

Peg - IFN α - 2b 单药或联合阿德福韦对前 C 区/BCP 区突变慢性乙型肝炎患者疗效比较研究

汪波¹, 刘艳艳¹, 李家斌^{1, 2}

摘要 目的 探讨聚乙二醇干扰素 α -2b (Peg-IFN α -2b) 单药或联合阿德福韦 (ADV) 对前 C 区 (PC 区) /基本核心启动子区 (BCP 区) 突变慢性乙型肝炎 (CHB) 患者疗效的差异。方法 89 例乙肝 e 抗原 (HBeAg) 阳性初治 CHB 患者, 随机接受 48 周 Peg-IFN α -2b + ADV 联合治疗或 Peg-IFN α -2b 单药治疗, 并随访 24 周。每位患者在治疗 0、4、8、12、24、36、48、60、72 周监测血清乙肝表面抗原 (HBsAg)、HBeAg、乙肝病毒 (HBV) DNA 及谷丙转氨酶 (ALT) 水平。结果 89 例患者中, 73 例 (82%) 为非野生型 (Non-WT) 患者, 16 例 (18%) 为野生型 (WT) 患者, 基线时 WT 和 Non-WT 患者中的单药组和联合组分别在年龄、性别、ALT、HBV DNA、HBeAg、HBsAg、基因型构成比、PC/BCP 区突变构成比等方面差异无统计学意义。治疗结束时 (第 48 周), Non-WT 患者中联合组和单药组 HBeAg 血清转换率和联合应答 (HBeAg 血清转换 + HBV DNA < 2 000 IU/ml, 并且 ALT 小于正常值上限) 率方面差异无统计学意义。随访结束时 (第 72 周), 73 例 Non-WT 患者中, 联合组 ($n = 40$) 和单药组 ($n = 33$) HBeAg 血清转换率之比差异无统计学意义 ($P = 0.519$), 但联合应答率差异之比有统计学意义 ($35\% vs 12\%$, $P = 0.028$)。结论 Peg-IFN α -2b 联合 ADV 较 Peg-IFN α -2b 单药可明显提高 PC/BCP 区突变 HBeAg 阳性 CHB 患者治疗随访后的联合应答率。

关键词 慢性乙型病毒性肝炎; 干扰素; 阿德福韦; 前 C 区; 基本核心启动子区

中图分类号 R 512.6

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2018) 10 - 1606 - 04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2018.10.025

乙型肝炎病毒 (Hepatitis B virus, HBV) 感染依然是一项严峻的全球性公共卫生问题, 每年因 HBV 感染相关性肝病死亡人数多达百万^[1]。当前, 核苷酸类似物 (nucleoside analogues, NAs) 和聚乙二醇干扰素 (pegylated interferon alfa, Peg-IFN α) 是治疗慢

性乙型肝炎 (chronic Hepatitis B, CHB) 的两类主要药物, 但两者在临床应用上均存在一定局限性。NAs 直接抑制病毒复制, 降低病毒载量, 但对 cccDNA 作用甚微, 可能需要终身服药^[2]。Peg-IFN α 通过促进细胞毒性 T 细胞裂解感染肝细胞, 并促进多种细胞因子的释放控制病毒复制, 具有免疫调节和抗病毒的双重功效, 但有限疗程 (48 周), 仅 25% ~ 30% 的患者可获得持久的治疗应答^[3]。有研究^[4-5]报道, HBV 前 C 区 (PC) 区 (G1896A) 和基本核心启动子区 (BCP) 区 (A1762T/G1764A) 突变可终止或抑制 HBeAg 的合成, 存在此变异的患者在 Peg-IFN α 治疗结束后, 容易复发或转变为 HBeAg 阴性 CHB 患者。尽管当前指南对 Peg-IFN α 联合 NAs 治疗 CHB 持谨慎态度, 但是对于存在 PC/BCP 区相关变异患者能否受益于联合治疗至今鲜有报道。因此, 该研究通过分析 Peg-IFN α -2b 单药或联合阿德福韦 (adefovir, ADV) 治疗 PC/BCP 区相关突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者的疗效情况, 为当前 CHB 患者个体化治疗提供新的依据及指导方向。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择 2012 年 6 月 ~ 2014 年 7 月安徽医科大学第一附属医院感染科收治的乙肝 e 抗原 (HBeAg) 阳性初治 CHB 患者, 共 89 例。入选标准按照《慢性乙型肝炎防治指南》^[6]: ① 乙肝表面抗原 (HBsAg) 和 HBeAg 两项均阳性并且 > 6 个月。② 乙肝病毒 (HBV) DNA $\geq 20\ 000$ IU/ml; $2 \times$ 正常值上限 (upper limits of the normal, ULN) \leq 谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) $\leq 10 \times$ ULN; ③ 血清总胆红素 $< 2 \times$ ULN; ④ 排除其他病毒感染、精神病史、自身免疫疾病、失代偿肝硬化等。本试验获得安徽医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准, 并与患者签署知情同意书。

