

## 発癌因子としての C 型肝炎に関する研究

所属機関 聖マリアンナ医科大学  
研究者名 飯野 四郎

## 《研究の概要》

日本の基礎および臨床の肝発癌研究者 7 名による共同研究を行った。

研究の目的は基礎の各種肝発癌系における現象と臨床的に観察された結果をそれぞれの研究者が発表し合い、共通の因子がないかを見出すことにあった。

梶野らは B 型肝炎ウイルス遺伝子による宿主遺伝子組み換え機序の解明を通して、このウイルスの発癌過程を説明しようという研究であり、小池らは B 型および C 型肝炎ウイルス遺伝子トランスジェニックマウスの発癌系にみられる代謝異常から発癌メカニズムを解明しようという試みであり、沖田らは肝線維化から発癌に至る経路を通しての発癌機序の解明を進めるものであり、林らは C 型肝炎ウイルス感染例の肝障害と宿主遺伝子、免疫応答の関係を通して C 型肝炎の発症・進展機序を解明しようというものであり、西口らは C 型肝炎細胞癌発生に対する B 型肝炎ウイルスの関与を検討したものであり、熊田らは多数の C 型肝炎例の長期観察および治療効果を通して、C 型肝炎細胞癌の抑制法を見出そうとするものであり、飯野らは C 型肝炎の自然歴を明確にして C 型肝炎細胞癌の制御の方法を解明しようというものであった。

しかし、現状では個々の優れた研究の成果はあっても、全体を通して発癌機序を説明するような成績は得られなかった。

更なる研究を進めて、それぞれの研究の融合を見出すことが必要である。

沖田 極	山口大学医学部 教授	発癌因子としての C 型肝炎に関する研究
熊田博光	虎ノ門病院 部長	発癌因子としての C 型肝炎に関する研究
小池和彦	東京大学医学部 助教授	C 型肝炎ウイルスによる肝発癌分子機構の解明
林 紀夫	大阪大学医学部 教授	C 型慢性肝炎の肝炎発症・進展およびインターフェロン治療反応性に関与する宿主遺伝子の同定
梶野一徳	癌研究会癌研究所 研究員	Genomic Instability に関与する 15AB (HBV DNA) 結合蛋白の機能解析
黒木哲夫	大阪市立大学医学部 教授	平成 10 年 4 月～平成 11 年 11 月
西口修平	大阪市立大学医学部 助教授	HCV 肝癌における HBV の関与に関する検討 平成 11 年 12 月～平成 12 年 3 月

## I 研究目的

日本の肝細胞癌の原因の 95%は C 型および B 型肝炎ウイルス (HCV、HBV) によると推定され、HCV によるものは 80%に達すると考えられている。

これも HCV 感染例では、観察期間が長くなるほど肝発癌率は高くなる。ある高度汚染地域の調査では、HCV 感染者では死因の約半数が肝硬変あるいは肝細胞癌であったという報告もある。

発癌までの期間が数十年という長期間を有するものの高率に発癌に至る機序は何か、多段階発癌の一因子が HCV にあるとしても、ウイルスタンパクがどのような役割を果たし、また、持続炎症がどう発癌を助長しているのか、一步踏み込めば何も解明されていない。

そこで、3 年計画で、ヒトおよび実験動物についての肝発癌の本格的研究を行っている日本の有力な研究者に参加を求めて、各種の肝発癌系について相互に研究成果を提示し合い、討議することによって、それぞれの発癌機序、発癌過程は異なるとしても、決定的な共通点が見出せないかを目的として研究を行った。

## II 研究内容と成果

### 1. Genomic Instability に関する 15AB (HBV DNA) 結合蛋白の機能解析

梶野らは B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染において、HBV DNA が宿主遺伝子に組み込まれるが、その組み込まれた HBV DNA 内部および近傍において宿主 DNA の再配列が生じていることを見出し、染色体 DNA の不安定化を引き起こしていることを報告していた。組み込まれた HBV DNA が宿主遺伝子の相同組み換えを促進することについては HBV DNA 中の 61 塩基対からなる“15AB”と名付けた領域が関係することを示してきた。さらに、この“15AB”に結合する宿主タンパクが DNA 組み換え酵素であるとの仮定のもとに研究を進め、この結合タンパクとして、HMG domain family (UBF、HMGI) および Y-box binding family (dbpA、YB-1) の二つを同定した。

これらタンパクの 15AB への結合は HMG box および cold shock domain (CSD) を介して

おり、これらタンパクは肝細胞癌や肝再生時など増殖期に出現するものである。これらタンパクを E. coli の系で発現させ、dbpA には RecA 様の strand exchange activity があること、細胞増殖や細胞の transformation に関係していること、15AB と確実に結合すること、遺伝子組み換え、修復、複製時に出現する一本鎖、三本鎖、十字架型 DNA 構造に選択的に結合すること、dbpA の promoter region には SRE 様配列あるいは E2F 配列などがあることを示した。また、dbpA の promoter の変異が肝細胞癌例に発見され、この一塩基変異が promoter 活性を亢進させることも示した。

