepato Res* 2014 Jun 30. Doi 10.1111/hepr. 12384. [Epub ahead of print]
- 4) Tateishi R, Okanoue T, Fujiwara N, Okita K, Kiyosawa K, Omata M, Kumada H, Hayashi N, Koike K. Clinical; characteristics treatment and prognosis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma: a large retrospective multicenter cohort study. *J Gastroenterol* 2014 Jun 15. [Epub ahead of print]
- 5) Kessoku T, Ogawa Y, Yoneda M, Imajo K, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Chayama K, Tanaka S, Fujimoto K, Anzai K, Saibara T, Sata M, Itoh Y, Nakajima A, Okanoue T; Japan Study Group of NAFLD. Simple scoring system for predicting cirrhosis in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 10108-10114
- 6) Nakamura A, Yoneda M, Sumida Y, Eguchi Y, Fujii H, Hyogo H, Ono M, Suzuki Y, Kawaguchi T, Aoki N, Okanoue T, Nakajima A, Maeda S, Terauchi Y. Modification of a simple clinical scoring system as a diagnostic screening tool for non-alcoholic steatohepatitis in Japanese patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Diabetes Invest* 2013; 4: 651-658
- 2.学会発表
- 1) Oda K, Uto H, Sumida Y, Okanoue T, Mawatari S, Ibusuki R, Onishi H, Sakae H, Ono K, Toyokura E, Oshige A, Imanaka D, Tamai T, Moriuchi A, Tsubouchi H, Ido A. Serum levels of apoptosis inhibitor of macrophage (AIM) are associated with hepatic fibrosis and insulin resistance in patients with nonalcoholic fatty liver disease. 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD); Boston, USA, Nov 9, 2014
- 2) Tateishi R, Okanoue T, Okita K, Kiyosawa K, Omata M, Kumada H, Hayashi N, Koike K. Role of occult HBV infection in the development of non B, non C hepatocellular carcinoma: Analysis from a large retrospective multicenter cohort study. 66th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Disease (AASLD). Boston, USA, Nov 10, 2014
- 3) Okanoue T. Clinical aspects of dysregulated iron metabolism in chronic liver diseases. Symposium 3. Iron overload in hemochromatosis and chronic liver diseases. The 4th Asia Pacific Iron Academy Conference. Jakarta, Indonesia, Nov 2, 2014
- 4) 建石良介、岡上 武、小池和彦。糖尿病治療内容が非 B 非 C 肝癌発癌年齢に与える影響。シンポジウム 14 NBNC 肝癌の諸問題。第 18 回日本肝臓学会大会。神戸市、2014 年 10 月 25 日
- 5) 島俊英、川中美和、岡上 武。NAFL/NASH 発症に関連する遺伝子の検討。シンポジウム 4 NAFLD/NASH の病態

解析と新規治療。第 18 回日本肝臓学会
大会。神戸市、2014 年 10 月 23 日

- 6) 小田耕平、宇都浩文、岡上 武。アポ
トーシス抑制因子 AIM は非アルコール
性脂肪性肝疾患の病態進展に關与する。
シンポジウム 4 NAFLD/NASH の病態解析
と新規治療。第 18 回日本肝臓学会大会。
神戸市、2014 年 10 月 23 日
- 7) 角田圭雄、伊藤義人、岡上 武。NASH
の非侵襲的診断のスコアリングシステ
ムーJSG-NAFLD 共同研究の結果から。
シンポジウム メタボリックシンドロ
ームと肝胆膵疾患。大阪市、日本消化
器病学会近畿支部第 100 回例会。2014
年 2 月 22 日
- 8) 関 耕次郎、島 俊英、水野雅之、岡
上 武。生活習慣病・メタボリックシ
ンドロームと NAFLD/NASH. シンポジウ
ム メタボリックシンドロームと肝胆
膵疾患。大阪市、日本消化器病学会近
畿支部第 100 回例会。2014 年 2 月 22
日

3.その他

特記事項なし

H. 知的所有権の出願・取得状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

表1. 患者背景
(初回解析分と追加解析分のNAFLD, NASH肝癌の合計症例の内訳)

