

症例5. ラミブジン長期投与中に YMDD 変異ウイルスが出現し肝炎が再燃したが、アデホビルピボキシルを併用投与しコントロールされている症例

で 2.6 log copies/mL 以下と感度以下となり現在まで持続しており HBe 抗原は陽性のままであるが投与を継続しつつ経過観察中である (臨床経過図 1)。

考 察

ラミブジンの変異ウイルスによる breakthrough hepatitis に対してアデホビルピボキシルの投与を行い早期に改善が認められ肝炎の鎮静化をえることができた症例である。本症例は、黄疸の出現もなく比較的軽度のうちにアデホビルピボキシルの導入に踏み切ることができたため、経過も順調であったと考えられる。当院では既に 50 例以上のアデホビルピボキシル投与例を経験したが、本例のように必ずしも良好な経過を示す症例ばかりではなく、時には、インターフェロンやステロイドの併用を余儀なくされることもある。ここに、もう一例治療に難渋した症例を簡単に提示する。

●症例 5 - 2

患者背景

● 39 歳 男性

診断名	B型慢性肝炎	罹病期間	11年	入院が外来	入院
既往歴	特記すべきことなし	輸血歴	なし		
家族歴	父、母：HB(-)				

●前治療薬：インターフェロン (IFN α)

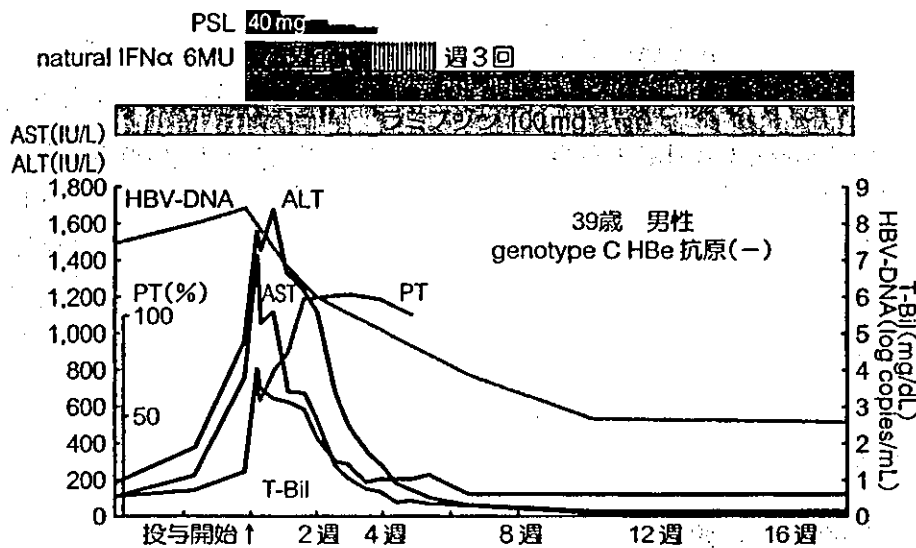
病 歴 と 過

1983年頃、献血時には指摘無し。1987年HBV陽性と判明したがトランスアミナーゼ正常のため、半年毎の経過観察を受けていた。1993年よりトランスアミナーゼの変動が認められ、総ビリルビン 3.5 mg/mL まで上昇したことあり。1996年当院受診、腹腔鏡肝生検により微細陥凹肝、CH2Aと診断され、IFN α 6MUを週2回で1年間投与をうける。1999年になりセロコンバージョンを起こし、2000年4月よりラミブジンを開始した。2001年8月変異ウイルス出現、2002年2月breakthrough hepatitisを起こし、IFN α 6MUを4週連日+週3回20週間の投与を受け一旦肝炎は鎮静化した。その後再び、ウイルスの増殖、肝炎の再燃が認められ、重症化が懸念されたため、2003年2月入院となる。その後は臨床経過図2に示すように、総ビリルビン 4.0と黄疸の増悪もあったため、プレドニゾロン (PSL) 40 mg/日、IFN α 6MU、アデ

II. 症例 1. HBe 抗原陽性 B 型慢性肝炎症例

症例 5. ラミブジン長期投与中に YMDD 変異ウイルスが出現し肝炎が再燃したが、アデホビルピボキシルを併用投与しコントロールされている症例

●臨床経過図 2 Breakthrough hepatitis の重症化に対し、アデホビルピボキシル + IFN + ステロイド併用投与により劇症化を回避できた症例



ラミブジン変異株による breakthrough hepatitis が起こり肝炎の重症化が認められた。総ビリルビンの上昇もあり劇症化の危険も懸念されたためステロイド、インターフェロンを併用することで肝炎の鎮静化がえられた。

ホビルピボキシル 10 mg/日 でラミブジンに併用する形で開始した。併用療法により、総ビリルビン、トランスアミナーゼ、HBV-DNA とともに順調に低下、経過良好にて退院となる。その後、PSL を漸減し、ウイルス量の減少を確認した上で IFN も中止とした。現在ラミブジンとアデホビルピボキシルの併用投与で経過良好にて投与を継続している (臨床経過図 2)。

今回提示した 2 症例のように、治療にあたっては、個々の肝炎の再燃の程度により柔軟に対処するべきである。当院での経験からすれば、アデホビルピボキシルの効果が出現し、ウイルス量の低下、肝炎の鎮静化が起こるまでには症例によっては 4 から 8 週間かかるケースもある。症例 2 のように既に黄疸の出現しているような状態の場合、これでは肝不全に陥ることも考えられる。このような場合には、宿主の免疫応答を PSL により抑えつつ、アデホビルピボキシルに IFN を併用することで強力な抗ウイルス効果を期待する治療を行わざるを得ない。アデホビルピボキシルはまだ使用され始めて日が浅く今後更なる検討を要する薬剤と考えられる。上記のような症例を積み重ね十分な検討を行いより良い治療法が考案されることを期待したい。

II. 症例 3. HBe 抗体陽性 B 型慢性肝炎症例

症例 11. ラミブジンを 7 年間投与した B 型慢性肝炎症例 (YMDD 変異ウイルス未出現)

鈴木 義之

患者背景

● 43 歳 女性

診断名	B 型慢性肝炎	罹病期間	12 年	入院 or 外来	入院
既往歴	1995 年 2 月変形性頸椎症				
家族歴	父：胃癌で死亡。母：HBsAg (+) 健康。長兄：22 歳時肝細胞癌で死亡 (HB については不明)。次兄：HB (+) だが詳細不明				
生活歴	飲酒 (-)，喫煙 (-)				

●前治療薬：強力ネオミノファーゲンシー[®]。漢方薬の内服

病 歴

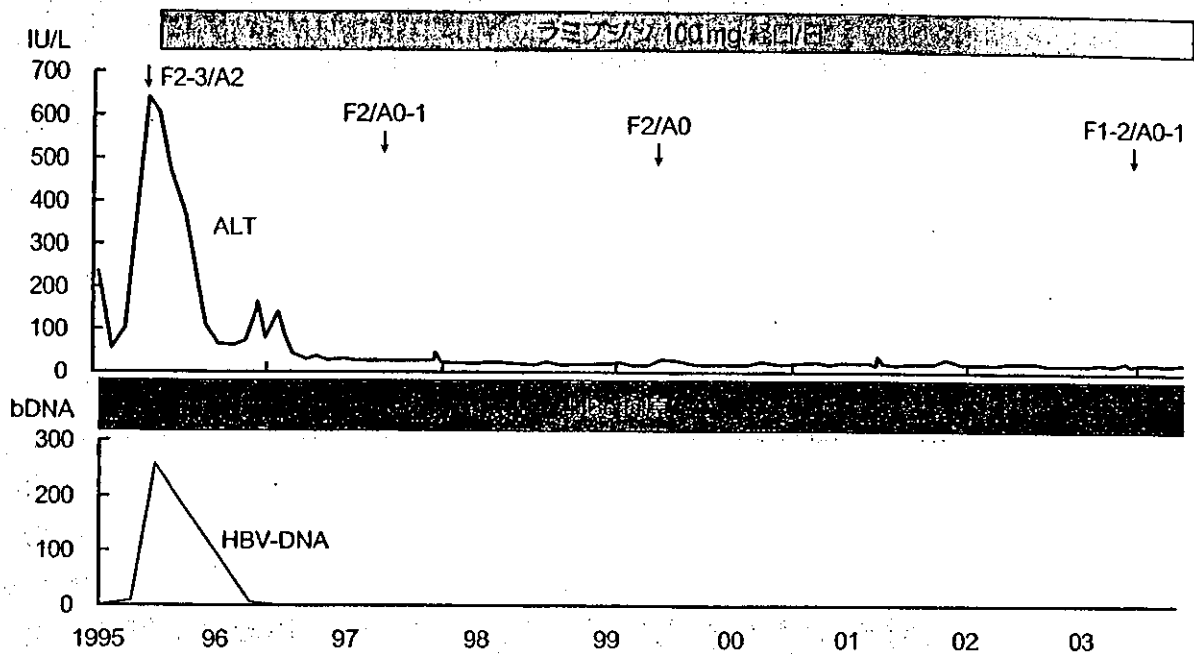
1981 年長女出産時 B 型肝炎 (hepatitis B : HB) 陽性を指摘されるも放置していた。1992 年 8 月検診で肝機能障害 (トランスアミナーゼ 200 台) を指摘され、大学病院を受診。B 型慢性肝炎と診断され、強力ネオミノファーゲンシー[®]と漢方を開始した。1993 年 11 月、トランスアミナーゼ 400 台まで上昇したため入院となったが、1 週間の入院で正常化し退院となる。1994 年 3 月当院初診、HBs 抗原 (+)、HBe 抗体 (±)、トランスアミナーゼ軽度の異常で経過観察を行っていたが、同年 10 月よりトランスアミナーゼの上昇が認められ、12 月 AST/ALT 236/458 となったため 12 月 12 日より第 1 回入院となる。

