



## Влияние терапии на основе интерферона и без него на раннее возникновение и рецидивирование гепатоцеллюлярного рака при хроническом гепатите С

Hiroko Nagata<sup>1,†</sup>, Mina Nakagawa<sup>1,2,†</sup>, Yasuhiro Asahina<sup>1,3,\*</sup>, Ayako Sato<sup>1</sup>, Yu Asano<sup>1</sup>, Tomoyuki Tsunoda<sup>1</sup>, Masato Miyoshi<sup>1</sup>, Shun Kaneko<sup>1</sup>, Satoshi Otani<sup>1</sup>, Fukiko Kawai-Kitahata<sup>1,4</sup>, Miyako Murakawa<sup>1,5</sup>, Sayuri Nitta<sup>1</sup>, Yasuhiro Itsui<sup>1,4</sup>, Seishin Azuma<sup>1</sup>, Sei Kakinuma<sup>1,3</sup>, Toshihiko Nouchi<sup>6</sup>, Hideki Sakai<sup>7</sup>, Makoto Tomita<sup>8</sup>, Mamoru Watanabe<sup>1</sup>, the Ochanomizu Liver Conference Study Group

<sup>1</sup> Department of Gastroenterology and Hepatology, Tokyo Medical and Dental University, Japan; <sup>2</sup> Institute of Education, Tokyo Medical and Dental University, Japan; <sup>3</sup> Department of Liver Disease Control, Tokyo Medical and Dental University, Japan; <sup>4</sup> Department of General Medicine, Tokyo Medical and Dental University, Japan; <sup>5</sup> Department of Clinical Laboratory, Tokyo Medical and Dental University, Japan; <sup>6</sup> Showa General Hospital, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan; <sup>7</sup> Kashiwa Municipal Hospital, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan; <sup>8</sup> Clinical Research Center, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

**Актуальность и цели.** Несмотря на кардинальное повышение эффективности терапии гепатита С после появления противовирусных препаратов прямого действия (ПППД), остается спорным вопрос о том, снижается ли риск развития рака печени на фоне терапии без интерферона (IFN) так же, как на фоне терапии на основе IFN. Целью настоящего исследования было оценить частоту возникновения и развития рецидивов гепатоцеллю-

лярного рака (ГЦР) у больных хроническим гепатитом С, получающих терапию с помощью ПППД, и установить биомаркеры развития ГЦР после завершения противовирусной терапии.

**Методы.** Мы выполнили ретроспективный обзор проспективной базы данных, включавшей 1897 пациентов с хроническим гепатитом С, получавших терапию на основе IFN ( $n = 1145$ ) и без IFN ( $n = 752$ ). Кумулятивную частоту возникновения и рецидивирования ГЦР сравнивали с помощью анализа у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности. Прогностические факторы развития ГЦР после эрадикации вируса устанавливали с помощью многофакторного анализа.

**Результаты.** При анализе у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, не было обнаружено статистически значимых различий в частоте возникновения ( $p = 0,49$ ) и рецидивирования ГЦР ( $p = 0,54$ ) между группами, получавшими терапию на основе IFN и без него. В многофакторном анализе более высокий уровень  $\alpha$ -фетопротейна (АФП) и WFA<sup>+</sup>M2BP (агглютинин *Wisteria floribunda*-позитивный *mac-2*-связывающий белок) после лечения был независимо связан с возникновением или развитием рецидива ГЦР после эрадикации вируса. У пациентов с тяжелым фиброзом только уровень WFA<sup>+</sup>M2BP был статистически значимо связан с возникновением или развитием рецидива ГЦР. Площадь под характеристической кривой (ROC) для уровня WFA<sup>+</sup>M2BP была выше, чем для уровня АФП.

**Выводы.** Риск раннего возникновения и развития рецидива ГЦР был сходным после терапии на основе IFN и терапии без IFN. Уровень WFA<sup>+</sup>M2BP после завершения лечения может использоваться в качестве эффективно биомаркера для оценки риска развития ГЦР после за-

Ключевые слова: противовирусный препарат прямого действия, гепатоканцерогенез, ГЦР.

Получено 13 марта 2017 г.; получено с поправками 5 мая 2017 г.; принято в печать 30 мая 2017 г.; доступно онлайн с 14 июня 2017 г.

\* Автор, ответственный за переписку. Адрес: Department of Liver Disease Control, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

E-mail: asahina.gast@tmd.ac.jp (Y. Asahina).

† Авторы внесли равный вклад в работу.

**Сокращения:** APRI — отношение уровня аспаратаминотрансферазы к числу тромбоцитов; ASV — асунапревир; AUROC — рабочая площадь под характеристической кривой; COI — пороговый индекс; DCV — даклатасвир; Fib-4 — индекс фиброза-4; IFN — интерферон; M2BP — *mac-2*-связывающий белок; LDV — ледипасвир; OBV — омбитасвир; PegIFN — пегилированный интерферон; PTV — паритапревир; RBV — рибавирин; ROC — площадь под характеристической кривой; SMV — симепревир; SOF — софосбувир; TVR — телапревир; WFA — *Wisteria floribunda*-агглютинин; АФП —  $\alpha$ -фетопротейн; ГЦР — гепатоцеллюлярный рак; КТ — компьютерная томография; МРТ — магнитно-резонансная томография; ОНП — однонуклеотидный полиморфизм; ПППД — противовирусные препараты прямого действия; УВО — устойчивый вирусологический ответ.

вершения терапии без IFN. Пациентов с высоким уровнем WFA\*М2BP после завершения противовирусной терапии, даже при отсутствии тяжелого фиброза, следует тщательно наблюдать для своевременного выявления ГЦР.

**Резюме.** Риск раннего возникновения и рецидивирования ГЦР после элиминации вируса был практически одинаковым после терапии на основе IFN и без него. Уровень WFA\*М2BP после завершения лечения может быть эффективным биомаркером для оценки риска развития ГЦР после завершения терапии.

© 2017 European Association for the Study of the Liver.

## Введение

Гепатоцеллюлярный рак (ГЦР) является 3-й по частоте причиной смертности от рака во всем мире [1]. Сокращение риска развития ГЦР у пациентов с хроническим гепатитом С связывают с эрадикацией вируса после терапии на основе интерферона (IFN) [2, 3]. После появления комбинированной терапии с помощью противовирусных препаратов прямого действия (ПППД) устойчивый вирусологический ответ (УВО) стал достигаться более чем в 90 % случаев, даже у пациентов с высоким риском развития ГЦР, таких как больные пожилого возраста или с тяжелым фиброзом [4]. В связи с этим возникает вопрос о том, является ли подавляющий эффект вирусной эрадикации на фоне терапии без IFN таким же, как эффект схем на основе IFN.