		追加解析分	2回分の合計
Disease	NAFLD/Control	359/1593	888/2525
NASH-HCC		46	58
Matteoni分類	1/2/3/4	32/60/64/186	130/134/105/499
Brunt stage	1/2/3/4	86/48/60/29	251/123/164/56
Brunt grade	1/2/3	126/97/33	322/233/80

表2. NAFLDのMatteoni分類別及びNASH肝癌とPNPLA3の遺伝子多型*1

	TT	TG	GG	N	AF	P-value*2
Control	529	1269	726	2524	0.46	-
Matteoni 1	31	72	27	130	0.52	0.08
Matteoni 2	49	54	31	134	0.57	7.5x10 ⁻⁴
Matteoni 3	37	43	25	105	0.56	6.4x10 ⁻³
Matteoni 4	227	209	63	499	0.66	1.34x10 ⁻²⁹
HCC	34	18	6	58	0.74	1.7x10 ⁻⁹

*1一部のSNPチップはrs738409を搭載していないため、rs2896019で代用(r2=0.95 in Hapmap JPT) rs738409はインピュート計算中

*2 GLMにて。PC調整無。コントロールと比較。

図1. C型肝炎の脂肪蓄積、線維化進展
とPNPLA3(rs738409)の遺伝子多型

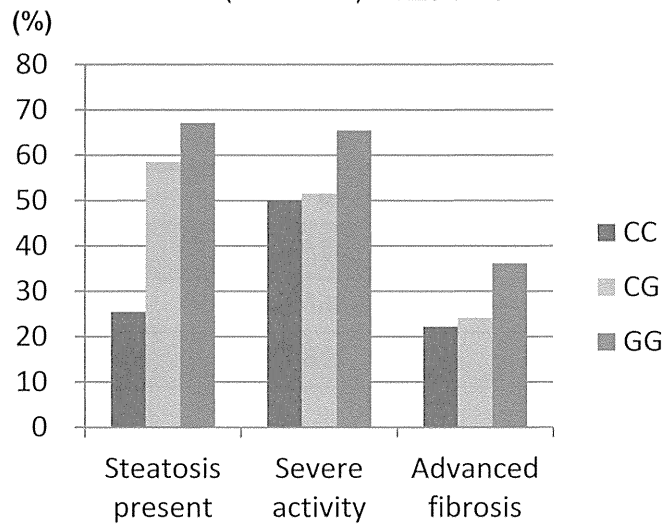


表 1. C型肝炎276例の患者背景

Characteristic	Total	PNPLA3 rs738409			<i>P</i> ^a
		CC	CG	GG	
Number	276 (100)	90 (32.6)	128 (46.4)	58 (21.0)	
Age (years)	58.2 ± 13.0	59.5 ± 11.9	57.7 ± 13.3	57.1 ± 13.7	0.29
Male sex(%)	112 (40.6)	36 (40.0)	50 (39.1)	26 (44.8)	0.61
BMI (kg/m ²)	23.0 ± 3.4	23.0 ± 3.7	22.9 ± 3.4	23.1 ± 2.8	0.49
Diabetes(%)	13 (4.7)	4 (4.4)	6 (4.7)	3 (5.2)	0.84
Platelet count (×10 ⁴ /μL)	16.0 ± 5.8	15.5 ± 5.1	16.4 ± 6.3	16.0 ± 5.7	0.52
AST (IU/L)	58.7 ± 43.6	61.7 ± 53.7	58.2 ± 38.7	55.0 ± 36.4	0.95
ALT (IU/L)	67.4 ± 58.0	69.2 ± 61.0	68.4 ± 60.1	62.3 ± 48.4	0.92
γ-GTP (IU/L)	59.8 ± 79.4	62.8 ± 94.3	57.5 ± 69.9	60.3 ± 74.8	0.53
Albumin (g/dL)	4.0 ± 0.5	4.0 ± 0.5	4.0 ± 0.5	4.1 ± 0.4	0.27
HCV genotype					0.09
1	198 (71.7)	55 (61.1)	102 (79.7)	41 (70.7)	
2	76 (27.5)	33 (36.7)	26 (20.3)	17 (29.3)	
ND	2 (0.8)	2 (2.2)	0 (0)	0 (0)	
HCV RNA level (logIU/mL)	6.0 ± 1.1	6.0 ± 1.1	6.1 ± 1.0	6.1 ± 1.3	0.37
Liver histology					
Steatosis					
<1%	139 (50.4)	67 (74.5)	53 (41.4)	19 (32.8)	
1-10%	100 (36.2)	17 (18.9)	58 (45.3)	25 (43.1)	
11-33%	26 (9.4)	3 (3.3)	15 (11.7)	8 (13.8)	
>33%	11 (4.0)	3 (3.3)	2 (1.6)	6 (10.3)	
Activity grade ^b					
0	7 (2.5)	3 (3.3)	2 (1.5)	2 (3.5)	
1	120 (43.5)	42 (46.7)	60 (46.9)	18 (31.0)	
2	120 (43.5)	35 (38.9)	56 (43.8)	29 (50.0)	
3	29 (10.5)	10 (11.1)	10 (7.8)	9 (15.5)	
Fibrosis stage ^b					
0	10 (3.6)	3 (3.3)	4 (3.1)	3 (5.2)	
1	111 (40.2)	41 (45.6)	53 (41.4)	17 (29.3)	
2	83 (30.1)	26 (28.9)	40 (31.3)	17 (29.3)	
3	45 (16.3)	10 (11.1)	20 (15.6)	15 (25.9)	
4	27 (9.8)	10 (11.1)	11 (8.6)	6 (10.3)	