入 院 時 検査所見

TP	7.6 g/dL	LAP	34 IU/L		
Alb.	4.0 g/dL	CHE	1.0 Δ pH	PT	112.8 %
蛋白分画	62.7%	BUN	8 mg/dL	TT	80.5%
Alb.	1.7%	Creat.	0.7 mg/dL		
α 1	5.7%	UA	2.7 mg/dL	HBs 抗原 (RPHA)	8,192 倍 (+)
α 2	8.5%	T.Chol.	131 mg/dL	HBs 抗体	(-)
β	21.4%	Amy	136 SU/dL	HBe 抗原 (EIA)	(-)
T.Bil.	0.7 mg/dL	AFP	3 μg/L	HBe 抗体 (EIA)	57 (±)
TTT	28.8 S-HU			IgMHbC 抗体	未検
ZTT	11.8 KU	FBG	88 mg/dL	DNA-P	1,269 cpm
AST	191 IU/L			HBs 抗原 Subtype	adr
ALT	362 IU/L	RBC	398 万 /μL	HBV Genotype	C
LDH	173 IU/L	Hb	12.7 g/dL		
ALP	194 IU/L	Plat	19.4 万 /μL	ICG _{R15}	25%
γ GTP	69 IU/L	WBC	3,600/μL		

症例 11. ラミブジンを7年間投与したB型慢性肝炎症例 (YMDD 変異ウイルス未出現)

●臨床経過 ラミブジンを7年以上投与し長期間にわたり ALT 正常化, HBV-DNA 持続陰性化をきたしている症例



HBe 抗原陰性の経過中に急性増悪を起こし、その後よりラミブジンの投与を開始した。開始後、HBV-DNA 量の減少、トランスアミナーゼの正常化が速やかに起こり、経過良好な症例である。

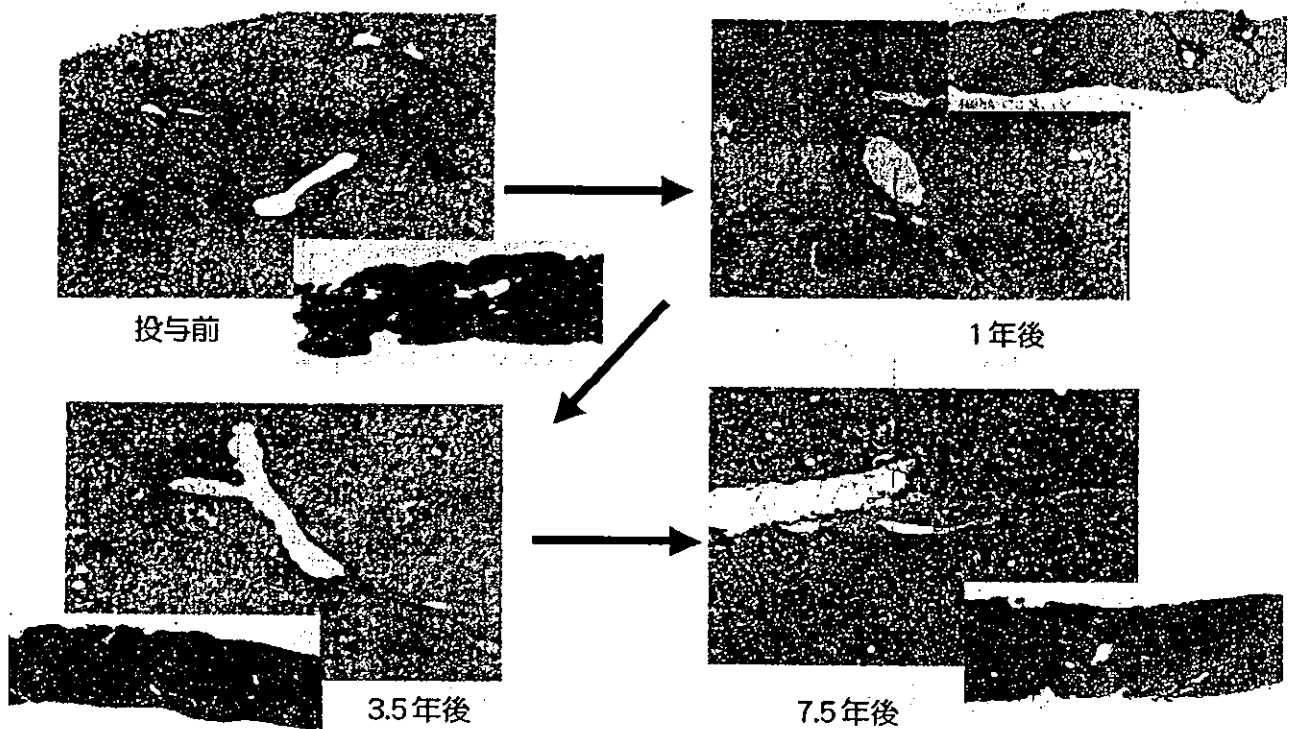
経 過

入院後の自然経過でトランスアミナーゼはやや低下したため、1995年12月22日腹腔鏡肝生検を行い、微細陥凹肝、CH2B (F2-3/A2) と診断した。慢性肝炎と診断後、12月27日よりラミブジン 100 mg/ 日で開始した。投与開始後、トランスアミナーゼは速やかに低下し、正常化を維持、HBV-DNA 量も感度以下まで低下した。1997年1月の1年後の肝生検ではCH2A (F2/A0-1) と改善がみられたため、ラミブジン投与を継続し、肝機能は正常化を維持していた。1999年8月再評価の肝生検を行い、CH (F2/A0) であった。その後もトランスアミナーゼ、HBV-DNA とともに安定化し、変異ウイルスの出現は認められず、2003年8月15日、7年経過後の肝生検を施行した。肝組織は、CH (F1-2/A0-1) と線維化の改善も認めているが HBs 抗原は持続陽性でありラミブジンの投与は継続している (臨床経過図)。

Ⅱ. 症例 3. HBe 抗体陽性 B 型慢性肝炎症例

症例 11. ラミブジンを 7 年間投与した B 型慢性肝炎症例 (YMDD 変異ウイルス未出現)

○ 図 1 HBe 抗体陽性例: ラミブジンを 7 年間投与した B 型慢性肝炎症例 (YMDD 変異ウイルス未出現)



ラミブジン投与前には F2-3/A2 と線維化の進行, 炎症所見の悪化が認められたが, ラミブジンの継続投与により肝炎は鎮静化し, 7.5 年後には F1-2/A0-1 と著明な組織学的改善が認められている。