1.2 实验方法

1.2.1 分组 89 例 CHB 初治患者随机接受单药治疗 (单用 Peg-IFN α -2b) 或联合治疗 (Peg-IFN α -2b + ADV)。单药组给予 Peg-IFN α -2b (爱尔兰先灵

2018 - 04 - 25 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81172737)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院感染科, 合肥 230022

² 安徽医科大学附属巢湖医院感染科, 巢湖 238000

作者简介: 汪波, 男, 硕士研究生;

李家斌, 男, 主任医师, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: lijiaabin948@vip.sohu.com

葆雅公司) 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 次/周(皮下注射); 联合组给予 Peg-IFN α -2b 1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 1 次/周(皮下注射), 并口服 ADV(10 mg/d)。

1.2.2 实验室检测 89 例患者基线时血清标本均提取 HBV DNA 模版、PCR 扩增和测序分析突变情况; 对于测序失败的 20 例样本进行 PCR 产物 TA 克隆, 每个样本挑取 16 个克隆测序分析突变有无, TA 克隆与测序部分由深圳华大基因公司(BGI)完成。HBV DNA 定量采用 Roche Cobas TaqMan48(美国 Roche 公司), 检查下限为 20 IU/ml, 检测上限为 $1.70\text{E}+8$ IU/ml。HBsAg、HBeAg 和 HBeAb 检测均采用 Roche Diagnostics(美国 Roche 公司), HBsAg 检查下限为 0.05 IU/ml, HBeAg < 1 COI 为阴性, > 1 COI 为阳性; HBeAb < 1 COI 为阳性, > 1 COI 为阴性。HBV 基因型送检上海之江生物有限公司。

1.2.3 治疗应答及突变的定义 前 12 周每位患者每 4 周随访 1 次, 12 周之后每位患者每 12 周随访 1 次, 直至 72 周结束。HBeAg 血清转换: 出现 HBeAg 阴性(< 1 COI)、HBeAb 阳性(< 1 COI)。联合应答: HBeAg 血清转换, 并且 HBV DNA < 2 000 IU/ml, 并伴有 ALT 低于正常值上限。关于突变: PC 为只存在 PC 区 G1896A 位点突变, BCP 为只存在 BCP 区 A1762T/G1764A 位点的双突变, Both 为 PC 和 BCP 两种突变均存在, 见表 1。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 21.0 软件进行分析。正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验; 非正态分布数据采用中位数及第 25、75 百分位数 [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 并采用 Mann-Whitney 秩和检验; 计数资料采用百分比(%)表示, 采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基线特征 89 例 CHB 初治患者中, 73 例(82%) 为 PC/BCP 区突变(非野生型, Non-WT) 患

者, 16 例(18%) 为野生型(WT) 患者。Non-WT 中 33 例患者接受单药治疗(单用 Peg-IFN α -2b), 40 例患者接受联合治疗(Peg-IFN α -2b + ADV)。WT 中 11 例患者接受单药治疗, 5 例患者接受联合治疗。WT 和 Non-WT 患者中的单药组和联合组分别在年龄、性别、ALT、HBV DNA、HBeAg、HBsAg、基因型构成比、PC/BCP 突变构成比方面差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

2.2 随访结束时应答情况 Non-WT 患者($n = 73$) 中, 单药组与联合组患者在 48 周 HBeAg 血清转换率、联合应答率上差异无统计学意义($P > 0.05$); 72 周随访结束时, 两组患者在 HBeAg 血清转换率上差异无统计学意义($P = 0.519$), 但在联合应答率上差异有统计学意义($P = 0.028$), 见表 2; 单药组 48 周获得联合应答的患者 3 例在 72 周时全部复发(HBV DNA > 2 000 IU/ml); 联合组 48 周联合应答的患者 8 例在 72 周保持联合应答仍有 6 例(75%)。联合组 72 周时出现 HBsAg 清除患者 2 例(5%), 而单药组未发现 HBsAg 清除患者。对于 WT 患者($n = 16$), 不管在 48 周或 72 周时, 单药组和联合组的 HBeAg 血清转换率和联合应答率上差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2.3 Non-WT 患者中单药组和联合组治疗结束和随访结束时 ALT、HBV DNA、HBsAg 和 HBeAg 水平的比较 治疗结束时, 联合组 ALT、HBV DNA 和 HBeAg 均值水平均低于单药组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 但是随访结束时, 联合组较单药组在 ALT、HBV DNA、HBsAg 和 HBeAg 水平上差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

