

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671-9638. 20244224

· 论 著 ·

Peg-IFN 治疗 NAs 经治 HBeAg 阴性 CHB 患者的疗效分析及预测

高明健^{1,3}, 胡 琴², 郭皓宇³, 李 倩⁴, 侯周华^{1,5}

[1. 中南大学湘雅医院感染病科, 湖南 长沙 410008; 2. 中南大学湘雅医院药学部, 湖南 长沙 410008; 3. 南华大学附属长沙市中心医院感染性疾病科, 湖南 长沙 410004; 4. 湖南省胸科医院结核病科, 湖南 长沙 410013; 5. 国家老年疾病临床医学研究中心(湘雅), 湖南 长沙 410008]

[摘要] 目的 探讨聚乙二醇干扰素 α -2b(Peg-IFN α -2b)联合核苷(酸)类似物(NAs)治疗 NAs 经治的乙型肝炎病毒 e 抗原(HBeAg)阴性慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者的疗效及其影响因素,以及白细胞介素(IL)-28B 和程序性死亡受体-1(PD-1)的单核苷酸多态性与干扰素治疗应答的相关性。方法 回顾性收集 2020 年 1 月—2022 年 12 月就诊于中南大学湘雅医院 HBeAg 阴性的 CHB 患者,以 Peg-IFN α -2b 联合 NAs 治疗为研究组,NAs 单药继续治疗为对照组,分析两组患者在治疗的第 12、24、48 周的临床疗效,以及第 72 周患者持续应答及复发情况,并采用 PD-1 及 IL-28B 单核苷酸多态性评估 HBeAg 阴性 CHB 患者对干扰素治疗应答的价值。结果 在治疗的第 48 周,研究组 HBeAg 阴性 CHB 患者应答率[52.05%(38/73)]高于对照组[1.64%(1/61), $P < 0.05$];研究组 HBeAg 阴性 CHB 患者中基线 HBsAg < 100 IU/mL 相较于 HBsAg ≥ 1000 IU/mL、HBsAg < 1000 IU/mL 相较于 HBsAg ≥ 1000 IU/mL 的患者治疗第 48 周应答率均更高(均 $P < 0.05$);单因素和多因素分析显示,研究组 HBeAg 阴性 CHB 患者中 HBsAg 基线水平($OR = 1.004$, 95% $CI: 1.001 \sim 1.006$)和治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度($OR = 0.111$, 95% $CI: 0.034 \sim 0.362$)是干扰素联合 NAs 治疗应答的影响因素(均 $P < 0.05$);单核苷酸多态性分析结果显示,研究组 HBeAg 阴性 CHB 患者中 PD-1 rs10204525 C/T 杂合突变型在应答人群占比更高(66.67% VS 16.67%, $P < 0.05$),而 IL-28B 无明显差异($P > 0.05$)。结论 NAs 经治的 HBeAg 阴性 CHB 患者联合 Peg-IFN α -2b 治疗可达到更高的 HBsAg 清除率和血清学转换率,治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度可较好地预测治疗第 48 周的应答。低 HBsAg 基线水平患者及携带 PD-1 rs10204525C/T 杂合突变基因的患者接受 Peg-IFN α -2b 的疗效更佳。

[关键词] 慢性乙型病毒性肝炎;聚乙二醇干扰素 α -2b;单核苷酸多态性;白细胞介素-28B;程序性死亡受体-1;PD-1

[中图分类号] R512.6⁺2

Clinical efficacy and prediction of pegylated interferon treatment on HBeAg-negative chronic hepatitis B patients who had received nucleoside analogues treatment

GAO Ming-jian^{1,3}, HU Qin², GUO Hao-yu³, LI Qian⁴, HOU Zhou-hua^{1,5} (1. Department of Infectious Diseases, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 2. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China; 3. Department of Infectious Diseases, Changsha Central Hospital Affiliated to University of South China, Changsha 410004, China; 4. Department of Tuberculosis, Hunan Chest Hospital, Changsha 410013, China; 5. National Clinical Medical Research Center for Geriatric Disorders [Xiangya], Changsha 410008, China)

[收稿日期] 2023-09-15

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82270657);长沙市自然科学基金项目(kq2202368)