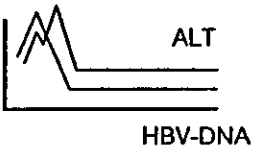


考 察

HBe 抗原陰性, HBe 抗体陽性症例におけるラミブジン奏効例についての経過を提示した。国内外を問わずこれまでの報告では, HBe 抗原陽性例に比して, HBe 抗体陽性例はラミブジンの効果が高く, 長期投与による変異ウイルスの出現率, 肝炎の再燃率ともに低いとされている。HBe 抗体陽性例においては, 以前には, 肝炎の進行はなく治療の必要はないという報告もあった。しかしながら, 当院での長期にわたる検討では, HBe 抗体陽性 B 型慢性肝炎のうち約 20% の例で肝炎の進行が認められ, 肝硬変, 肝癌へと進行している。本例も, F2-3 と線維化の進行が認められており, 無治療で経過していれば肝硬変へかなりの確率で進行していたと考えられる。図 1 に組織学的変化を示すが, ラミブジンの長期投与により線維化の改善を認めている。これまでに, 我々が報告してきたように HBe 抗体陽性例では, 表 1 に示すように長期投与の効

症例 11. ラミブジンを7年間投与したB型慢性肝炎症例 (YMDD 変異ウイルス未出現)

●表1 ラミブジン長期投与例(7年以上)の反応性からみた治療成績

n = 14

治療反応性	ラミブジン開始時	ラミブジン投与後		
		HBe 抗原 (+)	HBe 抗原 (-)	
type 1 完全著効型 		2	5	7 (50.0%)
type 2 ウイルス再燃型 		1	1	2 (14.3%)
type 3 肝炎再燃型 		4	1	5 (35.7%)

果は明らかである。本例のように組織学的にも進行の認められる HBe 抗体陽性例には肝炎の鎮静化および組織学的改善を期待し、ラミブジン投与を試みるべきと考える。

interferon therapy of hepatitis C

C型慢性肝炎治療の 新たなストラテジー

—インターフェロン治療の今後—

編集 | 林 紀夫
岡上 武
熊田博光

 先端医学社

C型慢性肝炎の肝組織診断と治療

山田剛太郎

はじめに

慢性肝炎の長期予後の予測は、治療方針を決定するうえできわめて重要である。とくに、C型慢性肝炎患者は急速に高齢化を迎えており、肝発癌のリスクを考慮して治療戦略を決定する必要がある。ここ数年C型慢性肝炎の治療としてコンセンサスインターフェロン（コンセンサス IFN）やインターフェロン（IFN）/リバビリン（Rib）併用治療が新しく登場し、一方では従来型の IFN 治療についても再投与や投与期間の枠が撤廃され、症例に応じた治療法の選択が可能となってきた。治療効果の改善とともに、症例によっては予想以上の副作用が認められることもあり、治療法の選択が非常に重要となっている。

したがって、C型慢性肝炎の治療戦略を決定するにあたっては、IFN などの治療効果の予測に必要な C 型肝炎ウイルス（hepatitis C virus：HCV）側因子に加えて、肝発癌リスクを予測する因子として年齢や肝線維化ステージ診断の重要性が増している。

そこでここでは、C型慢性肝炎の治療を進める際の肝組織診断の意義について述べる。

1. 肝組織診断によるC型慢性肝炎の経過観察

新犬山分類¹⁾を用いた線維化ステージ診断により、C型慢性肝炎における肝硬変への進展や肝細胞癌発症の自然経過が明らかにされてきた。それとともに、線維化ステージ診断による肝硬変への進展経過や肝発癌リスクなどの長期予後の予測が可能となっている。したがって、C型慢性肝炎の治療方針を決定する際には線維化ステージの判定がますます重要となっている。

1) 肝線維化ステージ診断

慢性肝炎の肝組織診断は線維化の staging と炎症の grading による。新犬山分類¹⁾では線維化ステージは以下の5段階に分類している。線維化なし：F0（fibrosis 0）、門脈域の線維性拡大：F1、線維性架橋形成：F2、小葉のひずみを伴う線維性架橋形成：F3、偽小葉形成（肝硬変）：F4 に分類する。Desmet ら²⁾の国際分類では portal-portal septa（P-P 結合）を F2 に、portocentral septa（P-C 結合）を F3 の目安にしているが、線維化ステージ診断の基本的な考えは同じである。

2) 血液検査による線維化ステージの予測

臨床の場では侵襲を伴う検査はできるだけ避け

表① 各種血液検査の肝線維化ステージの判別における有用性について
(山田剛太郎, 2002³⁾より引用)

線維化 ステージ	血小板数 ($\times 10^4/\mu l$)	ICG クリアランス	アルブミン (g/dl)	PT (%)	ヒアルロン酸 (ng/ml)	AST/ALT比
F0 (n=11)	21.8 \pm 3.9	0.165 \pm 0.027	4.6 \pm 0.3	95.9 \pm 17.2	51.3 \pm 54.0	0.947 \pm 0.410
F1 (n=200)	18.7 \pm 5.2	0.164 \pm 0.038	4.3 \pm 0.4	88.5 \pm 18.2	85.4 \pm 129.7	0.793 \pm 0.278
F2 (n=118)	15.8 \pm 4.9	0.153 \pm 0.032	4.2 \pm 0.3	79.1 \pm 19.6	101.1 \pm 71.9	0.814 \pm 0.231
F3 (n=70)	12.7 \pm 4.3	0.132 \pm 0.027	4.0 \pm 0.3	78.1 \pm 19.2	201.5 \pm 283.3	0.912 \pm 0.322
F4 (n=46)	9.7 \pm 3.6	0.110 \pm 0.037	3.8 \pm 0.5	61.3 \pm 14.6	255.6 \pm 141.4	1.016 \pm 0.369
ステージ との相関係数	r=0.552	r=0.466	r=0.414	r=0.407	r=0.349	r=0.208

肝線維化ステージ診断と各種血液検査との相関を検討したが、血小板数が最もよい相関を認めた。

たいとの願いから、末梢血液検査や肝生化学検査による肝線維化ステージの判別が検討されてきた。著者ら³⁾もC型慢性肝炎455例で、血小板数、ICGクリアランス、血清アルブミン、プロトロンビン時間(PT)、ヒアルロン酸、AST/ALT比と線維化ステージとの相関性について検討した。血小板数の減少、ICGクリアランスの低下、血清アルブミンの減少、PTの延長はそれぞれ線維化ステージとの間に相関性がみられたが、ヒアルロン酸の増加やAST/ALT比の低下は相関係数が低かった(表①)³⁾。

さらに各検査法がいずれのステージの判別に有用かをt検定で検討したが、血小板、ICGクリアランス、血清アルブミン、PTは慢性肝炎、肝硬変のいずれのステージ間でも判別に有用であった。しかしながら、ヒアルロン酸やAST/ALT比はF4ステージ(肝硬変)と慢性肝炎のF1、F2ステージ間の判別には有用であるが、慢性肝炎間でのステージ判別には適さなかった³⁾。

3) 線維化ステージの進展と病態

B型慢性肝炎では慢性肝炎から肝硬変への進展とともにB型肝炎ウイルス(HBV)量の減少が指摘されてきたが、C型肝炎から肝硬変ではHCV-RNA量の減少は認めないとする報告が多く、著者らの線維化ステージ別の検討でも減少傾向は認められない(表②)。また、HCVの遺伝子型によって長期予後に差が認められるとの報告⁴⁾もあるが必ずしも一致していない。著者らの検討でもステージの進展とともにセロタイプ2型の頻度が多少低くなる傾向を認めたが(表②)、有意な差は得られていない。

C型慢性肝炎では線維化の進展とともに炎症所見が増強する例が多く、サイトカインも線維化の進展とともにTh1/Th2比が高まるとの報告が多い。IL-10などのTh2サイトカイン優位の状態では細胞性免疫応答が抑えられ、IFN γ やIL-2などの産生が増加し、Th1サイトカインが優位の状態では炎症が増強するものと推測されている。著者ら⁵⁾の肝組織中の検討ではケモカインである

表② C型慢性肝炎における肝線維化ステージ別のHCV-RNA量と遺伝子型

線維化ステージ	HCV-RNA量*	遺伝子型 (%)		
		1	2	ND
F0	5.9±0.6	37.5	50.0	12.5
F1	6.5±0.8	52.6	46.1	1.3
F2	6.4±0.8	61.9	35.4	2.7
F3	6.6±0.7	56.8	38.6	4.5
F4	6.5±0.7	63.6	31.8	4.5