Обнаружено, что рак печени иногда развивается даже после эрадикации вируса на фоне терапии на основе IFN. В эру ПППД важно установить факторы, отвечающие за развитие ГЦР после эрадикации вируса с помощью терапии без IFN. Более того, недавно появились сообщения о повышении частоты рецидивирования опухоли после успешной терапии с помощью ПППД у пациентов, уже получавших ранее лечение по поводу ГЦР [5]. Несмотря на наличие нескольких отрицательных сообщений относительно эффективности терапии ПППД при рецидивах ГЦР [6, 7], подавляющее действие терапии без IFN все еще остается спорным.

Мы приводим ретроспективный обзор проспективных баз данных, в котором оценили частоту возникновения ГЦР у пациентов без ГЦР в анамнезе перед началом противовирусной терапии и частоту развития рецидивов у больных с операбельным ГЦР до начала противовирусной терапии. Частота возникновения и рецидивирования ГЦР сравнивалась между пациентами, получавшими терапию на основе IFN и без него, с помощью анализа у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности. Кроме того, были установлены прогностические биомаркеры развития ГЦР после эрадикации вируса.

## Пациенты и методы

### Пациенты

Представлен ретроспективный обзор проспективных баз данных с декабря 2004 г. по январь 2017 г. В использованные базы были включены данные, полученные в проспективной многоцентровой сравнительной обсервационной когорте пациентов, проходивших

лечение в больнице Токийского медицинского и стоматологического университета или клинических больницах, принимавших участие в группе по изучению болезней печени на конференции в Очаномизу. В анализ включались пациенты старше 18 лет, инфицированные вирусом гепатита С (HCV), с определяемым уровнем РНК HCV в плазме, которые ранее получали лечение. Пациенты исключались, если они были положительными по поверхностному антигену вируса гепатита В, имели коинфекцию ВИЧ или другие причины повреждения клеток печени (такие, как алкогольное повреждение печени, аутоиммунный гепатит, первичный билиарный холангит или применение гепатотоксичных препаратов в анамнезе). В общей сложности 1173 пациента, получавших терапию на основе IFN с декабря 2004 г. по март 2015 г., и 817 пациентов, получавших терапию без IFN с сентября 2014 г. по январь 2017 г., были включены в проспективную обсервационную когорту, которая была крупнее, чем в нашем предыдущем отчете [8]. Из них мы проанализировали данные, полученные у 1897 (95 %) пациентов, получавших терапию на основе IFN ( $n = 1145$ ) или без него ( $n = 752$ ), за исключением случаев, в которых было недостаточно клинических данных или образцов сыворотки. В этой когорте у 1085 пациентов в группе терапии на основе IFN и у 669 — без IFN отсутствовал ГЦР до начала лечения HCV-инфекции, тогда как у 60 и 83 больных соответственно имелось указание на ГЦР в анамнезе до начала лечения HCV-инфекции. Перед началом противовирусной терапии регистрировались характеристики пациента, биохимические, гематологические и вирусологические данные, а также подробности относительно лечения. Кроме того, рассчитывали индекс фиброза (Fib-4) и отношение уровня аспартатамино-трансферазы к числу тромбоцитов (APRI), как было описано ранее [9, 10]. В частности, у пациентов без гистологического диагноза APRI > 3,25 расценивалось как тяжелый фиброз, а APRI ≤ 3,25 — как легкий фиброз [11].

Все процедуры в исследовании соответствовали этическим стандартам национального этического комитета и/или стандартам больницы, а также принципам Хельсинкской декларации и последних поправок к ней или сопоставимым этическим стандартам. От всех пациентов было получено письменное информированное согласие. Настоящее исследование было одобрено этическим комитетом Токийского медицинского и стоматологического университета и было проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

### Определение уровня WFA\*М2BP

Количественное определение агглютинин *Wisteria floribunda*-позитивного *tas-2*-связывающего белка (WFA\*М2BP) было основано на использовании иммуноферментного сэндвич-анализа с антителами к лецитину с помощью полностью автоматического иммуноанализатора HISCL-2000i (Sysmex Co., Япония) [12]. Уровни М2BP индексировали по следующему уравнению:

$$\text{Пороговый индекс (COI)} = \frac{([WFA*М2BP]_{\text{образец}} - [WFA*М2BP]_{\text{NC}})}{([WFA*М2BP]_{\text{PC}} - [WFA*М2BP]_{\text{NC}})},$$

где  $[WFA*М2BP]_{\text{образец}}$  — уровень WFA\*М2BP в образце,  $[WFA*М2BP]_{\text{PC}}$  — положительный контроль,  $[WFA*М2BP]_{\text{NC}}$  — отрицательный контроль. Положительный контроль поставлялся в виде калибровочного раствора, стандартизованного для получения значения COI, равного 1,0 [13].

### Гистологическое исследование

Биопсия печени непосредственно перед началом лечения была выполнена у 1125 (59 %) из 1897 пациентов. Образцы биопсии брали под контролем ультразвука с помощью игл 13-го или 15-го калибра. Стадию фиброза и активность воспаления оценивали 2 патоморфолога в соответствии с классификацией Desmet et al. [14].

*Противовирусная терапия и определение ответа на нее*

Схемы лечения у пациентов, получавших терапию на основе IFN ( $n = 1145$ ), были следующими: 777 пациентов получали комбинированную терапию с помощью пегилированного интерферона (PegIFN) - $\alpha 2b$  или - $\alpha 2a$  и рибавирина (RBV) в течение 24 нед. при инфицировании HCV генотипа 2 и в течение 48–72 нед. при инфицировании HCV генотипа 1; 368 пациентов в течение 12 нед. получали трехкомпонентную терапию с помощью PegIFN и RBV с симепревиrom (SMV), телапревиrom (TVR) или ванипревиrom, после чего следовало 12 нед. двухкомпонентной терапии, включавшей PegIFN и RBV. Схемы лечения пациентов, получавших терапию без IFN ( $n = 752$ ), были следующими: 200 пациентов получали асунапревиrom (ASV) и даклатасвиrom (DCV) в течение 24 нед., 282 — софосбувиrom (SOF) и ледипасвиrom (LDV) в течение 12 нед., 14 — омбитасвиrom (OBV) и паритапревиrom (PTV) в комбинации с ритонавиrom в течение 12 нед., 256 — SOF и RBV в течение 12 нед. УВО считался достигнутым при неопределяемом уровне РНК HCV через 24 нед. после завершения лечения.