以上のように 15AB 結合タンパクが宿主遺伝子の組み換えを促進することによって代謝を攪乱させ、癌化を促進すると推定される。

## 2. HCV による肝発癌分子機構の解明

小池らは肝炎ウイルスタンパクが肝発癌に直接関係するという仮説のもとに HCV については HCV コア遺伝子を、HBV については HBx 遺伝子を用いた transgenic mouse を作成し、いずれにおいても、明らかな肝炎像を認めないまま、生後一年以降に高率に肝細胞癌の発生をみることを証明した。

HCV による発癌系では、最初に肝脂肪化が発生し、その後に肝 adenoma、adenoma 中に高分子肝細胞癌が発生し、低分化癌へと進展する。この発癌過程はコアタンパク発現量に依存する。HCV コアタンパクは宿主細胞遺伝子に働きかけて、TNF- $\alpha$  や IL-1 の発現を誘導するなど様々の作用が報告されつつある。

小池らは脂質代謝の異常に伴う TG の蓄積が最初の変化であると考えており、ミトコンドリアの代謝異常が発癌の始まりとして研究を進めている。

HBV については HCV の場合と同様に HBx タンパクの発現量と肝発癌が相関する。HBx による発癌では糖代謝異常がみられ、グリコーゲンの蓄積が起こる。細胞回転が亢進し、肝細胞の apoptosis の亢進、引き続く apoptosis の低下に遅れて、肝発癌がみられる。HBx タンパクの作用については肝発癌との関係で多くの報告が、小池らの研究を追ってなされている。

以上のように、肝炎ウイルスタンパクは代謝異常を引き起こすことによって、いくつかの不明の過程を経て、肝発癌を引き起こすと考えられる。

## 3. 肝発癌と肝線維化および宿主反応

沖田らはラットにコリン欠乏アミノ酸置換 (choline deficient L-amino acid defined、CDA) 食のみで肝線維化を経て、肝細胞癌が発生することを利用して肝発癌研究を行ってきた。これまでに CDA 欠乏食ラットでは肝内のラジカルの増加に伴って肝細胞死が増し、肝線維化が起こる。線維隔壁に囲まれて前癌性病変の指標となるグルタチオン S-トランスフェラーゼが発現し、その一部から肝発癌が起こる。しかし、前癌性病変が出現した時点でコリンを補充すると線維化が抑制され、肝発癌も抑えられるという結果を得ていた。今回、肝線維化を抑制する目的でプロリルヒドキシラーゼ阻害剤 (HOE 077) を投与したところ、ラジカルの減少、星細胞活性化の抑制による肝線維の減少、前癌性病変減少が認められた。これらのことから、肝線維化による内部環境の悪化、星細胞その他により産生されるサイトカインなどによって作り出される細胞内代謝障害が発癌に関係すると推察された。

また、HCV 感染における肝発癌は肝硬変を母地として発生することから、肝硬変患者の

防御因子を解析する目的で、肝硬変患者の単一リンパ球を対象とした Th1/Th2 バランスと肝発癌の関係を検討した。その結果、Th1 機能が低下し、Th2 機能が上昇しており、細胞性免疫の低下、液性免疫の活性化があり、腫瘍の観点からは Th1 が抗腫瘍効果、Th2 が抗腫瘍効果の抑制であることから、肝発癌を助長する方向にあると考えられた。

#### 4. C 型慢性肝炎の肝炎発症・進展およびインターフェロン治療反応性に関与する宿主遺伝子の同定

HCV 感染において HCV の排除、HCV による肝細胞障害、治療の効果などは宿主とウイルスの相互作用によって規定される。宿主側のこれら免疫応答は HLA 多型性が重要な役割を果たしている。

そこで、林らは HCV 排除に関係する細胞障害性 T 細胞 (CTL) 活性化の key となる樹状細胞の機能、HLA 多型性および抗原提示に関与する遺伝子多型性などに注目して、肝障害およびインターフェロンの効果とのかかわりを検討した。

その結果、HCV 感染者では HCV コア抗原刺激 T 細胞での IL-10 の産生が著明であり、Th2 サイトカイン優位であった。また、アロ抗原刺激によって樹状細胞の機能低下が認められ、この機能低下は IL-2 および IL-12 の添加によって回復した。以上のことから HCV 感染者では樹状細胞機能低下が持続感染の一要因であると推察された。

次に、HLA 多型性と肝障害の関係を検討するために、HCV 無症候性キャリアと C 型慢性肝疾患患者で HLA クラス 1 と拡張ハプロタイプを検討した。前者では B44-DRB1\*1302-DQB1\*0604 が、後者では B54-DRB1\*0405-DQB1\*0401 の頻度が高く、HCV による肝細胞障害には遺伝子的要因が関与していることが示された。さらに、HLA クラス 1 拘束性の抗原提示機構について検討し、細胞内での抗原ペプチドの選択的移送に関する Transporter associated with antigen processing (TAP) の遺伝子多型の TAP2\*0103 は無症候性キャリアの 44% に認められ、一方、慢性肝疾患では 17% であった。このことは HCV 感染例の肝炎発症抑制に TAP2 遺伝子が関係し、抗原提示が十分出来ないために肝障害が起きにくいと推察された。

