

IFN- α 1b治疗核苷(酸)类似物经治未达满意终点的CHB多中心疗效分析

金瑞¹, 郭新会¹, 徐志强², 焦成松³, 胡国信⁴ (1.首都医科大学附属北京佑安医院, 北京 100069; 2.解放军第302医院, 北京 100039; 3.华中科技大学同济医学院附属同济医院, 武汉 430030; 4.北京大学深圳医院, 广东 深圳 518035)

摘要: 目的 评估序贯联合重组人干扰素 α 1b (IFN- α 1b) 治疗核苷(酸)类似物(NAs)经治HBeAg阳性CHB患者48周的疗效与安全性。方法 159例NAs治疗12~36个月HBV DNA检测不到但未发生血清学应答的HBeAg阳性CHB患者, 77例接受序贯联合IFN- α 1b治疗48周, 82例继续NAs单药治疗48周。基线和治疗期间每12周进行生物化学、病毒学和血清学评估。计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。结果 治疗48周, 试验组HBeAg低于检测下限和转换率分别为21.74%和20.29%, 对照组HBeAg低于检测下限和转换率分别为5.63%和5.63%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 7.738, 6.709, P < 0.05$)。试验组和对对照组HBsAg清除率分别为7.25%和0%, 差异有统计学意义($\chi^2 = 5.335, P < 0.05$)。试验组和对对照组病毒学反弹率分别为0%和4.22%, 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.979, P > 0.05$)。无论是试验组还是对照组, HBsAg基线水平高的患者(> 2000 IU/ml)的HBeAg血清学转换率高于基线水平低(≤ 2000 IU/ml)的患者; 差异无统计学意义($\chi^2 = 2.833, 0.147, P > 0.05$)。HBsAg下降幅度与HBeAg下降幅度具有相关性($r = 0.606$)。NAs基础治疗时间可能对序贯联合干扰素后的HBeAg低于检测下限和转换有一定影响, 但无论基础治疗时间长短, 序贯联合干扰素均可增加HBeAg应答率。结论 序贯联合IFN- α 1b有助于提高NAs经治未达满意治疗终点的HBeAg阳性CHB患者的血清学应答率。

关键词: 肝炎; 乙型; 慢性; 干扰素 α 1b; 核苷酸类似物

Effects of interferon alpha-1b in treating chronic hepatitis B patients who have poor response to nucleot(s)ide analogues

JIN Rui¹, GUO Xin-hui¹, XU Zhi-qiang², JIAO Cheng-song³, HU Guo-xin⁴ (1.Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069; 2.The 302 Military Hospital of China, Beijing 100039, China; 3.Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430030, China; 4.Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518035, China)

Abstract: Objective To investigate the efficacy and safety of an extended course (48-week) of sequential interferon alpha-1b therapy for patients with HBeAg positive chronic hepatitis B (CHB) who have poor response to nucleot(s)ide analogue. **Methods** There were 159 HBeAg positive CHB patients who had completed a 12-24 months of nucleot(s)ide analogues (NAs) monotherapy course, and who had achieved a virological response (HBV DNA < 500 copies/ml) but without HBeAg seroconversion were enrolled. The patients were randomly assigned to receive IFN- α 1b plus NAs (experimental group, $n = 77$) or continue NAs monotherapy (control group, $n = 82$). Levels of biochemical, virological and serological were measured at baseline and at 12-week intervals throughout the treatment course. Inter-group differences were statistically evaluated by t -test or Chi-squared test. **Results** At treatment week 48, the experimental group showed significantly higher rate of HBeAg clearance (21.74% vs 7.04%, $\chi^2 = 7.738, P < 0.05$) and seroconversion

(20.29% vs 7.04%, $\chi^2 = 6.709$, $P < 0.05$). The experimental group also showed higher rate of HBsAg seroconversion (7.25% vs 0, $\chi^2 = 5.335$, $P < 0.05$). The rates of HBV DNA relapse were 0 and 4.22%, but the difference did not reach statistical significance ($\chi^2 = 2.979$, $P > 0.05$). The patients who had higher baseline HBsAg (> 2000 IU/ml) showed lower HBeAg seroconversion than the patients who had lower HBsAg (≤ 2000 IU/ml), but the differences did not reach statistical significance ($\chi^2 = 2.833$ and 0.147 , both $P > 0.05$). Sequential plus IFN- α 1b could add the rated of HBeAg seroconversion at any time, while it may had relationship between the course of NAs and the rate of HBeAg seroconversion. **Conclusions** For patients with HBeAg-positive CHB who had unsatisfactory response to NAs monotherapy, plus IFN- α 1b has higher rate of seroconversion.