*Наблюдение и диагностика ГЦР*

Все пациенты обследовались в динамике каждые 3–12 мес. При этом выполнялись анализы крови и биопсия. Диагностика с помощью методов визуализации (УЗИ, КТ или МРТ) также проводилась с интервалом 3–12 мес. Протоколы наблюдения соответствовали стандартам оказания помощи в Японии. Диагноз ГЦР устанавливался на основании выявления типичного сосудистого рисунка на КТ с контрастным усилением, МРТ с контрастным усилением или ангиографии. Медиана периода наблюдения за пациентами, получавшими терапию на основе IFN, составила 6,8 года (диапазон 0,2–22 года), а за больными, получавшими терапию без IFN, — 1,8 года (диапазон 0,1–7,7 года).

*Анализ частоты ГЦР после завершения противовирусной терапии*

Кумулятивная частота и факторы риска развития ГЦР после завершения анти-HCV-терапии у пациентов, не имевших указаний на ГЦР в анамнезе (терапия на основе IFN,  $n = 1085$ ; терапия без IFN,  $n = 669$ ), анализировались с помощью метода Каплана—Мейера. Началом наблюдения для этих анализов была дата начала противовирусной терапии, а окончанием наблюдения — дата диагностики ГЦР, назначения нового лечения или последнего посещения врача вплоть до января 2017 г. Медиана периода наблюдения составила 3,8 года (диапазон 0,5–12 лет).

*Анализ частоты рецидивирования ГЦР после завершения противовирусной терапии*

Кумулятивная частота и прогностические факторы рецидивирования ГЦР после завершения анти-HCV-терапии анализировались у пациентов с указанием на ГЦР в анамнезе до начала лечения. В эти анализы включались только пациенты с первичным ГЦР, соответствующим Миланским критериям, по поводу которого была выполнена радикальная резекция печени или радиочастотная абляция до начала противовирусной терапии (на основе IFN,  $n = 60$ ; без IFN,  $n = 83$ ). Больные с рецидивом ГЦР до начала противовирусной терапии из анализа исключались. Датой начала наблюдения в этих анализах считалась дата проведения радикальной терапии по поводу первоначальной ГЦР, а датой окончания — дата регистрации рецидива ГЦР или дата последнего посещения врача вплоть до января 21017 г. Медиана периода наблюдения составила 7,5 года (диапазон 0,5–1,7 года).

*Статистический анализ*

Статистический анализ выполнялся с использованием пакетов программ GraphPad Prism версии 5.0 (Graph Pad Software Inc., США) и EZR15 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Япония), последний из которых представляет собой графический интерфейс пользователя для языка R (The R Foundation for Statistical Computing, Австрия). При анализе исходных характеристик пациентов прерывистые переменные оценивались с помощью критерия точной вероятности Фишера, а непрерывные переменные — с помощью  $U$ -критерия Манна—Уитни. Независимые факторы, с которыми было связано возникновение или развитие рецидива ГЦР, анализировались с помощью пропорциональной регрессии Кокса. Все значения  $p$  рассчитывались с помощью двустороннего критерия, и значения менее 0,05 считались статистически значимыми. Для сравнения кумулятивной частоты возникновения ГЦР после эрадикации вируса между группами, получавшими терапию на основе IFN и без него, использовался анализ пациентов, подобранных по показателю предрасположенности в связи с различиями в исходных характеристиках между группами. При анализе в обеих группах мы учитывали основные показатели с клинически известным влиянием на развитие ГЦР и оценивали статистические различия между группами на основе IFN и без него (см. дополнительную табл. S1 приложения). Диагностическая ценность WFA\*М2ВР и  $\alpha$ -фетопротеина (АФП) для определения вероятности возникновения или развития рецидива ГЦР устанавливалась с помощью зависимых от времени ROC-кривых.

Подробности см. в разд. «Дополнительные материалы».

**Результаты***Характеристика пациентов*

Клинические характеристики 1897 пациентов непосредственно перед началом противовирусной терапии суммированы в табл. 1. Пациенты в группе терапии без IFN были статистически значимо старше (медиана возраста 59 vs 69 лет;  $p < 0,001$ ), среди них преобладали женщины (54 vs 45 %;  $p < 0,001$ ) и было больше больных с тяжелым фиброзом, о чем свидетельствовало несколько маркеров фиброза, по сравнению с группой, получавшей терапию на основе IFN. Несмотря на эти неблагоприятные условия, включая ГЦР в анамнезе, в группе терапии без IFN отмечалась более высокая частота УВО (65 vs 96 %;  $p < 0,001$ ).

*Кумулятивная частота возникновения ГЦР в зависимости от вирусологического ответа*

Как показано на рис. 1, *A* и *B*, кумулятивная частота возникновения ГЦР у пациентов, достигших УВО, была статистически значимо ниже, чем у больных без УВО, как после терапии на основе IFN (5-летняя частота: 2,6 % при достижении УВО, 8,2 % без УВО;  $p < 0,001$ , лог-ранговый критерий), так и после терапии без IFN (3-летняя частота: 3,3 % при достижении УВО, 5,9 % без УВО;  $p = 0,031$ , лог-ранговый критерий).

*Факторы, с которыми связано возникновение ГЦР после завершения противовирусной терапии*

С целью установить факторы, с которыми связано возникновение новых случаев ГЦР, мы выполняли одно- и