肝線維化ステージが進展しても平均HCV-RNA量に大差は認められない。線維化ステージの進展とともに遺伝子型2型の減少傾向がみられる。

*分岐DNAプローブ法による (log Eq/ml)

表③ C型慢性肝炎における肝線維化ステージ別肝硬変への進展率 (平均年率)

線維化ステージ	平均年間進展率 (%)
F1	2.2 (0.9~3.4)
F2	3.2 (1.7~4.9)
F3	8.6 (5.8~11.4)

肝線維化ステージの進展とともに肝硬変への年間進展率が明らかに高まる。

IL-8の発現が線維化の進展とともに有意に増加しており、C型慢性肝炎の病態を考えるうえで興味深い。

4) 肝硬変への進展予測

C型慢性肝炎から肝硬変への進展経過を、IFN治療を受けていないC型慢性肝炎で、くり返して肝生検を実施した57例で検討した⁶⁾。初回の線維化ステージ診断別に肝硬変への進展率を計算すると、F1ステージでは平均11年で10%が、F2ステージでは平均9年で19%が、F3ステージでは平均7年で71%がそれぞれF4ステージへと進展した⁶⁾。Yanoらの報告⁷⁾では平均8.8年でF1の29.6%、F2の42.9%、F3の100%がそれぞれF4へと進展している。さらに、Kobayashiら⁸⁾の報告では平均9.6年でF1の20%、F2の16%、F3

の56%がF4へと進展している。したがって、ステージ別の肝硬変への進展率を年率に換算すると表③に示すようにF1で0.9~3.4%、F2で1.7~4.9%、F3で5.8~11.4%である。

Poynardら⁹⁾は2回の肝生検を基に、C型慢性肝炎における肝線維化の進展速度 (fibrosis progression rate: FPR) を計算している。すなわち肝線維化ステージをF0-F4の5段階に分類し、2回の肝生検の線維化ステージの差を肝生検の間隔 (年数) で除した値を年間あたりの平均進展率としている。自然経過例における平均進展率は0.133 fibrosis unitと報告している。すなわち、C型慢性肝炎では10年間に線維化ステージが平均1.3高まることになる。平均進展率を高める因子としては感染時の年齢(40歳以上)、アルコール消費量(50g/日以上)、男女の性差をあげている。

著者らも、3年以上の間隔で2回肝生検を実施した自然経過例(未治療群)52例でFPRを算定したが0.142 fibrosis unitとほぼ同様の進展率である(図①)。

5) 肝細胞癌の発症リスク

C型慢性肝炎の肝生検診断では肝線維化ステージの進展とともに年間肝発癌率は高くなる。Yoshidaら¹⁰⁾の多数例での検討(表④)¹⁰⁾をはじめとし

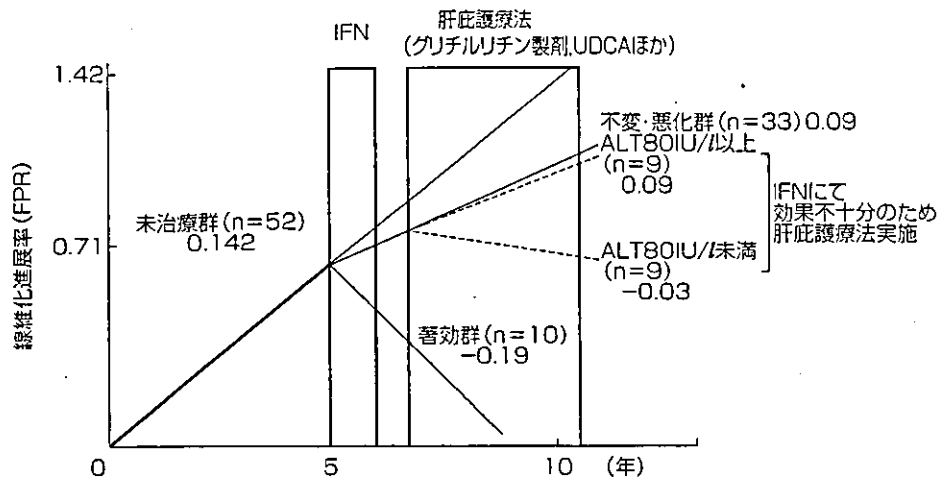


図1 くり返し肝生検の観察によるインターフェロン治療と肝保護療法による肝線維化進展率の抑制
C型慢性肝炎の未治療群での肝線維化進展速度0.142に対して、IFN治療を実施した症例では著効群では-0.19とむしろ線維化は軽快し、不変・悪化群でも0.09と線維化進展速度が遅くなっている。不変・悪化群で肝保護療法を受けた症例でALT 80 IU/lを長期間持続した症例では-0.03と線維化の進展は認められない。

Part 1

表4 C型慢性肝炎における肝線維化ステージ別肝細胞癌発症率(年率)(Yoshida H et al, 1999)より引用)

線維化ステージ	未治療群	IFN治療群
F0・F1	0.45 (3/160)	0.08 (2/710)
F2	1.99 (11/164)	0.54 (16/896)
F3	5.34 (13/59)	1.95 (38/564)
F4	7.88 (32/107)	4.16 (33/230)
計	3.17 (59/490)	1.10 (89/2400)

肝線維化ステージの進展とともに肝発癌リスクが高まる。IFN治療群全体では肝発癌は明らかに減少するが、無効群ではなお発癌を認めるため、F3、F4でのリスクはなお高い。

て多くの報告で肝硬変であるF4ステージで年率7~8%、慢性肝炎のF3ステージで年率3~5%の発癌が認められ、著者¹⁰⁾の検討でも同様である。C型慢性肝炎のF3、F4ステージはまさに肝細胞癌の高危険群としてその予防をめざした治療方針を急いでたてる必要がある。

2. IFN治療における肝組織診断の有用性

1) IFNの治療効果因子

C型慢性肝炎におけるIFN治療効果は、HCV-RNAの持続的陰性化(SVR)率で評価する。そのような治療効果を左右する因子としてはウイルス側因子と宿主側因子がある。一番重要な因子はHCV-RNA量と遺伝子型である。しかし、遺伝子型2型かつ低ウイルス量の症例でも難治例があり、逆に1型で20 Meq/ml以上の高ウイルス量でも、SVRとなる症例がある。宿主側因子としては、線維化ステージの進展したF3、F4症例や高齢者ではSVR率が低下するとの報告が多い。

最近6年間に従来型のIFN製剤による単独治療を実施した183例を遺伝子型とHCV-RNA量によって4群に分けた後、肝線維化ステージをF0-2の非進展群と、F3-4の進展群に分けて比較した(表5)。この検討結果より遺伝子型2型かつ高ウイルス群では肝線維化の進展の有無がIFN

表⑥ C型慢性肝炎における遺伝子型、HCV-RNA量、肝線維化ステージとインターフェロンの治療効果
IFN単独治療症例を遺伝子型、HCV-RNA量別に4群に分けて、線維化ステージによる治療効果を比較した。遺伝子型2型で1 Meq/ml以上の高ウイルス量群では肝線維化ステージの進展が治療効果に大きく影響する。

HCV-RNA量 肝線維化 ステージ	1型		2型	
	1 Meq/ml以上	1 Meq/ml未満	1 Meq/ml以上	1 Meq/ml未満
F 0-2	4/29 (13.8%)	15/23 (65.2%)	18/36 (50%)	38/46 (82.6%)
F 3-4	1/15 (6.7%)	3/5 (60%)	2/13 (15.4%)	13/16 (81.3%)
p値	0.49	0.83	0.03	0.9

の治療効果に大きな影響を与えることが判明した。したがって、遺伝子型2型かつ高ウイルス群でしかも線維化の進展したF3, F4症例における治療法の選択にあたってはIFN/Rib併用治療や6ヵ月以上の長期IFN単独治療を考えたい。