[作者简介] 高明健(1996-),男(汉族),安徽省池州市人,住院医师,主要从事病毒性肝炎方向研究。胡琴为共同第一作者。

[通信作者] 侯周华 E-mail: houzhouhua@csu.edu.cn

[Abstract] Objective To explore the efficacy and influencing factors of polyethylene glycol interferon α -2b (Peg-IFN α -2b) combined nucleoside analogues (NAs) in the treatment of hepatitis B virus e-antigen (HBeAg)-negative chronic hepatitis B (CHB) patients who had received NAs treatment, and evaluate the correlation of mononucleotide polymorphisms of interleukin-28B and programmed death receptor-1 (PD-1) with interferon treatment response. **Methods** HBeAg-negative CHB patients who visited Xiangya Hospital of Central South University from January 2020 to December 2022 were analyzed retrospectively. Patients with Peg-IFN α -2b and NAs treatment were as the study group, while those with NAs therapy alone as the control group. Clinical efficacy of two groups of patients at the 12nd, 24th, and 48th weeks of treatment, as well as the persistent response and recurrence at the 72nd week were analyzed. PD-1 and IL-28B single nucleotide polymorphisms were adopted to evaluate the value of HBeAg-negative CHB patients in response to interferon treatment. **Results** At the 48th week of treatment, the response rate of HBeAg-negative CHB patients in the study group was higher than that in the control group (52.05% [38/73] vs 1.64% [1/61], $P < 0.05$). Among HBeAg-negative CHB patients in the study group, response rates at 48th week of treatment in patients with baseline HBsAg < 100 IU/mL and HBsAg $< 1\ 000$ IU/mL were higher than those with HBsAg $\geq 1\ 000$ IU/mL, respectively (both $P < 0.05$). Univariate and multivariate analyses showed that in HBeAg-negative CHB patients in the study group, the baseline HBsAg levels ($OR = 1.004$, 95% $CI: 1.001 - 1.006$) and HBsAg decline magnitude at the 24th week of treatment ($OR = 0.111$, 95% $CI: 0.034 - 0.362$) were influencing factors for the response of interferon treatment combined with NAs (both $P < 0.05$). The results of single nucleotide polymorphism analysis showed that in HBeAg-negative CHB patients in the study group, the proportion of PD-1 rs10204525 C/T heterozygous mutation in the response population was higher (66.67% vs 16.67%, $P < 0.05$), while that of IL-28B mutation was not significantly different ($P > 0.05$). **Conclusion** Combined treatment with Peg-IFN α -2b can achieve higher HBsAg clearance rate and serological conversion rate in HBeAg-negative CHB patients who had received NAs treatment. HBsAg decline magnitude at the 24th week of treatment can better predict the response at the 48th week of treatment. Patients with low baseline HBsAg level and those carrying PD-1 rs10204525C/T heterozygous mutation gene present better therapeutic effect after receiving Peg-IFN α -2b. **[Key words]** chronic hepatitis B; polyethylene glycol interferon α -2b; single nucleotide polymorphism; interleukin-28B; programmed death receptor-1; PD-1

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 在全世界广泛流行, 据世界卫生组织 (WHO) 2021 年数据统计, 全球慢性 HBV 感染患者大约有 2.96 亿, 我国慢性乙型病毒性肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者为 2 000 万 ~ 3 000 万例^[1]。2019 年约有 82 万人死于乙型病毒性肝炎, 其中大部分死于肝硬化和肝细胞性肝癌^[2-3]。越来越多的证据表明核苷(酸)类似物 (NAs) 经治的 CHB 患者, 长期未达到临床治愈^[4]。但乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg) 水平较低的患者在加用干扰素后能够得到更高的 HBsAg 清除和血清学转换^[5-6]。单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 是指基因组中 DNA 单个核苷酸变异而引起的 DNA 序列的多态性, 且频率至少 $> 1\%$ ^[7]。而白介素 (IL)-28B 与程序性死亡受体-1 (programmed death receptor-1, PD-1) 的基因多态性与干扰素治疗乙型病毒性肝炎

的相关性也越来越得到人们的关注。IL-28B rs12980275 和 rs8099917 与患者乙型肝炎病毒 e 抗原 (HBeAg) 血清转换相关^[8], IL-28B rs12979860CC 基因型的患者血清 HBsAg 清除率为 29%, 其他基因型为 13%^[9]。而 PD-1 的 rs10204525 和 rs2227982 位点也与 HBV 易感性相关^[10]。

本研究主要探讨 Peg-IFN α -2b 联合 NAs 治疗 NAs 经治 HBeAg 阴性 CHB 的疗效及其影响因素, 以及 IL-28B 和 PD-1 的 SNPs 频率分布是否可影响干扰素的治疗应答。

1 对象与方法

1.1 研究对象 回顾性收集 2020 年 1 月 1 日—2022 年 12 月 31 日于中南大学湘雅医院感染科就诊, 并以 Peg-IFN α -2b 联合 NAs 治疗或 NAs 单药

治疗的 CHB 患者。纳入标准：(1) HBeAg 阴性 CHB 患者诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南》(2022 年版)^[1]。(2) HBeAg < 1 IU/mL, 经过 NAs 治疗超过 48 周。(3) HBV DNA < 2 000 IU/mL, HBsAg < 3 000 IU/mL。(4) 血清丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) < 5 倍正常上限值 (40 U/L)。(5) 近半年否认免疫抑制剂使用史。排除标准：(1) 合并丙型肝炎病毒 (HCV)、丁型肝炎病毒 (HDV)、人类免疫缺陷病毒 (HIV) 等感染。(2) 合并系统性红斑狼疮、自身免疫性肝病或其他自身免疫性疾病、酒精性肝病或其他重型肝炎等。(3) 进展为肝硬化失代偿期、肝癌等。(4) 存在心、肺、肾、神经系统疾病、甲状腺疾病及恶性肿瘤等。(5) 存在妊娠或其他不符合使用干扰素的条件。本研究方案获得该院医学伦理委员会批准 (202404093)。

1.2 病例分组 按照纳入和排除标准筛选 CHB 患者, 根据治疗方案分为 Peg-IFN α -2b 与 NAs 联合治疗 (研究组) 和 NAs 单药治疗 (对照组)。研究组定义为既往使用恩替卡韦 (entecavir, ETV) 或富马酸替诺福韦二吡呋酯 (tenofovir, TDF) 1 年以上, 再联用 Peg-IFN α -2b (厦门特宝生物工程股份有限公司, 国药准字 S20160001) 180 μ g, 每周 1 次, 皮下注射, 疗程 48 周。对照组定义为 HBeAg 阴性 CHB 患者既往使用 ETV 或 TDF 1 年以上, 维持原方案继续单药治疗。

1.3 观察指标与疗效判定 收集患者的年龄、性别、用药方案、HBV 血清学标志物、HBV DNA、总胆红素 (TBIL)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、ALT、白细胞计数 (WBC)、中性粒细胞 (N)、血红蛋白 (Hb)、血小板计数 (PLT) 等指标基线水平, 以及治疗 12、24、48 周上述指标复查结果。48 周以上复诊时收集已完成足疗程 Peg-IFN α -2b 联合 NAs 治疗的 HBeAg 阴性 CHB 患者血标本, 根据应答情况分为应答组和无应答组。应答为 HBV DNA 低于检测下限且 HBsAg 清除 (HBsAg \leq 0.05 IU/mL)、HBeAg 阴性, HBV 表面抗体 (HBsAb) 状态不限; 无应答则为 HBV DNA、HBeAg 阳性或 HBsAg 未清除 (HBsAg > 0.05 IU/mL)。HBsAg 血清学转换定义为 HBsAg 转阴且伴 HBsAb 转阳。HBV DNA 的检测下限为 10 IU/mL。