さらに、インターフェロンによる HCV 排除効果に関与する抗原提示関連遺伝子多型性について検討した。その結果、ウイルスなどの内在性抗原を切断する細胞内の Low molecular mass polypeptide (LMP) の遺伝子多型性のうちで LMP7-K が IFN による HCV 排除と有意に相関するという結果を得た。

#### 5. HCV 肝癌における HBV の関与に関する検討

西口らは、HBV 感染例では急性肝炎が治癒した例であっても長期に微量の HBV DNA が血中や組織中に認められることから、HCV による肝発癌に過去の HBV 感染が関与するのではないかという仮説のもとに、各種の HCV 感染グループで HBV 遺伝子の有無を検索した。

HBs 抗原および HCV 抗体ともに陰性の肝細胞癌切除 28 例では、HBc 抗体陽性例が 17 例で HBc 抗体高抗体価例 2 例を含めて 3 例に HBV DNA が血中で検出された。C 型肝細胞癌 59 例について、HBc 抗体陽性群と陰性群で比較検討した結果、HBc 抗体陰性群で高分化型肝癌が多く、肝硬変合併率が高く、切除後無再発生存率が高く、生存率も高いという差異が認められ、HBV が病態に影響していると想定した。線維化が認められない C 型肝細胞癌 8 例はすべて HBc 抗体が陽性であり、HBV の関与が疑われた。最後に C 型肝癌組織、C 型肝炎組織、非 C 型肝組織で HBV DNA の検出を試み、肝癌組織では HBV DNA および HBV RNA が高率

に検出され、HBV の肝発癌への関与が示唆された。

## 6. C型慢性肝炎・肝硬変からの発癌と治療効果

熊田らはこれまでC型慢性肝疾患の長期経過を多数例で調査し、また、インターフェロンその他の治療例についても長期観察し、発癌との関係を検討してきた。これらのデータはC型肝炎対策を考える上では貴重なものである。

C型慢性肝炎からの肝発癌は5年で4.8%、10年で13.6%、15年で26.0%であり、肝線維化度別にみるとF1では5年で0.9%、10年で1.9%、15年で12.2%、F<sub>2</sub>+F<sub>3</sub>では5年で9.2%、10年で24.4%、15年で42.2%であった。発癌の危険因子は線維化度、γ-GT値、輸血歴、アルブミン値、総飲酒量であった。

C型肝硬変からの肝発癌は5年で27.2%、10年で51.4%、15年で68.7%であった。危険因子は性、AFP値、血小板数、アルブミン値、年齢であった。

C型慢性肝炎に対するインターフェロンの発癌抑制効果はIFN投与例で2.5%、非投与例で14.8%であり、投与例と非投与例の累積発癌は5年で2.1%と4.8%、10年で7.6%と12.4%であった。IFNの効果別にみると、完全著効、不完全著効、無効の順に、5年で1.4%、1.9%、2.9%、10年で1.4%、1.9%、17.5%であった。

C型肝硬変に対するインターフェロンの発癌抑制効果は、非治療例と治療例に分けてみると、累積発癌率は5年で28.4%と14.1%、10年で52.5%と36.7%であった。

C型慢性肝炎に対する長期グリチルリチン投与の肝発癌抑制効果は、投与例と非投与例の累積発癌率は10年で7%と12%、15年で12%と25%であり、肝発癌に対する危険関連因子は線維化度、SNMC治療の有無であった。

以上のように、C型慢性肝炎・肝硬変では時間経過に従って肝発癌がみられる。しかし、インターフェロンを投与すれば、そのALTに対する効果に従って発癌率は低下し、また、グリチルリチンによっても効果に従って発癌率は低下する。

## 7. C型肝炎ウイルス感染の自然経過

HCVが発見されてからの新規発生のC型肝炎例は稀であり、それに加えて自然経過を知るには10年という観察期間は短すぎる。また、非A非B型肝炎として長期観察されてきた例はある程度以上の活動性肝炎が続いていた例か、長い空白期間の後に慢性肝炎として発見された例に限られた観察であり、本当の意味での連続した観察によるC型肝炎の自然経過は知られていない。

そこでこの自然経過をいくらかでも明らかにするために、肝生検間の線維化進展とALT値の関係、無症候性キャリアの自然経過を多数例のアンケート調査で検討した。

結果は以下の通りである。

1. 無症候性キャリア（ASC）では2.7倍の性差があり、女性にASCが多い。
2. ALTが30IU/l未満で発見されたASCではALT異常出現率も低率で、一過性異常が多い。
3. ALTが30IU/l以上のASCでは慢性肝炎の可能性が高く、進展する可能性がある。
4. 若年でHCV感染した例では長期間、肝病変の進展は遅い。
5. 感染時期にかかわらず、年齢とともに肝病変進展速度が速くなる。肝再生力低下が関係すると想定される。
6. 肝の線維化が始まると肝病変の進展に男女差はなく、経時的に進行は速まる。

