



Tác giả chính:  
TS Lê Thị Thanh Thủy

Đơn vị công tác: Đại học thành phố Osaka,  
Nhật Bản

Email: [thuylt@med.osaka-cu.ac.jp](mailto:thuylt@med.osaka-cu.ac.jp);  
[thuylt1977@yahoo.com](mailto:thuylt1977@yahoo.com)

Tiến sĩ Lê Thị Thanh Thủy hiện là Giáo sư phụ tá tại khoa Nội gan mật, trường đại học thành phố Osaka, Osaka, Nhật Bản. Cô có 2 bằng sáng chế liên quan đến vai trò của Cytoglobin, và đã công bố 27 bài nghiên cứu về bệnh gan mật, bao gồm những bài được công bố trên các tạp chí danh tiếng như *Nature Communications*, *Journal of Hepatology*, *Hepatology*, *Journal of Biological Chemistry*, *American Journal of Pathology*, and *Scientific Reports*. Cô ấy cũng đóng góp viết 3 chương sách về bệnh gan mật cùng các đồng nghiệp lớn trên thế giới, xuất bản tại các nhà xuất bản quốc tế chính như Springer Nature, and Elsevier publishing groups. Cô ấy liên tục nhận được tài trợ từ quỹ nghiên cứu khoa học của Nhật Bản từ năm 2013 đến nay. Ngoài ra, cô ấy còn nhận được 12 giải thưởng bao gồm giải thưởng nghiên cứu từ các tổ chức trong và ngoài Nhật Bản như: Hiệp hội gan Kyoto năm 2015, Quỹ nghiên cứu Y khoa Osaka năm 2016, và đặc biệt năm 2019 cô ấy là 1 trong 4 nhà nghiên cứu ở Châu Á nhận giải thưởng nghiên cứu khoa học trị giá 130.000 USD cho nghiên cứu về bệnh gan mật từ công ty GILEAD, công ty dược Mỹ chuyên nghiên cứu và phát triển các loại thuốc kháng vi rút. Hiện nay, cô ấy tập trung nghiên cứu và sản xuất Cytoglobin protein tái tổ hợp của người để ứng dụng điều trị bệnh xơ và ung thư gan.

<https://doi.org/10.15625/vap.2021.0029>

## Giới thiệu Phòng nghiên cứu các bệnh gan, mật, tụy tại trường Đại học thành phố Osaka, Nhật Bản

Lê Thị Thanh Thủy<sup>1</sup>, Hoàng Hải<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Giáo sư phụ tá, Đại học thành phố Osaka, Nhật Bản

<sup>2</sup> Nghiên cứu viên, Đại học thành phố Osaka, Nhật Bản

### TÓM TẮT:

Gan là một cơ quan chuyển hóa phức tạp, như một nhà máy hóa chất của cơ thể. Tế bào gan (tế bào nhu mô gan, chiếm 60-65% tổng số tế bào) thực hiện các chức năng trao đổi chất của gan bao gồm: i) Hình thành và bài tiết mật; ii) Điều chỉnh cân bằng nội môi các hợp chất cacbon; iii) Tổng hợp lipid và bài tiết lipoprotein huyết tương; iv) Kiểm soát chuyển hóa cholesterol; v) Hình thành urê, albumin huyết thanh, các yếu tố đông máu, enzym và nhiều loại protein khác; vi) Chuyển hóa hoặc thải độc và các chất lạ khác. Tế bào vùng xoang gan (không phải tế bào nhu mô gan), chiếm khoảng 35% tổng số tế bào của gan. Những tế bào này được chia thành tế bào nội mạc mạch (44%), tế bào Kupffer (33%), tế bào hình sao (10-25%) và tế bào Nature Killer (5%), chúng bổ sung cho nhau và cho tế bào nhu mô gan trong việc thực hiện các chức năng chuyên biệt của chúng. Rối loạn chức năng gan có thể là kết quả của nhiều tác nhân, bao gồm nhiễm trùng, thuốc, độc tố, thiếu máu cục bộ và rối loạn tự miễn dịch, v.v.. Hầu hết các rối loạn gan đều gây ra tổn thương và hoại tử tế bào gan ở một mức độ nào đó, dẫn đến các trạng thái khác nhau bao gồm viêm gan, xơ gan, và ung thư gan. Trong khuôn khổ bài viết này, chúng tôi sẽ giới thiệu về thành tựu của Nhật Bản trong điều trị các bệnh gan mật, cùng với những nghiên cứu, những mô hình bệnh học gan mật đang được triển khai ở phòng nghiên cứu của chúng tôi.

**Từ khóa:** Bệnh gan mật, viêm gan, xơ gan, ung thư gan, tế bào hình sao, cytoglobin

### 1. Giới thiệu về thành tựu của Nhật Bản trong việc điều trị các bệnh gan mật

#### 1.1. Thành tựu chung

Như đã đề cập ở trên, gan là cơ quan rất quan trọng với chức năng như là nhà máy lọc chất độc trong cơ thể người. Tiếp nhận những yếu tố nguy cơ như siêu vi gây viêm gan B và C, rượu bia... kéo dài, gan sẽ bị tổn thương từ mức độ nhẹ như viêm gan rồi tiến triển thành xơ gan và cuối cùng là ung thư gan. Khoảng 20% bệnh nhân viêm gan C mạn tính sẽ bị xơ gan trong khoảng 20-30 năm [1]; khoảng 20% bệnh nhân xơ gan đó sẽ tiến triển thành ung thư gan [2]. Để tổng thể bộ máy cơ thể hoạt động tốt trong thời gian dài, mỗi cơ quan, trong đó có gan, cần phải mạnh khỏe hoặc phải được chữa trị kịp thời. Vì vậy, hãy tầm soát bệnh để kịp thời phát hiện và điều trị ngay từ giai đoạn sớm, vừa ít tổn kém về mặt chi phí vừa nâng cao hiệu quả điều trị.

Nhằm giảm tỉ lệ người mắc ung thư gan, Nhật Bản là một trong những nước đầu tiên cam kết thực hiện mục tiêu của Tổ chức Y tế Thế giới đến năm 2030 giảm 90% số ca nhiễm mới và 65% số ca tử vong. Trong khuôn khổ bài viết này, chúng ta cùng đi qua những thành tựu mà Nhật bản đạt được trong điều trị bệnh viêm gan C mạn tính và ung thư gan.

### 1.2. Điều trị bệnh viêm gan C

Tại buổi lễ công bố giải Nobel Y Sinh 2020, Ủy ban Nobel đã nói “Lần đầu tiên trong lịch sử, virus viêm gan C (HCV-Hepatitis C Virus) có thể được chữa khỏi”. HCV được phát hiện vào năm 1989 sau khi Houghton và đồng nghiệp nghiên cứu những bệnh nhân bị viêm gan nhưng không phải do virus viêm gan A hay B [3]. Interferon, thuốc tiêm điều trị viêm gan B khi đó, chỉ hiệu quả trong 10% bệnh nhân [4]. Sau đó, thuốc uống Ribavirin dùng kết hợp đã nâng tỉ lệ thành công lên 35% [5]. Năm 2000, dạng pegylated của interferon gây chú ý khi 50% bệnh nhân được chữa khỏi khi dùng kết hợp với Ribavirin [6]. Tuy nhiên, những phác đồ kết hợp thuốc dựa trên interferon không cải thiện hơn hiệu quả điều trị mặc dù thời gian điều trị dài 48 tuần và gây nhiều tác dụng phụ nên các nhà khoa học đã tìm hướng đi khác để giải quyết căn bệnh này. Đó là thuốc kháng virus tác dụng trực tiếp (direct acting antiviral – DAA). Bộ gen của HCV có ba đoạn mã hoá protein phi cấu trúc (Nonstructural Protein – NS) 3, 5A và 5B là đích ngắm của những thuốc mới mở ra chương mới gọi là thời đại DAA. Các hãng dược qui định chung tên của các loại thuốc ứng với NS3, NS5A và NS5B có đuôi là -previr, -asvir, -buvir. Năm 2011, DAA thế hệ đầu tiên [7, 8] dùng kết hợp với interferon và ribavirin giúp tăng tỉ lệ thành công lên đến 70%. Thuốc ức chế NS3 protease thế hệ thứ hai simeprevir [9] hoặc vaniprevir [10] kết hợp interferon và ribavirin trong 12-36 tuần đạt hiệu quả 80%. Tùy vào kiểu gen khác nhau của HCV, sự kết hợp của interferon và ribavirin với thuốc Daclatasvir ức chế NS5A [11] đạt hiệu quả trên 77% và với thuốc Sofosbuvir ức chế NS5B [12] đạt hiệu quả 82-96%.