1.4 标本的处理与 SNPs 分析 收集患者血标本并提取 DNA。查找 PD-1 rs10204525、PD-1 rs2227982 及 IL-28B rs12979860、IL-28B rs8099917、IL-28B rs12980275 的 SNPs 位点序列并设计外围扩增引物。以擎科 1.1 \times T3 Super PCR Mix 进行扩增, 每个位点进行单一聚合酶链反应 (PCR) 扩增。将 PCR 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳 (2 μ L 样品 + 6 μ L 溴酚蓝), 300 V 电压下电泳 12 min, 获取相应的凝胶电泳图。使用 Chromas 分析数据, 根据 TSINGKE SNP1 软件位点对应峰的情况进行基因分型。

1.5 统计分析方法 应用 SPSS 26.0 统计软件进行数据整理和分析。计量资料若符合正态分布, 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 若不符合正态分布, 采用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料采用频数 (百分比) 表示, 组间比较采用卡方检验。采用二元逻辑回归分析进行多因素分析。采用受试者工作特征 (ROC) 曲线进行预测效能分析。 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

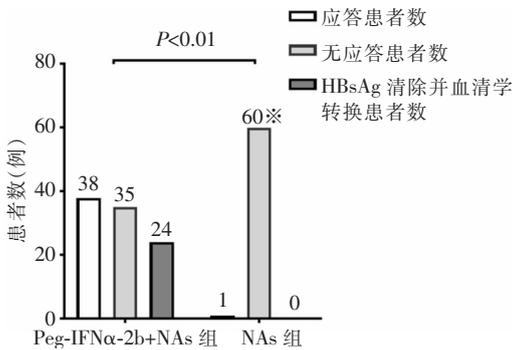
2.1 患者基线特征 研究组纳入 HBeAg 阴性 CHB 患者 73 例, 对照组 61 例。两组患者的性别、年龄、NAs 治疗药物、基线肝功能指标 (TBIL、ALT、AST)、HBV DNA、HBsAg、WBC、N、Hb、PLT 比较, 差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。见表 1。

2.2 疗效分析 134 例 HBeAg 阴性 CHB 患者治疗至 48 周应答 39 例, 无应答 95 例, 其中研究组 73 例患者中应答率为 52.05% (38 例), 对照组 61 例患者中应答率为 1.64% (1 例), 两组患者治疗应答率比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 对照组未见 HBsAg 血清学转换, 两组患者 HBsAg 血清学转换率分别为 32.88% (24 例)、0 (0 例), 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 1。研究组治疗第 12 周 HBsAg 清除率为 8.22% (6 例), 血清学转换率为 4.11% (3 例); 治疗第 24 周 HBsAg 清除率为 32.88% (24 例), 血清学转换率为 13.70% (10 例), 见图 2。在治疗 48 周后, 研究组患者 HBV DNA 检测全部低于检测下限。

表 1 两组 HBeAg 阴性 CHB 患者的基线特征比较

Table 1 Baseline characteristics and comparison between two groups of HBeAg-negative CHB patients

指标	研究组 (n = 73)	对照组 (n = 61)	$\chi^2/t/z$	P
性别[例(%)]			0.043	0.835
女	18(24.66)	16(26.23)		
男	55(75.34)	45(73.77)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	37.85 ± 8.46	44.48 ± 11.58	-1.820	0.056
NAs 治疗药物[例(%)]			0.016	0.900
ETV	58(79.45)	49(80.33)		
TDF	15(20.55)	12(19.67)		
TBIL[M(P ₂₅ , P ₇₅), U/L]	13.90(10.05, 18.20)	12.70(8.55, 18.00)	-1.111	0.267
ALT[M(P ₂₅ , P ₇₅), U/L]	25.30(18.20, 39.95)	24.90(15.30, 30.75)	-1.244	0.213
AST[M(P ₂₅ , P ₇₅), U/L]	26.40(21.80, 33.45)	25.40(22.05, 37.40)	-0.297	0.766
HBV DNA[M(P ₂₅ , P ₇₅), IU/mL]	10.00(10.00, 10.00)	10.00(10.00, 10.00)	-0.795	0.426
HBsAg[M(P ₂₅ , P ₇₅), IU/mL]	371.92(52.96, 705.59)	438.48(248.44, 806.48)	-1.387	0.165
WBC[M(P ₂₅ , P ₇₅), × 10 ⁹ /L]	5.90(4.85, 6.80)	5.90(4.75, 6.65)	-0.004	0.996
N[M(P ₂₅ , P ₇₅), × 10 ⁹ /L]	3.30(2.40, 4.42)	3.40(2.90, 4.45)	-0.744	0.457
Hb[M(P ₂₅ , P ₇₅), g/L]	157.00(139.00, 163.00)	147.00(128.50, 157.00)	-1.077	0.300
PLT[M(P ₂₅ , P ₇₅), × 10 ⁹ /L]	199.00(173.00, 233.50)	174.00(132.00, 239.50)	-1.761	0.078



注: ※表示 NAs 组与 Peg-IFN α -2b + NAs 组的治疗应答率比较, P<0.01。

图 1 治疗第 48 周两组 HBeAg 阴性 CHB 患者治疗应答与 HBsAg 转换情况

Figure 1 Treatment response and HBsAg conversion in two groups of HBeAg-negative CHB patients at the 48th week of treatment