3 讨论

HBV 虽然是一种 DNA 病毒, 但是它的复制却经过 RNA 中间产物介导, 由于 DNA 聚合酶缺乏校正功能和病毒高复制率双重因素, HBV 在复制过程

表 1 患者基线特征 [$\bar{x} \pm s$, $M(P_{25}, P_{75})$]

项目	Non-WT($n = 73$)				WT($n = 16$)			
	单药组($n = 33$)	联合组($n = 40$)	$t/Z/\chi^2$ 值	P 值	单药组($n = 11$)	联合组($n = 5$)	$t/Z/\chi^2$ 值	P 值
性别(男/女 n)	23/10	25/15	0.416	0.519	8/3	2/3	1.571	0.299
年龄(岁)	29(23, 34)	26(23, 29)	-1.698	0.089	26 \pm 5	24 \pm 5	0.826	0.423
ALT(U/L)	166(119, 288)	183(116, 353)	-0.538	0.590	159 \pm 83	190 \pm 123	-0.608	0.553
HBV DNA(Log ₁₀ IU/ml)	7.86(7.19, 8.27)	7.76(5.85, 8.42)	-0.621	0.535	7.96(7.13, 8.06)	8.43(7.92, 8.74)	-1.757	0.090
HBsAg(Log ₁₀ IU/ml)	3.99 \pm 0.61	3.87 \pm 0.65	0.784	0.436	4.05 \pm 0.56	4.73 \pm 0.35	-1.641	0.171
HBeAg(Log ₁₀ COI)	2.82(2.06, 3.04)	2.77(1.65, 2.95)	-0.842	0.400	3.05(2.96, 3.06)	2.96(2.81, 3.02)	0.282	0.320
基因型(B/C/Other n)	14/19/0	19/20/1	1.122	0.803	6/5/0	4/1/0	0.950	0.588
突变(PC/BCP/Both n)	12/11/10	14/12/14	0.195	0.915	-	-	-	-

表2 Non-WT 和 WT 患者 48 周和 72 周治疗应答情况 [n(%)]

治疗应答	Non-WT(n = 73)				WT(n = 16)				
	单药组(n = 33)	联合组(n = 40)	χ^2 值	P 值	单药组(n = 11)	联合组(n = 5)	χ^2 值	P 值	
治疗结束(48 周)	HBeAg 血清转换	4 (12)	9 (23)	1.331	0.249	1(9)	2(40)	2.156	0.214
	联合应答	3(9)	8(20)	1.681	0.333	1(9)	2(40)	2.156	0.214
随访结束(72 周)	HBeAg 血清转换	10(30)	15(38)	0.416	0.519	2(18)	3(60)	2.798	0.245
	联合应答	4(12)	14(35)	5.095	0.028	1(9)	2(40)	2.156	0.214

表3 Non-WT 患者中单药组与联合组血清标志物比较 [$\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$]

组别	治疗结束时(第 48 周)				随访结束时(第 72 周)			
	ALT (U/L)	HBV DNA (Log ₁₀ IU/ml)	HBsAg (Log ₁₀ IU/ml)	HBeAg (Log ₁₀ COI)	ALT (U/L)	HBV DNA (Log ₁₀ IU/ml)	HBsAg (Log ₁₀ IU/ml)	HBeAg (Log ₁₀ COI)
单药(n = 33)	54 ± 26	5.09(2.69 6.74)	3.47(2.66 4.11)	1.36 ± 1.29	54(29, 105)	6.44(4.10 7.89)	3.56(2.89 3.88)	1.36 ± 1.47
联合(n = 40)	36 ± 20	1.66(0 2.40)	3.18(2.04 3.73)	0.56 ± 0.98	34(20, 164)	4.43(2.16 7.94)	3.63(3.12 4.17)	0.87 ± 1.52
χ^2/Z 值	3.229	-4.652	-0.998	2.917	-1.053	-0.848	-0.986	1.391
P 值	0.002	<0.001	0.319	0.005	0.292	0.396	0.324	0.169