Key words: Hepatitis B; Chronic; Interferon α 1b; nucleotide(s)analogue

HBV感染呈全球性流行,全球约20亿人曾感染过HBV,约3.5亿人发展为慢性感染^[1]。我国属乙型肝炎病毒感染高流行区。HBeAg血清学转换是HBeAg阳性的CHB患者抗病毒治疗的疗效目标,但目前核苷(酸)类似物[nucleot(s)ide analogue, NAs]治疗的HBeAg血清学转换率较低,且长期应用存在耐药风险。NAs和干扰素的作用靶点和作用机制不同,联合应用可能增加NAs经治未达满意治疗终点的患者的应答率^[2-5]。本研究设计评估重组人干扰素 α 1b(IFN- α 1b)和NAs联合应用治疗NAs经治HBeAg阳性CHB患者的疗效和安全性,同时分析不同因素对疗效的影响。为NAs经治未达满意治疗终点的患者后续治疗方案优选提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2012年10月至2013年3月在首都医科大学附属北京佑安医院、解放军第302医院、华中科技大学同济医学院附属同济医院、北京大学深圳医院符合入选标准且不符合排除标准的患者,分别进入试验组和对照组。采用多中心、开放、对照的研究方法。试验组应用NAs和IFN- α 1b(肌肉注射,隔日1次,50 μ g/次)联合治疗,对照组继续NAs单药治疗。计划入组160例,试验组和对照组各80例,疗程均为48周。

1.2 入组标准 ①年龄在18~65岁之间,男女不限,包括住院及门诊患者;②HBsAg、HBeAg阳性6个月以上,疾病诊断依据《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》标准,参考;③核苷酸类似物(ADV、LAM或ETV)治疗12~36个月,且血清HBV DNA低于检测下限(< 500 拷贝/ml)但未发生HBeAg血清学转换;④血清ALT $\leq 2 \times$ ULN。

1.3 排除标准 ①有HAV、HCV、HDV、HEV肝炎病毒或者HIV重叠感染者;②失代偿期肝硬化、肝细胞癌患者、患有代谢性肝病或自身免疫性肝炎;③妊娠期、哺乳期妇女或有生育计划的患者;④对干扰素或其中任何成份有过敏史者;⑤有未能控制的精神病史或明显家族史者;⑥存在未能控制的癫痫或自身免疫性疾病者;⑦伴有其他严重疾病(如严重的心、肺、肾或甲状腺疾病、未能控制的糖尿病等);⑧治疗前中性粒细胞计数 $< 1.0 \times 10^9/L$ 或血小板计数 $< 75 \times 10^9/L$ 。

1.4 观察指标及检测方法 筛选检查项目包括病史、体格检查、血常规、血液生物化学、尿常规、甲状腺功能、凝血功能、自身抗体、HBV DNA、HBV标志物定量(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe)、心电图和腹部超声,育龄妇女加做尿妊娠试验。研究期间每3个月检测血常规、血液生物化学(肝功能)、HBV DNA、HBV标志物定量。统一运用荧光定量PCR法检测HBV DNA载量。采用Applied Biosystems 5700 荧光定量扩增仪及相关试剂盒,检测下限值为500拷贝/ml。HBV标志物(HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗-HBe、抗-HBc)定量检测采用微粒发光法检测(设备和配套试剂购自瑞士Roche公司)。ALT等血清生物化学指标用Bayer 1650全自动生物化学分析仪测定。

1.5 疗效评估 主要疗效指标:48周HBeAg低于检测下限和转换率。次要疗效指标:24周HBeAg低于检测下限和转换率;48周HBsAg低于检测下限和转换率;病毒学反弹率(HBV DNA > 500 拷贝/ml)。

1.6 安全性分析 观察两组患者不良反应如发热、血象异常、头痛、肌痛、关节痛、食欲不振、恶心等

发生情况。

1.7 统计学处理 应用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计量资料中符合正态分布的采用*t*检验, 计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料比较 两组患者性别、年龄、基线时HBV标志物等特征差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05), 见表1。试验组入组77例, 治疗24周时脱落3例, 治疗48周时脱落8例, 实际完成试验69例; 对照组入组82例, 治疗24周时脱落5例, 治疗48周时脱落11例, 实际完成试验71例。