Таблица 1. Исходные характеристики пациентов

	На основе IFN	Без IFN	p
Общее число	1145	752	
Противовирусная терапия, n (%)			
PegIFN/RBV	777 (68)	—	
SMV, или TVR, или ванипревир/PegIFN/RBV	368 (32)	—	
ASV/DCV	—	200 (27)	
SOF/LDV	—	282 (64)	
OBV/PTV/ритонавир	—	14 (2)	
SOF/RBV	—	256 (34)	
УВО/отсутствие УВО (% УВО)	743/402 (65)	722/30 (96)	< 0,001
ГЦР в анамнезе: да/нет (% да)	60/1085 (5)	83/669 (11)	< 0,001
Генотип: 1a/1b/2a/2b/3a/неизвестный	8/833/182/105/1/16	6/449/119/86/92	0,737
<i>IL28B</i> ОНП (rs8099917): TT/не-TT/неизвестный	523/189/433	213/135/404	< 0,001
Возраст, лет*	59 (19–79)	69 (24–87)	< 0,001
Пол: мужской/женский (% мужчин)	621/524 (54)	340/412 (45)	< 0,001
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup> *	22,1 (15,2–28,2)	22,8 (14,7–41,9)	0,250
Потребление алкоголя: нет/да/неизвестно	305/495/345	333/118/301	0,082
Гиперлипидемия: да/нет/неизвестно	44/528/573	66/442/244	0,339
Сахарный диабет: да/нет/неизвестно	94/460/591	97/531/124	0,784
Гистологическое исследование печени			
≤ A2/≥ A3/неизвестно (% ≥ A3)	701/43/401 (6)	244/23/485 (9)	0,094
≤ F2/≥ F3/неизвестно (% ≥ F3)	617/180/348 (23)	220/108/424 (33)	< 0,001
Число тромбоцитов до лечения, ×10 <sup>4</sup> /мкл*	16,6 (4,6–52,9)	16,2 (1,6–42,5)	0,419
Уровень альбумина до лечения, г/дл*	4,2 (3,2–5,2)	3,9 (2,4–5,1)	0,001
Уровень АсАТ до лечения, МЕ/мл*	62 (6–969)	53 (7–296)	0,006
Уровень АлАТ до лечения, МЕ/мл*	78 (8–856)	52 (6–511)	0,019
Уровень ГГТ до лечения, МЕ/л*	60 (9–766)	51 (8–835)	0,074
Уровень АФП до лечения, нг/мл*	5,3 (0,9–875,0)	4,4 (1,1–612,0)	0,002
Уровень WFA*M2BP до лечения (COI)*	1,77 (0,47–9,87)	2,06 (0,22–17,9)	0,288
Индекс APRI до лечения*	0,86 (0,15–17,8)	0,82 (0,11–54,4)	0,458
Индекс Fib-4 до лечения*	2,25 (0,31–17,2)	3,03 (0,25–74,7)	< 0,001

Прерывистые переменные анализировались с помощью критерия точной вероятности Фишера, а непрерывные — с помощью *U*-критерия Манна—Уитни.

АлАТ — аланинаминотрансфераза; АсАТ — аспартатаминотрансфераза; ГГТ —  $\gamma$ -глутамилтрансфераза.

\* Данные представлены в виде медианы (диапазона).

многофакторный анализы у пациентов, получавших терапию на основе IFN (см. дополнительную табл. S2 приложения) и без IFN (см. дополнительную табл. S3 приложения). В многофакторном анализе независимыми факторами, которые определяли развитие ГЦР после завершения терапии на основе IFN, были возраст, пол, стадия фиброза печени, эрадикация вируса, показатель Fib-4, а также уровень АФП и WFA\*M2BP после завершения лечения (см. дополнительную табл. S2 приложения). У пациентов, получавших терапию на основе IFN, в одно- и многофакторном анализе было обнаружено, что генетические полиморфизмы *IL28B* и уровень WFA\*M2BP были статистически значимо связаны с возникновением ГЦР после завершения лечения (см. дополнительную табл. S3 приложения).

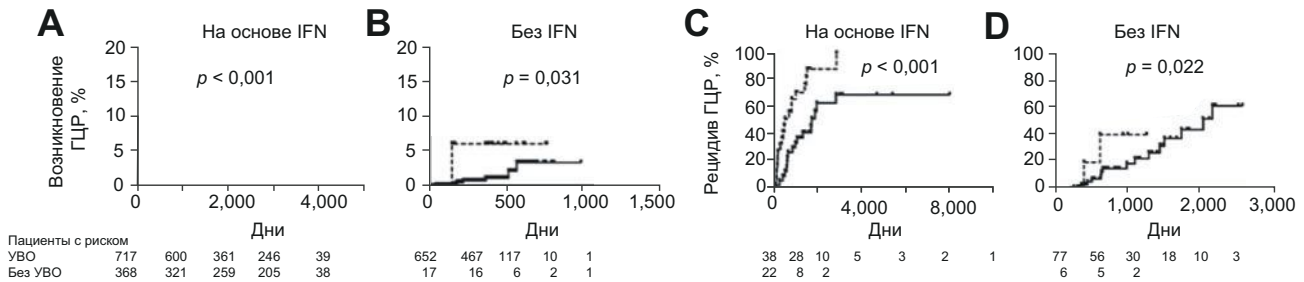
#### Кумулятивная частота рецидивирования ГЦР в зависимости от вирусологического ответа

Как показано на рис. 1, C и D, кумулятивная частота рецидивирования ГЦР у пациентов, достигших УВО, была статистически значимо ниже, чем у больных, не достигших

УВО, как на фоне терапии на основе IFN (5-летняя частота: 47,1 % при достижении УВО, 77,1 % без УВО;  $p < 0,001$ , лог-ранговый критерий), так и на фоне терапии без IFN (3-летняя частота: 22,9 % при достижении УВО, 40 % без УВО;  $p = 0,022$ , лог-ранговый критерий).

#### Факторы, с которыми связано рецидивирование ГЦР после завершения противовирусной терапии

С целью установить факторы, с которыми связано рецидивирование ГЦР, были выполнены одно- и многофакторный анализы у пациентов, получавших терапию на основе IFN (см. дополнительную табл. S4 приложения) и без него (см. дополнительную табл. S5 приложения). В многофакторном анализе независимыми статистически значимыми прогностическими факторами рецидивирования ГЦР после терапии на основе IFN были эрадикация вируса и уровень АФП и WFA\*M2BP после лечения (см. дополнительную табл. S4 приложения). У больных, получавших лечение без IFN, в однофакторном анализе было обнаружено, что уровень АФП перед началом лечения и уровень



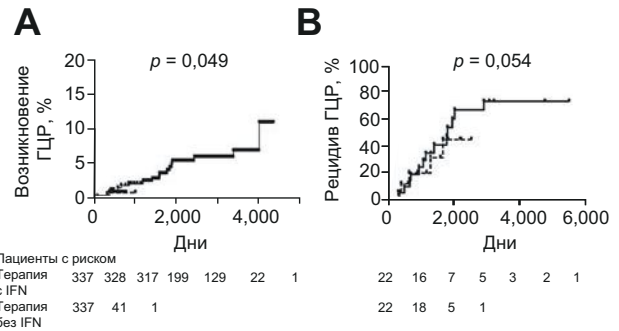
**Рис. 1.** Кумулятивная частота развития и рецидивирования ГЦР в зависимости от вирусологического ответа. Представлена кумулятивная частота возникновения ГЦР у пациентов, получавших (А) терапию на основе IFN и (В) терапию без IFN, а также кумулятивная частота развития рецидива ГЦР у пациентов, получавших (С) терапию на основе IFN и (D) терапию без IFN. Для оценки кумулятивной частоты возникновения и развития рецидива ГЦР использовался метод Каплана—Мейера и лог-ранговый критерий. Сплошной линией обозначены пациенты, достигшие УВО, а прерывистой линией — пациенты, не достигшие УВО.

