

## · 临床论著 ·

## 丙型肝炎病毒基因型和抗病毒治疗病毒学应答的相关性研究

程丹颖 闫杰 赵红 王艳斌 谢雯 成军

**【摘要】 目的** 探讨慢性丙型肝炎病毒(HCV)感染者病毒基因型对聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗病毒学应答的影响。**方法** 采用PCR产物直接测序法检测71例HCV感染者的HCV基因型。所有患者接受聚乙二醇化干扰素皮下注射,联合口服利巴韦林抗病毒治疗。分析HCV基因型对快速病毒学应答(RVR)、早期病毒学应答(EVR)、治疗结束时病毒学应答(ETVR)和持续病毒学应答(SVR)的影响。**结果** 71例患者中,HCV基因1b型48例,占67.6%;2a型12例,占16.9%;3a型6例,占8.5%;3b型2例,占2.8%;6a型1例,占1.4%;未分型2例,占2.8%。治疗4周时,基因1型组和非1型组的RVR分别为27.1%和87.0%,差异具有统计学意义( $\chi^2=22.4076$ ,  $P=0.000002$ )。治疗12周时,基因1型组和非1型组的EVR分别为39.6%和13.0%,差异有统计学意义( $\chi^2=5.1216$ ,  $P=0.02363$ )。疗程结束时,基因1型组和非1型组的ETVR分别为68.8%和100%,差异无统计学意义( $\chi^2=2.9520$ ,  $P=0.08577$ )。已停药随访24周的患者出现SVR者,基因1型组、非1型组分别为62.22%和100%,差异具有统计学意义( $\chi^2=8.3797$ ,  $P=0.00379$ )。**结论** 我国HCV感染者基因型以1b型和2a型为主。基因1型HCV感染者的RVR、EVR和SVR均低于非基因1型者。

**【关键词】** 丙型肝炎病毒; 基因型; 聚乙二醇化干扰素; 利巴韦林; 病毒学应答

**Relationships between hepatitis C virus genotypes and the efficacy of antiviral therapy** CHENG Dan-ying, YAN Jie, ZHAO Hong, WANG Yan-bin, XIE Wen, CHENG Jun. Department of Hepatology, Capital Medical University, Beijing Ditan Hospital, Beijing 100015, China  
Corresponding author: XIE Wen, Email: xiewen6218@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate viral genotypes of patients with chronic hepatitis C and its effects on virologic response of the combination therapy with peg-interferon plus ribavirin. **Methods** HCV genotypes of 71 patients were detected by direct sequencing of PCR products. All patients were treated with peg-interferon plus ribavirin. The rapid virological response (RVR), early virological response (EVR), end-of-treatment virological response (ETVR) and sustained virological response (SVR) rates of patients in different genotypes were compared and analyzed, respectively. **Results** Among 71 patients who infected with HCV, 48 cases (67.6%) were genotype 1b, 12 cases (16.9%) genotype 2a, 6 cases (8.5%) genotype 3a, 2 cases (2.8%) genotype 3b, 1 case (1.4%) genotype 6a, 2 cases (2.8%) with undifferentiated genotype. At the 4th week after treatment, RVR rates were 27.1% and 87.0% in genotype 1 and non-genotype 1 patients, respectively, with significant difference ( $\chi^2=22.4076$ ,  $P=0.000002$ ). At the 12th week after the treatment, EVR rates were 39.6% and 13.0% in genotype 1 and non-genotype 1 patients, respectively, with significant difference ( $\chi^2=5.1216$ ,  $P=0.02363$ ). When the treatment was finished, ETVR rates were 68.8% and 100% in genotype 1 and non-genotype 1 patients, respectively, without significant difference ( $\chi^2=2.9520$ ,  $P=0.08577$ ). For patients who had finished treatment and were followed-up for 24 weeks, the SVR rates were 62.22% and 100% in genotype 1 and non-genotype 1 patients, respectively, with significant difference ( $\chi^2=8.3797$ ,  $P=0.00379$ ). **Conclusions** The most common genotypes in China are 1b and 2a. The RVR, EVR

and SVR rates of genotype 1 were significantly lower than those of non-genotype 1.