7. この肝線維化は平均 ALT 値に関連し、高値であるほど進展は速くなる。
8. この進展を明らかに抑えるのは IFN 療法のみである。

以上のことより、HCV 感染者で ALT の異常が持続し、肝病変が進展していると判断される例では、いずれの病期であっても HCV の排除を目的とした、あるいは ALT の上昇を抑制し、肝病変の進展を遅らせることを目指した治療を行うべきである。これによって、肝細胞癌の発生あるいは肝硬変への進展例を減少させようと考えられる。

また、HCV ASC の大部分は良性疾患である可能性が示された。

最後に、肝細胞癌にみられる性差（男性が多い）は ASC の比率に主因があり、肝病変が進展を始めた例では進展速度に性差は少ないと考えられる。

### III 考察

HCV 感染例にみられる肝発癌機序を解明する目的で、肝発癌研究の基礎および臨床の観点からそれぞれの成果を提示し合い、共通する現象が何かを見出すために検討を重ねてきた。しかし、結論から言えば、現時点では、それぞれの研究者が多段階の発癌過程の異なる側面をそれぞれに観察している状況であり、決定的因子は知り得なかった。

梶野らは HBV 感染にみられる遺伝子組み換え機序を徐々に解明しつつある。次のステップとして遺伝子組み換えが起こった後、どう発癌を引き起こすのかという新たな問題が生じてくる。

小池らは HBV、HCV について transgenic mouse で、雄のマウスに優位にみられる肝炎を伴わない肝発癌に成功し、とくに HCV についてはヒトの発癌過程に類似した脂肪化、腺腫、高分化型肝癌、低分化型肝癌という実験モデル作製に成功しているが、脂質代謝異常から発癌に至るまでの過程には解明すべきいくつかのステップが残されている。

沖田らは C 型肝細胞癌の大部分が肝硬変を背景に発生することを説明するモデルとして、コリン欠乏食ラットで線維肝からの発癌系を用いて、線維化阻止によって、肝発癌が抑制されることを示したが、線維化から発癌に至る過程に各種サイトカインが関係するであろうとの推定をしているが、ここにも未解決のいくつかのステップが残されている。また、肝発癌には性差があり、年齢差があり、遺伝子的要因も推定されている。これには宿主免疫が絡んでくると考えられるが、HCV 感染例で肝硬変になると Th1/Th2 のバランスが発癌に向かって偏奇しているという成績は臨床的に発癌の一側面をみたものと考えられる。

林らは HCV 感染者を対象として、肝病変の進展に大きな個体差がみられることを解明する目的で免疫応答の key となる樹状細胞機能に着目して検討を進め、この細胞機能低下が持続感染に関係すること、また、HCV による肝炎発症に HLA 多型性および HLA クラス 1 拘束性の抗原提示機構に関係する TAP の遺伝子多型性が関与していること、さらに、IFN の HCV 排除率にかかわる宿主側因子として、同じく抗原提示機構関連遺伝子多型、LMP7-K が存在することなどを示した。これまで HCV 感染の病態と宿主側の要因の関係はあまり知られていなかったことから重要な知見である。しかし、これらの成績は肝炎と HCV 感染に関するものであり、肝発癌と直接的な関係はさらなる研究が必要である。

西口らは HBV が HCV による肝発癌を促進する因子であることを示唆する成績を示し、また、発生した肝細胞癌が重複感染例と単独感染例に差異がみられることを観察したが、肝発癌機序ということからすると中間に介在する未知の現象を解明する必要がある。

熊田らは多数の臨床側をもとに HCV 感染がいかに多くの肝細胞癌を発生させているかを経時的に示すとともに、治療の効果、治療による発癌抑制効果を実証した。肝発癌の機序は未解決であっても、その抑制という治療の面では確実に進歩していることを改めて示した。

飯野らは HCV 感染の自然歴を解明すべく、長期観察の C 型慢性肝疾患例、および無症候性キャリアを調査し、若年者では進行が遅く、中年以降に進行が速まること、肝炎の活動性が進行速度を規定すること、無症候性キャリアの大半が予後が良好であること、女性では無症候性キャリアが多いために、肝硬変・肝細胞癌が少ないことなどを示し、現象面での解明は進んだが、基礎的な面での課題が多く残されていることを考えさせた。