2) IFN治療の長期予後

a) 肝線維化の改善

IFN治療によってSVRになった症例では炎症所見のみでなく、長期的には肝線維化の改善も明らかになっている。IFN治療群で3年間隔以上で2回肝生検を実施した症例をSVR群とそれ以外の難治群に分けてFPRを比較した(図①)。著効例では-0.19と線維化は逆に減少して明らかに改善する。すなわち、線維化ステージは5年間に1ステージずつの速度で軽快改善する。したがって、肝硬変の肝線維化は不可逆性と長年考えられてきたが、現在では初期の肝硬変でも、IFNによってHCVが完全に排除され、肝炎が根治すれば線維化は徐々に吸収改善することが判明している。さらに、IFN治療が無効であった例でも0.09と自然経過例の0.142に比較して、線維化進展は遅くなる。さらに、IFNにて効果不十分な多数の症例に長期にわたってグリチルリチン製剤やウルソデオキシコール酸(UDCA)による肝底療法を実施した¹¹⁾。血清ALTが持続的に80 IU/

l(年平均)以下で3年以上の間隔で2回肝組織像を検索できた症例では、FPRは-0.03と肝線維化の進展も抑制されていた。

b) 肝発癌の抑制

C型慢性肝炎のIFN治療の長期予後で、HCV-RNAの陰性化したSVR例ではもちろんのこと、HCV-RNA陽性ながら血清ALTの正常化した生化学的著効例でも肝細胞癌の発症は有意に少ない⁹⁾¹⁰⁾。しかしながら、無効例では自然経過例に比較して発症頻度は減少するものの、線維化の進展したF3, F4ステージではなお発癌の機会が高い。著者らも、IFNの無効例を6年間の長期にわたってグリチルリチン製剤やUDCAによる肝底療法を実施し、ALTの改善に努めるとともに嚴重な画像などのフォローアップを実施してきた。F3, F4ステージで種々の治療にかかわらず血清ALTの改善が認められない症例では、発癌率はなお高く、超高危険群と考えて画像などの嚴重な追跡が必要である¹¹⁾。

3. 超高危険群に対する治療

IFN単独治療に加えて、IFN/Ribの併用治療が可能になったが、なお、遺伝子型1bかつ高ウイルス量でのSVRは20%程度である。したがって、かつてIFN単独治療を受けたが無効であったF2, F3症例から、すでにF3, F4ステージへ進

展し、現在も血清 ALT の高値が持続して超高危険群ともよぶべき症例がなお多数存在する。しかも、このような症例は高齢化を迎え、血小板数も減少している症例が多く、IFN/Rib の併用治療が不可能な例も少なくない。

IFN の少量長期投与が血清 ALT の改善に有用なことが報告され、保険診療での IFN 治療の期間や再投与の制限が取り除かれた現状では、HCV の完全排除の難しい患者はもちろん、肝細胞癌のハイリスクステージである F3, F4 ステージにあるような高齢者に対しても、患者にやさしい少量長期投与法が期待できる。著者らも IFN α 250~300 万単位の週 2~3 回の少量投与をこのような症例に実施し、多くの症例で血清 ALT の改善を認めている。今後、肝発癌の抑制効果が期待できるものと考えられるが、長期予後を厳重に見守りたい。

おわりに

C 型慢性肝炎における治療の選択肢が増え、治療効果も改善しているが、一方では患者の高齢化が進み、副作用の少ない患者にやさしい治療法の選択が重要である。C 型慢性肝炎の治療方針をたてるうえでの肝組織診断の意義について紹介したが、今後は慢性肝炎の線維化ステージを正しく診断し、肝細胞癌発症に備えた長期予後を認識したうえで、個々の患者に応じたより細かな治療方針をたてる必要がある。

文献

- 1) 市田文弘, 小俣政男, 辻孝夫ほか: 慢性肝炎の肝組織診断基準—新犬山分類, 第 19 回記録 “C 型肝炎, 肝炎ウイルス, 犬山分類の再検討”, 中外医学社, 東京, 1996, pp. 183-188
- 2) Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH *et al*: Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19: 1513-1520, 1994
- 3) 山田剛太郎: 慢性肝炎の活動性と進行度の評価の標準化. 肝・胆・膵 45: 349-355, 2002
- 4) Kobayashi M, Tanaka E, Sodeyama T *et al*: The natural course of chronic hepatitis C: a comparison between patients with genotype 1 and 2 hepatitis C viruses. *Hepatology* 23: 695-699, 1996
- 5) Mahmood S, Sho M, Yasuhara Y *et al*: Clinical significance of intrahepatic interleukin-8 in chronic hepatitis C patients. *Hepatology Res* 24: 413-419, 2002
- 6) Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R *et al*: Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 88: 240-243, 1993
- 7) Yano M, Kumada H, Kage M *et al*: The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology* 23: 1334-1340, 1996
- 8) Poynard T, Bedossa P, Opolon P *et al*: Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 349: 825-832, 1997
- 9) Yoshida H, Shiratori Y, Moriyama M *et al*: Interferon therapy reduces the risk for hepatocellular carcinoma: national surveillance program of cirrhotic and noncirrhotic patients with chronic hepatitis C in Japan. *Ann Intern Med* 131: 174-181, 1999
- 10) 山田剛太郎: 慢性肝炎の新しい組織分類. 日消病会誌 96: 377-384, 1999
- 11) 山田剛太郎, 新山豪一, 川中美和: C 型慢性肝炎における IFN 治療の長期予後と効果不十分例の対策. 高度進行肝細胞癌, 生体肝部分移植, B 型・C 型慢性肝炎治療. 犬山シンポジウム記録刊行会編, 中外医学社, 東京, 2000, pp. 195-201

シーがたまんせいかんえん ちりょう あら
C型慢性肝炎治療の新たなストラテジー
—インターフェロン治療の今後—

2004年3月15日 第1版第1刷発行©

定価 (本体 4,700 円 + 税)

編集者 ● 林^{はやし} 紀夫^{のりお}
 岡上^{おかの上} 武^{たけし}
 熊田^{くまだ} 博光^{ひろみつ}

発行者 ● 鯨岡 哲

発行所 株式会社 先端医学社
〒103-0004 東京都中央区東日本橋 1-9-7
G1 東日本橋ビル
電話 (03) 5820-2100(代)
FAX (03) 5820-2501
振替 00190-0-703930
<http://www.sentan.com>
E-mail: book@sentan.com
印刷所/三報社印刷株式会社

乱丁・落丁の場合はお取替いたします。

Printed in Japan

本書の内容の一部あるいは全部を無断で複写複製 (コピー) することは、法律で認められた場合を除き、著作者および出版社の権利の侵害となりますので、その場合にはあらかじめ小社あて許諾を求めてください。

ISBN4-88407-114-X C3047 ¥4700E

Single nucleotide polymorphism of the MxA gene promoter influences the response to interferon monotherapy in patients with hepatitis C viral infection

F. Suzuki,¹ Y. Arase,¹ Y. Suzuki,¹ A. Tsubota,¹ N. Akuta,¹ T. Hosaka,¹ T. Someya,¹ M. Kobayashi,¹ S. Saitoh,¹ K. Ikeda,¹ M. Kobayashi,² M. Matsuda,² K. Takagi,² J. Satoh² and H. Kumada¹

¹Department of Gastroenterology, Toranomon Hospital, Tokyo; and ²Research Institute for Hepatology, Toranomon Branch Hospital, Kawasaki, Japan

Received in revised form August 2003; accepted for publication September 2003

SUMMARY. The biological activity of interferon (IFN) is mediated by the induction of intracellular antiviral proteins, such as 2'-5' oligoadenylate synthetase, dsRNA-activated protein kinase and MxA protein. Among these, MxA protein is assumed to be the most specific surrogate parameter for IFN action. This study was performed to elucidate whether a single nucleotide polymorphism (SNP) (G/T at nt-88) in the promoter region of the MxA gene influences the response to IFN therapy in patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection. Polymorphisms of the MxA gene in 235 HCV patients were determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. The frequency of SNP was compared between sustained-responders ($n = 78$) and nonresponders ($n = 157$), as determined by biochemical and virological responses to IFN. Multivariate analysis showed that among all patients, HCV genotype, HCV RNA

level and the SNP of the MxA gene were independent and significant determinants of the outcome of IFN therapy [odds ratio 3.8 (95% confidence interval 2.0–7.0), $P < 0.0001$; 0.27 (0.15–0.50), $P < 0.0001$; 1.8 (1.0–3.4), $P = 0.0464$, respectively]. Furthermore, among patients with a low viral load (≤ 2.0 Meq/mL), MxA-T-positive patients were more likely to show a sustained response compared with MxA-T-negative patients [2.87 (1.3–6.3); 62% vs 36%; $P = 0.0075$]. Our findings suggested that the SNP of the MxA gene is one of the important host factors that independently influences the response to IFN in patients with chronic HCV infection, especially those with a low viral load.