Và kỉ nguyên “không interferon” ít tác dụng phụ mà hiệu quả diệt virus cao trên 95% đối với tất cả kiểu gen HCV bắt đầu từ năm 2013 đến nay với sự kết hợp NS3 Asunaprevir và NS5A Daclatasvir [13] hay Sofosbuvir với Ledipasvir [14]; Zepatier (elbasvir/grazoprevir) từ năm 2016 [15]; glecaprevir/pibrentasvir (Maviret) từ năm 2017 [16]; Epclusa (Sofosbuvir/velpatasvir) từ năm 2019 [17].

Tuy nhiên, giá thành cho một liệu trình dùng DAA là quá đắt, mặc dù đã giảm đáng kể thời gian gần đây, ví dụ: 25.000 USD ở Hoa Kỳ và 12.439 USD ở Vương quốc Anh. Giá của một phác đồ DAA 12 tuần ở Nhật Bản dao động trong khoảng 32.480–42.060 USD vào năm 2019 [18]. Đây là giá dành cho thuốc gốc, thuốc generics (với giá thành giảm 1/20 tới 1/30 lần do chính sách nhân đạo của công ty dược phẩm GILEAD sản xuất DAA của Mỹ) chỉ được dùng ở những nước chưa phát triển. Đánh giá hiệu quả chi phí của điều trị HCV ở bệnh nhân thuộc các nhóm tuổi khác nhau ở Nhật cho thấy so với không điều trị, tỷ lệ chi phí - hiệu quả gia tăng (ICER) của DAAs với mức giá 41.046 USD cho mỗi lần điều trị là 9.080 USD cho mỗi năm sống được điều chỉnh chất lượng [18]. Điều trị HCV trở nên

hiệu quả về chi phí sau 9 năm bắt đầu điều trị. Tuy nhiên, nếu giá của DAAs giảm 55–85% (từ 6.730-17.720 USD), thì việc điều trị HCV sẽ tiết kiệm chi phí trong khoảng thời gian từ 5 đến 20 năm. Và Nhật Bản là quốc gia duy nhất có chính sách chi trả bảo hiểm riêng cho tất cả bệnh nhân viêm gan C, không phân biệt người nước ngoài hay người Nhật, phải dùng DAA, đó là chi phải trả tối đa 100-200 USD/tháng. Đây là tiền đề cho chính sách của chính phủ Nhật nhằm xóa bỏ căn bệnh viêm gan C ở nước này.

### 1.3. Điều trị ung thư gan

Trước hết, có thể khẳng định được rằng: quản lý ung thư biểu mô tế bào gan, HCC, ở Nhật Bản là một mô hình hàng đầu thế giới. Chi tiết cho những minh chứng này độc giả có thể tìm đọc các bài tổng quan của Giáo sư Masatoshi Kudo, người tiên phong của Nhật trong điều trị ung thư gan [19] hay [20]. Việc thành lập một chương trình tầm soát ung thư gan trên toàn quốc, được phát triển vào những năm 1980 và có sự tham gia của các viện trên khắp Nhật Bản, là một trong những yếu tố khởi phát cho những thành tựu trong 30 năm gần đây của Nhật. Ví dụ, Nhật Bản là nước đầu tiên trên thế giới phát triển và triển khai hệ thống siêu âm chẩn đoán tầm soát ung thư gan. Ngoài dấu ấn khối u  $\alpha$ -fetoprotein (AFP) đã được thiết lập, các chất đánh dấu khác như protein được tạo ra do thiếu vitamin K hoặc chất đối kháng-II (PIVKA-II) và phản phản ứng Lens culinaris-agglutinin của AFP (AFP-L3) là phát triển ở Nhật Bản. Hai chất chỉ điểm khối u này lần lượt được đưa vào các xét nghiệm sàng lọc do bảo hiểm y tế chi trả vào năm 1989 và 1994. Nhật Bản là quốc gia duy nhất trên thế giới trong đó ba dấu ấn khối u này được đưa vào giám sát định kỳ theo bảo hiểm y tế quốc gia mà không có hạn chế. Những thành tựu quan trọng khác ở Nhật Bản bao gồm việc điều trị ung thư gan bằng phương pháp nút mạch hóa chất (TACE) do bác sĩ Yamada và cộng sự tại chính trường đại học y thành phố Osaka này phát minh [21], sự phát triển và thương mại hóa đầu tiên trên thế giới của technetium-99m galactosyl albumin gan người xạ hình để đánh giá dự trữ chức năng gan [22, 23], phẫu thuật cắt gan đầu tiên trên thế giới [24], sự phát triển của phẫu thuật cắt gan theo giải phẫu [25], và phát minh ra phương pháp tiêm còn trực tiếp vào khối u [26] hay sử dụng vi sóng qua da [27]. Nhật Bản cũng có số ca được điều trị bằng phương pháp sử dụng sóng điện cao tần tạo ra nhiệt để phá hủy mô khối u (RFA) cao nhất. Các phương pháp khác được phát triển ở Nhật Bản bao gồm siêu âm gan tăng cường chất cản quang (ban đầu bằng cách truyền vào động mạch các microbubbles carbon dioxide) [28, 29]; perfluorobutane (Sonazoid), một chất tương phản siêu âm duy nhất cho phép tạo ảnh pha Kupffer; và hình ảnh tái tưới máu khiếm khuyết sử dụng Sonazoid, hỗ trợ sàng lọc, chẩn đoán xác định và điều trị cắt bỏ cục bộ [30]. Nhật có thể phát hiện nốt u rất nhỏ bằng cách sử dụng rộng rãi axit gadolinium ethoxybenzyl diethylenetriamine pentaacetic - chụp cộng hưởng từ

(EOB-MRI) và nỗ lực cao trong chẩn đoán phân biệt giữa nốt loạn sản và ung thư biểu mô tế bào gan sớm dẫn đến can thiệp điều trị sớm.

Trong những năm gần đây, liệu pháp miễn dịch thu hút được sự quan tâm đáng kể, trong đó phải kể đến phân tử PD-1 được phát hiện bởi Giáo sư Tasuku Honjo thuộc Đại học Kyoto (người được trao giải Nobel Y học năm 2018) [31] và được thương mại hóa bởi Công ty TNHH Dược phẩm Ono ở Nhật Bản. Ngày 25 tháng 9 năm 2020 - Bộ Y tế, Lao động và Phúc lợi Nhật Bản đã phê duyệt liệu pháp kết hợp giữa tác nhân chống ung thư /kháng thể đơn dòng chống PD-L1 (atezolizumab) và tác nhân chống ung thư /kháng thể đơn dòng kháng VEGF (bevacizumab) từ Công ty TNHH Dược phẩm Chugai, để điều trị ung thư biểu mô tế bào gan không thể cắt bỏ. Lenvatinib, một thuốc ngăn trúng đích được phát hiện bởi Viện nghiên cứu Eisai Tsukuba ở Nhật Bản. Kết quả khả quan của một thử nghiệm kiểm tra hiệu quả của lenvatinib trong bệnh ung thư gan đã được báo cáo tại cuộc họp thường niên năm 2017 của Hiệp hội Ung thư Lâm sàng Hoa Kỳ [32], sau đó là công bố [33], và được đưa vào bảo hiểm y tế của Nhật.

Khi so sánh kết quả của việc điều trị HCC giữa các quốc gia thì chỉ một số quốc gia công bố kết quả điều trị HCC trên toàn quốc. Có thể thấy thời gian sống trên 5 năm ở tất cả các loại ung thư gan ở Nhật Bản trong giai đoạn 1996-2007 là 44,1% [34], cao hơn hẳn so với tỷ lệ ở các quốc gia khác trong khoảng thời gian tương ứng như 23,3% ở Hàn Quốc (Ministry of Health & Welfare, The Korean Cancer Registry, 2010), 22% ở Đài Loan (Cancer Registry, Taiwan 2001 – 2005), và 11–15% ở Hoa Kỳ [35].

Nhìn chung, Nhật Bản đã có những đóng góp đáng kể trong việc tầm soát, chẩn đoán và điều trị ung thư gan, và những đóng góp này đã mang lại kết quả điều trị ung thư gan tốt nhất trên thế giới. Công bằng mà nói, việc quản lý HCC ở Nhật Bản là một ví dụ điển hình cho phần còn lại của thế giới, một thực tế được các chuyên gia HCC trên toàn cầu thừa nhận [20].