2.2 两组患者HBeAg血清学应答比较 试验组治疗24、48周的HBeAg低于检测下限的比率和转换率均高于对照组, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), 见表2。

2.3 两组患者HBsAg血清学应答比较 治疗48周, 试验组有5例 (7.25%) 发生HBsAg血清学转换, 对照组无HBsAg消失病例, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表3。

2.4 两组患者病毒学反弹率比较 试验组无HBV DNA

表3 两组患者治疗后HBsAg转换率比较 (48周) [例 (%)]

组别	HBsAg低于检测下限	HBsAg转换
试验组	5/69 (7.25)	5/69 (7.25)
对照组	0/71 (0.00)	0/71 (0.00)
χ^2	5.335	5.335
P	0.021	0.021

反弹病例, 对照组有3例 (4.22%) 发生HBV DNA反弹, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 2.979$, $P = 0.084$)。

2.5 两组患者疗效影响因素分析比较 治疗后, 两组患者基线HBsAg < 2000 IU/ml的患者组治疗48周HBeAg低于检测下限的比率和转换率均大于基线HBsAg > 2000 IU/ml的患者组, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表4。

以HBsAg较基线下降的百分比为横坐标, HBeAg较基线下降的百分比为纵坐标, 观察两者的相关性, 结果显示其具有直线相关性 (线性方程 $y = 0.7212x + 0.3135$, $r = 0.606$), 见图1。

两组短基础治疗组 (12~24个月) HBeAg血清学低于检测下限的比率和转换率均高于长基础治疗组 (25~36个月), 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表5。

表1 两组患者人口学信息及治疗基线比较

组别	性别 (例, 男/女)	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	HBsAg (IU/ml, $\bar{x} \pm s$)	HBeAg (COI, $\bar{x} \pm s$)
试验组 (n = 77)	46/31	37.9 \pm 7.3	4253.0 \pm 3016.0	1585.0 \pm 1834.0
对照组 (n = 82)	54/28	36.9 \pm 6.2	4297.0 \pm 2704.0	1481.0 \pm 1785.0
统计值	$\chi^2 = 0.974$	$t = 0.772$	$t = 0.091$	$t = 0.341$
P	0.324	0.413	0.927	0.734

表2 两组患者治疗后HBeAg低于检测下限和转换率比较[例 (%)]

组别	24周		48周	
	HBeAg低于检测下限的比率	HBeAg转换率	HBeAg低于检测下限的比率	HBeAg转换率
试验组	12/74 (16.22)	10/74 (13.51)	15/69 (21.74)	14/69 (20.29)
对照组	4/77 (5.19)	2/77 (2.60)	4/71 (5.63)	4/71 (5.63)
χ^2	4.838	6.146	7.738	6.709
P	0.028	0.013	0.005	0.010

表4 不同基线HBsAg水平对两组患者治疗48周HBeAg低于检测下限的比率及转换率影响比较 [例 (%)]

组别	HBsAg低于检测下限的比率		HBeAg转换率	
	试验组	对照组	试验组	对照组
HBsAg > 2000 IU/ml	7/43 (12.82)	2/42 (4.76)	6/43 (13.95)	2/42 (4.76)
HBsAg ≤ 2000 IU/ml	8/26 (33.33)	2/29 (6.90)	8/26 (30.77)	2/29 (6.90)
χ^2	2.000	0.147	2.833	0.147
P	0.157	0.701	0.092	0.701

表5 不同NAs基础治疗时间对两组患者治疗48周HBeAg低于检测下限和转换率影响比较 [例 (%)]

组别	HBeAg低于检测下限的比率		HBeAg转换率	
	试验组	对照组	试验组	对照组
12~24个月	11/40 (27.50)	3/43 (6.98)	11/40 (27.50)	3/43 (6.98)
25~36个月	4/29 (13.79)	1/28 (3.57)	3/29 (10.34)	1/28 (3.57)
χ^2	1.856	0.370	3.059	0.370
<i>P</i>	0.173	0.543	0.080	0.543