2.3 不同基线 HBsAg 水平患者治疗应答情况

对研究组 HBeAg 阴性 CHB 的基线 HBsAg 水平进行分层, 其中 65 例 HBsAg < 1 000 IU/mL, 8 例 HBsAg \geq 1 000 IU/mL, 两组患者在治疗第 48 周应答例数分别为 37、1 例, 两组患者治疗应答率 (56.92% VS 12.50%) 比较, 差异有统计学意义 (P = 0.024)。HBsAg < 1 000 IU/mL 的患者中, 24 例

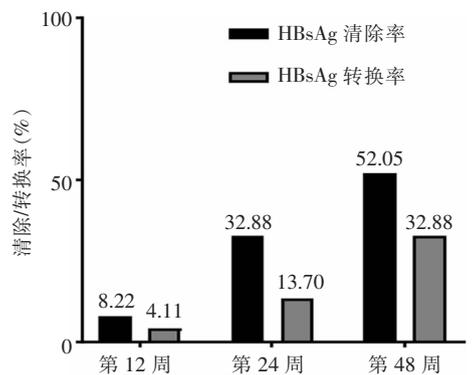


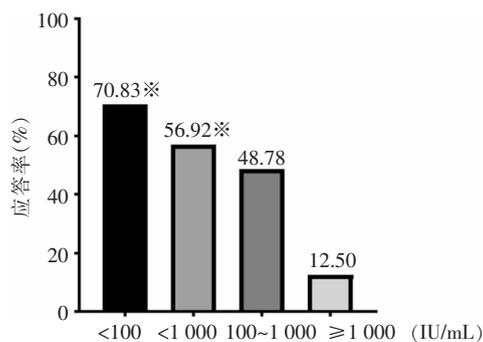
图 2 研究组 HBeAg 阴性 CHB 患者治疗第 12、24、48 周 HBsAg 清除率、HBsAg 血清学转换率

Figure 2 HBsAg clearance rates and HBsAg serological conversion rates in HBeAg-negative CHB patients in the study group at the 12nd, 24th and 48th weeks of treatment

HBsAg < 100 IU/mL, 41 例 100 IU/mL \leq HBsAg < 1 000 IU/mL, 两组患者在治疗第 48 周应答患者例数分别为 17、20 例, 两组患者治疗应答率 (70.83% VS 48.78%) 比较, 差异无统计学意义 (P = 0.083)。HBsAg < 100 IU/mL 组患者与 HBsAg \geq 1 000 IU/mL 组患者在治疗第 48 周应答率比较, 差异有统计学意义 (P = 0.004); 100 IU/mL \leq HBsAg < 1 000 IU/mL

组患者与 HBsAg $\geq 1\ 000$ IU/mL 组患者治疗第 48 周应答率比较, 差异无统计学意义 ($P = 0.058$), 见图 3。

2.4 研究组治疗第 48 周应答的影响因素分析 单因素分析结果显示, 治疗第 48 周应答组与无应答组 CHB 患者的 HBsAg 基线水平及第 12 周、第 24 周 HBsAg 下降幅度比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.01$), 见表 2。多因素分析结果显示, 两组患者 HBsAg 基线水平 ($OR = 1.004, 95\%CI: 1.001 \sim 1.006$) 和治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度 ($OR = 0.111, 95\%CI: 0.034 \sim 0.362$) 比较, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$), 见表 3。



注: *表示与 HBsAg $\geq 1\ 000$ IU/mL 组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 研究组不同基线 HBsAg 水平 CHB 患者第 48 周的应答率比较

Figure 3 Comparison of the 48th week response rate in CHB patients with different baseline HBsAg levels in the study group

表 2 研究组 CHB 患者治疗第 48 周应答影响的单因素分析

Table 2 Univariate analysis of the 48th week treatment response of CHB patients in the study group

相关因素	应答组 ($n = 38$)	无应答组 ($n = 35$)	t/z	P
性别[例(%)]			3.120	0.055
男	25(65.79)	30(85.71)		
女	13(34.21)	5(14.29)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	37.66 \pm 9.32	38.06 \pm 7.55	0.994	0.839
TBIL($\bar{x} \pm s$, U/L)	11.96 \pm 4.62	12.11 \pm 4.33	0.149	0.882
ALT[$M(P_{25}, P_{75})$, U/L]	56.85(35.48, 85.45)	57.50(45.80, 92.00)	-0.729	0.466
AST[$M(P_{25}, P_{75})$, U/L]	50.05(38.95, 67.83)	56.40(40.00, 79.20)	-1.010	0.312
HBV DNA[$M(P_{25}, P_{75})$, IU/mL]	10.00(10.00, 10.00)	10.00(10.00, 10.00)	-0.978	0.328
基线 HBsAg[$M(P_{25}, P_{75})$, IU/mL]	3.34(0.26, 60.79)	240.54(29.24, 631.88)	-4.871	<0.001
HBsAg 第 12 周下降值[$M(P_{25}, P_{75})$, \log_{10} IU/mL]	0.97(0.52, 2.80)	0.14(0, 1.01)	-4.219	<0.001
HBsAg 第 24 周下降值[$M(P_{25}, P_{75})$, \log_{10} IU/mL]	2.95(1.90, 4.08)	0.66(0.12, 1.5)	4.543	<0.001
HBsAg[$M(P_{25}, P_{75})$, S/CO]	0.35(0.31, 0.43)	0.36(0.31, 0.56)	-1.487	0.137

表 3 研究组 CHB 患者治疗第 48 周应答影响的多因素分析

Table 3 Multivariate analysis of the 48th week treatment response of CHB patients in the study group

因素	β	S_b	$Wald\chi^2$	P	OR	95%CI
HBsAg(IU/mL)	0.004	0.001	10.111	0.001	1.004	1.001~1.006
HBsAg 第 12 周下降值(\log_{10} IU/mL)	0.399	0.656	0.370	0.543	1.491	0.412~5.395
HBsAg 第 24 周下降值(\log_{10} IU/mL)	-2.199	0.604	13.256	<0.001	0.111	0.034~0.362