WFA+M2BP после завершения лечения были статистически значимо связаны с рецидивированием ГЦР после завершения лечения. В многофакторном анализе, включавшем перечисленные выше факторы, было установлено, что только уровень WFA+M2BP был статистически значимо связан с рецидивированием ГЦР после завершения терапии (см. дополнительную табл. S5 приложения).

*Кумулятивная частота развития и рецидивирования ГЦР у пациентов с УВО в зависимости от терапии*

После эрадикации вируса у 18 (2,5 %) пациентов развился ГЦР после завершения терапии на основе IFN за период наблюдения с медианой 6,8 года и у 7 (1,1 %) — после завершения терапии без IFN за период наблюдения с медианой 1,8 года. Для сравнения частоты возникновения ГЦР между группами, получавшими терапию на основе IFN и без него, был выполнен анализ у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, с использованием переменных со статистически значимыми различиями между группами: пола, возраста, индекса Fib-4 и уровня альбумина до начала лечения. Как показано на рис. 2, А, в ходе анализа не было обнаружено статистически значимых различий в частоте возникновения ГЦР после эрадикации вируса между пациентами, получавшими терапию на основе IFN и без него (3-летняя частота: 3,3 % в группе терапии на основе IFN, 1,4 % в группе терапии без IFN;  $p = 0,49$ , лог-ранговый критерий).

Что касается анализа частоты рецидивирования ГЦР, рецидив после завершения терапии на основе IFN в течение периода наблюдения с медианой 6,2 года был зарегистрирован у 18 (53 %) пациентов. Среди пациентов, получавших терапию без IFN, рецидив ГЦР развился у 22 (29 %) больных в течение периода наблюдения с медианой 2,3 года. Для сравнения подавляющего действия терапии на основе IFN и без него на развитие рецидивов ГЦР после местного радикального лечения первоначальной опухоли был выполнен анализ у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, с ГЦР в анамнезе до начала анти-HCV-терапии. Как показано на рис. 2, В, в ходе анализа не было обнаружено статистически значимых различий в частоте рецидивирования между группами,



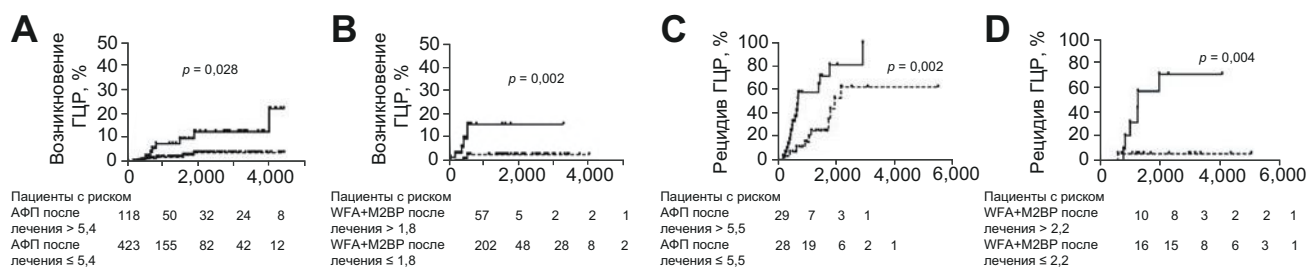
**Рис. 2.** Кумулятивная частота развития и рецидивирования ГЦР после эрадикации вируса в зависимости от противовирусной терапии. Показана кумулятивная частота (А) возникновения и (В) развития рецидива ГЦР. Для оценки кумулятивной частоты возникновения и развития рецидива ГЦР использовался метод Каплана—Мейера и лог-ранговый критерий. Сплошной линией обозначены пациенты, получавшие терапию на основе IFN, а прерывистой линией — пациенты, получавшие терапию без IFN. В модель анализа пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, включались такие переменные, как возраст, пол, индекс Fib-4 и уровень альбумина до начала лечения.

получавшими терапию на основе IFN и без него (5-летняя частота: 54,2 % в группе терапии на основе IFN, 45,1 % в группе терапии без IFN;  $p = 0,54$ , лог-ранговый критерий).

Из 752 пациентов, получавших терапию без IFN, 218 ранее получали терапию на основе IFN. На дополнительном рис. S1 приложения представлена кумулятивная частота развития ГЦР у пациентов, получавших терапию без IFN, в зависимости от наличия в анамнезе терапии на основе IFN. Статистически значимых различий между двумя группами как в частоте возникновения ( $p = 0,62$ ), так и развития рецидивов ГЦР ( $p = 0,84$ ) обнаружено не было.

*Факторы, с которыми связано возникновение ГЦР у пациентов, достигших УВО*

Поскольку между группами, получавшими терапию на основе IFN и без него, не было обнаружено статистически значимых различий в отношении подавляющего влияния



**Рис. 3.** Кумулятивная частота развития и рецидивирования ГЦР после эрадикации вируса в зависимости от уровня АФП и WFA\*M2BP после лечения. Показана кумулятивная частота возникновения ГЦР в зависимости от (А) уровня АФП и (В) уровня WFA\*M2BP после лечения, а также кумулятивная частота развития рецидива ГЦР в зависимости от (С) уровня АФП и (D) уровня WFA\*M2BP после лечения. Для оценки кумулятивной частоты возникновения и развития рецидива ГЦР использовался метод Каплана—Мейера и лог-ранговый критерий. Сплошной линией обозначены пациенты с уровнем АФП и WFA\*M2BP после лечения выше пороговых значений, а прерывистой линией — пациенты с уровнем АФП и WFA\*M2BP после лечения, равным или ниже пороговых значений.