Keywords: chronic hepatitis C, interferon therapy, MxA promoter gene, single nucleotide polymorphism.

INTRODUCTION

Interferon (IFN) has been used for treatment of patients with chronic hepatitis C virus (HCV) infection. However, <30% of patients treated with IFN monotherapy show a sustained response [1, 2]. Specifically, viral factors, such as genotype 1 and high HCV RNA levels are associated with a higher incidence of resistance to IFN therapy [3]. Furthermore,

several host factors, such as old age, advanced fibrosis and long duration of disease can also adversely influence the response to IFN treatment.

The difficulty encountered in the detection of IFN- α in sera may be due to the fact that the biological half-life of this cytokine is short (a few hours) and it can be cleared rapidly from the circulation. Biological activity of IFN is mediated, in part, by the induction of intracellular antiviral proteins, such as 2'-5' oligoadenylate synthetase (2'-5' OAS), dsRNA-activated protein kinase (PKR) and MxA protein. The MxA protein influences IFN-induced antiviral activities of host cells against several viruses [4, 5]. Moreover, the MxA protein is assumed to be the most specific surrogate parameter for IFN action [6, 7]. Some reports have shown that increasing the MxA protein or mRNA levels were related to response to IFN therapy [8, 9]. However, the levels of the MxA protein or mRNA during IFN therapy differ between individuals. One cause of these differences may be associated with genomic factors.

Abbreviations: ALT, alanine aminotransferase; HCV, hepatitis C virus; IFN, interferon; IL, interleukin; ISRE, IFN-stimulated response elements; LMP, low molecular mass polypeptide; NR, nonresponders; OAS, oligoadenylate synthetase; PCR, polymerase chain reaction; PKR, dsRNA-activated protein kinase; SNP, single nucleotide polymorphism; SR, sustained responders; TGF- β , transforming growth factor- β ; TNF- α , tumour necrosis factor- α .

Correspondence: Fumitaka Suzuki, MD, Department of Gastroenterology, Toranomon Hospital, 2-2-2 Toranomon, Minato-ku, Tokyo 105-8470, Japan. E-mail: funitakas@toranomon.gr.jp

Matsushita *et al.* [10] showed an association between polymorphism of the mannose-binding lectin gene and IFN responsiveness of Japanese patients with chronic hepatitis C. This was associated with the role mannose-binding lectin plays in opsonization of HCV particles through glycosylated coat proteins on the virion's surface. Moreover, the same group recently showed that a single nucleotide polymorphism (SNP) (G/T at nt -88) in the promoter region of the *MxA* gene was associated with the IFN response of HCV patients [11]. Although these findings indicated that *MxA* protein might be an important factor in the response to IFN therapy in patients with HCV infection, there has been only one study to date about this SNP and IFN responsiveness. Moreover, in that study, HCV RNA level, which is an important factor for IFN response, was not taken into consideration.

In the present study, we investigated a large population of patients with chronic HCV infection, and demonstrated that the previously described SNP in the promoter region of the *MxA* gene is associated with the response to IFN therapy. Moreover, we analysed the relationship between HCV viral load, genotype and this SNP.

PATIENTS AND METHODS

Patients

From November 1990 to August 2001, 235 Japanese adult patients with chronic hepatitis C infection were recruited for this study. All patients were positive for both anti-HCV antibody and serum HCV RNA by polymerase chain reaction (PCR). IFN treatment and clinical follow-up were performed at the Department of Gastroenterology of Toranomon Hospital. Before IFN therapy, patients had persistently elevated serum alanine aminotransferase (ALT) levels for at least 6 months and none of them had evidence of hepatitis B virus co-infection or other liver diseases (e.g. alcoholic-induced or autoimmune hepatitis). None of the patients had received prior antiviral treatment such as IFN and/or ribavirin. A pretreatment liver biopsy was carried out for histopathological examination, and histological staging was performed according to the classification proposed by Desmet *et al.* [12]. All patients gave written informed consent to participate in this study.

Patients were treated with IFN- α or IFN- β for periods from 8 to 26 weeks. Patients received 3–10 million units (MU) of IFN every day for the first 2–8 weeks, after which most patients received IFN three times a week for the following 16–20 weeks. The total period of IFN treatment was within 26 weeks, with the exception of 10 patients who received a total dose of <2000 MU IFN. All patients were followed for at least 6 months after completion of IFN therapy. Sustained responders (SR; $n = 78$) were defined as patients who showed normalization of the ALT level and who tested negative for HCV RNA by Amplicor HCV RNATM (Roche

Molecular Systems, Nutley, NJ, USA) for at least 6 months after completion of IFN therapy. All other patients, who did not show SR, were considered nonresponders (NR; $n = 157$).

Hepatitis C virus genotyping and HCV RNA quantity

HCV genotypes were determined by PCR and were expressed according to the nomenclature proposed by Simmonds *et al.* [13]. Serum HCV RNA was quantified using a branched DNA assay (bDNA probe assay, version 2.0; Chiron, Dai-ichi Kagaku, Tokyo, Japan).

Determination of *MxA* promoter single nucleotide polymorphism

The SNP was determined by PCR-restriction fragment length polymorphism as described previously by Hijikata *et al.* [11]. In brief, genomic DNA from peripheral blood mononuclear cells was isolated by a GFXTM Genomic Blood DNA Purification Kit (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA). In the next step, 1 μ g of genomic DNA was amplified in a reaction mixture containing 10x PCR buffer (Applied Biosystems Japan, Tokyo, Japan), 1.5 mmol/L MgCl₂, 160 μ mol/L of each deoxynucleosidetriphosphate, 1 μ mol/L of primer (No. MXAF01 and No. MXAR02), and one unit of AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems Japan). The amplified products were subjected to restriction enzyme (*Hha*I) digestion for 4 h. Samples were electrophoresed in agarose gels, stained with ethidium bromide and observed under UV transillumination.

Statistical analysis

Differences between groups were examined for statistical significance using the Mann–Whitney *U*-test and chi-squared test where appropriate. All calculations were performed using StatView software (Version 4.5J; Abacus Concepts, CA, USA). Independent predictive factors associated with SR to IFN treatment were studied using multivariate multiple logistic regression. Potential predictive factors for SR to IFN treatment that were assessed included the following eight variables: age, sex, HCV genotype, HCV RNA level, histopathological stage (mild or not), baseline ALT, total dose of IFN and *MxA* genotype. All factors found to be at least marginally associated with SR to IFN therapy ($P < 0.15$) were entered into the multivariate multiple logistic regression. Multivariate multiple logistic regression was performed using the Windows SPSS software package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were calculated to assess the relative risk confidence. A two-tailed *P*-value <0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

Clinical and virological features of patients with chronic hepatitis C infection

Comparison of the clinical and virological characteristics between the SR and NR are summarized in Table 1. Among the total of 235 patients, histopathological staging was performed on 229 patients before treatment; liver biopsies could not be performed on the remaining six patients. The univariate analysis of clinical and virological factors showed that HCV genotype other than 1b (2a or 2b) [OR 3.4 (95% CI 1.9–6.1), $P < 0.0001$] and lower serum HCV RNA levels (≤ 2 Meq/mL) [OR 0.3 (95% CI 0.17–0.53), $P < 0.0001$] were associated with a higher probability of SR. There were no significant differences in the sex ratio, age, histopathological stage, total dose of IFN and ALT level before treatment between the two groups.

Comparison of the MxA promoter allele frequencies between sustained-responders and nonresponders

Polymorphism of the MxA promoter gene and allele frequencies between SR and NR were compared among all

patients (Table 2). Allele frequency of the MxA promoter gene in all chronic hepatitis C patients was the same as in healthy controls. For healthy controls, we examined another 56 normal subjects and merged their data with those of the original group [11]. MxA promoter gene G/T and T/T heterozygous (MxA-T-positive) tended to be more frequent than G/G homozygous, albeit statistically insignificant. The univariate analysis of the MxA polymorphism (MxA-T-positive vs-negative) showed borderline significance with a higher chance of sustained response among all patients ($P = 0.11$).