Values are mean ± standard deviation or numbers (%). Where no other unit is specified, values refer to numbers (%) of patients.

^a Jonckheere-Terpstra test or Cochran-Armitage trend test

^b According to reference 21.

Abbreviations : ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase; BMI, body mass index; ND, not determined; γ-GTP, γ-glutamyl transpeptidase.

Steatohepatic hepatocellular carcinoma 臨床病理学的特徴に関する検討

研究分担者 橋本 悦子 東京女子医科大学消化器内科 教授

研究要旨：癌部組織の60%以上に steatohepatic (SH)な特徴を呈した肝細胞癌（HCC）であるSH-HCC群20例と、年齢・性をマッチさせSH-HCCの所見を有さない標準HCC群20例を比較検討した。SH-HCC群は標準HCC群に比し、原因肝疾患としてアルコール性肝障害とNAFLDが多く（合計でSH-HCCの95% vs. 標準HCCの25%）、肥満あるいは生活習慣病を高率に合併（SH-HCCでの合計合併率100% vs. 標準HCCの60%）していた。

A. 研究目的

飽食の時代を迎えたわが国では、肥満・糖尿病など生活習慣病に基づくメタボリック症候群の急増に伴い、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）も急増し、現在は日本人一般成人の約20%がNAFLDを合併していると考えられている。このような状況を受け、肝細胞癌（HCC）の原因疾患としてNAFLDが注目されている。NAFLDを基盤とするHCC（NAFLD-HCC）は、絶対数・HCC全例中に占める割合とも急増し今後さらに増加の予想されることが、複数の報告で明らかである。しかし、NAFLD-HCCの疫学的実態や肝発癌メカニズムなどは明らかでなく、HCC発生高リスク群の囲い込みには至っていない。

最近、HCCに関連する新たな病理学的知見として、癌部にsteatohepatic features (steatosis, ballooning, Mallory体, pericellular fibrosisなど) を認めるsteatohepatic HCC (SH-HCC) が報告された。Salomaoらによ

るSH-HCCの初報はC型肝炎ウイルス感染を基盤とするHCC（HCV-HCC）であったが、その後複数の検討でSH-HCCの基盤疾患として最も重要なのはNAFLDとされている。NAFLD-HCCとSH-HCCとの病因論的な関連やSH-HCCの生物学的特徴などは明らかでない。

SH-HCCとNAFLD-HCCの関連やSH-HCCの臨床病理学的特徴を明らかにすることで、NAFLDにおける発癌メカニズムが解明されれば、多数のNAFLD患者の中からHCC発生高リスク群の設定および臨床現場での効果的な症例囲い込みと能率的外来フォローアップ体制の確立が見込まれる。その結果、HCCの早期発見と治療、さらにHCC発症抑止が可能となり、国民全体の予後改善と医療費削減が期待される。そこで今年度は、当科で経験した典型的なSH-HCC症例の臨床病理学的特徴を明らかにすることを目的として、検討を行った。