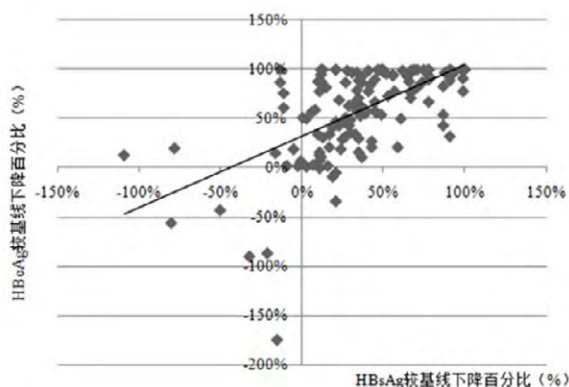


图1 HBsAg下降幅度与HBeAg下降幅度的相关性

注：下降百分比=(基线值-48周值)/基线值×100%，低于检测下限记为100%

2.6 安全性分析 试验组有23例患者发生至少1次不良反应，包括一过性发热17例，疲劳11例，头痛6例，肌肉关节痛4例，恶心3例，类流感症状仅在治疗初期给药后1~3天内出现，程度均为轻度；2例发生一过性肌酸激酶增高，未采取措施，自行恢复；17例发生一过性ALT增高，2例大于正常值上限的10倍，给予保肝降酶药治疗；长期治疗，出现脱发3例，甲状腺功能异常1例，密切观察，未采取药物治疗，自行恢复；8例发生轻度中性粒细胞计数降低和血小板计数降低，未采取措施；未发生肝功能失代偿情况。对照组未发生不良反应。

3 讨论

乙型肝炎是危害我国人民健康的重要感染性疾病之一。2006年全国人群血清流行病学调查显示，1~59岁人群HBsAg携带率为7.18%，我国有约9300万慢性HBV感染者，约2000万CHB患者^[6]。NAs治疗HBeAg阳性的CHB患者，具有直接抑制病毒的作用，在HBV DNA的下降方面具有起效快，应答率高的优点，但HBeAg的血清学转换率较低，难以实现持久免疫控制且停药后易复发；NAs与干扰素具

有不同的抗病毒作用机制，联合应用可能达到较单药治疗更高的治疗目标^[2-5]。《聚乙二醇化干扰素 α 治疗核苷(酸)类似物经治慢性乙型肝炎患者专家会议纪要》^[7]荟萃分析了NAs经治患者的再治疗方案。Ning等^[8]开展的大规模、多中心、队列研究表明，恩替卡韦治疗1~3年并实现持续HBV DNA抑制的HBeAg阳性患者，换用PEG-IFN- α 2a治疗48周可显著增加HBeAg血清学转换率。目前国内普通干扰素的临床应用较为广泛，而序贯联合普通干扰素的临床研究较少，本研究设计了序贯联合IFN- α 1b的研究方案，旨在评估普通干扰素与NAs联合应用治疗NAs经治HBeAg阳性慢乙型肝炎患者的疗效。

本研究结果显示，试验组48周HBeAg血清学低于检测下限和转换率(21.74%、20.29%)高于对照组(5.63%、5.63%)，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。提示对于NAs经治HBeAg阳性的CHB患者，序贯联合IFN- α 1b可显著增加患者HBeAg血清学应答率。与Ning等^[8]和Li等^[9]的研究结果一致。与继续NAs单药治疗的患者相比，联合应用IFN- α 1b的患者HBsAg血清学转换率高(7.25% vs 0%)，差异有统计学意义($P < 0.05$)。对于NAs经治应答不佳的患者，有望通过联合干扰素获得血清学应答。此外，联合IFN- α 1b组HBV DNA反弹率低于对照组，差异无统计学意义($P > 0.05$)，但联合干扰素可降低NAs的耐药率和病毒学反弹率。

《干扰素治疗慢性乙型肝炎专家建议》^[7]提示要重视HBsAg的定量或半定量对临床疗效的指导意义。HBsAg或HBeAg定量或半定量在抗病毒治疗中发挥了越来越重要的临床价值。本研究中，无论是试验组还是对照组，基线HBsAg水平高的患者HBeAg的低于检测下限和转换率均高于基线HBsAg

水平低的患者,与Ning等^[8]的研究结果一致。治疗过程中,HBsAg下降幅度与HBeAg下降幅度具有相关性,提示HBsAg下降幅度大的患者更有可能获得HBeAg的低于检测下限或转换,此外HBsAg的下降速率对HBeAg的下降速率和血清学低于检测下限和转换的影响尚需更大样本量的研究设计进行探索。