Multivariate analysis of predictive factors for interferon treatment among all patients

The significance of the response to IFN therapy was investigated by multivariate logistic regression analysis. Both HCV RNA level and genotype independently and significantly influenced the outcome of IFN therapy (Table 3). Moreover, the SNP of the MxA gene was also independently associated with the outcome of IFN therapy. We also analysed the relationship between SNP of the MxA and HCV viral load or genotype (Tables 4 and 5). Table 4 shows that the SNP of the MxA did not correlate with the viral load and that the distribution of this SNP was unbalanced in each viral load. Therefore, this SNP was an independent factor as determined by multivariate logistic regression analysis.

Table 1 Characteristics of patients with chronic hepatitis C viral infection treated with interferon

	Sustained responders ($n = 78$)	Nonresponders ($n = 157$)
Age (years)	50 (20–83)	51 (22–66)
Sex (male/female)	53/25	92/65
Baseline ALT (IU/L)	81 (16–683)	94 (27–452)
HCV RNA level (Meq/mL)*	0.7 (0.4–38)	3.5 (0.4–48)
HCV genotype*		
1b	38 (49%)	120 (76%)
2a	33 (42%)	29 (18%)
2b	7 (9%)	8 (5%)
Histological stage		
Mild	45 (62%)	91 (58%)
Moderate	23 (32%)	47 (30%)
Severe	2 (3%)	11 (7%)
Cirrhosis	3 (4%)	7 (4%)
Total dose of interferon (MU)	625 (267–1432)	626 (256–1972)

Data are median (range), or number of patients. All HCV RNA values below the lower limit of detection ($< 0.5 \times 10^6$ Meq/mL) were set to 0.4. Histological examination was not performed in five and one patients of the sustained responders and nonresponders, respectively.

* $P < 0.0001$, between responders and nonresponders.

The single nucleotide polymorphism of the MxA gene and interferon response among patients with low viral loads

Figure 1 shows the relationship among IFN response, viral load and the SNP of the MxA. Differences in viral load (high or low viral load) influenced the response to IFN therapy. Therefore, we analysed the response with respect to high and low viral loads.

Among the patients with a high viral load (> 2.0 Meq/mL, $n = 127$), univariate analysis of clinical and virological factors showed that HCV genotype other than 1b (2a or 2b) [OR 5.1 (95% CI 2.1–12.8), $P = 0.0002$] was associated with a high probability of SR. Among this group, the SNP of the MxA gene was not related with SR. On the other hand, among the patients with a lower viral load (≤ 2 Meq/mL, $n = 108$), the univariate analysis of clinical and virological factors showed that the SNP of the MxA gene (MxA-T-positive) [OR 2.87 (95% CI 1.3–6.3), $P = 0.0075$] and HCV genotype other than 1b (2a or 2b) [OR 2.83 (95% CI 1.2–6.5), $P = 0.0121$] were associated with a higher probability of SR. These results indicated that the SNP of the MxA gene specifically influenced the efficacy of IFN treatment in patients with a low viral load.

DISCUSSION

Genetic studies to date have examined three aspects of HCV infection; viral clearance, liver disease progression

MxA promoter polymorphism at nt -88	Healthy controls*	All patients	Response to interferon	
			Sustained responders	Nonresponders
<i>n</i>	98	235	78	157
Alleles	196	470	156	314
Allele frequency				
G	143 (73%)	332 (71%)	106 (68%)	226 (72%)
T	53 (27%)	138 (29%)	50 (32%)	88 (28%)
Zygosity				
G/G heterozygous	51 (52%)	114 (49%)	32 (41%)	82 (52%)
G/T heterozygous	41 (42%)	104 (44%)	42 (54%)	62 (39%)
T/T heterozygous	6 (6%)	17 (7%)	4 (5%)	13 (8%)

Table 2 Distribution of the MxA promoter genotypes in patients with hepatitis C viral infection treated with interferon

*We included additional 56 normal subjects and reported the group data (by Hijikata et al. [11]) of the entire 98 subjects.

Table 3 Factors associated with response to interferon monotherapy

Variable	Multivariate odds ratio	95% Confidence interval*	P-value
HCV RNA levels (≤ 2 vs > 2 Meq/mL)	0.27	0.15–0.50	< 0.0001
Genotype (1b vs 2a or 2b)	3.8	2.0–7.0	< 0.0001
The SNP of the MxA gene (G/G vs G/T or T/T)	1.8	1.0–3.4	0.0464

*Values are the odds of having a sustained response to interferon.

Table 4 Relationship between the single nucleotide polymorphism of the MxA and hepatitis C virus (HCV) load

	HCV Viral Load	
	≤ 2.0 Meq/mL	> 2 Meq/mL
MxA-T-positive	50	71
MxA-T-negative	58	56

(cirrhosis), and host susceptibility to infection [14]. However, there is paucity of information about the host gene factors that could predict the outcome of IFN therapy.

We examined the relationship between polymorphism of the MxA and response to IFN therapy in 235 patients with chronic HCV infection. Our results showed that HCV RNA level and genotype were independent significant determinants of the outcome of IFN therapy. These findings are consistent with those reported previously [3]. Multivariate

Table 5 Relationship between the single nucleotide polymorphism of the MxA and hepatitis C virus (HCV) genotype

	HCV genotype	
	1	2
MxA-T-positive	80	41
MxA-T-negative	78	36

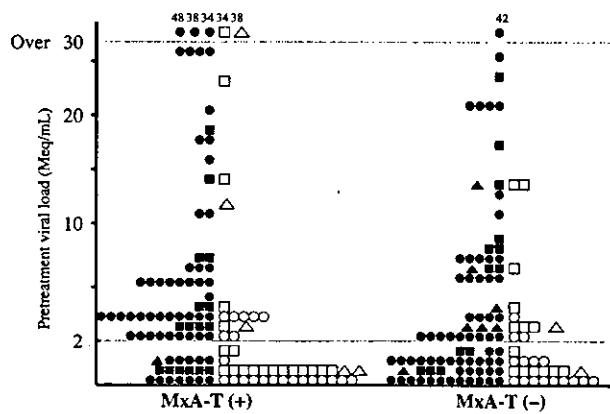


Fig. 1 SNP of the MxA gene and interferon response. HCV RNA levels in six patients were over 30 Meq/mL. Numbers above symbols represent the actual level of HCV RNA in these six patients. Open circles, sustained-responders with genotype 1b; open squares, sustained-responders with genotype 2a; open triangles, sustained-responders with genotype 2b; closed circles, nonresponders with genotype 1b; closed squares, nonresponders with genotype 2a; closed triangles, nonresponders with genotype 2b.

logistic regression analysis identified the SNP of the MxA as independent determinant of the outcome of IFN therapy although univariate analysis showed borderline significance among all patients. The reason for mismatched results of the

two types of regression analyses was probably the lack of relationship between the SNP of the MxA on one hand and viral load and/or genotype on the other. Moreover, the number of MxA-T-positive patients was less than MxA-T-negative patients among those with a lower viral load (≤ 2 Meq/mL). This bias was rectified by multivariate logistic regression analysis, which identified the SNP of the MxA as an independent factor. Our study also showed that all patients with genotype 1b and more than 5 Meq/mL in HCV RNA were nonresponders. Therefore, among patients with a higher viral load (> 5 Meq/mL), the viral genotype (2a or 2b) was the most important factor associated with the outcome of IFN therapy. On the other hand, among patients with low viral load (≤ 2 Meq/mL), about half did not achieve a sustained determinant for the outcome of IFN therapy. Moreover, the SNP of the MxA gene was a more important factor than viral genotype in determining the outcome: a significantly higher proportion of patients positive for MxA-T showed a sustained response than those who were negative for MxA-T.