лечения на возникновение ГЦР (см. рис. 2), мы проанализировали факторы, с которыми было связано возникновение ГЦР после противовирусного лечения, объединив данные, полученные в группах терапии на основе IFN и без него. В многофакторном анализе было установлено, что возникновение ГЦР после достижения УВО статистически значимо коррелировало с уровнем АФП и WFA\*M2BP после лечения (см. дополнительную табл. S6 приложения). У больных с фиброзом легкой степени тяжести, по данным однофакторного анализа, возникновение ГЦР после достижения УВО было статистически значимо связано только с уровнем WFA\*M2BP после лечения (см. дополнительную табл. S7 приложения). У пациентов с тяжелым фиброзом результаты однофакторного анализа свидетельствуют об отсутствии статистически значимых факторов, которые бы влияли на возникновение ГЦР.

Затем мы оценили уровни АФП и WFA\*M2BP в качестве прогностических биомаркеров возникновения ГЦР, поскольку эти неинвазивные маркеры были выделены в нашем многофакторном анализе в качестве факторов, с которыми связано возникновение новых случаев ГЦР у пациентов, достигших УВО. С целью изучить прогностический потенциал уровней АФП и WFA\*M2BP после лечения были выполнены ROC-анализы. Рабочая площадь под кривой ROC (AUROC) для уровня WFA\*M2BP была выше, чем для уровня АФП (см. дополнительные рис. S2A и S2B приложения; AUROC 0,909 vs 0,791), и при повторном выполнении ROC-анализа в зависимости от времени были получены такие же результаты (см. дополнительный рис. S3A приложения). Пороговые значения для уровней АФП и WFA\*M2BP после лечения для прогнозирования возникновения ГЦР составили 5,4 нг/мл и 1,8 COI соответственно. Кумулятивная частота возникновения ГЦР у пациентов с АФП > 5,4 нг/мл или WFA\*M2BP > 1,8 COI была статистически значимо выше, чем у больных с АФП ≤ 5,4 нг/мл или WFA\*M2BP ≤ 1,8 COI (рис. 3, А, В;  $p = 0,028$  и  $p = 0,002$  соответственно).

#### Факторы, с которыми связано развитие рецидива ГЦР у пациентов, достигших УВО

Для выявления факторов, с которыми связано развитие рецидивов после эрадикации вируса, были выполнены

одно- и многофакторный анализы с объединением данных, полученных в группах терапии на основе IFN и без него. Результаты, полученные в одно- и многофакторном анализе, выявили наличие статистически значимой связи между уровнями АФП и WFA\*M2BP после лечения и развитием рецидива ГЦР после достижения УВО (см. дополнительную табл. S8 приложения). У больных с фиброзом печени легкой степени в однофакторном анализе была обнаружена статистически значимая связь между уровнем WFA\*M2BP после лечения и развитием рецидива ГЦР после достижения УВО (см. дополнительную табл. S9 приложения). У пациентов с тяжелым фиброзом статистически значимых факторов, с которыми было бы связано развитие рецидива ГЦР, в однофакторном анализе выявлено не было (данные не приводятся).

С целью изучить прогностический потенциал уровня АФП и WFA\*M2BP в отношении рецидива ГЦР были выполнены ROC-анализы. AUROC для уровня WFA\*M2BP была больше, чем для уровня АФП (см. дополнительные рис. S2C и S2D приложения; AUROC 0,883 vs 0,667), и при проведении ROC-анализов в зависимости от времени были получены такие же результаты (см. дополнительный рис. S3B приложения). Пороговые значения для уровней АФП и WFA\*M2BP после лечения, позволяющих прогнозировать развитие рецидива ГЦР, составляли 5,5 нг/мл и 2,2 COI соответственно. На рис. 3, С и D показана связь между кумулятивной частотой развития рецидива ГЦР и уровнем АФП и WFA\*M2BP после лечения. Кумулятивная частота развития рецидива ГЦР у пациентов с АФП > 5,5 нг/мл или WFA\*M2BP > 2,2 COI после лечения была статистически значимо выше, чем у пациентов с АФП ≤ 5,5 нг/мл или WFA\*M2BP ≤ 2,2 COI после лечения.

#### Обсуждение

В настоящем исследовании мы обнаружили ранний подавляющий эффект в отношении как возникновения, так и развития рецидива ГЦР в зависимости от эрадикации вируса после терапии без IFN, эквивалентный таковому после терапии на основе IFN, с помощью анализа у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности. Более того, полученные нами данные впервые указывают на то, что уровень WFA\*M2BP после завершения противо-

вирусной терапии может быть новым прогностическим фактором не только возникновения ГЦР, но и развития его рецидива даже в эру ПППД.

В последнее время на фоне успешной терапии хронического гепатита С с помощью ПППД у пациентов, получавших лечение по поводу ГЦР, сообщается о высокой частоте рецидивирования опухоли [5]. Несмотря на наличие нескольких отрицательных сообщений относительно эффективности ПППД в отношении развития рецидивов ГЦР [6, 7], влияние терапии без IFN на возникновение и развитие рецидивов ГЦР после достижения УВО до сих пор остается неясным. Более того, терапия с помощью ПППД сделала возможным достижение УВО более чем у 90 % пациентов независимо от наличия неблагоприятных условий, таких как пожилой возраст или тяжелый фиброз [4], которые повышают риск гепатоканцерогенеза. В связи с этим очень важно установить факторы риска возникновения ГЦР и создать систему наблюдения после завершения лечения у пациентов с хроническим гепатитом С после эрадикации вируса с помощью ПППД.

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что частота возникновения и развития рецидива ГЦР после достижения УВО после терапии на основе IFN или без IFN была сходной. Учитывая тот факт, что больные в группе терапии без IFN были старше и имели более тяжелую стадию фиброза, мы выполнили анализ у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, чтобы избежать систематической ошибки. Более того, из нашего анализа рецидивирования ГЦР были исключены пациенты со множественными эпизодами ГЦР в анамнезе, а также больные, у которых на момент первой диагностики ГЦР были превышены Миланские критерии. Первоначальные методы лечения были ограничены радикальными (радиочастотной абляцией или резекцией). На основании результатов нашего исследования подавляющее влияние терапии без IFN на возникновение и развитие рецидива ГЦР было эквивалентно таковому для терапии на основе IFN. Результаты многофакторного анализа показали, что возникновение новых случаев ГЦР после достижения УВО было статистически значимо связано со стадией фиброза и уровнем АФП и WFA\*M2BP после лечения (см. дополнительную табл. S6 приложения). Хотя WFA\*M2BP изначально считался биомаркером фиброза печени [12, 13], было установлено, что независимо от фиброза он является фактором, влияющим на возникновение ГЦР. Помимо этого было обнаружено, что только уровни АФП и WFA\*M2BP после лечения связаны с развитием рецидивов ГЦР (см. дополнительную табл. S8 приложения). Хотя уровень АФП после терапии на основе IFN коррелировал с гепатоканцерогенезом [3], прогностический потенциал уровня WFA\*M2BP в отношении возникновения или развития рецидива ГЦР на основании результатов ROC-анализа был выше, чем уровня АФП (см. дополнительные рис. S2 и S3 приложения). Хотя уровень WFA\*M2BP считается новым маркером фиброза печени [12, 13], Yamasaki et al. впервые сообщают о том, что уровень до начала лечения был связан не только с прогрессированием фиброза печени, но и с гепатоканцерогенезом [16]. В последнее время в нескольких работах, включая наше исследование, было высказано предположение о том, что уровень WFA\*M2BP коррелирует с развитием ГЦР