B. 研究方法

2000年から2014年までに当科で経験したHCCに対し肝切除を施行された385例中、癌部組織の60%以上に steatohepatitisに特徴的な所見を認めたSH-HCC 20例と、SH-HCC例以外で年齢・性をSH-HCC例とマッチさせた20例を臨床病理学的に比較した。

病理学的には、非癌部のfibrosis stageと features of steatohepatitisの合併頻度、癌部の肉眼分類、分化度、組織型、脈管浸潤と胆管浸潤の有無を比較した。

免疫組織学的検討としては、肝細胞マーカー；Hep-1、早期HCC関連マーカー；Glypican3, CD34、胆管細胞および肝前駆細胞マーカー；CK7,CK19、肝トランスポーター；OATP8、癌幹細胞自己増殖促進因子；Nanog、細胞分化・増殖抑制因子；リン酸化・非リン酸化LKB-1に関して、癌部での染色性を評価した。

初回術後の無再発生存率は、Kaplan-Meier法にて検討した。

統計は、数値はMann-Whitney U検定、比率はカイ2乗検定、log rank test (Kaplan-Meier法)で解析し、P値<0.05を有意差ありとした。

(倫理面の配慮)

本研究は医療情報と病理組織標本を用いた後ろ向き研究である。研究内容は東京女子医科大学倫理委員会の承認を受け同大学ホームページに掲載されており、これをもって研究参加患者へのインフォームドコンセントとした。本研究ではヒトゲノム・遺伝子情報は取り扱わない。全データは症例番号のみで管理され個人を特定する情報は収集していない。解析用データファイルはア

クセスにパスワードを設け、管理責任者（東京女子医科大学消化器内科 谷合麻紀子）を決め管理した。

C. 研究結果

1. SH-HCC と標準 HCC の臨床背景
対象とした2群の臨床背景の比較を表1に示す。SH-HCC 群は標準 HCC 群に比し、背景とする肝疾患としてアルコール性肝障害(ALD)とNAFLDが多く（合計でSH-HCCの95% vs. 標準 HCCの25%）、肥満あるいは生活習慣病を高率に合併（SH-HCCでの合計合併率100% vs. 標準 HCCの60%）し、これを反映しBMI高値であった。

原因別全症例中のSH-HCCの割合を図1に示す。NAFLDの37%、ALDの12%が典型的SH-HCCであり、一方肝炎ウイルス感染を基盤とするHCCでは、典型的SH-HCC合併率は1%未満と低率であった。

2. SH-HCC と標準 HCC の病理学的比較
対象とした2群の肉眼所見・非癌部組織・癌部の分化度・組織型を表2に示す。両群で差異を認めた事項は、SH-HCCは発癌時主腫瘍径が有意に大きく（中央値35mm vs. 20mm）、非癌部 steatohepatitis 合併率が高率（85% vs. 10%）であることのみであった。脈管浸潤合併は40% vs. 35%、胆管浸潤合併は10% vs. 10%と両者に有意差は無かった。

対象とした2群の癌部の免疫組織染色陽性率を表3に示す。有意差を認めたのは、SH-HCC 群でNanog陽性率が高く（80% vs. 20%）、癌部の強陽性例SH-HCC 典型例の5例に認めるのみであった。

3. SH-HCC と標準 HCC の無再発生存率
両群の無再発生存率を図 2 に示す。5 年無
再発生存率に有意差はなかった (52% vs.
41%) が、注目すべき事項として、初回肝
切除術施行時の主腫瘍径が 50mm 以上で
術後 5 年無再発生存例は、SH-HCC でのみ
3 例認められた。

D. 考察

SH-HCC 典型例は NAFLD-HCC の 36%、
ALD-HCC の 12%、HCV-HCC の 1% に
認められた。SH-HCC の背景肝疾患は脂肪
性肝疾患が主体であり、肥満・生活習慣病
が関与する可能性が示唆された。SH-HCC
は標準 HCC に比し、主腫瘍径が大きいに
もかかわらず脈管浸潤・胆管浸潤は同程度
で、術後無再発生存率は同等であったが、
直径 50mm 以上の術後 5 年無再発例およ
び癌部 Nanog 高発現例は SH-HCC 典型例
でのみ認められた。