2.5 HBsAg 基线水平及下降幅度对治疗第 48 周应答的预测效能 根据单因素分析和多因素分析结果, 选择 HBsAg 基线水平及治疗第 12、24 周 HBsAg 下降值对治疗第 48 周应答进行预测。其中第 24 周 HBsAg 下降幅度 ROC 曲线下面积为

0.910(95%CI: 0.844~0.976, $P < 0.01$), 最佳截断值为 1.085 \log_{10} IU/mL, 灵敏度为 97.40%, 特异度为 73.50%, 阳性预测值为 80.40%, 阴性预测为 96.20%, 提示干扰素治疗时第 24 周 HBsAg 下降幅度为相关性较好的疗效预测指标。见表 4、图 4。

表 4 HBsAg 基线水平及下降幅度对治疗第 48 周应答的预测效能分析

Table 4 Predictive efficacy of HBsAg baseline level and its decline magnitude on the 48th week treatment response

指标	截断值	AUC	95%CI	P	特异度(%)	灵敏度(%)	约登指数
基线 HBsAg 水平(IU/mL)	406.430	0.322	0.198~0.446	<0.001	47.10	39.50	-0.135
HBsAg 第 12 周下降值(log ₁₀ IU/mL)	0.315	0.783	0.676~0.889	<0.001	70.60	81.60	0.522
HBsAg 第 24 周下降值(log ₁₀ IU/mL)	1.085	0.910	0.844~0.976	<0.001	73.50	97.40	0.709

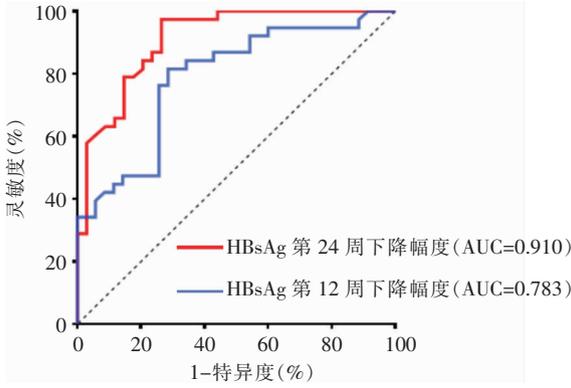


图 4 治疗第 12、24 周 HBsAg 下降幅度预测第 48 周治疗应答情况的 ROC 曲线

Figure 4 ROC curve for the prediction of treatment response at the 48th week of treatment using HBsAg decline magnitude at the 12nd and 24th weeks of treatment

2.6 随访结果 治疗第 72 周随访, 研究组患者中,

31 例持续应答, 1 例 HBsAg 复阳, 6 例失访, 35 例患者无应答(其中 3 例 HBsAg 清除, 32 例 HBsAg 仍为阳性); 对照组患者中, 仅 1 例应答, 随访至 72 周末复阳, 60 例患者未出现 HBsAg 清除。

2.7 应答组与无应答组的 SNPs 多态性 共纳入 24 例患者, 其中男性 16 例, 女性 8 例; 应答组 12 例, 无应答组 12 例。基因分析结果显示, PD-1 rs2227982 位点有 AA 纯合突变、G/A 杂合突变及 GG 野生型, PD-1 rs10204525 位点有 TT 纯合突变、C/T 杂合突变及 CC 野生型。IL-28B rs8099917 位点有 TT 野生型与 G/T 杂合突变, IL-28B rs12979860 位点有 CC 野生型与 C/T 杂合突变, IL-28B rs12980275 位点有 AA 野生型与 A/G 杂合突变, 见图 5。其中应答组 PD-1 rs10204525 C/T 基因型占比高于未应答组(66.67% VS 16.67%, P<0.05), 见图 6。IL-28B 的基因多态性在两组患者中差异无统计学意义(P>0.05)。