после достижения УВО на фоне терапии на основе IFN [8, 17]. Ранее мы сообщали о том, что уровень WFA\*M2BP после лечения более точно отражает возможность развития рака печени, чем уровень этого маркера до лечения, в связи со снижением числа факторов, влияющих на иммунный ответ на HCV-инфекцию [8]. Для подтверждения наших предыдущих данных о том, что уровень WFA\*M2BP может отражать не только стадию фиброза, но и возможность развития рака печени [8], мы проанализировали частоту возникновения и развития рецидива ГЦР после достижения УВО у пациентов, получавших терапию на основе IFN и без него, в проспективной обсервационной когорте, которая была больше, чем в предыдущем исследовании [8].

Может возникнуть предположение о том, что полученные результаты отражают положение вещей для пациентов с тяжелым фиброзом и высоким риском ГЦР. Однако помимо фиброза печени может существовать другой механизм, посредством которого WFA\*M2BP влияет на гепатоканцерогенез, поскольку были обнаружены существенные различия в частоте возникновения ГЦР в зависимости от уровня WFA\*M2BP после лечения даже у больных с эквивалентной стадией фиброза [18]. Кроме того, в настоящем исследовании уровень WFA\*M2BP после лечения независимо от фиброза печени был признан фактором, с которым связано возникновение и развитие рецидива ГЦР. Наши результаты свидетельствуют о том, что уровень WFA\*M2BP после лечения является эффективным биомаркером для прогнозирования дальнейшего развития ГЦР после эрадикации вируса. Более того, пациентов с высоким уровнем WFA\*M2BP после завершения противовирусной терапии даже без тяжелого фиброза следует тщательно наблюдать на предмет возникновения или развития рецидива ГЦР (см. дополнительные табл. S7 и S9 приложения). В этом отношении полезным было бы создание системы наблюдения после завершения лечения с включением в нее уровня WFA\*M2BP.

В многофакторном анализе также была обнаружена статистически значимая связь генетического полиморфизма *IL28* с возникновением ГЦР после терапии без IFN (см. дополнительную табл. S3 приложения). Ранее была отмечена выраженная связь между генетическими вариантами в регионе *IL28B* с достижением УВО у пациентов с хроническим гепатитом С, получавших лечение с помощью PegIFN и RBV [19]. Хотя более 90 % больных достигают УВО на фоне терапии ПППД независимо от полиморфизма *IL28B*, наши данные свидетельствуют о том, что ОНП в регионе *IL28B* (rs8099917) могут иметь отношение к канцерогенезу после завершения терапии без IFN. Тем не менее вопрос о том, влияют ли ОНП в регионе *IL28B* на развитие HCV-ассоциированного ГЦР после терапии на основе IFN, остается спорным [20, 21]. Для пациентов с не-ТТ=генотипом *IL28B* характерна более высокая экспрессия сывороточного иммуноглобулина по сравнению с больными с генотипом ТТ *IL28B* [22]. В связи с тем, что снижение уровня противовирусного и противоопухолевого иммуноглобулинов за счет клиренса HCV на фоне терапии ПППД, по-видимому, будет более выраженным у пациентов с не-ТТ-генотипом *IL28B*, вероятность гепатоканцерогенеза после эрадикации вируса у больных с этим генотипом может соответственно оказаться повышен-

ной. Необходимы дальнейшие исследования с целью изучить точные молекулярные механизмы, отвечающие за появление генетических вариантов *IL28B* в развитии ГЦР после завершения терапииПППД.

В настоящем исследовании имеется несколько недостатков, включая относительно небольшое число пациентов с ГЦР после терапии без IFN. Поскольку период наблюдения за пациентами, получавшими терапию без IFN, был коротким, для подтверждения наших результатов требуются более длительные проспективные исследования в более крупных когортах. Кроме того, учитывая разное время включения в исследование участников, получавших терапию на основе IFN и без него, возможно различие диагностической точности в отношении выявления у них ГЦР. В настоящем исследовании кумулятивная частота возникновения и развития рецидивов ГЦР у пациентов, получавших терапию на основе IFN и без него, была сходной, несмотря на улучшение диагностической точности в настоящее время. Полученные результаты свидетельствуют о том, что подавляющее действие эрадикации вируса с помощью терапии без IFN в отношении как возникновения, так и развития рецидивов ГЦР как минимум не менее выражено, чем на фоне терапии на основе IFN. Еще одним недостатком является отсутствие сопоставимых пациентов контрольной группы с рецидивом ГЦР, которые не получали противовирусной терапии после первоначального лечения ГЦР. Как было описано в разд. «Введение», в эруПППД на фоне терапии без IFN УВО достигается более чем в 90 % случаев, поэтому было бы неэтичным создавать группу, которая бы не получала лечения.

Статистически значимые различия между группами, получавшими терапию на основе IFN и без него, касались возраста, пола, индекса Fib-4, уровня альбумина до начала лечения и стадии фиброза. Стадию фиброза не использовали в качестве переменной, поскольку биопсия печени не была выполнена у 772 пациентов. Независимо от этих недостатков в нашем анализе у пациентов, подобранных по показателю предрасположенности, не было обнаружено статистически значимых различий между группами, получавшими терапию на основе IFN и без IFN, в отношении как возникновения, так и развития рецидивов ГЦР.

Итак, риск раннего возникновения и развития рецидивов ГЦР после эрадикации вируса был сходным как на фоне терапии на основе IFN, так и без IFN. Уровень WFA<sup>+</sup>M2BP после лечения может служить в качестве эффективного скринингового биомаркера для оценки риска ГЦР после завершения терапии без IFN.