【Key words】 Hepatitis C virus; Genotype; Pegylated interferon; Ribavirin; Virologic response

慢性丙型肝炎是严重危害人类健康的疾病之一。我国约3800万人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV), 一般人群抗-HCV阳性率为3.2%<sup>[1]</sup>。HCV基因型主要为1b和2a, 一项流行病学调查显示我国慢性丙型肝炎患者中HCV基因1型感染者占78%<sup>[1]</sup>。本研究对71例HCV感染者进行基因型检测, 并对其进行聚乙二醇化干扰素和利巴韦林联合治疗, 观察HCV基因型对病毒学应答的影响, 报道如下。

## 资料与方法

### 一、研究对象和治疗方法

选取首都医科大学附属北京地坛医院肝病中心内三科2009年7月至2011年12月门诊及住院的慢性丙型肝炎及代偿期丙型肝炎肝硬化患者共71例, 诊断符合2004年中华医学会肝病学会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会联合修订的《丙型肝炎防治指南》<sup>[3]</sup>的诊断标准, 其中男性37例, 女性34例, 抗-HCV阳性, HCV RNA阳性, 并排除甲型、乙型、丁型、戊型肝炎病毒及人类免疫缺陷病毒感染, 无自身免疫性肝炎, 无饮酒及服用对肝脏有损伤的药物史。排除有严重心、肺、肾疾病, 癫痫、精神病史及失代偿期肝硬化的患者。所有患者均接受聚乙二醇化干扰素( $\alpha$ -2a或2b)皮下注射, 联合利巴韦林分次口服(慢性丙型肝炎患者根据体重900~1200 mg/d, 肝硬化患者600 mg/d), 疗程至少48周。本研究经本院伦理委员会同意, 所有患者自愿接受治疗并签署知情同意书。

### 二、观察指标

检测治疗前和治疗4、12、24、36和48周时HCV RNA含量。观察快速病毒学应答(rapid virological response, RVR)、早期病毒学应答(early virological response, EVR)、治疗结束时病毒学应答(end-of-treatment virological response, ETVR)、持续病毒学应答(sustained virological response, SVR)。RVR是指治疗4周时血清HCV RNA载量低于检测下限(lower limit of detection, LLD), 并持续至治疗结束。EVR是指治疗4周时HCV RNA仍可检测到, 但在治疗12周时低于LLD, 并持续至治疗结束。ETVR是指治疗结束时HCV RNA载量低于LLD。SVR是指达到ETVR, 停药随访24周仍维持HCV RNA载量低于LLD。

### 三、检测方法

采用酶联免疫方法(enzyme linked

immunosorbent assay, EIA)检测抗-HCV。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)方法检测HCV RNA含量, 检测试剂盒由上海科华生物工程股份有限公司提供, 定量结果< 500 拷贝/ml为阴性。采用PCR产物直接测序法检测HCV基因型。

### 四、统计学分析

采用SPSS 13.0软件进行统计分析, 连续变量采用 $t$ 检验进行组间比较, 分类变量采用卡方检验或Fisher's确切概率法进行组间比较, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、HCV基因型检测

71例HCV感染者中, HCV基因1b型48例, 占67.6%; 2a型12例, 占16.9%; 3a型6例, 占8.5%; 3b型2例, 占2.8%; 6a型1例, 占1.4%; 未分型2例, 占2.8%。

### 二、治疗前患者的临床资料

71例HCV感染者中, 男性37例, 女性34例, 年龄18~72岁, 平均年龄( $44.82 \pm 13.52$ )岁。慢性丙型肝炎患者65例, 代偿期肝硬化患者6例。43例有明确输血史, 占60.56%, 5例有手术史, 4例有静脉吸毒史, 4例有口腔治疗史, 母婴传播1例, 同性恋1例, 其余13例感染途径不明。治疗前患者的流行病学和临床资料见表1。除感染方式外, 基因1型组和非1型组患者在性别、年龄、肝硬化患者比例、治疗前转氨酶水平、病毒载量等差异均无统计学意义, 具有可比性( $P > 0.05$ ), 见表1。