中容易产生突变^[7]。文献^[4-5 8]报道,HBV PC/BCP 区相关变异可以对 Peg-IFN α 的疗效产生影响,其中以 G1896A 和 A1762T/G1764A 突变位点最为重要。存在相应突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者虽然在治疗结束后可以获得较高的 HBeAg 血清转换率,但是多数患者随访后会发病毒学的反弹,最终可能发展为 HBeAg 阴性 CHB 患者^[5]。这对 CHB 患者的个体化治疗提出了挑战。

改变治疗策略,最大限度地提高 CHB 患者治疗结束后的持续应答率是当前国内外众多专家共识。本研究随访结束时联合治疗组和单药组均获得了较高的 HBeAg 血清转换率(37% vs 30%),但在联合应答率上联合治疗组明显高于单药组(35% vs 12%)。这说明 PC/BCP 区突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者不管是单药治疗还是联合治疗均较易出现 HBeAg 的血清学转换,但联合治疗可以明显降低随访后的病毒学反弹率。其中的机制可能与 ADV 降低病毒载量,增强机体对 Peg-IFN α -2b 应答存在一定关系^[9]。在机体免疫清除 HBV 过程中需要固有免疫和适应性免疫的协调配合,而研究^[10]表明 HBV 具有潜在抑制固有免疫能力,并且高水平的 HBsAg 和 HBeAg 与 T 细胞的耗竭存在关系。Peg-IFN α -2b 可以通过促进 CD56bright(高表达 CD56) NK 细胞的增殖及 IL-15 的表达,上调 TNF 相关凋亡诱导配体(TRAIL) 和 IFN- γ ,引起感染肝细胞的凋亡从而降低病毒载量及 HBsAg 水平^[11]。但是 Peg-IFN α -2b 对 CD8⁺ T 细胞的作用与 NK 细胞存在存在差异,研究^[12]报道在 Peg-IFN α -2b 治疗过程中可以导致 CD8⁺ T 细胞的耗竭,此外 HBV-特异性 CD8⁺ T 细胞始终处于低频状态,未能观察到其功能的恢

复。相反,核苷类似物治疗过程中可以观察到 CD8⁺ T 细胞的恢复,但未见对 NK 细胞功能有恢复作用^[12],其中的作用机制仍未完全清除,可能与直接抑制病毒复制,促进 CD4⁺ Th1 细胞分化进而促进 CD8⁺ T 细胞的分化激活有关。存在 PC/BCP 突变的 CHB 患者在 Peg-IFN α -2b 治疗过程中,HBV DNA 载量降低较慢常保持高水平,这可能限制了 CD8⁺ T 细胞恢复,从而限制了机体免疫对 Peg-IFN α -2b 的疗效;而在治疗过程中联合 ADV 可明显降低病毒载量,从而帮助恢复 CD8⁺ T 功能。正是两者不同而又互补的免疫修复机制,为联合治疗控制 HBV 感染提供了依据。本研究突变组中 2 例(5%) HBsAg 清除患者均接受联合治疗,作为抗病毒治疗的理想终点,Peg-IFN α -2b 联合 ADV 对存在 PC/BCP 区突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者的 HBsAg 清除率依然较低,与以往的干扰素单药治疗类似。

Peg-IFN α -2b 联合 ADV 可以提高联合应答率,相关结论是否可以推广到 Peg-IFN α 联合拉米夫定、恩替卡韦或替诺福韦仍不清楚,这有待进一步的研究与验证。关于 Peg-IFN α 联合 NAs 的时机,各国学者对 CHB 患者也进行了诸多探索:序贯治疗(先接受 Peg-IFN α 或 NAs 一段时间治疗,再转变为另一种药物)、添加治疗(Peg-IFN α 或 NAs 治疗过程中添加另一种药物)或本试验的双重治疗(Peg-IFN α 与 NAs 同时联合)。是否每种治疗策略对 PC/BCP 区突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者疗效均相同,仍有待更大的前瞻性多中心研究。

综上所述,本研究显示 Peg-IFN α -2b 联合 ADV,可明显提高 PC/BCP 区突变的 HBeAg 阳性 CHB 患者随访后联合应答率。对于临床实验室检测存在