## Спонсоры

Настоящее исследование было выполнено при поддержке грантов от компании Sysmex Corporation, Министерства образования, культуры, науки и спорта Японии, Японского общества содействия развитию науки, Японского агентства по исследованиям и разработкам в области медицины, Фонда здравоохранения Японии, Мемориального фонда здравоохранения Миякавы и Национального института медико-биологических наук.

## Конфликты интересов

Д-ра Asahina и Kakinuma работают в отделении, финансируемом Toray Industries Inc., Gilead Sciences, AbbVie GK, Chugai Pharmaceutical Co. Ltd. и Merck Sharp & Dohme.

Все подробности смотрите в дополнительном файле раскрытия конфликтов интересов ICMJE.

## Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования: Nakagawa, Asahina. Сбор данных: Nagata, Nakagawa, Sato, Asano, Tsunoda, Miyoshi, Kaneko, Otani, Kawai-Kitahata, Murakawa, Nitta, Nouchi, Sakai. Анализ и интерпретация данных: Nagata, Nakagawa. Написание рукописи: Nagata, Nakagawa. Статистический анализ: Nagata, Nakagawa, Tomita. Контроль за проведением исследования: Asahina, Watanabe. Окончательное одобрение: все авторы. Согласие, которое должно было быть достигнуто в отношении всех аспектов работы: все авторы.

## Благодарности

Настоящее исследование основано на данных, полученных в 16 многоцентровых госпиталях (Tokyo Medical and Dental University Hospital, Kashiwa City Hospital, Showa General Hospital, Soka Municipal Hospital, Toride Kyodo General Hospital, Mishima General Hospital, Tokyo Metropolitan Bokutoh Hospital, Ome Municipal General Hospital, Tsuchiura Kyodo General Hospital, Tokyo Kyosai Hospital, Tokyo Metropolitan Toshima Hospital, Tokyo Metropolitan Otsuka Hospital, Yokosuka Kyosai Hospital, Yokohama City Minato Red Cross Hospital, Musashino Red Cross Hospital и Koizumi Clinic).

## Дополнительные материалы

Дополнительные материалы к статье представлены в англоязычном приложении на сайте <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2017.05.028>.

## Литература

- [1] Forner A, Llovet M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2012;379:1245–1255.
- [2] Asahina Y, Tsuchiya K, Tamaki N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, et al. Effect of aging on risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C virus-infection. *Hepatology* 2010;52:518–527.
- [3] Asahina Y, Tsuchiya K, Nishimura T, Muraoka M, Suzuki Y, Tamaki N, et al. A-fetoprotein levels after interferon therapy and risk of hepatocarcinogenesis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2013;58:1253–1262.
- [4] Charlton M, Everson GT, Flamm SL, Kumar P, Landis C, Brown Jr R, et al. Ledipasvir and Sofosbuvir Plus Ribavirin for Treatment of HCV Infection in Patients With Advanced Liver Disease. *Gastroenterology* 2015;149:649–659.
- [5] Reig M, Marino Z, Perello C, Inarrairaegui M, Ribeiro A, Lens S, et al. Unexpected early tumor recurrence in patients with hepatitis



- C virus-related hepatocellular carcinoma undergoing interferon-free therapy: a note of caution. *J Hepatol* 2016;65:719–726.
- [6] ANRS collaborative study group on hepatocellular carcinoma (ANRS CO22 HEPATHER C.O.12 CirVir and CO23 CUPILT cohorts). Lack of evidence of an effect of direct-acting antivirals on the recurrence of hepatocellular carcinoma: Data from three ANRS cohorts. *J Hepatol* 2016;65:734–740.
- [7] Kobayashi M, Suzuki F, Fujiyama S, Kawamura Y, Sezaki H, Hosaka T, et al. Sustained virologic response by direct antiviral agents reduces the incidence of hepatocellular carcinoma in patients with HCV infection. *J Med Virol* 2017;89:476–483.
- [8] Nagata H, Nakagawa M, Nishimura-Sakurai Y, Asano Y, Tsunoda T, Miyoshi M, et al. Serial measurement of Wisteria floribunda agglutinin positive Mac-2-binding protein is useful for predicting liver fibrosis and the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients treated with IFN-based and IFN-free therapy. *Hepatol Int* 2016;10:956–964.
- [9] Wai CT, Greenon JK, Fontana RJ, Kalbfleisch JD, Marrero JA, Conjeevaram HS, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518–526.
- [10] Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, Sola R, Correa MC, Montaner J, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology* 2006;43:1317–1325.
- [11] Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, et al. FIB-4: an inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection, comparison with liver biopsy and fibrotest. *Hepatology* 2007;46:32–33.
- [12] Kuno A, Ikehara Y, Tanaka Y, Ito K, Matsuda A, Sekiya S, et al. A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis. *Sci Rep* 2013;3:1065.
- [13] Kuno A, Sato T, Shimazaki H, Unno S, Saitou K, Kiyohara K, et al. Reconstruction of a robust glyco-diagnostic agent supported by multiple lectin-assisted glycan profiling. *Proteomics Clin Appl* 2013;7:642–647.
- [14] Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994;19:1513–1520.
- [15] Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:452–458.
- [16] Yamasaki K, Tateyama M, Abiru S, Komori A, Nagaoka S, Saeki A, et al. Elevated serum levels of Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predict the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients. *Hepatology* 2014;60(5):1563–1570.
- [17] Sasaki R, Yamasaki K, Abiru S, Komori A, Nagaoka S, Saeki A, et al. Serum wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein values predict the development of hepatocellular carcinoma among patients with chronic hepatitis C after sustained virological response. *PLoS One* 2015;10:e0129053.
- [18] Toyoda H, Kumada T, Tada T, Kaneoka Y, Maeda A, Korenaga M, et al. Serum WFA+-M2BP levels as a prognostic factor in patients with early hepatocellular carcinoma undergoing curative resection. *Liver Int* 2016;36:293–301.
- [19] Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, Kurosaki M, Matsuura K, Sakamoto N, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet* 2009;41(41):1105–1109.
- [20] Sato M, Kato N, Tateishi R, Muroyama R, Kowatari N, Li W, et al. 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;49:748–754.
- [21] Asahina Y, Tsuchiya K, Nishimura T, Muraoka M, Suzuki Y, Tamaki N, et al. Genetic variation near interleukin 28B and the risk of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2014;49:1152–1162.
- [22] Asahina Y, Izumi N, Hirayama I, Tanaka T, Sato M, Yasui Y, et al. Potential relevance of cytoplasmic viral sensors and related regulators involving innate immunity in antiviral response. *Gastroenterology* 2008;134:1396–1405.