## 2. Những nghiên cứu tiêu biểu của Khoa Nội gan mật, trường đại học Y thành phố Osaka

### 2.1. Người đóng vai trò khởi nguồn

Trước hết xin dành lời giới thiệu về trường công lập thành phố Osaka và đại học Y của trường. Về lịch sử, tiền thân của trường là Học viện đào tạo thương mại Osaka thành lập từ năm 1880, sau nhiều lần đổi tên theo sự phát triển thì trở thành Đại học thành phố Osaka (tên tiếng Anh là Osaka City University, OCU) năm 1949. Đây là một trong những trường đại học công lập lớn nhất ở Nhật Bản, với 8 khoa và 11 trường sau đại học, cung cấp các khóa học cử nhân, thạc sĩ và tiến sĩ trong nhiều lĩnh vực khác nhau. Ngày 1 tháng 4 năm 2019, có một sự hợp nhất lịch sử của cả 3 trường

đại học: Đại học thành phố Osaka, Đại học tỉnh Osaka, và đại học công nghệ tỉnh Osaka, thành một trường đại học duy nhất với tên gọi Đại học thủ phủ Osaka (Osaka Metropolitan University, tên gọi này sẽ được chính thức sử dụng từ tháng 4 năm 2022). Sự hợp nhất này nhằm mục đích phát triển hướng tới một trường đại học tổng hợp đẳng cấp hàng đầu thế giới với hệ thống học thuật đa dạng cả về mặt khoa học, nghệ thuật và y khoa. Các bạn có thể xem thêm tại website của trường: <https://www.osaka-cu.ac.jp/en>; hay <https://www.upc-osaka.ac.jp/>.

Khoa Y của Đại học Thành phố Osaka cùng với bệnh viện trực thuộc đều có trụ sở tại Abeno Campus, nằm ở Tennoji, là cửa ngõ phía nam vào thành phố Osaka. Trường y khoa của chúng tôi được thành lập với tên gọi Trường Y khoa Thành phố Osaka vào năm 1944. Tận dụng triệt để các dịch vụ chăm sóc y tế tiên tiến như nội soi bằng viên nang và nội soi ruột non bằng bóng đôi (DBE), bệnh viện tự hào có số lượng ca bệnh lớn nhất ở Nhật Bản để chẩn đoán và điều trị bệnh đường ruột, vốn là điều vô cùng khó khăn cho đến nay. Bệnh viện là nơi đầu tiên tại Nhật Bản điều trị trào ngược dạ dày bằng nội soi. Ngoài ra, các bệnh giãn tĩnh mạch dạ dày khó điều trị được phối hợp với Khoa X quang IVR điều trị. Đây cũng là một trong những bệnh viện hàng đầu về bệnh viêm ruột. Bệnh nhân được giới thiệu từ các tỉnh khác để tìm kiếm các phương pháp điều trị y tế tiên tiến này. Số lượng nội soi vượt xa 10.000 ca mỗi năm. Điều trị nội soi được thực hiện tích cực đối với ung thư giai đoạn đầu. Ngoài ra, bệnh viện điều trị tất cả các rối loạn tiêu hóa bao gồm hệ thống đường mật và tuyến tụy, hay hóa trị ung thư đường tiêu hóa, nguyên nhân chiếm 1/3 số ca tử vong do ung thư. Như trên đã đề cập, điều trị ung thư gan bằng phương pháp nút mạch hóa chất (TACE) là do bác sĩ Yamada và cộng sự tại chính trường đại học y thành phố Osaka này phát minh. Xem thêm tại trang web của trường Y: <http://www.med.osaka-cu.ac.jp/outline/e-index.shtml>; hay bệnh viện trực thuộc: <https://www.hosp.med.osaka-u.ac.jp/eng/index.shtml>

Trong phạm vi bài này, người viết xin giới thiệu về khoa Nội Gan mật, nơi chúng tôi đang làm việc, và đang hướng dẫn 6 nghiên cứu sinh Tiến sĩ người Việt theo học tại đây. Giáo sư (GS) của khoa, bác sĩ, tiến sĩ Norifumi Kawada, đồng thời là Hiệu trưởng trường Y, là người thiết lập phòng nghiên cứu và đưa nó phát triển mạnh mẽ với nhiều nghiên cứu có tầm ảnh hưởng lớn. GS Kawada là người tiên phong trong nghiên cứu về tế bào hình sao ở gan, và vai trò của tế bào này trong bệnh sinh xơ và ung thư gan. Năm 2001, ông là người phát hiện ra một loại protein mới, mà chỉ có ở tế bào hình sao này, và được phân loại là protein thành viên thứ tư của gia đình globins ở động vật có vú với tên gọi là Cytoglobin (CYGB)[36]. Nếu như Hemoglobin

chỉ có ở tế bào hồng cầu, Myoglobin chỉ có ở tế bào cơ, hay Neuroglobin chỉ có ở tế bào thần kinh, thì Cytoglobin có ở tất cả các tế bào đệm của tất cả các cơ quan trong cơ thể. Ở gan, nó có trong tế bào hình sao như đã nói ở trên. Vai trò bảo vệ của CYGB trong các bệnh lý gan mật được làm rõ trong các nghiên cứu của Tiến sĩ Lê Thị Thanh Thủy và cộng sự. Hiện nay, trong bảng xếp hạng các chuyên gia trên toàn thế giới nghiên cứu về CYGB, GS Kawada đứng thứ 2, GS phụ tá Lê Thị Thanh Thủy đứng thứ 3, và Nghiên cứu viên cao cấp Hoàng Hải đứng thứ 24. Trường OCU đứng thứ nhất trong danh sách các trường đại học trên toàn thế giới nghiên cứu về CYGB. Xin xem link tham khảo: <https://expertscape.com/ex/cytoglobin>

## 2.2. Thành tựu nghiên cứu

Bằng việc phát hiện ra CYGB, GS Kawada cũng chứng minh rằng CYGB của người có khoảng 25% axit amin đồng nhất với myoglobin và hemoglobin của động vật có xương sống, và 16% với neuroglobin ở người [36]. CYGB có thể tạo điều kiện thuận lợi cho sự khuếch tán oxy qua các mô, loại bỏ oxit nitric (NO) hoặc các loại oxy phản ứng khác, hoặc phục vụ chức năng bảo vệ trong quá trình stress oxy hóa [37, 38]. Để nghiên cứu chức năng sinh học của Cygb ở cấp độ mô, chúng tôi tạo ra dòng chuột đầu tiên bị thiếu gene tổng hợp CYGB (KO) và quan sát thấy rằng, sau khi điều trị bằng hóa chất gây ung thư diethylnitrosamine (DEN) chuột KO cho thấy tỷ lệ phát triển khối u trong gan và phổi cao khác biệt so với chuột hoang dại (WT) [39]. Chúng tôi tiếp tục cho thấy vai trò quan trọng của Cygb trong việc ức chế sự phát triển của bệnh gan nhiễm mỡ và ung thư gan xuất hiện ở những con chuột được áp dụng chế độ ăn uống thiếu hụt axit amin choline (CDAA) [40], hay bảo vệ chuột khỏi bệnh gan ứ mật [41]. Điều thú vị là trong quá trình duy trì và nhân giống chuột KO, chúng tôi đã phát hiện ra sự hình thành các bất thường đa cơ quan phụ thuộc vào độ tuổi của chúng bao gồm phì đại tim, khối u ở phổi, gan, buồng trứng, ruột non và các cơ quan bạch huyết [42]. Quan trọng hơn, phân tích huyết thanh và nước tiểu đã chứng minh rằng nồng độ các chất chuyển hóa oxit nitric tăng lên rõ ràng ở chuột KO so với WT. Do đó, sự hiện diện của Cygb trong tế bào đệm của tất cả các cơ quan đóng một chức năng quan trọng trong việc duy trì cân bằng nội môi của NO và hệ thống chống oxy hóa cần được nghiên cứu thêm để điều trị xơ, và ung thư gan. Gần đây, chúng tôi đã tạo ra dòng chuột biểu hiện gấp 10 lần CYGB (TG) gien đặc thù ở tế bào đệm cùng với gien chỉ điểm màu đỏ (mCherry) có thể giúp chúng tôi trong việc theo dấu vết của CYGB trong mô và việc chúng tương tác với các tế bào trong gan thể nào [43]. Ngược với chuột KO, những con chuột TG có khả năng cao trong việc chống lại với hóa chất gây xơ gan, kết quả là làm chậm quá trình xơ và giảm hoạt hóa các tế bào hình sao giúp cho việc giảm tổng hợp các sợi xơ [43]. Hơn thế nữa, việc điều hòa diễn giải CYGB còn có vai trò bảo vệ trong bệnh gan nhiễm

mỡ ở người, mới đây được chúng tôi công bố trên tạp chí gan mật hàng đầu Châu Âu và thế giới, tạp chí Journal of Hepatology, điểm tác động (impact factor) 20.5 [44]. Chúng tôi cũng đã sản xuất protein tái tổ hợp CYGB của người, tiêm tĩnh mạch cho chuột bị xơ gan và thấy rằng CYGB giúp ức chế đến 70% việc hình thành xơ ở gan chuột thông qua việc làm sạch các gốc oxy tự do trong cơ thể và tại gan. Khi chúng tôi viết bài này, thì công trình nghiên cứu có tính ứng dụng cao này đã được đăng trên tạp chí danh tiếng trong ngành, Hepatology, IF 14.7 (<https://doi.org/10.1002/hep.31752>).