#### IV 研究成果の発表

##### 飯野

- 1) S Iino : Relationship between infection with hepatitis C virus and hepatocellular carcinoma in Japan. Therapies for Viral Hepatitis. Ed., RF Schinaze, et al:425-429, International Medical Press 1998
- 2) T Maruyama, S Kuwata, K Koike, S Iino, K Yasuda, H Yotsuyanagi, K Moriya, H Maekawa, H Yamada, Y Shibata, DR Millch : Precore wild-type DNA and immune complexes persist in chronic hepatitis B after seroconversion: no association between genome conversion and seroconversion. Hepatology 27:245-253, 1998
- 3) H Yotsuyanagi, K Yasuda, S Iino, K Moriya, Y Shintani, H Fujie, T Tsutusmi, S Kimura, K Koike : Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. Hepatology 27:1377-1382, 1998
- 4) K. Kamisango, C. Kamogawa, M. Sumi, S. Goto, A. Hirao, F. Gonzales, K. Yasuda, S. Iino : Quantitative detection of hepatitis B virus by transcription-mediated amplification and hybridization protection assay. J. Clin. Microb. 37:310-314, 1999
- 5) T Maruyama, H Mitsui, H Maekawa, H Yamada, M Hirayama, S Iino, K Yasuda, K Koike, S Kimura, DR Milich: Emergence of the precore mutant late in chronic hepatitis B infection correlates with the severity of liver injury and mutations in the core region. Am. J. Gastroenterol. 95:2894-2904, 2000
- 6) E Orito, M Mizokami, H Sakugawa, K Michitaka, K Ishikawa, T Ichida, T Okanoue, H Yotsuyanagi, S Iino, for the Japan HBV Genotype Research Group : A case-control study for clinical and molecular biological differences between hepatitis B viruses of genotypes B and C. Hepatology 33:218-223, 2001
- 7) H Yotsuyanagi, Y Shintani, K Moriya, H Fujie, T Tsutusmi, T Kato, K Nishioka, T Takayama, M Makuuchi, S Iino, S Kimura, K Koike: Virologic analysis of non-B, non-C hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. J. Infect. Dis. 181:1920-1928, 2000

##### 沖田

- 1) Shiraishi K, Okita K, Harada T, Kusano N, Furui T, Kondoh S, Oga A, Kawauchi



- S, Fukumoto Y, Sasaki K. : Comparative genomic hybridization analysis of genetic aberrations associated with development and progression of biliary tract carcinomas. *Cancer*. 91(3):570-7, 2001
- 2) Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, Makuuchi M, Nakamura Y, Okita K, Yamada R. : Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The Liver Cancer Study Group of Japan. *Hepatology*. 32(6):1224-9, 2000
  - 3) Harada T, Shiraishi K, Kusano N, Umayahara K, Kondoh S, Okita K, Sasaki K : Evaluation of the reliability of chromosomal imbalances detected by combined use of universal DNA amplification and comparative genomic hybridization. *Jpn. J. Cancer Res*. 91(11):1119-25, 2000
  - 4) Hironaka K, Sakaida I, Matsumura Y, Kaino S, Miyamoto K, Okita K. : Enhanced interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-13) production of Kupffer cell by gadolinium chloride prevents pig seruminduced rat liver fibrosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 267:290-5, 2000
  - 5) Kusano N, Shiraishi K, Kubo K, Oga A, Okita K, Sasaki K. : Genetic aberrations detected by comparative genomic hybridization in hepatocellular carcinomas: their relationship to clinicopathological features. *Hepatology*. 29:1858-62, 1999
  - 6) Sakaida I, Nagatomi A, Hironaka K, Uchida K, Okita K. : Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. *Am. J. Gastroenterol*. 94:489-96, 1999
  - 7) Okuda M, Hino K, Korenaga M, Yamaguchi Y, Katoh Y, Okita K: Differences in hypervariable region 1 quasispecies of hepatitis C virus in human serum, peripheral blood mononuclear cells, and liver. *Hepatology*. 29:217-22, 1999
  - 8) Kayano K, Sakaida I, Uchida K, Okita K. : Inhibitory effects of the herbal medicine Sho-saiko-to (TJ-9) on cell proliferation and procollagen gene expressions in cultured rat hepatic stellate cells. *J. Hepatol*. 29:642-9, 1998
  - 9) Sakaida I, Hironaka K, Uchida K, Suzuki C, Kayano K, Okita K. : Fibrosis accelerates the development of enzyme-altered lesions in the rat liver. *Hepatology*. 28:1247-52, 1998
  - 10) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, Takayanagi M, Yoshioka K, Kakumu S, Iijima A, Urushihara A, Kiyosawa K, Okuda M, Hino K, Okita K. : Related Articles Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. Osaka Liver Disease Study Group. *Hepatology*. 27:1394-402, 1998
  - 11) Sakaida I, Uchida K, Matsumura Y, Okita K. : Interferon gamma treatment prevents procollagen gene expression without affecting transforming growth

factor-beta1 expression in pig serum-induced rat liver fibrosis in vivo. J. Hepatol. 28:471-9, 1998