### 三、不同HCV基因型感染者RVR、EVR、ETVR和SVR的比较

71例患者均已结束抗病毒治疗。治疗4周时, 33例(46.5%)获得了RVR, 基因1型组和非1型组的RVR分别为27.1%和87.0%, 差异具有统计学意义( $\chi^2 = 22.4076, P < 0.001$ )。12周时, 13例患者因治疗无应答和(或)无法耐受药物不良反应停止治疗, 22例(31.0%)获得了EVR, 基因1型组和非1型组的EVR分别为39.6%和13.0%, 差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.122, P = 0.024$ )。1例患者于治疗28周时确诊淋巴瘤, 退出治疗, 1例患者疗程后期出现病毒学突破。疗程结束时, 基因1型组、非1型组的ETVR分别为68.8%和100%, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.9520, P =$

表1 71例慢性HCV感染者治疗前流行病学和临床资料

指标	HCV基因1型	HCV非基因1型	统计量	P
例数	48	23		
性别(男:女)	26:22	11:12	$\chi^2 = 0.250$	0.617
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	45.46 $\pm$ 13.95	43.48 $\pm$ 12.80	$t = 0.155$	0.877
丙型肝炎肝硬化[例(%)]	6(12.5)	0(0)	$\chi^2 = 3.148$	0.076
感染方式[例(%)]				
输血	34(70.83)	9(39.13)	$\chi^2 = 6.465$	0.011
手术	1(2.08)	4(17.39)	$\chi^2 = 5.596$	0.018
静脉吸毒	0(0)	4(17.39)	$\chi^2 = 8.808$	0.003
口腔治疗	2(4.17)	2(8.70)	$\chi^2 = 0.599$	0.439
不明原因	10(20.83)	3(13.04)	$\chi^2 = 0.631$	0.427
ALT(U/L, $\bar{x} \pm s$ )	69.82 $\pm$ 56.85	105.98 $\pm$ 100.01	$t = 1.585$	0.117
AST(U/L, $\bar{x} \pm s$ )	48.64 $\pm$ 27.72	54.22 $\pm$ 33.78	$t = 0.739$	0.463
HCV RNA( $\log_{10}$ 拷贝/ml, $\bar{x} \pm s$ )	7.05 $\pm$ 0.70	7.09 $\pm$ 0.51	$t = 0.204$	0.839

0.08577)。不同基因型感染者RVR、EVR和ETVR的比较见表2。10例患者停止治疗仍在随访观察中,其余患者已完成停药后24周随访,2例出现复发,均为基因1b型,总SVR为72.13%,基因1型组、非1型组的SVR分别为62.22%和100%,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 8.3797$ ,  $P = 0.00379$ ),见表2。

表2 不同HCV基因型感染者RVR、EVR和ETVR[例(%)]

HCV基因型	例数	RVR	EVR	ETVR
1型	48	13(27.08)	19(39.58)	33(68.75)
非1型	23	20(86.96)	3(13.04)	23(100)
$\chi^2$		22.4076	5.1216	2.9520
P		< 0.0001	0.0236	0.0858

## 讨 论

HCV感染后,75%~80%患者转为慢性,部分患者可发展为肝硬化甚至肝细胞癌,对患者的健康和生命危害极大,已成为严重的社会和公共卫生问题。有效的抗病毒治疗可改善患者长期生存率与生活质量。

对慢性丙型肝炎患者来说,只要HCV RNA阳性,则提示具有抗病毒治疗的适应证,都应进行积极规范的抗病毒治疗<sup>[2-3]</sup>。对符合治疗指征的肝硬化患者仍应考虑抗病毒治疗<sup>[4]</sup>。聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林是目前慢性丙型肝炎抗病毒治疗的标准方案<sup>[5]</sup>。HCV基因型与基线HCV RNA载量是影响抗病毒疗效的最重要的基线指标。我国的丙型肝炎防治指南及抗病毒治疗专家共识均建议,对于基因1型或(和)HCV RNA定量 $\geq 2 \times 10^6$ 拷贝/ml者,推荐疗程为48周,对于非基