*Ảnh. Nhóm các nhà nghiên cứu và nghiên cứu sinh Việt Nam đang làm việc và học tập tại trường Y thành phố Osaka với GS Kawada. Hàng đứng, từ trái sang là NCS Trương Hữu Hoàng, Nghiên cứu viên cao cấp Hoàng Hải, GS phụ tá Lê Thị Thanh Thủy, GS Norifumi Kawada, NCS Vũ Ngọc Hiếu. Hàng ngồi từ trái qua: NCS Trần Thị Thùy Linh, Đồng Minh Phương, Ngô Vinh Hạnh, Ninh Quốc Đạt và Đình Việt Hoàng.*

## 2.3. Thành tựu giáo dục và hợp tác quốc tế

Chúng tôi tự hào là khoa duy nhất ở các trường Y của Nhật có đông đảo những nhà nghiên cứu và nghiên cứu sinh người Việt Nam đang làm việc và học tập. Đã có 2 bác sĩ người Việt tốt nghiệp Tiến sĩ ở đây và đã về Việt Nam làm việc. Hiện đang có 6 nghiên cứu sinh người Việt ở khoa chúng tôi, 1 nghiên cứu sinh ở khoa Sinh lý bệnh và 1 học viên cao học ở khoa Hóa sinh bệnh học. Mỗi năm chúng tôi đều tuyển ít nhất 1 nghiên cứu sinh nhận học bổng Tiến sĩ từ Bộ giáo dục Nhật Bản, và nhiều nghiên cứu sinh dạng tự phí nhưng nhận học bổng từ nguồn của trường OCU. Mục tiêu của chúng tôi là truyền tải sức mạnh tri thức cho từng cá nhân và lan tỏa tri thức khoa học tới cộng đồng, đóng góp vào sự phát triển của cộng đồng tri thức Việt Nam tại Nhật, cũng như tại Việt Nam. Hiện trường OCU đã thông qua dự án mở Văn phòng đại diện của trường tại trường ĐHYHN, và thông qua văn phòng này để mở rộng đào tạo, hợp tác với các trường đại học

ở VN, không riêng gì ngành Y, mà tất cả các ngành khác OCU có đào tạo. Độc giả có thể xem trang web của trường OCU ở trên, và tìm khoa phù hợp với nguyện vọng của mình. Độc giả có thể liên hệ trực tiếp với nhóm tác giả viết bài này để nhận được sự hỗ trợ và tư vấn.

Hợp tác với VN như với YHN, Y dược TPHCM, và Viện quân Y 108, là một phần trong những hợp tác quốc tế của khoa chúng tôi. Khoa chúng tôi hiện đang có hợp tác nghiên cứu với đại học Standford, Ohio State, và New York Medical Colledge ở Mỹ; đại học Mainz ở Đức; đại học Antwerp ở Bỉ; đại học University Colledge London ở Anh; đại học Sydney ở Úc. Chúng tôi tin rằng việc học tập ở OCU không chỉ là cơ hội phát triển của mỗi cá nhân mà còn để đóng góp kiến thức cho nhân loại tiến bộ.

### 3. Những mô hình bệnh học gan mật ứng dụng trong nghiên cứu

Các bệnh về gan có thể chia thành hai dạng: tổn thương gan cấp tính và mãn tính. Tổn thương gan có thể là kết quả của nhiều tác nhân, bao gồm nhiễm trùng, thuốc, độc tố, thiếu máu cục bộ và rối loạn tự miễn dịch, v.v.. Việc hiểu rõ về cơ chế sinh bệnh, về bệnh cảnh của từng loại tổn thương ở gan là bắt buộc để tìm ra các thay đổi ở mức phân tử, để từ đó thiết kế, và đánh giá các loại thuốc điều trị mới. Do đó, các mô hình động vật đang được phát triển để bắt chước bệnh gan ở người. Trong bài tổng quan này, chúng tôi tập trung mô tả những mô hình chuột thí nghiệm mô phỏng tổn thương gan cấp, xơ gan, và ung thư gan.

#### 3.1. Mô hình tổn thương gan cấp

Tổn thương gan cấp thường gặp nhất là do ngộ độc thuốc, gây suy gan cấp, đe dọa tính mạng hoặc dẫn đến nhập viện. Hiện nay, acetaminophen, hay paracetamol (APAP) gây độc gan là nguyên nhân thường gặp nhất của suy gan cấp ở Mỹ [45], cũng như ở Châu Âu [46] và APAP là một trong những thuốc gây độc gan được nghiên cứu nhiều nhất.

Nguyên lý gây độc của APAP: gây hoại tử trung tâm tiểu thùy sau đó là tắc nghẽn và suy gan. APAP gây độc thông qua quá trình chuyển hóa của nó bởi men Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) và 3A4 (CYP3A4) mà những men này được biểu hiện chủ yếu ở gan. Hai men này chuyển đổi APAP thành chất chuyển hóa trung gian phản ứng; N-acetyl-p-benzo-quinone imine (NAPQI)[47]. NAPQI liên kết với các đại phân tử của tế bào và bắt đầu gây tổn thương tế bào gan nếu hiện diện ở nồng độ cao trong điều kiện cạn kiệt chất chống ô-xi-hóa tế bào là glutathione (GSH) [48].

Cách thức tiến hành: Những con chuột đực dùng cho thí nghiệm thường từ 8 đến 12 tuần tuổi. Tất cả chuột đều được chăm sóc theo hướng dẫn được sự chấp thuận của Ủy ban chăm sóc và sử dụng động vật thuộc

Đại học Thành phố Osaka, Osaka, Nhật Bản. Trước điều trị APAP, những con chuột được nhịn ăn trong 16 giờ. APAP hòa tan trong nước muối đẳng trương được tiêm trong phúc mạc (i.p.) với liều 300 mg/kg vào chuột. Chuột được theo dõi và thu thập số liệu theo thời gian, thường từ 6h đến 24h hoặc 48h sau. Vào giờ kết thúc thí nghiệm, những con chuột được gây mê, mẩu máu được thu thập, ly tâm và lấy huyết thanh. Các mô được thu thập và lưu trữ ở -80°C cho các lần phân tích tiếp theo. Để phân tích mô bệnh học, các mảnh nhỏ của gan được cố định trong 4% formaldehyde qua đêm và được nhúng vào paraffin. Mô gan được cắt ở độ dày 5 μm và nhuộm bằng hematoxylin và eosin để quan sát mô bệnh học. Khi quan sát tổn thương gan 6h sau tiêm APAP, chúng tôi thấy men gan ALT tăng lên 600 lần, và diện tích vùng gan bị hoại tử chiếm gần 50 % diện tích của gan (xem chi tiết những thông số về tổn thương gan trong bài của chúng tôi công bố năm 2015 [49]).

Ngoài APAP, những thuốc chống ung thư như Cisplatin cũng có tác dụng phụ gây độc cho gan thông qua sản phẩm thứ phát là những gốc oxy tự do vốn dễ gây chết tế bào ung thư [50]. Trên mô hình động vật thực nghiệm, có thể gây độc cho gan khi sử dụng Cisplatin theo nồng độ khác nhau (3,5–7 mg / kg, tiêm màng bụng, trong 1-5 ngày)[51, 52]. Hay kháng sinh như Erythromycin có thể gây độc cho gan bằng liều 100 mg / kg cho chuột uống trong 14 ngày [53].