- 12) Sakaida I, Matsumura Y, Akiyama S, Hayashi K, Ishige A, Okita K. : Herbal medicine Sho-saiko-to (TJ-9) prevents liver fibrosis and enzyme-altered lesions in rat liver cirrhosis induced by a choline-deficient L-amino acid-defined diet. J. Hepatol. 28:298-306, 1998

熊田

- 1) K Chayama, F Suzuki, A Tsubota, Masahiro Kobayashi, Y Arase, S Saitoh, Y Suzuki, N Murashima, K Ikeda, N Takahashi, M Kinoshita, H Kumada : Association of amino acid sequence in the PKR-eIFN2 $\alpha$  phosphorylation homology domain and response to interferon therapy. Hepatology 32(5):1138-1144, 2000
- 2) K Ikeda, S Saitoh, Masahiro Kobayashi, Y Suzuki, F Suzuki, A Tsubota, Y Arase, Kazuaki Cyayama, N Murashima, H Kumada : Interferon Beta prevents Recurrence of Hepatocellular carcinoma After Complete Resection of Ablation of Primary Tumor -A Prospective Randomized Study of Hepatitis C Virus-Related Liver Cancer. Hepatology 32(2):228-232, 2000
- 3) Masahiro Kobayashi, K Ikeda, S Saitoh, F Suzuki, A Tsubota, Y Suzuki, Y Arase, N Murashima, K Chayama, H Kumada : Incidence of primary cholangiocellular carcinoma of the Liver in Japanese patients with hepatitis C virus related cirrhosis. Cancer 88:2471-2477, 2000
- 4) Y Hoshida, K Ikeda, Masahiro Kobayashi, Y Suzuki, A Tsubota, S Saitoh, Y Arase, Mizuho Kobayashi, N Murashima, K Chayama, H Kumada : Chronic liver disease in the extreme elderly of 80 years or more: clinical characteristics, prognosis and patient survival analysis. J. Hepatology 31:860-866, 1999
- 5) K Ikeda, S Saitoh, Y Arase, K Chayama, Y Suzuki, Masahiro Kobayashi, A Tsubota, Mizuho Kobayashi, I Nakamura, N Murashima, H Kumada, M Kawanishi : Effect of Interferon Therapy on Hepatocellular Carcinogenesis in Patients With Chronic Hepatitis type C: A Long-Term Observation Study of 1,643 Patients Using Statistical Bias Correction With Propotional Hazard Analysis. Hepatology 29:1124-1130, 1999
- 6) Y Suzuki, H Kumada, K Ikeda, K Chayama, Y Arase, S Saitoh, A Tsubota, Masahiro Kobayashi, M Koike, N Ogawa, K Tanikawa : Histological changes in liver biopsies after one year of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B infection. J. Hepatology 30:743-745, 1999
- 7) K Chayama, Masahiro Kobayashi, A Tsubota, Mizuho Kobayashi, Y Arase, Y Suzuki, S Saitoh, N Murashima, K Ikeda, K Okamoto, M Hashimoto, H Koike, Mariko Kobayashi, H Kumada: Susceptibility of TT Virus to Interferon Therapy. J. Ggeneral Virology 80:631-634, 1999
- 8) K Ikeda, S Saitoh, Y Suzuki, A Tsubota, I Koida, Y Arase, K Chayama, Masahiro Kobayashi, N Murashima, H Kumada: Disease progression and hepatocellular

carcinogenesis in patients with chronic viral hepatitis: A prospective observation of 2215 patients. *J. Hepatology* 28:930-938, 1998

- 9) K Ikeda, H Kumada, S Saitoh, Y Suzuki, Masahiro Kobayashi, A Tsubota, I Koida, M Fukuda, Y Arase, K Chayama, N Murashima, T Tango : A randomized controlled trial of interferon-alpha in patients with cirrhosis caused by 2a/2b subtype hepatitis C virus. *J. Hepatology* 28:910-911, 1998
- 10) K Chayama, Y Suzuki, Masahiro Kobayashi, M Fukuda, A Tsubota, M Hashimoto, Y Miyano, H Koike, M Kobayashi, I Koida, Y Arase, S Saitoh, N Murashima, K Ikeda, H Kumada : Emergence and Takeover of YMDD Motif Mutant Hepatitis B Virus During Long-Term Lamivudine Therapy and Re-takeover by Wild type After Cessation of Therapy. *Hepatology* 27:1711-1716, 1998