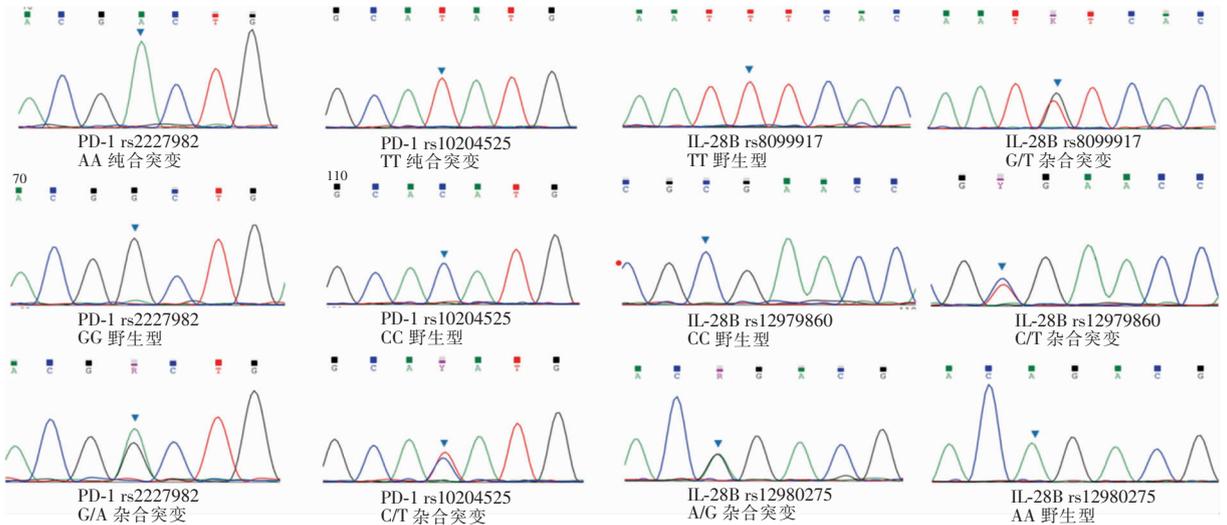


图 5 PD-1 及 IL-28B 的基因突变位点与类型

Figure 5 PD-1 and IL-28B gene mutation sites and types

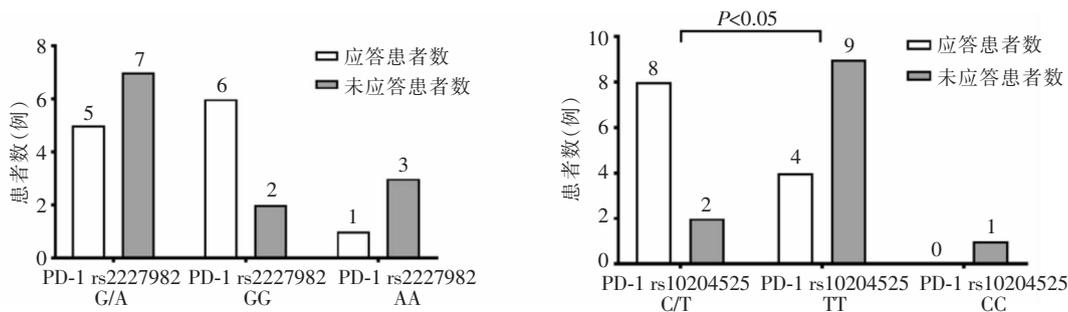


图 6 应答组与无应答组 CHB 患者 PD-1 基因型分布差异

Figure 6 Differences in PD-1 genotype distribution between response group and non-response group in CHB patients

3 讨论

HBV 感染引起的 CHB 是全球性的公共卫生问题,其治疗的关键是抗病毒。抗病毒治疗的目标主要通过病毒学、血清学和生化指标定义^[11]。广泛应用的 NAs 能减轻肝脏炎症和减少肝纤维化,以及降低肝硬化和肝细胞癌的发病率,局限性在于 HBeAg 和 HBsAg 的血清学清除率低,因而大多数患者需要长期治疗^[12]。目前 HBV 感染治疗方法的研发是以功能性治愈为目标的新型药物为主,评价与现有药物的协同、联合等作用为 HBV 感染治疗和发展的重要方向^[11-12]。一项纳入 1 250 例患者的 Meta 分析^[13]结果显示,ETV 序贯 Peg-IFN α 研究组的 HBsAg 转换率、HBsAg 清除率、HBeAg 转换率、HBeAg 清除率均高于 ETV 对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。Peg-IFN 联合 NAs 治疗可使部分 NAs 经治 CHB 患者获得临床治愈^[4],但联合治疗的基线条件、最佳疗程和持久应答率等尚需进一步研究,此外,寻找影响干扰素治疗疗效的分子机制和治疗预后的预测指标具有重要意义。

本研究纳入 134 例 HBeAg 阴性 CHB 患者,在使用 1 年以上的 NAs 药物治疗后,61 例仍继续使用 NAs 单药治疗 48 周,应答率仅 1.64%;73 例患者联用 Peg-IFN α -2b 治疗 48 周,HBsAg 清除率为 52.05%,血清学转换率为 32.88%,均高于 NAs 单药治疗($P < 0.05$)。HBeAg 阴性 CHB 患者的 HBsAg 水平反映了患者体内 HBV 共价、闭合、环状 DNA 分子(cccDNA)的水平,干扰素可通过载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化亚基 3A(apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic subunit 3A, APO-BEC3A)介导的脱氨基作用降低 HBV cccDNA 水平,而 NAs 对降低 HBV cccDNA 水平无明显作用^[14]。

单纯使 APOBEC3A 过表达不能降低 HBV cccDNA,同样需要干扰素处理细胞。Stadler 等^[15]研究发现,干扰素刺激基因(interferon-stimulated gene, ISG)可能在其抗病毒活性方面参与合作,而 HBV cccDNA 的降解则需要脱氨酶和核酸酶的协同作用。

既往研究^[16]表明,病毒是影响 CHB 治疗的关键因素之一,较低的 HBV 病毒和抗原载量是 Peg-IFN 治疗的重要预测因素,二者可以影响先天和适应性免疫反应途径,从而降低患者对 Peg-IFN 的治疗反应。Mimura 等^[17]研究结果表明,HBeAg 阴性且 HBsAg 滴度 < 120 IU/mL 的患者更有可能通过 Peg-IFN 治疗实现 HBsAg 清除。本研究发现研究组中 HBsAg 基线水平 $< 1 000$ IU/mL 的患者治疗第 48 周的应答率高于 HBsAg $\geq 1 000$ IU/mL (56.92% VS 12.50%, $P < 0.05$),其中 HBsAg < 100 IU/mL 与 100 IU/mL \leq HBsAg $< 1 000$ IU/mL 的患者治疗 48 周的应答率分别为 70.83%、48.78%。组间两两比较显示,HBsAg < 100 IU/mL 与 HBsAg $\geq 1 000$ IU/mL 组间 HBsAg 清除率的差异有统计学意义($P < 0.05$),而 HBsAg < 100 IU/mL 与 100 IU/mL \leq HBsAg $< 1 000$ IU/mL、 100 IU/mL \leq HBsAg $< 1 000$ IU/mL 与 HBsAg $\geq 1 000$ IU/mL 组间比较,差异均无统计学意义(均 $P = 0.058$),可能与纳入病例数偏少有关。总体结果支持低 HBsAg 载量接受 Peg-IFN 治疗更可能获益。