#### 3.2. Mô hình xơ gan

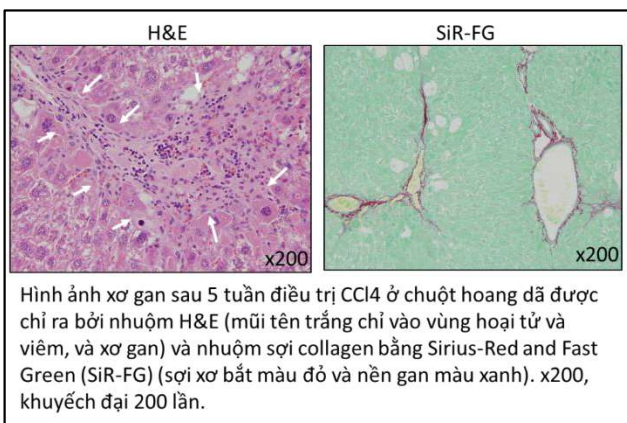
Định nghĩa và khái niệm: Xơ hóa gan là một phản ứng làm lành vết thương do bệnh gan mãn tính (BGMT) và thường dẫn đến xơ gan, suy gan, tăng áp lực tĩnh mạch cửa và ung thư biểu mô tế bào gan [54]. BGMT có nhiều nguyên nhân khác nhau như đã trình bày ở trên. Dù căn nguyên của nó là gì, sự tiến triển của xơ hóa gan được đặc trưng bởi (1) tổn thương nhu mô gan dai dẳng, (2) thay đổi thành phần chất nền ngoại bào (ECM) với sự tích tụ quá mức hình thành collagen, (3) sự xâm nhập của các tế bào viêm và tế bào miễn dịch của hệ thống miễn dịch bẩm sinh hoặc mắc phải đến vị trí tổn thương, (4) kích hoạt tế bào hình sao ở gan (HSC), nguyên bào sợi cơ (MFs), đại thực bào và tế bào Kupffer (KCs) (đại thực bào gan), và tế bào nội mô ở xoang gan (LSECs) ), (5) vi môi trường tiền đề cho xơ phát triển được điều hòa bởi các yếu tố tăng trưởng được, các cytokine và chemokine được tạo ra bởi các tế bào nêu trên, và (6) sự tham gia của sự mất cân bằng oxy hóa, hay còn gọi là stress oxy hóa do các loại oxy phản ứng (ROS) và các loại nitơ phản ứng (RNS). Do đó, quá trình tạo sợi ở gan là một quá trình phân tử, mô và tế bào năng động và tích hợp cao, làm biến dạng cấu trúc gan, và góp phần hình thành môi trường sinh hóa mới trong gan[55].

Những mô hình động vật thí nghiệm mô phỏng bệnh lý xơ gan: Nâng cao hiểu biết của chúng ta về cơ chế

bệnh sinh của BGMT và phát triển các phương pháp chẩn đoán, tiên lượng và các phương pháp điều trị mới phụ thuộc rất nhiều vào các mô hình động vật thí nghiệm mà vốn có nguồn cung tốt và có thể tái lập lại dễ dàng. Trong số nhiều loại động vật thí nghiệm, loài gặm nhấm, đặc biệt là chuột nhắt, được các nhà nghiên cứu quan tâm đặc biệt vì chúng nhỏ, có tuổi thọ và thời kỳ mang thai ngắn, và do đó dễ bảo quản và sinh sản trong điều kiện nuôi nhốt. Hơn nữa, sự tương đồng di truyền đáng chú ý của chuột với người, kết hợp với khả năng và sự thuận tiện của thao tác di truyền, cũng giải thích vì sao chuột thường là động vật thí nghiệm được lựa chọn để làm mô hình các bệnh ở người [56]. Mô hình gây xơ gan tương đồng với bệnh cảnh trên người có thể sử dụng bệnh nguyên là hóa chất, chế độ ăn nhiều chất béo, rượu, hay xơ gan tắc mật.

**Mô hình xơ gan do hóa chất:** Trong những hóa chất gây tổn thương gan dạng xơ điển hình, có hai loại hóa chất được sử dụng nhiều nhất, đó là Cacbon tetrachlorua (CCl<sub>4</sub>) với gần 20.000 công trình nghiên cứu đã công bố, và Thioacetamide (TAA) với trên 4000 công bố (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>).

CCl<sub>4</sub> gây tác hại trực tiếp tế bào gan bằng cách thay đổi tính thấm của màng tế bào, lysosome và màng ti thể. Chất chuyển hóa của nó, cũng là một chất độc trichloromethyl (CCl<sub>3</sub>), gốc tự do Cytochrome được tạo ra bởi CYP2E1 trong tế bào gan, gây ra quá trình peroxy hóa lipid và tổn thương màng, gây hoại tử vùng tĩnh mạch trung tâm nghiêm trọng [57]. Khi sự tiếp xúc với hóa chất bị lặp lại liên tục, xơ hóa gan phát triển tăng dần, bắt đầu từ các vùng quanh tĩnh mạch trung tâm, tiếp theo là xơ hóa cầu nối nghiêm trọng, và cuối cùng có thể dẫn đến HCC [58].



**Cách thức tiến hành với CCl<sub>4</sub>:**

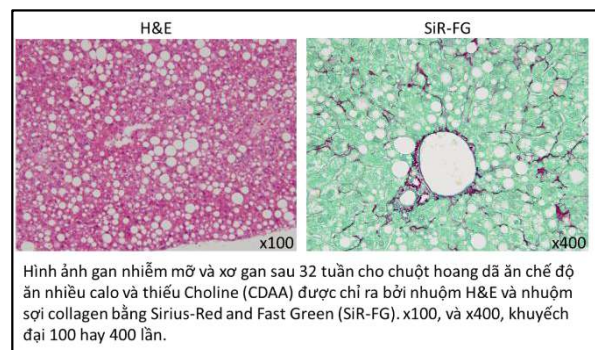
Chuột được cho ăn với chế độ ăn uống tiêu chuẩn, được giữ ở nhiệt độ 25 ± 2°C và chu kỳ sáng / tối 12 giờ. Trước khi thử nghiệm, chuột nên đói 1 đêm. CCl<sub>4</sub> có thể được tiêm màng bụng, hoặc cho uống bằng ống sonde vào dạ dày, với liều thay đổi từ 0.5-2 mL/kg cân nặng cơ thể, thường lặp lại 2 lần/tuần trong 4-10 tuần. Hình trên chúng tôi đã điều trị chuột hoang

dại với liều CCl<sub>4</sub> 0.5 mL/kg cân nặng, tiêm màng bụng 2 lần/tuần trong 5 tuần. Hình ảnh nhuộm H&E cho thấy tế bào gan bị tổn thương, tế bào viêm xâm nhập và dải xơ hình thành từ tĩnh mạch trung tâm tiêu thụ. Bằng cách nhuộm sợi collagen bằng SiR-FG, ta có thể thấy các sợi xơ hình thành cả ở vùng tĩnh mạch trung tâm và tĩnh mạch cửa của gan.

**Cách thức tiến hành với TAA:** Bản thân TAA không độc với gan nhưng thioacetamide-s-oxit, một chất chuyển hóa trung gian của TAA liên kết cộng hóa trị với các đại phân tử gan, và gây ra thay đổi tính thấm của tế bào và tăng Canxi tập trung trong nội bào dẫn đến tế bào tổn thương và hoại tử của cả vùng 1 và vùng 3 của gan [56]. Cũng giống như CCl<sub>4</sub>, tiêm màng bụng TAA lặp đi lặp lại với liều tăng dần sẽ gây ra tình trạng xơ hóa nặng nề, xin xem bài báo của chúng tôi năm 2018 [43].

**Xơ gan do chế độ ăn:** Một trong những chế độ ăn có thể gây bệnh cảnh gan nhiễm mỡ và xơ hóa gần giống với người đó là chế độ ăn thiếu choline: Choline-deficient L-amino-defined (CDAA). Thức ăn làm đối chứng cho CDAA là CSAA: choline supplied amino acid define diet. Choline, là một acid amine cần thiết cho quá trình oxy hóa β ở gan và sản xuất lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL). Chế độ ăn này có 30 kcal% chất béo chứa Primex và dầu ngô và chứa 0,17% methionine để bù đắp cho sự thiếu hụt choline [59].