SH-HCC の背景肝疾患として脂肪性肝障
害を基盤とする症例が高率であることは米
国とわが国の芝原らの報告と同様の結果で
あった。HCC 例中の SH-HCC 典型例の頻
度に関して、最近 15 年間の当科で経験し
た肝切除例における典型的 SH-HCC は 6%
であり、13.5%~35.5%とする米国からの
報告や 14.1%とするわが国の柴原らの報告
より低率であった。この原因として、米国
においてはわが国に比し一般人口における
メタボリック症候群リスク合併例が高率で
あること、肝炎ウイルス感染に関連する
HCC は米国よりわが国で高率であること、
我々の今回の SH-HCC 典型例の定義が癌
組織の 60%以上が steatohepatitis に特徴的

な所見を呈するものという厳格なものであ
ったことなどが推測される。

柴原らは、SH-HCC と標準 HCC の予後
を比較し、SH-HCC 全体と標準 HCC では
HCC 無再発生存率と全生存率に差が無か
ったが、SH-HCC 典型例は他の SH-HCC
および標準 HCC に比し HCC 無再発生存
率が良好であったこと、しかし Cox 比例
ハザードモデルでは SH-HCC も典型的
SH-HCC も有意な予後規定因子として抽出
されなかったと報告した。今回の自験例の
検討でも HCC 無再発生存率は SH-HCC 典
型例と標準 HCC 例とで差異を認めなかつ
た。しかし、主腫瘍径は標準 HCC より有
意に大きいものにも拘わらず、脈管浸潤と胆
管浸潤、HCC 無再発生存率が同等であつ
たこと、巨大 HCC 術後無再発例の存在、
Nanog 発現の差異などから、癌腫としての
動態が通常 HCC とは異なる可能性も示唆
される。SH-HCC 典型例を多数例集積し、
再発や予後など生物学的動態に関連する事
項を中心に、更なる検討が必要と考える。

E. 結論

SH-HCC 群は標準 HCC 群に比し、原因肝
疾患として脂肪性肝疾患が多く、肥満ある
いは生活習慣病を高率に合併し、患者の代
謝的要因との密接な関連を認めた。SH-
HCC は HCC の中で特徴的な生物学的動態
を示す一群である可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Noto H, Tokushige K, Hashimoto E, Taniai M, Shiratori K. Questionnaire survey on lifestyle of patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Biochem Nutr.* 2014;55: 191-195
- 2) Kogiso T, Nagahara H, Hashimoto E, Ariizumi S, Yamamoto M, Shiratori K. Efficient induction of apoptosis by weel kinase inhibition in hepatocellular carcinoma cells. *PLoS One* 2014; 24: e100495.
- 3) Matsushita N, Hashimoto E, Tokushige K, Kodama K, Tobari M, Kogiso T, Torii N, Taniai M, Shiratori K, Murayama H. Investigation of ornithine carbamoyltransferase as a biomarker of liver cirrhosis. *Intern Med.* 2014;53: 1249-1257
- 4) Tokushige K, Hashimoto E, Horie Y, Taniai M, Higuchi S. Hepatocellular carcinoma based on cryptogenic liver disease: The most common non-viral hepatocellular carcinoma in patients aged over 80 years. *Hepatol Res.* 2014; Jun 13. doi: 0.1111/hepr.12372.
- 5) 小木曾 智美, 橋本 悦子, 徳重 克年, 千嶋 さやか, 児玉 和久, 戸張 真紀, 松下 典子, 谷合 麻紀子, 鳥居 信之, 白鳥 敬子. 非アルコール性脂肪肝炎(NASH)における性差と年齢の関与 生活習慣病、脂肪測定、アディポサイトカイン、遺伝子多型を中心に. *肝臓* 2014; 55: 199- 205
- 6) 徳重 克年, 橋本 悦子, 児玉 和久, 谷合 麻紀子, 白鳥 敬子. アルコール性肝障害とNAFLDにおける肝内および肝外発癌の比較. *アルコールと医学生物学*2014; 32: 30-34
- 2.学会発表
 - 1) Taniai M, Hashimoto.E, Kodama K, Kogiso T, Tokushige K, Shiratori K. Assessment of glycemic variability by continuous glucose monitoring system in patients with nonalcoholic fatty liver disease. アメリカ肝臓学会年次総会 Boston 2014
 - 2) 徳重 克年, 橋本 悦子, 谷合 麻紀子. 生活習慣病と非 B 非 C 型肝細胞癌の変遷. 日本肝臓学会大会 神戸 2014
 - 3) 徳重 克年, 曾我 朋義, 橋本 悦子. NAFLD 診断に有用な血清バイオマーカーの検討 メタボローム解析から. 日本肝臓学会大会 神戸 2014
 - 4) 橋本 悦子, 谷合 麻紀子. 非アルコール性脂肪性肝障害の臨床病理学的検討 -肝細胞癌を中心に. 日本組織細胞化学会総会 松本 2014
 - 5) 松下 典子, 谷合 麻紀子, 橋本 悦子. 非アルコール性脂肪性肝疾患における糖尿病 -肝線維化との関連・治療法と肝発癌に関する検討. 日本肝臓学会総会 東京 2014
 - 6) 小木曾 智美, 谷合 麻紀子, 橋本 悦子. 幹細胞マーカー発現から見た非アルコール性脂肪肝炎の病態の臨床病理学的検討. 日本肝臓学会総会 東京 2014
 - 7) 戸張 真紀, 徳重 克年, 橋本 悦子. 肝硬変の成因別実態. 日本肝臓学会総会 東京 2014
 - 8) 橋本 悦子. メタボリック症候群の肝病変 NASH その病態と診断. 日本病理学会総会 広島 2014
 - 9) 谷合 麻紀子, 徳重 克年, 橋本 悦子. 非アルコール性脂肪性肝疾患における耐糖