#### 小池

- 1) Moriya K, Fujie H, Shintani Y, Yotsuyanagi H, Tsutsumi T, Matsuura Y, Kimura S, Miyamura T, Koike K. : Hepatitis C virus core protein induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat. Med.* 4:1065-1068, 1998.
- 2) Maruyama T, Kuwata S, Koike K, Iino S, Yasuda K, Yotsuyanagi H, Moriya K, Maekawa H, Yamada H, Shibata Y, Milich DR. : Pre-core wild type DNA and immune complexes persist in chronic hepatitis B after seroconversion: no association between genome conversion and seroconversion. *Hepatology* 27:245-253, 1998.
- 3) Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, Moriya K, Shintani Y, Fujie H, Tsutsumi T, Kimura S, Koike K. : Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 27:1377-1382, 1998.
- 4) Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kanegae Y, Kimura S, Saito I, Koike K. : Induction of apoptosis upon the switch-on of the hepatitis B virus X gene mediated by Cre/loxP recombinase system. *J. Gen. Virol.* 80:3257-3266, 1999
- 5) Shintani Y, Yotsuyanagi H, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Takayama T, Makuuchi M, Kimura S, Koike K. : Significance of hepatitis B virus DNA detected in hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C. *Cancer* 88:2478-2486, 2000.
- 6) Yotsuyanagi H, Shintani Y, Moriya K, Fujie H, Tsutsumi T, Kato T, Nishioka K, Takayama T, Makuuchi M, Iino S, Kimura S, Koike K. : Virological analysis of "non-B, non-C" hepatocellular carcinoma in Japan: frequent involvement of hepatitis B virus. *J. Infect. Dis.* 181:1920-1928, 2000.
- 7) Moriya K, Todoroki T, Tsutsumi T, Fujie H, Shintani Y, Miyoshi H, Ishibashi K, Takayama T, Makuuchi M, Watanabe K, Miyamura T, Kimura S, Koike K. : Increase of carbon 18 mono-unsaturated fatty acids in the liver of hepatitis C: Analysis in transgenic mice and humans. *Biophys. Biochem. Res. Commun.* 281:1207-1212, 2001.

林

- 1) Kuzushita N, Hayashi N, Moribe T, Katayama K, Kanto T, Nakatani S, Kaneshige T, Tatsumi T, Ito A, Mochizuki K, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. : Influence of HLA haplotypes on the clinical courses of individuals infected with hepatitis C virus. *Hepatology* 27:240-244, 1998
- 2) Kasahara A, Hayashi N, Mochizuki K, Takayanagi M, Yoshioka K, Kakumu S, Iijima A, Urushihara A, Kiyosawa K, Okuda M, Hino K, Okita K, the Osaka Liver Disease Study Group. : Risk factors for hepatocellular carcinoma and its incidence after interferon treatment in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 27:1394-1402, 1998
- 3) Takehara T, Hayashi N, Mita E, Kanto T, Tatsumi T, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. : Delayed Fas-mediated hepatocyte apoptosis during liver regeneration in mice: Hepatoprotective role of TNF $\alpha$ . *Hepatology* 27:1643-1651, 1998
- 4) Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Katayama K, Ito A, Mochizuki K, Kuzushita N, Tatsumi T, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. : Cross-linking of Fe $\gamma$ -receptor on monocytes inhibits hepatitis C virus-specific cytotoxic T lymphocyte induction in vitro. *Immunology* 94:461-468, 1998
- 5) Iio S, Hayashi N, Mita E, Ueda K, Mochizuki K, Hiramatsu N, Kanto T, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. :Serum levels of soluble Fas antigen in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol* 29:517-523, 1998
- 6) Kanto T, Hayashi N, Takehara T, Tatsumi T, Kuzushita N, Ito A, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. : Impaired allostimulatory capacity of peripheral blood dendritic cells recovered from hepatitis C virus-infected individuals. *J Immunol* 162:5584-5591, 1999
- 7) Kuzushita N, Hayashi N, Kanto T, Takehara T, Tatsumi T, Katayama K, Ohkawa K, Ito A, Kasahara A, Moribe T, Sasaki Y, Hori M. : Involvement of transporter associated with antigen processing (TAP) 2 gene polymorphisms in hepatitis C virus infection. *Gastroenterology* 116:1149-1154, 1999
- 8) Yamamoto M, Hayashi N, Takehara T, Ueda K, Mita E, Tatsumi T, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M :Intracellular single-chain antibody against hepatitis B virus core protein inhibits the replication of hepatitis B virus in cultured cells. *Hepatology* 30:300-307, 1999
- 9) Tatsumi T, Takehara T, Kanto T, Kuzushita N, Ito A, Kasahara A, Sasaki Y, Hori M, Hayashi N : B7-1 (CD80)-gene transfer combined with interleukin 12 administration elicits protective and therapeutic immunity against murine hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 30:422-429, 1999
- 10) Takehara T, Hayashi N, Tatsumi T, Kanto T, Mita E, Sasaki Y, Kasahara A, Hori M. : Interleukin-1 $\beta$  protects mice from Fas-mediated hepatocyte apoptosis and death. *Gastroenterology* 117:661-668, 1999
- 11) Ishida H, Ueda K, Ohkawa K, Kanazawa Y, Hosui A, Nakanishi F, Mita E, Kasahara

A, Sasaki Y, Hori M, Hayashi N. : Identification of multiple transcription factors, HLF, FTF, and E4BP4, controlling hepatitis B virus enhancer II. J Virol 74:1241-1251, 2000