单因素分析结果显示,治疗第 12 周和 24 周 HBsAg 下降幅度是治疗第 48 周是否应答的影响因素,多因素分析也发现治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度是治疗第 48 周是否应答的影响因素。中国《慢性乙型肝炎防治指南(2022 年版)》^[1]将治疗第 12 及 24 周的 HBsAg < 200 IU/mL 或下降 $> 1 \log_{10}$ IU/mL 作为强烈推荐继续 ETV/TDF 联合干扰素治疗的依据。Li 等^[18]研究表明,在治疗第 12 周 HBsAg

下降 $>0.5 \log_{10}$ IU/mL 的 CHB 患者,在治疗第 48 周可达到 HBsAg 较高的清除率(83.3%)。Anchor 研究^[19]中期数据显示,序贯联合 Peg-FN α -2b 治疗的患者在第 24 周 HBsAg 下降 $>1 \log_{10}$ IU/mL,62.5% 的患者在治疗 72 周时可实现 HBsAg 阴转。本研究中治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度曲线下面积为 0.910(95% CI: 0.844~0.976, $P < 0.01$),最佳截断值为 $1.085 \log_{10}$ IU/mL,灵敏度为 97.40%,特异度为 73.50%,阳性预测值为 80.40%,阴性预测为 96.20%,提示干扰素治疗时第 24 周 HBsAg 下降幅度为相关性较好的疗效预测指标。

近年来研究^[20]表明特定基因的多态性与抗病毒治疗的最终结局相关,宿主因素同样可以成为影响 IFN 治疗反应的关键,包括患者的年龄较小、性别为女性、治疗中出现血清 ALT 的升高以及 NAs 经治基因 D 型 HBeAg 阴性 CHB 患者更易获得满意疗效^[21-22]。

本研究检测研究组患者 IL-28B 与 PD-1 的基因多态性,发现应答人群中 PD-1 rs10204525 C/T 杂合突变型占比高于无应答组(66.67% VS 16.67%, $P < 0.05$),而 IL-28B SNPs 在两组患者中的基因频率并无明显差异,表明携带 PD-1 rs10204525 C/T 杂合突变基因的患者较 TT 纯合基因的患者更有可能因干扰素治疗获益,而 IL-28B SNPs 与 IFN 治疗的反应似乎无关,与 Holmes 等^[23]报道结果一致。无论是在治疗结束还是随访的结果中,IL-28B SNPs 与 IFN 治疗的反应都无关^[24]。在 Lampertico 等^[9]研究中,IL-28B SNPs 可以预测与 HBeAg 阴性 CHB 患者对干扰素治疗的反应;而 Domagalski 等^[25]证明 IL-28B 和 OAS 基因多态性与干扰素治疗 CHB 患儿的不同临床结局相关。因此,IL-28B SNPs 与 PEG-IFN- α 治疗 CHB 疗效之间的关联仍然存在争议。

本研究存在一定的局限性。(1)共纳入 134 例患者,较小的样本量可能存在研究偏倚和不稳定性,因此需要扩大样本量来验证。(2)本研究采用回顾性观察对照研究设计,患者部分检查结果缺失如甲状腺功能及肝纤维化检查,因而未针对此类数据进行分析。(3)部分患者在随访的 72 周内出现了失访,因此完成 SNPs 检测的样本有限,未进一步分析 PD-1 以及 IL-28 相关 SNPs 位点突变导致不同治疗结局的具体机制。(4)此外,干扰素治疗期间安全性监测和及时处理十分重要^[26],本研究缺乏治疗安全性相关指标的统计学分析。

综上所述,本研究表明 HBeAg 阴性的 NAs 经治 CHB 患者通过联用 Peg-IFN α -2b 治疗可达到更高的 HBsAg 清除率和血清学转换率,治疗第 24 周 HBsAg 下降幅度能较好地预测第 48 周治疗应答。低 HBsAg 基线水平患者及携带 PD-1 rs10204525 的 C/T 杂合突变基因的患者接受 Peg-IFN α -2b 治疗疗效更佳。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] 中华医学会肝病学分会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2022年版)[J].中华肝脏病杂志,2022,30(12):1309-1331. Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association, Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association. Guidelines for the prevention and treatment of chronic hepatitis B (version 2022)[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2022, 30(12): 1309-1331.
- [2] Nguyen MH, Wong G, Gane E, et al. Hepatitis B virus: advances in prevention, diagnosis, and therapy[J]. Clin Microbiol Rev, 2020, 33(2): e00046-19.
- [3] Trépo C, Chan HLY, Lok A. Hepatitis B virus infection[J]. Lancet, 2014, 384(9959): 2053-2063.
- [4] Chen J, Qi M, Fan XG, et al. Efficacy of peginterferon alfa-2b in nucleoside analogue experienced patients with negative HBeAg and low HBsAg: a non-randomized clinical trial[J]. Infect Dis Ther, 2021, 10(4): 2259-2270.
- [5] Bazinet M, Pantea V, Placinta G, et al. Safety and efficacy of 48 weeks REP 2139 or REP 2165, tenofovir disoproxil, and pegylated interferon alfa-2a in patients with chronic HBV infection naïve to nucleos(t)ide therapy[J]. Gastroenterology, 2020, 158(8): 2180-2194.
- [6] Chuaypen N, Posuwan N, Chittmittraprap S, et al. Predictive role of serum HBsAg and HBcrAg kinetics in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B receiving pegylated interferon-based therapy[J]. Clin Microbiol Infect, 2018, 24(3): 306.e7-306.e13.
- [7] Kim S, Misra A. SNP genotyping: technologies and biomedical applications[J]. Annu Rev Biomed Eng, 2007, 9: 289-320.
- [8] Takahashi T. Interleukin 28B genetic polymorphism and hepatitis B virus infection[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(34): 12026-12030.
- [9] Lampertico P, Viganò M, Cheroni C, et al. IL28B polymorphisms predict interferon-related hepatitis B surface antigen seroclearance in genotype D hepatitis B e antigen-negative patients with chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2013, 57(3): 890-896.