表1 SH-HCCと標準-HCC 臨床背景

	SH-HCC n=20	標準HCC n=20	p
発癌時年齢	67 (64-75)歳	67 (65-74)歳	—
男性の比率	70%	70%	—
成因			
HCV	5%	60%	0.01
HBV	0%	15%	ns
アルコール	30%	20%	ns
NAFLD	65%	5%	0.01
肥満合併	75%	40%	0.02
糖尿病合併	70%	45%	0.03
脂質異常症合併	50%	20%	0.02
高血圧合併	80%	50%	0.04
BMI	27.3 (19.4-35.6) Kg/m ²	23.5 (22.1-30.3) Kg/m ²	0.02

比率以外は中央値(range)で表示

図1 原因別 全症例中SH-HCCの割合

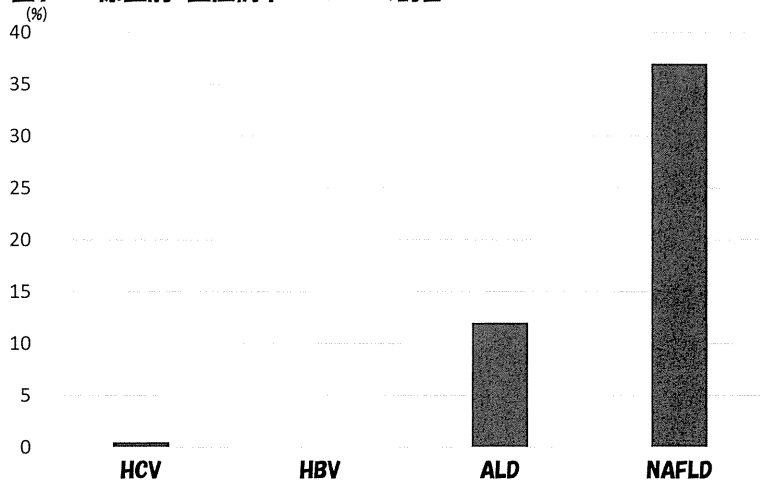


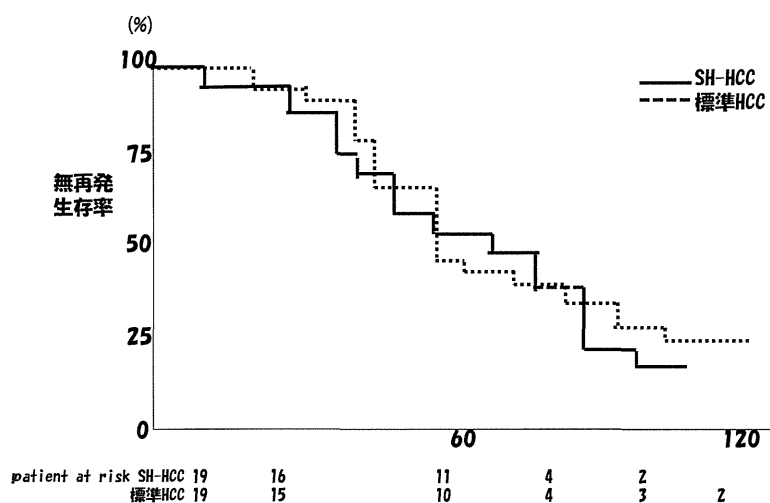
表2 SH-HCCと標準HCC 肉眼・組織所見

	SH-HCC n=20	標準HCC n=20	p
発癌時単発	60%	80%	ns
発癌時主腫瘍径	35(15-80)mm	20(8-45)mm	0.02
肉眼所見 単結節型	65%	65%	ns
単結節周囲増殖型	25%	20%	ns
多結節融合型	10%	15%	ns
非癌部肝硬変あり	55%	60%	ns
非癌部steatohepatitisあり	85%	10%	0.02
分化度 高分化(結節内結節型を含む)	30%	25%	ns
中分化	70%	70%	ns
低分化	0%	5%	ns
組織型 索状	65%	70%	ns
偽腺管	30%	25%	ns
充実	5%	5%	ns

表3 SH-HCCと標準HCC 癌部免疫染色陽性率

	SH-HCC n=20	標準HCC n=20	p
Hep-1	100%	100%	ns
Glypican-3	75%	80%	ns
CD34	65%	70%	ns
CK7	10%	10%	ns
CK19	5%	10%	ns
OATP8	80%	85%	ns