**Cách thức tiến hành với chế độ ăn CDAA:** Chuột được nuôi trong điều kiện tiêu chuẩn về độ ẩm, nhiệt độ 25 ± 2 C, chu kỳ sáng / tối 12 giờ, và không bị hạn chế tiếp xúc với thức ăn, nước uống. Chuột được chỉ định ngẫu nhiên vào nhóm có chế độ ăn tiêu chuẩn hoặc chế độ ăn CDAA/CSAA trong 8, 16, hay 32 tuần [60]. Dấu hiệu gan nhiễm mỡ được và xơ như hình dưới đây là sau 32 tuần cho chuột ăn CDAA.

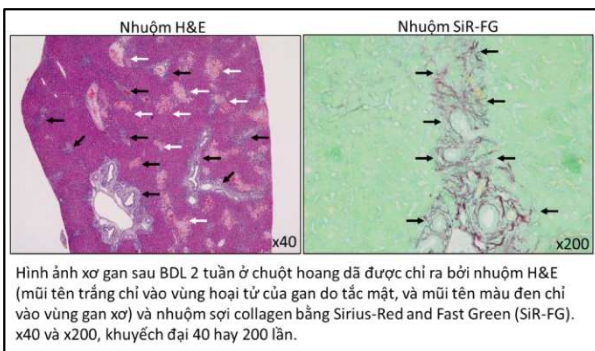


**Xơ gan do tắc mật:**

Một mô hình được thiết lập tốt về bệnh vàng da tắc nghẽn ở chuột bắt chước bệnh ở người là thất ống mật chủ (BDL)[61]. Cho đến nay, các cơ chế liên quan đến tổn thương gan do BDL gây ra đã được báo cáo bao gồm ba kiểu hình viêm [62, 63]: (1) kiểu hình cấp tính

đặc trưng bởi giai đoạn tổn thương tế bào gan do tích tụ quá nhiều axit mật kỵ nước; (2) kiểu hình cấp tính hỗ trợ, cụ thể là giai đoạn bạch cầu, trong đó bạch cầu trung tính đã hoạt hóa xâm nhập và tấn công các tế bào gan bị stress axit mật độc hại thông qua các loại oxy phản ứng quá mức (ROS); (3) kiểu hình mãn tính, cụ thể là giai đoạn tạo mạch, trong đó các mạch mới được hình thành xung quanh các đường mật để cung cấp oxy và các đặc tính chống oxy hóa và chống miễn dịch.

Cách thức tiến hành BDL: Chuột từ 8 đến 11 tuần tuổi được sử dụng. Những con chuột được gây mê bằng cách tiêm pentobarbital vào màng bụng ở liều 60 mg / kg thể trọng. Sau đó, mở khoang phúc mạc. Ống mật chủ được thắt đôi bằng chỉ khâu 6-0. Những con chuột đối chứng được làm một phẫu thuật giả, tức là chỉ bóc lộ ống mật nhưng không được thắt lại. Màng và da được đóng bằng chỉ khâu 5-0. Sau 24, 48, 72 giờ hoặc 1, 2, 3 tuần BDL, những con chuột đã được mổ lấy máu, mô, vvv. Hình ảnh mô tả gan chuột sau BDL 2 tuần (xem thêm ở bài [41]).



Xơ gan do rượu:

Bệnh gan do rượu (ALD) là một trong những nguyên nhân chính gây ra gánh nặng chung của bệnh gan ở Việt Nam. Một nghiên cứu gần đây về năm quốc gia châu Á phát hiện tỷ lệ tiêu dùng rượu bia rất cao của nam giới ở Việt Nam [64]. Thực tế, trong số chín địa điểm được đánh giá, hai ở Việt Nam có tỷ lệ của nam giới có nghiện rượu cao nhất cho đến nay (31,4% và 17,3%), được định nghĩa là nam giới uống trên năm cốc tiêu chuẩn trở lên mỗi ngày. Ngoài ra 53,2% và 68,5% nam giới tại hai địa điểm khác ở Việt Nam được đánh giá là người nghiện rượu mức độ trung bình (tiêu thụ tối đa bốn ly mỗi ngày). Bệnh gan do rượu (ALD), do uống nhiều rượu và kéo dài, góp phần vào phần lớn gánh nặng bệnh gan trên toàn thế giới. Biểu hiện của bệnh trải dài từ nhiễm mỡ đơn thuần đến gan viêm, hoại tử, xơ hóa gan và xơ gan [56].

Cách thức tiến hành mô hình: Một số mô hình đã được sử dụng để nghiên cứu tổn thương gan do rượu ở chuột, như cho ăn bằng chế độ ăn Lieber-DeCarli có chứa ethanol hay mô hình Tsukamoto-French cho uống rượu bằng ống nội tâm mạc liên tục [65]. Tuy nhiên,

cả hai mô hình đều có hạn chế chưa biểu hiện bệnh lý xơ gan nặng nề như thấy ở người, nếu không phối hợp thêm với các hóa chất gây xơ [65].

**3.3. Mô hình ung thư gan**

Diethylnitrosamine (DEN) là một chất đại diện gây ung thư với khả năng gây ra các khối u ở các cơ quan khác nhau trên động vật thí nghiệm, bao gồm gan, da, đường tiêu hóa và hệ hô hấp [66]. Cụ thể trong HCC, DEN là một chất gây ung thư hoàn toàn.

Cách thức tiến hành mô hình: Sử dụng DEN có thể dùng đường uống, tiêm phúc mạc 1 lần lúc chuột 15 ngày tuổi, hay tiêm nhắc lại 2 lần/tuần với chuột trưởng thành. Thời gian theo dõi có thể từ nhiều tuần đến 1 năm. Chúng tôi [39] đã thử cả liều rất thấp, 0.05 ppm hay liều cao 25 ppm trên chuột hoang dại qua đường uống và thấy rằng, với liều rất thấp, sau 9 tháng không gây ung thư, nhưng liều cao sau 6 tháng đã gây khối u ở cả phổi và gan [39].

**4. Hướng phát triển trong tương lai và lời kết**

Theo báo cáo thống kê của WHO, khu vực Châu Á - Thái Bình Dương là nơi sinh sống của hơn một nửa dân số toàn cầu và chiếm 62.6% số ca tử vong toàn cầu do bệnh gan vào năm 2015 (Global Health Estimates 2015: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2015. Geneva, World Health Organization; 2016.), link: [https://www.who.int/healthinfo/global\\_burden\\_diseases/e/GlobalCOD\\_method\\_2000\\_2015.pdf?ua=1](https://www.who.int/healthinfo/global_burden_diseases/e/GlobalCOD_method_2000_2015.pdf?ua=1). Nhiễm vi rút viêm gan B mãn tính (HBV) gây ra hơn một nửa số ca tử vong do xơ gan trong khu vực, tiếp theo là uống rượu (20.8%), bệnh gan nhiễm mỡ không do rượu (NAFLD; 12.1%), và nhiễm vi rút viêm gan C mãn tính (HCV; 15.7%). Nếu những tiến bộ khoa học đưa đến những nỗ lực nhằm loại bỏ bệnh viêm gan vi rút như viêm gan C đã có thuốc điều trị đặc hiệu đạt hiệu quả 100% làm sạch vi rút, hay tiêm vắc xin phòng HBV, thì sự gia tăng nhanh chóng mức tiêu thụ rượu bình quân đầu người ở các quốc gia và “dịch bệnh” béo phì, dự kiến sẽ thay đổi phổ bệnh gan ở khu vực Châu Á - Thái Bình Dương trong tương lai gần [67]. Bên cạnh các chính sách cần thiết của các chính phủ trong việc thúc đẩy lối sống lành mạnh và điều chỉnh ngày công nghiệp thực phẩm, chúng ta cần phải tập trung đổi mới vào công tác phòng ngừa, nghiên cứu chuyên sâu giúp phát hiện sớm, và cải thiện các phương pháp điều trị nhằm giảm gánh nặng bệnh gan mật ở khu vực Châu Á - Thái Bình Dương.

**Tài liệu tham khảo**

[1] R. H. Westbrook and G. Dusheiko, "Natural history of hepatitis C," (in eng), *J Hepatol*, vol. 61, no. 1 Suppl, pp. S58-68, Nov 2014.