PC/BCP 区突变的 CHB 患者,建议在常规 Peg-IFN α -2b 治疗方案上增加 ADV 进行治疗。

参考文献

- [1] European Association for the Study of the Liver. Electronic address eee, European Association for the Study of the L. EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol* 2017 67 (2): 370-98.
- [2] Ren H. The experience of management of chronic hepatitis B in China[J]. *J Viral Hepat* 2017 24(Suppl 1): 4-5.
- [3] Li S Y, Li H, Xiong Y L, et al. Peginterferon is preferable to entecavir for prevention of unfavourable events in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B: a five-year observational cohort study [J]. *J Viral Hepat* 2017 24(Suppl 1): 12-20.
- [4] Sonneveld M J, Rijckborst V, Zeuzem S, et al. Presence of precore and core promoter mutants limits the probability of response to peginterferon in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B [J]. *Hepatology* 2012 56 (1): 67-75.
- [5] Yang H C, Chen C L, Shen Y C, et al. Distinct evolution and predictive value of hepatitis B virus precore and basal core promoter mutations in interferon-induced hepatitis B e antigen seroconversion [J]. *Hepatology* 2013 57 (3): 934-43.
- [6] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2015 更新版) [J]. *中华传染病杂志* 2015 33 (11): 641-62.
- [7] Ghany M G, Doo E C. Antiviral resistance and hepatitis B therapy [J]. *Hepatology* 2009 49 (5 Suppl): S174-84.
- [8] Zoutendijk R, Sonneveld M J, Reijnders J G, et al. Precore and core promoter mutants are associated with higher HBeAg seroconversion but low disease remission rates in HBV patients treated with nucleos(t)ide analogues [J]. *J Viral Hepat* 2013 20 (5): 322-7.
- [9] Li H, Wang H, Peng C, et al. Predictors for efficacy of combination therapy with a nucleos(t)ide analogue and interferon for chronic hepatitis B [J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2017 37 (4): 547-55.
- [10] Lütgehetmann M, Bornscheuer T, Volz T, et al. Hepatitis B virus limits response of human hepatocytes to interferon- α in chimeric mice [J]. *Gastroenterology* 2011 140 (7): 2074-83.
- [11] Micco L, Peppà D, Loggi E, et al. Differential boosting of innate and adaptive antiviral responses during pegylated-interferon-alpha therapy of chronic hepatitis B [J]. *J Hepatol* 2013 58 (2): 225-33.
- [12] Su T H, Liu C J. Combination therapy for chronic hepatitis B: current updates and perspectives [J]. *Gut Liver* 2017 11 (5): 590-603.

Comparison of the efficacy of Peg-IFN α -2b combined with adefovir and Peg-IFN α -2b mono-therapy in patients with precore and basal core promoter mutants

Wang Bo¹, Liu Yanyan¹, Li Jiabin^{1,2}

(¹Dept of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022;

²Dept of Infectious Disease, The Affiliated Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Chaohu 238000)

Abstract Objective To investigate the efficacy of Peg-IFN α -2b combined with adefovir and Peg-IFN α -2b mono-therapy in patients with precore (PC) and basal core promoter mutants (BCP). **Methods** Eighty-nine treatment-naïve patients with HBeAg-positive CHB were treated with Peg-IFN α -2b mono-therapy or combined with adefovir for 48 weeks and followed up for 24 weeks. Serum HBsAg, HBeAg, HBV DNA and ALT levels were measured at baseline (week 0), during the treatment period (weeks 4, 8, 12, 24 and 48), and during follow-up period (weeks 60 and 72). **Results** Of the 89 patients, 16 (18%) patients showed wild-type virus, 73 (82%) patients showed the PC/BCP mutants. No significant difference was observed in age, sex, serum ALT level, HBV DNA, HBeAg, HBsAg, genotype and mutation between mono-therapy group and combination therapy group in patients with wild-type virus or mutants. At the end of treatment (week 48), there was no significant difference in HBeAg seroconversion rate or combined response (HBeAg seroconversion + HBV DNA < 2 000 IU/ml, and ALT normalization) between the combined therapy group and mono-therapy group in patients with mutants. At the end of follow-up (week 72), the HBeAg seroconversion rate was no significant difference between the combined therapy group and mono-therapy group in patients with mutants ($P=0.519$). But the combined response rate was significant difference between the two group (35% vs 12%, $P=0.028$) in patients with mutants. **Conclusion** HBeAg-positive CHB with PC and/or BCP mutants have a high probability of combined response for Peg-IFN α -2b plus adefovir therapy.

Key words chronic hepatitis B; interferon; adefovir; precore; basal core promoter