Nanog	80%	20%	0.01
LKB-1	90%	85%	ns

図2 SH-HCCと標準HCC 初回術後無再発生存率



分担研究報告書

HCV および NASH による代謝パスウェイ異常と肝細胞癌の関連解析

研究分担者 田中 真二 東京医科歯科大学分子腫瘍医学 教授

研究要旨：生活習慣病などに伴う、C型肝炎及び非ウイルス性肝癌の肝切除検体を用いた網羅的遺伝子発現解析から遺伝子機能(gene ontology)解析を行い、代謝関連肝癌に特異的な遺伝子パスウェイを同定し、代謝関連肝癌の発癌及び再発リスクに対する臨床病理学的、分子生物学的意義を検証する。

A. 研究目的

肝癌切除検体の癌部・非癌部組織の網羅的遺伝子発現解析から、肥満度や糖尿病歴などの代謝関連臨床因子のクラスタ解析を行い、さらに遺伝子機能(gene ontology)解析を行って代謝関連肝癌に特異的な遺伝子パスウェイを同定し、代謝関連肝癌の発癌及び再発リスクに対する臨床病理学的、分子生物学的意義を検証する。

B. 研究方法

2000年から2012年までに本学で初回肝切除を施行した肝癌を対象として、背景肝疾患別に代謝関連因子などの臨床病理学因子の検討に基づき、癌部・非癌部組織の網羅的遺伝子発現解析を行った。非B非C型(NBNC)肝癌症例の肥満度および糖尿病に正相関する非癌部遺伝子群のクラスタ解析、遺伝子機能(gene ontology)パスウェイ解析によって、代謝関連遺伝子群を抽出した。さらに、培養ヒト肝癌細胞を用いた遺伝子発現解析によって検証を加え、代謝関連遺伝子を抽出した。遺伝子導入による in

vitro, in vivo 機能解析の結果に基づき、臨床検体を用いた病理学的検証を行った。

(倫理面の配慮)

【ヒトゲノム・遺伝子解析研究】「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」、文部科学省・厚生労働省・経済産業省の定める細則に従って、倫理審査委員会の審査を経る手続きを行う(本学医学部倫理審査承認番号 1080)。