[2] H. H. Thein, Q. Yi, G. J. Dore, and M. D. Krahn, "Estimation of stage-specific fibrosis progression rates in chronic hepatitis C virus infection: a meta-analysis and meta-regression,"

- (in eng), *Hepatology*, vol. 48, no. 2, pp. 418-31, Aug 2008.
- [3] G. K. Q.L. Choo, A.J. Weiner, L.R. Overby, D.W. Bradley, M. Houghton, "Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome," *Science*, vol. 244, pp. 359-362, 1989.
- [4] A. M. Di Bisceglie *et al.*, "A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of recombinant human alpha-interferon therapy for chronic non-A, non-B (type C) hepatitis," (in eng), *J Hepatol*, vol. 11 Suppl 1, pp. S36-42, 1990.
- [5] O. Reichard, J. Andersson, R. Schvarcz, and O. Weiland, "Ribavirin treatment for chronic hepatitis C," (in eng), *Lancet*, vol. 337, no. 8749, pp. 1058-61, May 4 1991.
- [6] K. L. Lindsay *et al.*, "A randomized, double-blind trial comparing pegylated interferon alfa-2b to interferon alfa-2b as initial treatment for chronic hepatitis C," (in eng), *Hepatology*, vol. 34, no. 2, pp. 395-403, Aug 2001.
- [7] F. Poordad *et al.*, "Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection," (in eng), *N Engl J Med*, vol. 364, no. 13, pp. 1195-206, Mar 31 2011.
- [8] B. R. Bacon *et al.*, "Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection," (in eng), *N Engl J Med*, vol. 364, no. 13, pp. 1207-17, Mar 31 2011.
- [9] I. M. Jacobson *et al.*, "Simeprevir with pegylated interferon alfa 2a plus ribavirin in treatment-naive patients with chronic hepatitis C virus genotype 1 infection (QUEST-1): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial," (in eng), *Lancet*, vol. 384, no. 9941, pp. 403-13, Aug 2 2014.
- [10] N. Hayashi, N. Mobashery, and N. Izumi, "Vaniprevir plus peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-experienced Japanese patients with hepatitis C virus genotype 1 infection: a randomized phase II study," (in eng), *J Gastroenterol*, vol. 50, no. 2, pp. 238-48, Feb 2015.
- [11] N. Izumi *et al.*, "Daclatasvir combined with peginterferon alfa-2a and ribavirin in Japanese patients infected with hepatitis C genotype 1," (in eng), *Antivir Ther*, vol. 19, no. 5, pp. 501-10, 2014.
- [12] E. Lawitz *et al.*, "Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection," (in eng), *N Engl J Med*, vol. 368, no. 20, pp. 1878-87, May 16 2013.
- [13] H. Kumada *et al.*, "Daclatasvir plus asunaprevir for chronic HCV genotype 1b infection," (in eng), *Hepatology*, vol. 59, no. 6, pp. 2083-91, Jun 2014.
- [14] M. Bourlière *et al.*, "Ledipasvir-sofosbuvir with or without ribavirin to treat patients with HCV genotype 1 infection and cirrhosis non-responsive to previous protease-inhibitor therapy: a randomised, double-blind, phase 2 trial (SIRIUS)," (in eng), *Lancet Infect Dis*, vol. 15, no. 4, pp. 397-404, Apr 2015.
- [15] T. Mashiba *et al.*, "Real-world efficacy of elbasvir and grazoprevir for hepatitis C virus (genotype 1): A nationwide, multicenter study by the Japanese Red Cross Hospital Liver Study Group," (in eng), *Hepatol Res*, vol. 49, no. 10, pp. 1114-1120, Oct 2019.
- [16] I. Kawaguchi *et al.*, "A Cost-Effectiveness Analysis of Glecaprevir/Pibrentasvir Versus Existing Direct-Acting Antivirals to Treat Chronic Hepatitis C in Japan," (in eng), *Adv Ther*, vol. 37, no. 1, pp. 457-476, Jan 2020.
- [17] T. Takehara *et al.*, "Efficacy and safety of sofosbuvir-velpatasvir with or without ribavirin in HCV-infected Japanese patients with decompensated cirrhosis: an open-label phase 3 trial," (in eng), *J Gastroenterol*, vol. 54, no. 1, pp. 87-95, Jan 2019.
- [18] Y. Zhuo, T. Hayashi, Q. Chen, R. Aggarwal, Y. Hutin, and J. Chhatwal, "Estimating the price at which hepatitis C treatment with direct-acting antivirals would be cost-saving in Japan," *Scientific Reports*, vol. 10, no. 1, p. 4089, 2020/03/05 2020.
- [19] M. Kudo, "Surveillance, diagnosis, treatment, and outcome of liver cancer in Japan," (in eng), *Liver cancer*, vol. 4, no. 1, pp. 39-50, 2015.
- [20] M. Kudo, "Management of Hepatocellular Carcinoma in Japan as a World-Leading Model," (in eng), *Liver cancer*, vol. 7, no. 2, pp. 134-147, 2018.
- [21] R. Yamada, M. Sato, M. Kawabata, H. Nakatsuka, K. Nakamura, and S. Takashima, "Hepatic artery embolization in 120 patients with unresectable hepatoma," (in eng), *Radiology*, vol. 148, no. 2, pp. 397-401, Aug 1983.
- [22] M. Kudo, D. R. Vera, W. L. Trudeau, and R. C. Stadalnik, "Validation of in vivo receptor measurements via in vitro radioassay: technetium-99m-galactosyl-neoglycoalbumin as prototype model," (in eng), *J Nucl Med*, vol. 32, no. 6, pp. 1177-82, Jun 1991.
- [23] M. Kudo, A. Todo, K. Ikekubo, K. Yamamoto, D. R. Vera, and R. C. Stadalnik, "Quantitative assessment of hepatocellular function through in vivo radioreceptor imaging with technetium 99m galactosyl human serum albumin," (in eng), *Hepatology*, vol. 17, no. 5, pp. 814-9, May 1993.
- [24] I. Honjo and C. Araki, "Total resection of the right lobe of the liver; report of a successful case," (in eng), *J Int Coll Surg*, vol. 23, no. 1 Pt 1, pp. 23-8, Jan 1955.
- [25] M. Makuuchi, H. Hasegawa, and S. Yamazaki, "Ultrasonically guided subsegmentectomy," (in eng), *Surg Gynecol Obstet*, vol. 161, no. 4, pp. 346-50, Oct 1985.