NAs基础治疗时间短的患者无论是否加用IFN- α 1b都有可能通过延长治疗时间达到HBeAg的转换:基础治疗12~24个月继续使用NAs治疗48周的转换率为6.98%;基础治疗25~36个月继续使用NAs治疗48周的转换率为3.57%;基础治疗12~24个月联合应用IFN- α 1b治疗48周的转换率为27.50%;基础治疗25~36个月联合应用IFN- α 1b治疗48周的转换率为10.34%,与理论结果一致。NAs基础治疗时间短的患者组联合IFN- α 1b与继续单药治疗的HBeAg的血清学转换率差值为20.52%;基础治疗时间长的患者组联合IFN- α 1b与继续单药治疗的HBeAg的血清学转换率差值为6.77%;联合IFN- α 1b使基础治疗时间短的患者组HBeAg血清学转换率增加更多,提示无论NAs的基础治疗时间长短,联合IFN- α 1b均可增加患者获益,但早期联合应用IFN- α 1b可能使患者更多的获益,但尚需足够样本量的分组研究设计证实。

欧洲肝脏研究学会提出的乙型肝炎治疗3个层次,满意的治疗终点为停药后持久的HBeAg血清学转换及HBV DNA检测不到^[10]。长期应用NAs治疗,存在较高的耐药风险,停药时机不确定,停药后反弹率高等问题,干扰素具有抗病毒和免疫调节的双重作用,序贯联合干扰素可以降低NAs的耐药风险,增加患者血清学应答率^[11],且经巩固治疗后可以停药,停药后的持久应答率高,可通过有限疗程获得长期获益^[12],干扰素在病毒性肝炎的治疗中可能发挥越来越重要的作用。HBeAg血清转换是HBeAg阳性CHB获得持久缓解的最有力的标志。

HBeAg血清学转换可以有效地预防肝硬化和肝细胞癌。乙型肝炎治疗的最终目标包括预防肝细胞癌,延长患者生存期,减轻失代偿期肝脏疾病和提高患者的生活质量。本研究未进行停药后长期随访的分析,序贯联合干扰素在停药后的免疫应答率和肝纤维化、肝硬化和肝细胞癌的预防方面尚需更多前瞻性、大规模的临床研究进行评价。

参考文献

- [1] European Association for the study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection[J]. J Hepatol,2012,57:167-185.
- [2] Dusheiko G. Treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B: interferon or nucleoside analogues[J]. Liver Int,2013,33(Suppl 1):137-150.
- [3] Hui CK, Leung N, Yuen ST, et al. Natural history and disease progression in Chinese chronic hepatitis B patients in immunetolerant phase[J]. Hepatology,2007,46:395-401.
- [4] Yuen MF, Lai CL. Treatment of chronic hepatitis B: evolution over twodecades[J]. J Gastroenterol Hepatol,2011,26 Suppl 1:138-143.
- [5] Hadziyannis SJ, Vassilopoulos D, Hadziyannis E. The natural course of chronic hepatitis B virus infection and its management[J]. Adv Pharmacol,2013,67:247-291.
- [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(2010年版)[J].中国肝脏病杂志(电子版),2011,3:40-56.
- [7] 聚乙二醇干扰素 α 治疗核苷(酸)类似物经治慢性乙型肝炎专家组.聚乙二醇干扰素 α 治疗核苷(酸)类似物经治慢性乙型肝炎患者专家会议纪要[J].中华肝脏病杂志,2013,21:494-497.
- [8] Ning Q, Han MF, Sun YT, et al. New treatment strategy: switching from long-term entecavir to peginterferon alfa-2a induces HBeAg seroconversion/HBsAg clearance in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B[J]. Hepatology,2012,56(Suppl 1):216A.
- [9] Li Q, Dong G, Yu J, et al. Adding peginterferon alfa-2a on nucleos(t)ide analogues therapy improves HBeAg seroconversion and HBsAg decline in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients who have achieved virological responses[J]. J Hepatol,2013,58(Suppl 1):S307.
- [10] 万谟彬,翁心华.干扰素治疗慢性乙型肝炎专家建议(2010更新)[J].中华传染病杂志,2010,28:193-200.
- [11] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B[J]. J Hepatol, 2009,50:227-242.

收稿日期: 2014-08-29