梶野

- 1) Yamamoto T, Kajino K, Ogawa M, Gotoh I, Matsuoka S, Suzuki K, Moriyama M, Okubo H, Kudo M, Arakawa Y, and Hino O. : Hepatocellular carcinomas infected with the novel TT DNA virus lack viral integration. Biochemical Biophysical Research Communications 251:339-343, 1998.
- 2) Pugh JC, Guo J-T, Aldrich C, Rall G, Kajino K, Tennant B, England JM, and Mason WS. : Aberrant expression of a cytokeratin in a subset of hepatocytes during chronic WHV infection. Virology 249:68-79, 1998.
- 3) Yamamoto T, Kajino K, Kudo M, Sasaki Y, Arakawa Y, and Hino O. : Determination of the clonal origin of multiple human hepatocellular carcinomas by cloning and polymerase chain reaction of the integrated hepatitis B virus DNA. Hepatology 29:1446-1452, 1999.
- 4) Akbar SM, Kajino K, Tanimoto K, Yamamura K, Onji M, and Hino O. : Unique features of dendritic cells in IFN-gamma transgenic mice: relevance to cancer development and therapeutic implications. Biochemical Biophysical Research Communications 259:294-299, 1999.
- 5) Hayashi J, Aoki H, Kajino K, Moriyama M, Arakawa Y and Hino O. : Hepatitis C virus core protein activates the MAPK-ERK cascade synergistically with tumor promoter TPA, but not with EGF or TGF-alpha. Hepatology, 32:958-961, 2000.

西口

- 1) Kubo S, Tamori A, Nishiguchi S, Kinoshita H, Hirohashi K, Kuroki T, Omura T, Otani S: Effect of alcohol abuse on polyamine metabolism in hepatocellular carcinoma and noncancerous hepatic tissue. Surgery 123:205-211, 1998.
- 2) Enomoto M, Nishiguchi S, Fukuda K, Kuroki T, Tanaka M, Otani S, Ogami M, Monna T: Characteristics of patients with hepatitis C virus with and without GBV-C/hepatitis G virus coinfection, and efficacy of interferon-?. Hepatology 27:1388-1393, 1998.
- 3) Allen M. I, Deslauriers M, Andrews C.W, Tipples G.A, Walters K-A, Tyrrell D.L. J, Brown N: The Lamivudine Investigation Group (Dienstag J.L, Levy Gary, Martin P, Mitchell M, Perillo R, Rakela J, Pierre J, Elias E, Manns M, Schalm S.W, Bain V and Nishiguchi S), Condreay L.D: Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine. Hepatology 27:1670-1677, 1998.
- 4) Ogami M, Ikura Y, Nishiguchi S, Kuroki T, Ueda M, Sakurai M, Ogami M, Ikura Y, Nishiguchi S, et al.:Quantitative analysis and in situ localization of human telomerase RNA in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. Lab. Invest. 79:15-26, 1999.

- 5) Tamori A, Nishiguchi S, Kubo S, Koh N, Moriyama Y, Fujimoto S, Takeda T, Shiomi S, Hirohashi K, Kinoshita H, Kuroki T, Otani S: Possible contribution to hepatocarcinogenesis of X transcript of hepatitis B virus in Japanese patients with hepatitis C virus. *Hepatology* 29:1429-1434, 1999.
- 6) Kubo S, Nishiguchi S, Hirohashi K, Tanaka H, Tsukamoto T, Shuto T, Yamamoto T, Ikebe T, Kinoshita H: Clinical significance of prior hepatitis B virus infection in patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 86:793-798, 1999.
- 7) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M, Arakawa Y, Ide T, Sata M, Inoue O, Yano M, Tanaka M, Fujiyama S, Nishiguchi S, Kuroki T, Imazeki F, Yokosuka O, Kinoyama S, Yamada G, Omata M: Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: National surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C. in Japan. *Ann. Intern. Med.* 131:174-181, 1999.
- 8) Morikawa H, Hachiya K, Mizuhara H, Fujiwara H, Nishiguchi S, Shiomi S, Kuroki T, Kaneda K: Sublobular veins as the main site of lymphocyte adhesion/transmigration and adhesion molecule expression in the porto-sinusoidal-hepatic venous system during Concanavalin A-induced hepatitis in mice. *Hepatology* 31:83-94, 2000.
- 9) Shiratori Y, Imazeki F, Moriyama M, Yano M, Arakawa Y, Yokosuka O, Kuroki T, Nishiguchi S, Sata M, Yamada G, Fujiyama S, Kinoyama S, Yoshida H, Omata M: Histologic improvement of fibrosis in patients with hepatitis C who have sustained response to interferon therapy. *Ann. Internal Med.* 132:517-524, 2000.
- 10) Kubo S, Hirohashi K, Tanaka H, Tsukamoto T, Shuto T, Yamamoto T, Ikebe T, Wakasa K, Nishiguchi S, Kinoshita H: Effect of viral status on recurrence after liver resection for patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Cancer* 88:1016-1024, 2000.