- [26] N. T. K. Sugiura, "Ultrasound image-guided percutaneous intratumor ethanol injection for small hepatocellular carcinoma," *Kanzo*, vol. 24, p. 920, 1983 1983.
- [27] T. Seki *et al.*, "Ultrasonically guided percutaneous microwave coagulation therapy for small hepatocellular carcinoma," (in eng), *Cancer*, vol. 74, no. 3, pp. 817-25, Aug 1 1994.
- [28] M. Kudo *et al.*, "Sonography with intraarterial infusion of carbon dioxide microbubbles (sonographic angiography): value in differential diagnosis of hepatic tumors," (in eng), *AJR Am J Roentgenol*, vol. 158, no. 1, pp. 65-74, Jan 1992.
- [29] M. Kudo *et al.*, "Small hepatocellular carcinoma: diagnosis with US angiography with intraarterial CO2 microbubbles," (in eng), *Radiology*, vol. 182, no. 1, pp. 155-60, Jan 1992.
- [30] M. Kudo, "Defect Reperfusion Imaging with Sonazoid®: A Breakthrough in Hepatocellular Carcinoma," (in eng), *Liver Cancer*, vol. 5, no. 1, pp. 1-7, Feb 2016.
- [31] Y. Ishida, Y. Agata, K. Shibahara, and T. Honjo, "Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death," (in eng), *Embo j*, vol. 11, no. 11, pp. 3887-95, Nov 1992.
- [32] A.-L. Cheng *et al.*, "Phase III trial of lenvatinib (LEN) vs sorafenib (SOR) in first-line treatment of patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (uHCC)," *Journal of Clinical Oncology*, vol. 35, no. 15\_suppl, pp. 4001-4001, 2017.
- [33] M. Kudo *et al.*, "Lenvatinib versus sorafenib in first-line treatment of patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised phase 3 non-inferiority trial," (in eng), *Lancet*, vol. 391, no. 10126, pp. 1163-1173, Mar 24 2018.
- [34] M. Kudo *et al.*, "Report of the 19th follow-up survey of primary liver cancer in Japan," (in eng), *Hepatol Res*, vol. 46, no. 5, pp. 372-90, Mar 2016.
- [35] S. F. Altekruse, K. A. McGlynn, L. A. Dickie, and D. E. Kleiner, "Hepatocellular carcinoma confirmation, treatment, and survival in surveillance, epidemiology, and end results registries, 1992-2008," (in eng), *Hepatology*, vol. 55, no. 2, pp. 476-82, Feb 2012.
- [36] N. Kawada *et al.*, "Characterization of a stellate cell activation-associated protein (STAP) with peroxidase activity found in rat hepatic stellate cells," (in eng), *J Biol Chem*, vol. 276, no. 27, pp. 25318-23, Jul 6 2001.
- [37] H. Sugimoto, M. Makino, H. Sawai, N. Kawada, K. Yoshizato, and Y. Shiro, "Structural basis of human cytoglobin for ligand binding," *J Mol Biol*, vol. 339, no. 4, pp. 873-85, Jun 11 2004.
- [38] A. M. Gardner, M. R. Cook, and P. R. Gardner, "Nitric-oxide Dioxygenase Function of Human Cytoglobin with Cellular Reductants and in Rat Hepatocytes," *Journal of Biological Chemistry*, vol. 285, no. 31, pp. 23850-23857, July 30, 2010 2010.
- [39] T. T. Thuy le *et al.*, "Promotion of liver and lung tumorigenesis in DEN-treated cytoglobin-deficient mice," *Am J Pathol*, vol. 179, no. 2, pp. 1050-60, Aug 2011.
- [40] T. T. Thuy le *et al.*, "Cytoglobin Deficiency Promotes Liver Cancer Development from Hepatosteatosis through Activation of the Oxidative Stress Pathway," *The American Journal of Pathology*, vol. 185, no. 4, pp. 1045-1060, 4// 2015.
- [41] T. T. Van Thuy, K. Yoshizato, and N. Kawada, "Possible involvement of nitric oxide in enhanced liver injury and fibrogenesis during cholestasis in cytoglobin-deficient mice," *Scientific reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1-14, 2017.
- [42] T. T. Thuy le *et al.*, "Absence of cytoglobin promotes multiple organ abnormalities in aged mice," *Sci Rep*, vol. 6, p. 24990, May 5 2016.
- [43] N. Thi Thanh Hai *et al.*, "Selective overexpression of cytoglobin in stellate cells attenuates thioacetamide-induced liver fibrosis in mice," (in eng), *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, p. 17860, Dec 14 2018.
- [44] Y. Okina *et al.*, "TGF-beta-driven reduction of cytoglobin leads to oxidative DNA damage in stellate cells during non-alcoholic steatohepatitis," (in eng), *J Hepatol*, Apr 17 2020.
- [45] A. M. Larson *et al.*, "Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study," (in eng), *Hepatology*, vol. 42, no. 6, pp. 1364-72, Dec 2005.
- [46] W. Bernal, W. M. Lee, J. Wendon, F. S. Larsen, and R. Williams, "Acute liver failure: A curable disease by 2024?," (in eng), *J Hepatol*, vol. 62, no. 1 Suppl, pp. S112-20, Apr 2015.
- [47] J. A. Richardson, "Management of Acetaminophen and Ibuprofen Toxicoses in Dogs and Cats," *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, vol. 10, no. 4, pp. 285-291, 2000.
- [48] F. J. Gonzalez, "The 2006 Bernard B. Brodie Award Lecture. Cyp2e1," (in eng), *Drug Metab Dispos*, vol. 35, no. 1, pp. 1-8, Jan 2007.
- [49] M. T. Teranishi Y, Krausz KW, Le TT, Gonzalez FJ, Yoshizato K, Ikeda K, Kawada N, "Involvement of hepatic stellate cell cytoglobin in acute hepatocyte damage through the regulation of CYP2E1-mediated xenobiotic metabolism," *Lab Invest.*, vol. 95, no. 5, pp. 515-24, 2015.
- [50] S. C. Lim, J. E. Choi, H. S. Kang, and S. I. Han, "Ursodeoxycholic acid switches oxaliplatin-induced necrosis to apoptosis by inhibiting reactive oxygen species production and activating p53-caspase 8 pathway in HepG2

- hepatocellular carcinoma," (in eng), *Int J Cancer*, vol. 126, no. 7, pp. 1582-95, Apr 1 2010.
- [51] J. W. Ko *et al.*, "Protective effects of pine bark extract against cisplatin-induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats," (in eng), *Lab Anim Res*, vol. 30, no. 4, pp. 174-80, Dec 2014.
- [52] O. Ciftci, E. Onat, and A. Cetin, "The Beneficial Effects of Fish Oil Following Cisplatin-Induced Oxidative and Histological Damage in Liver of Rats," (in eng), *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, vol. 16, no. 4, pp. 1424-1431, Fall 2017.
- [53] N. A. Abdel-Hameid, "Protective role of dimethyl diphenyl bicarboxylate (DDB) against erythromycin induced hepatotoxicity in male rats," (in eng), *Toxicol In Vitro*, vol. 21, no. 4, pp. 618-25, Jun 2007.
- [54] S. L. Friedman, "Mechanisms of hepatic fibrogenesis," (in eng), *Gastroenterology*, vol. 134, no. 6, pp. 1655-69, May 2008.
- [55] M. Pinzani and K. Rombouts, "Liver fibrosis: from the bench to clinical targets," *Dig Liver Dis*, vol. 36, no. 4, pp. 231-42, Apr 2004.
- [56] Y. Liu *et al.*, "Animal models of chronic liver diseases," (in eng), *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, vol. 304, no. 5, pp. G449-68, Mar 1 2013.
- [57] P. Starkel and I. A. Leclercq, "Animal models for the study of hepatic fibrosis," (in eng), *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, vol. 25, no. 2, pp. 319-33, Apr 2011.
- [58] E. E. Frezza *et al.*, "CCL4-induced liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in rats: relationship to plasma zinc, copper and estradiol levels," (in eng), *Hepatogastroenterology*, vol. 41, no. 4, pp. 367-9, Aug 1994.
- [59] D. Nakae *et al.*, "Comparative changes in the liver of female Fischer-344 rats after short-term feeding of a semipurified or a semisynthetic L-amino acid-defined choline-deficient diet," (in eng), *Toxicol Pathol*, vol. 23, no. 5, pp. 583-90, Sep-Oct 1995.
- [60] M. Y. Thuy le Thi Thanh, Thuy TT, Hai H, Suoh M, Urahara Y, Motoyama H, Fujii H, Tamori A, Kubo S, Takemura S, Morita T, Yoshizato K, Kawada N., "Cytoglobin deficiency promotes liver cancer development from hepatosteatosis through activation of the oxidative stress pathway," *American Journal of Pathology*, vol. 185, no. 4, pp. 1045-60, 2015.
- [61] M. A. Aller, J. L. Arias, J. Garcia-Dominguez, J. I. Arias, M. Duran, and J. Arias, "Experimental obstructive cholestasis: the wound-like inflammatory liver response," *Fibrogenesis Tissue Repair*, vol. 1, no. 1, p. 6, Nov 3 2008.
- [62] C. Rust, N. Wild, C. Bernt, T. Vennegeerts, R. Wimmer, and U. Beuers, "Bile acid-induced apoptosis in hepatocytes is caspase-6-dependent," (in eng), *J Biol Chem*, vol. 284, no. 5, pp. 2908-16, Jan 30 2009.
- [63] B. L. Copple, H. Jaeschke, and C. D. Klaassen, "Oxidative stress and the pathogenesis of cholestasis," (in eng), *Semin Liver Dis*, vol. 30, no. 2, pp. 195-204, May 2010.
- [64] R. G. Gish *et al.*, "Liver disease in Viet Nam: screening, surveillance, management and education: a 5-year plan and call to action," (in eng), *J Gastroenterol Hepatol*, vol. 27, no. 2, pp. 238-47, Feb 2012.
- [65] A. Bertola, S. Mathews, S. H. Ki, H. Wang, and B. Gao, "Mouse model of chronic and binge ethanol feeding (the NIAAA model)," (in eng), *Nat Protoc*, vol. 8, no. 3, pp. 627-37, Mar 2013.
- [66] L. Verna, J. Whysner, and G. M. Williams, "N-nitrosodiethylamine mechanistic data and risk assessment: bioactivation, DNA-adduct formation, mutagenicity, and tumor initiation," (in eng), *Pharmacol Ther*, vol. 71, no. 1-2, pp. 57-81, 1996.
- [67] S. K. Sarin *et al.*, "Liver diseases in the Asia-Pacific region: a Lancet Gastroenterology & Hepatology Commission," (in eng), *The lancet. Gastroenterology & hepatology*, vol. 5, no. 2, pp. 167-228, 2020.