因1型和(或)HCV RNA定量 $< 2 \times 10^6$ 拷贝/ml者,推荐疗程为24周<sup>[1,5]</sup>。国外研究报道,基因1型HCV感染者治疗48周的SVR为40%~54%,基因2型和基因3型者治疗24周的SVR率可达65%~82%<sup>[6]</sup>。感染基因1型HCV的慢性丙型肝炎患者抗病毒治疗的SVR还与种族因素相关<sup>[7-10]</sup>,亚洲人种可获得更高的SVR率<sup>[9,11]</sup>。研究发现,种族因素导致抗病毒应答的差异可能与宿主白细胞介素28B(IL-28B)基因上的两个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点——rs-12979860和rs-8099917有关<sup>[7,12-16]</sup>。携带rs-12979860 CC基因型的患者清除HCV的可能性是CT或TT基因型的3倍<sup>[13]</sup>,而携带rs-8099917基因GG型患者的标准疗法失败率是GT或TT型患者的2倍<sup>[14]</sup>。不同人种携带rs-12979860等位基因C的频率不同,以东亚人最高,欧洲人次之,非洲裔美国人最低<sup>[13,16]</sup>,这与亚洲人种抗HCV治疗的高应答率有关<sup>[9]</sup>。廖祥伟等<sup>[17]</sup>发现,在HCV 1b型患者中,CC基因型患者较非CC基因型患者能获得更高的SVR率;但对于HCV非1b型患者,CC基因型和非CC基因型抗病毒治疗差异无显著性。我国人口中85%以上IL-28B基因型为rs-12979860CC,70%基因1型患者采用聚乙二醇化干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗可获得SVR。2011年欧洲肝脏研究协会年会(EASL)及美国肝病学会(AASLD)丙型肝炎指南均提出IL-28B基因型是预测获得SVR的强有力因素<sup>[12,18]</sup>。宿主IL-28B基因多态性影响抗HCV治疗应答的机制尚不清楚。可能与基因表达、mRNA的剪接、蛋白质稳定性或细胞因子的改变而影响蛋白质的功能有关<sup>[14-15,19]</sup>。

在我国,HCV基因型主要以1b型为主,2a型次之<sup>[1]</sup>。本研究结果显示,所观察的71例HCV感染者基因型以



1b型和2a型为主,分别占67.6%和16.9%,与文献报道一致。本研究将所有患者按HCV基因型分为基因1型组和非1型组,对两组患者的临床资料和抗病毒治疗后病毒学应答情况进行分析和比较。研究结果显示,两组患者在性别、年龄、肝硬化患者比例、治疗前转氨酶水平和病毒载量等方面差异均无统计学意义。流行病学史方面,本研究中4例患者曾有静脉吸毒史。文献报道,毒品静脉注射者HCV基因型一般为1a型<sup>[20]</sup>;而本研究中4例患者均为非基因1型。我国HCV感染者基因型以1b型为主,且本研究中88.7%的患者为基线HCV RNA定量 $\geq 2 \times 10^6$ 拷贝/ml的高病毒载量者,故建议抗病毒治疗至HCV RNA低于检测下限后持续44周。本研究结果显示,基因1型HCV感染者的RVR、EVR和SVR均低于基因非1型者,基因1型组、非1型组的SVR分别为62.22%和100%,高于国外文献报道。

由于我国HCV感染者基因型以1b型为主、基层医院无法开展HCV基因型检测等原因,大部分医生建议患者接受48周联合抗病毒治疗以降低复发率。2010版英国国家卫生与临床医疗研究院(NICE)及2011年EASL丙型肝炎防治指南均强调了对不存在应答不佳预测因素(如重度纤维化/肝硬化、代谢综合征、胰岛素抵抗与肝脂肪变)的部分患者可适当缩短疗程,并认为其疗效与标准治疗方案相似<sup>[12,21]</sup>。基于我国国情,建议广泛开展HCV基因型检测,对于基因1型者还需检测宿主IL-28B基因多态性,并可考虑缩短非基因1型HCV感染者及基因1型携带IL-28B应答优良基因型患者抗病毒的疗程,同时治疗前应与学生充分沟通以获得良好的依从性,治疗中需密切监测疗效及药物不良反应,并根据病毒学应答指导的治疗(response guided therapy, RGT)原则调整治疗方案,从而提高临床治愈率,减少药物不良反应,并最大限度地降低治疗成本。对此尚需进一步深入研究,逐渐形成适合我国HCV感染者的抗病毒治疗路线图。