C. 研究結果

NBNC肝癌はC型肝炎に比べて有意に男性に多く、B型肝炎に比べて高齢発症であり、背景肝は肝硬変が少なかった。またNBNC肝癌では、肥満、糖尿病、高血圧、高脂血症、アルコール多飲といった代謝関連因子の割合が、B型肝炎・C型肝炎に比べてどれも有意に高かった($p < 0.005$)。

NBNC肝癌症例の網羅的遺伝子発現解析の結果、肥満度および糖尿病と正相関する非癌部発現遺伝子群として、90遺伝子を抽出した。その遺伝子機能パスウェイ解析

では細胞接着、細胞骨格、インテグリンシグナル、血管発生などと有意な相関を認め ($p < 0.01$)、発現および機能の検証によって *SLAMF7*, *CTGF*, *ITGBL1*, *LIMA1* の 4 遺伝子を抽出した。培養ヒト肝癌細胞を用いた 4 遺伝子の発現解析では、糖およびインスリン付加によって相乗的に *CTGF* 遺伝子が発現亢進することを見出した。遺伝子導入によって作成した *CTGF* 高発現株では *in vitro* 増殖能には変化を認めなかったが、網羅的遺伝子発現解析・パスウェイ解析によってケモカイン関連遺伝子群の高発現と相関することを見出した ($p < 0.0001$)。

CTGF 高発現株は *in vitro* マクロファージ遊走能、NF- κ B 活性化を惹起することを確認した。*CTGF* 高発現株を用いた *in vivo* 同所性肝腫瘍モデルでは、腫瘍増殖の亢進 ($p = 0.032$) および集簇マクロファージの NF- κ B 活性化を検出した ($p = 0.02$)。さらに肝癌臨床検体を用いた病理組織学的解析の結果、糖尿病と肥満を有する症例の非癌部肝細胞および星細胞に *CTGF* 蛋白が有意に高発現し ($p = 0.049$)、*CTGF* 陽性糖尿病症例では非癌部肝のマクロファージ・クッパー細胞における NF- κ B 活性化を認めた ($p = 0.01$)。非癌部 *CTGF* 陽性症例は陰性症例に比べて有意に無再発生存率が低下した ($p = 0.041$)。

D. 考察

NBNC 肝癌症例は代謝関連因子と相関が高く、網羅的遺伝子発現解析の結果、ウイルス性肝癌と異なった特異的遺伝子機能異常が内在している可能性が示された。本研究では糖尿病および肥満と正相関する非癌部遺伝子群から、培養細胞を用いた検証に

よって代謝関連遺伝子として *CTGF* を同定した。*CTGF* (connective tissue growth factor) は線維化、炎症など間質反応に関与する CCN ファミリーに属する分泌タンパクであり (*J Cell Biol* 1991)、我々は遺伝子クローニングによって CCN ファミリーが癌進展に関与することを報告している (Tanaka et al. *Oncogene* 1999, *Gastroenterology* 2002, 2003, *Hepatology* 2003)。*CTGF* はヒト肝癌細胞の *in vitro* 増殖能には関与しないが、ケモカイン発現亢進によってマクロファージ活性化、遊走能を促し、*in vivo* 解析ではオートクラインよりもむしろパラクライン機序によるマクロファージ活性化を伴った肝癌腫瘍の有意な増殖促進が示唆された。さらに臨床検体を用いた検証によって非癌部肝 *CTGF* 蛋白発現と肝癌再発が有意に相関することが示されており、NBNC 代謝関連肝癌の再発予測バイオマーカーとして有用であるばかりでなく、治療標的となりうる可能性が示唆された。今後、糖尿病による肝組織での *CTGF* 発現機序および癌微小環境相互作用の解明に加え、大規模臨床検体を用いた validation study が必要である。

E. 結論

NBNC 肝癌の臨床検体解析の結果、糖尿病および肥満と相関して特異的に亢進する遺伝子として *CTGF* を同定した。*In vitro*, *in vivo* 解析によって代謝関連機序と癌微小環境を介した肝発癌・進展への関与が示され、臨床応用への展開が示唆された。

F. 健康危険情報