- [10] Huang CH, Ge TT, Xia CX, et al. Association of rs10204525 genotype GG and rs2227982 CC combination in programmed cell death 1 with hepatitis B virus infection risk[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(35): e16972.
- [11] 陈学福, 张东敬, 罗晓丹, 等. 慢性乙型肝炎的治疗现状[J]. *临床肝胆病杂志*, 2021, 37(5): 1011 - 1015.
Chen XF, Zhang DJ, Luo XD, et al. Current status of the treatment of chronic hepatitis B[J]. *Journal of Clinical Hepatology*, 2021, 37(5): 1011 - 1015.
- [12] 中华医学会感染病学分会, 中华医学会肝病学会. 慢性乙型肝炎临床治愈(功能性治愈)专家共识[J]. *中华传染病杂志*, 2019, 37(8): 461 - 472.
The Infectious Disease Branch of the Chinese Medical Association, the Hepatology Branch of the Chinese Medical Association. Expert consensus on clinical cure (functional cure) of chronic hepatitis B[J]. *Chinese Journal of Infectious Diseases*, 2019, 37(8): 461 - 472.
- [13] 郑洲松, 黄宇琨, 杨小丽, 等. 恩替卡韦序贯聚乙二醇化干扰素- α 与单用恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎的临床疗效比较: 系统评价与分析[J]. *中国感染控制杂志*, 2022, 21(11): 1110 - 1117.
Zheng ZS, Huang YK, Yang XL, et al. Comparison of clinical efficacy of entecavir-sequential Peg-IFN- α and entecavir alone for treatment for chronic hepatitis B: systematic evaluation and analysis[J]. *Chinese Journal of Infection Control*, 2022, 21(11): 1110 - 1117.
- [14] Lucifora J, Xia YC, Reisinger F, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA[J]. *Science*, 2014, 343(6176): 1221 - 1228.
- [15] Stadler D, Kächele M, Jones AN, et al. Interferon-induced degradation of the persistent hepatitis B virus cccDNA form depends on ISG20[J]. *EMBO Rep*, 2021, 22(6): e49568.
- [16] Lebossé F, Testoni B, Fresquet J, et al. Intrahepatic innate immune response pathways are downregulated in untreated chronic hepatitis B[J]. *J Hepatol*, 2017, 66(5): 897 - 909.
- [17] Mimura S, Fujita K, Takuma K, et al. Effect of pegylated interferon alfa-2a in HBeAg-negative chronic hepatitis B during and 48 weeks after off-treatment follow-up: the limitation of pre-treatment HBsAg load for the seroclearance of HBsAg[J]. *Intern Emerg Med*, 2021, 16(6): 1559 - 1565.
- [18] Li GJ, Yu YQ, Chen SL, et al. Sequential combination therapy with pegylated interferon leads to loss of hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen (HBeAg) seroconversion in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients receiving long-term entecavir treatment[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(7): 4121 - 4128.
- [19] Han MF, Wu D, Tan DM, et al. Combination/sequential therapy with ETV, Peg-IFN alpha-2b and GMCSF enhanced HBsAg loss and appearance of HBsAb in NA suppressed CHB patients (the anchor a study): an interim analysis[J]. *Hepatology*, 2017, 66(S1): 13A.
- [20] Thabet K, Asimakopoulos A, Shojaei M, et al. MBOAT7 rs641738 increases risk of liver inflammation and transition to fibrosis in chronic hepatitis C[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12757.
- [21] Lau GKK, Piratvisuth T, Luo KX, et al. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(26): 2682 - 2695.
- [22] Bourlière M, Rabiega P, Ganne-Carrie N, et al. Effect on HBs antigen clearance of addition of pegylated interferon alfa-2a to nucleos(t)ide analogue therapy versus nucleos(t)ide analogue therapy alone in patients with HBe antigen-negative chronic hepatitis B and sustained undetectable plasma hepatitis B virus DNA: a randomised, controlled, open-label trial[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(3): 177 - 188.
- [23] Holmes JA, Nguyen T, Ratnam D, et al. IL28B genotype is not useful for predicting treatment outcome in Asian chronic hepatitis B patients treated with pegylated interferon- α [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(5): 861 - 866.
- [24] Brouwer WP, Arends P, Rijckborst V, et al. Polymorphisms near the IL28B gene are not associated with response to peginterferon in HBeAg-negative chronic hepatitis B patients [J]. *J Hepatol*, 2013, 58: S299.
- [25] Domagalski K, Pawłowska M, Zalesna A, et al. Impact of IL28B and OAS gene family polymorphisms on interferon treatment response in Caucasian children chronically infected with hepatitis B virus[J]. *World J Gastroenterol*, 2016, 22(41): 9186 - 9195.
- [26] 张文宏, 张大志, 窦晓光, 等. 聚乙二醇干扰素 α 治疗慢性乙型肝炎专家共识[J]. *中华肝脏病杂志*, 2017, 25(9): 678 - 686.
Zhang WH, Zhang DZ, Dou XG, et al. Consensus on pegylated interferon alpha in treatment of chronic hepatitis B[J]. *Chinese Journal of Hepatology*, 2017, 25(9): 678 - 686.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:高明健,胡琴,郭皓宇,等. Peg-IFN 治疗 NAs 经治 HBeAg 阴性 CHB 患者的疗效分析及预测[J]. *中国感染控制杂志*, 2024, 23(6): 665 - 673. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20244224.

Cite this article as: GAO Ming-jian, HU Qin, GUO Hao-yu, et al. Clinical efficacy and prediction of pegylated interferon treatment on HBeAg-negative chronic hepatitis B patients who had received nucleoside analogues treatment[J]. *Chin J Infect Control*, 2024, 23(6): 665 - 673. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20244224.