### 参考文献

- 中华医学会肝病学会、中华医学会传染病与寄生虫病学分会、丙型肝炎防治指南. 中华流行病学杂志, 2004, 25(5): 369-375.
- Tox U, Schulte S, Heindl B, et al. Ribavirin priming in patients with chronic hepatitis C and normal ALT: a pilot study. *Hepatogastroenterology*, 2008, 55(86): 1666-1670.
- Dieterich DT, Rizzetto M, Manns MP. Management of chronic hepatitis C patients who have relapsed or not responded to pegylated interferon alpha plus ribavirin. *J Viral Hepat*, 2009, 16(12): 833-843.
- Helbling B, Jochum W, Stamenic I, et al. HCV-related advanced fibrosis/cirrhosis: randomized controlled trial of pegylated interferon alpha-2a and ribavirin. *J Viral Hepat*, 2006, 13(11): 762-769.
- 慢性丙型肝炎抗病毒治疗专家委员会. 慢性丙型肝炎抗病毒治疗专家共识. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2009, 3(3): 59-64.
- Manns M, Zeuzem S, Sood A, et al. Reduced dose and duration of peginterferon alfa-2b and weight-based ribavirin in patients with genotype 2 and 3 chronic hepatitis C. *J Hepatol*, 2011, 55(3): 554-563.
- McHutchison JG, Lawitz EJ, Shiffman ML, et al. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for treatment of hepatitis C infection. *N Engl J Med*, 2009, 361(10): 580-593.
- Missiha S, Heathcote J, Arenovich T, et al. Impact of Asian race on response to combination therapy with peginterferon alfa-2a and ribavirin in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102(10): 2181-2188.
- Liu CH, Liu CJ, Lin CL, et al. Pegylated interferon-alpha-2a plus ribavirin for treatment-naïve Asian patients with hepatitis C virus genotype 1 infection: a multicenter, randomized controlled trial. *Clin Infect Dis*, 2008, 47(10): 1260-1269.
- Yan KK, Guirgis M, Dinh T, et al. Treatment responses in Asians and Caucasians with chronic hepatitis C infection. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(21): 3416-3420.
- Yu ML, Chuang WL. Treatment of chronic hepatitis C in Asia: when East meets West. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(3): 336-345.
- European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of hepatitis C virus infection. *J Hepatol*, 2011, 55(2): 245-264.
- Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and to spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*, 2009, 461(7265): 798-801.
- Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet*, 2009, 41(10): 1100-1104.
- Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet*, 2009, 41(10): 1105-1109.
- Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*, 2009, 461(7262): 399-401.
- 廖祥伟, 凌云, 李新华, 等. 宿主IL28B基因型联合病毒基因型对慢性丙型肝炎抗病毒疗效的预测. 中国病毒病杂志, 2011, 1(1): 35-40.
- Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, et al. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*, 2011, 54(4): 1433-1444.
- David LT, Chloe LT, Maureen PM, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*, 2009, 461(7265): 798-802.
- 王静, 王露楠. 丙型肝炎基因型定量检测及分型检测方法的研究进展. 世界华人消化杂志, 2007, 15(27): 2897-2902.
- National Institute for Health and Clinical Excellence. Peginterferon alfa and ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C. NICE technology appraisal guidance 200. 2010: 1-46.

(收稿日期: 2012-11-26)

(本文编辑: 孙荣华)

程丹颖, 闫杰, 赵红, 等. 丙型肝炎病毒基因型和抗病毒治疗病毒学应答的相关性研究[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(3): 353-356.