MxA is an IFN-inducible protein that contains consensus IFN-stimulated response elements (ISRE) within the promoter region [11, 15]. This polymorphic site (MxA promoter at nt -88) is involved in a genetic element with high homology to the ISRE consensus sequence and has been shown to play a role in regulation of a downstream reporter gene by a luciferase reporter assay [16, 17]. This suggests that the SNP of the MxA promoter might affect the expression of MxA and that carriers of MxA-T-positive might express the protein more efficiently when treated with IFN than those who are MxA-T-negative [11]. In previous clinical trials, the IFN-induced incremental levels of the MxA mRNA or protein were significantly higher in responders than in nonresponders to treatment [8, 9]. Hijikata *et al.* [11] and our findings suggested that MxA-T-positive patients who had a higher IFN-induced increment of expression of the MxA protein, might respond more efficiently than MxA-T-negative patients. Moreover, a recent report also showed that this SNP of MxA influenced the IFN response among patients with chronic hepatitis B infection [18].

Hijikata *et al.* [11] reported that the SNP of the MxA gene was an important factor in predicting outcomes of IFN therapy, independent of HCV genotype. However, in that study, HCV RNA levels were not considered in the IFN response. Our findings showed that HCV RNA levels and genotype were significant factors, especially in patients with high viral load. On the other hand, host factors like MxA may influence the IFN response in patients with low viral load. Recently, the SNP of low molecular mass polypeptide (LMP)7 has been identified as an important host factor that independently influences the response to IFN in patients with chronic hepatitis C [19]. LMP7 within the HLA class II region plays a pivotal role in the HLA class I-restricted antigen-presenting pathway [20, 21]. In this report, among patients with a low viral load (≤ 2.0 Meq/mL, bDNA probe

assay), a higher ratio of LMP7-K-positive patients showed a sustained response compared with those negative for LMP7-K. Although the mechanism(s) of this SNP in the response to IFN therapy remain unknown, host factors like MxA or LMP7 may influence the IFN response among chronic HCV patients with a low viral load.

Other host factors that may determine the response to IFN therapy, such as cytokine gene expression, have been investigated. Polymorphisms in the genes of interleukin (IL)-10, tumour necrosis factor- α (TNF- α), TNF- β and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in chronic HCV patients treated with IFN monotherapy or in combination with ribavirin have been examined [22–24]. Yee *et al.* [22] reported that the SNPs of the IL-10 promoter gene were associated with SR to a combination of interferon alfa-2b and ribavirin. However, another report [23] showed that the SNP of the TGF- β 1 gene may be associated with resistance to combination therapy while that of the IL-10 promoter was not. Therefore, the relationship between these polymorphisms and IFN response were not consistent and the findings differed among the studies. Further studies of the involvement of these factors are required.

In summary, we investigated the association of the SNP in the promoter region of the MxA gene, HCV viral load and viral genotype with IFN response in patients with chronic HCV infection. The SNP of the MxA gene influenced the IFN response among patients with a low viral load. However, viral genotype and HCV RNA levels were important factors in IFN response among patients with a high viral load. Recently, therapy either with IFN combined with ribavirin or with pegylated IFN has been reported to result in higher rates of sustained virological and biochemical responses than IFN monotherapy, even in patients with a high viral load [25, 26]. For such therapy, host factors such as MxA and LMP7 may help identify patients more or less likely to respond.

REFERENCES

- 1 Davis GL, Balart LA, Schiff ER *et al.* Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alfa. *N Engl J Med* 1989; 321: 1501–1506.
- 2 Di Bisceglie AM, Martin P, Kassianides C *et al.* Recombinant interferon alfa therapy for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1989; 321: 1506–1510.
- 3 Tsubota A, Chayama K, Ikeda K *et al.* Factors predictive of response to interferon-alpha therapy in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1994; 19: 1088–1094.
- 4 Pavlovic J, Zürcher T, Haller O, Staeheli P. Resistance to influenza virus and vesicular stomatitis virus conferred by expression of human MxA protein. *J Virol* 1990; 64: 3370–3375.
- 5 Zhao H, De BP, Das T, Banerjee AK. Inhibition of human parainfluenza virus-3 replication by interferon and human MxA. *Virology* 1996; 220: 330–338.
- 6 Jakschies D, Zchoval R, Muller R *et al.* Strong transient expression of the type I interferon-induced MxA protein in

- hepatitis A but not in acute hepatitis B and C. *Hepatology* 1994; 19: 857–865.
- 7 Roers A, Hochkeppel HK, Horisberger MA, Hovanessian A, Haller O. MxA gene expression after liver virus vaccination: a sensitive marker for endogenous type I interferon. *J Infect Dis* 1994; 169: 807–813.
 - 8 Fernández M, Antonio J, Quiroga JA *et al.* In vivo and In vitro induction of MxA protein in peripheral blood mononuclear cells from patients chronically infected with hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1999; 180: 262–267.
 - 9 Antonelli G, Simeoni E, Turriziani O *et al.* Correlation of interferon-induced expression of MxA mRNA in peripheral blood mononuclear cells with the response of patients with chronic active hepatitis C to IFN- α therapy. *J Interferon Cytokine Res* 1999; 19: 243–251.
 - 10 Matsushita M, Hijikata M, Matsushita M, Ohta Y, Mishiro S. Association of mannose-binding lectin gene haplotype LXPB and LYPB with interferon-resistant hepatitis C virus infection in Japanese patients. *J Hepatol* 1998; 29: 695–700.
 - 11 Hijikata M, Ohta Y, Mishiro S. Identification of a single nucleotide polymorphism in the MxA gene promoter (G/T at nt -88) correlated with the response of hepatitis C patients to interferon. *Intervirology* 2000; 43: 124–127.
 - 12 Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagel JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994; 19: 1513–1520.
 - 13 Simmonds P, Alberti A, Alter HJ *et al.* A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes. *Hepatology* 1994; 19: 1321–1324.
 - 14 Thio CL, Thomas DL, Carrington M. Chronic viral hepatitis and the human genome. *Hepatology* 2000; 31: 819–827.
 - 15 Chang KC, Hansen E, Foroni L, Lida J, Goldspink G. Molecular and functional analysis of the virus- and interferon-inducible human MxA promoter. *Arch Virol* 1991; 117: 1–15.
 - 16 Nakade K, Honda H, Nagata K. Promoter structure of the MxA gene that confers resistance to influenza virus. *FEBS Lett* 1997; 418: 315–318.
 - 17 Hijikata M, Mishiro S, Miyamoto C, Furuichi Y, Hashimoto M, Ohta Y. Genetic polymorphism of the MxA gene promoter and interferon responsiveness of hepatitis C patients: revisited by analysing two SNP sites (-123 and -88) in vivo and in vitro. *Intervirology* 2001; 44: 379–382.
 - 18 King JK, Yeh SH, Lin MW *et al.* Genetic polymorphism in interferon pathway and response to interferon treatment in hepatitis B patients: a pilot study. *Hepatology* 2002; 36: 1416–1424.
 - 19 Sugimoto Y, Kuzushita N, Takehara T *et al.* A single nucleotide polymorphism of the low molecular mass polypeptide 7 gene influences the interferon response in patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2002; 9: 377–384.
 - 20 Trowsdale J, Hanson I, Mockridge I, Beck S, Townsend A, Kelly A. Sequence encoded in the class II region of the MHC related to the 'ABC' superfamily of transporters. *Nature* 1990; 348: 741–744.
 - 21 Tanaka K, Tanahashi N, Tsurumi C, Yokota KY, Shimbara N. Proteasomes and antigen processing. *Adv Immunol* 1997; 64: 1–38.
 - 22 Yee LJ, Tang J, Gibson AW, Kimberly R, Leeuwen DJ, Kaslow RA. Interleukin 10 polymorphisms as predictors of sustained response in antiviral therapy for chronic hepatitis C infection. *Hepatology* 2001; 33: 708–712.
 - 23 Vidigal PG, Germer JJ, Zein NN. Polymorphisms in the interleukin-10, tumor necrosis factor- α , and transforming growth factor- β 1 genes in chronic hepatitis C patients treated with interferon and ribavirin. *J Hepatol* 2002; 36: 271–277.
 - 24 Rosen HR, McHutchison JG, Conrad AJ *et al.* Tumor necrosis factor genetic polymorphisms and response to antiviral therapy in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 714–720.
 - 25 McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER *et al.* Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998; 339: 1485–1492.
 - 26 Zeuzem S, Feinman SV, Rasensch J *et al.* Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666–1672.