

• 临床检验研究论著 •

IL-28B 基因多态性对慢性 HBV 患者抗病毒治疗疗效的预测价值

胡晓凤, 陈建杰, 朱敏芳, 明利平

(上海浦东新区传染病医院检验科, 上海 201299)

摘要:目的 探索 IL-28B 基因在慢性 HBV 患者抗病毒疗效中的作用。方法 对 HBV 病毒 e 抗原(HBeAg)阳性的 205 例慢性乙型肝炎患者采用干扰素(PEG-IFN)的抗病毒治疗方法,采用 TapManSNP 基因分析法检测 IL-28Brs12980275 和 rs12979860 的基因型,并分析基因型与 HBeAg 血清转化的关系。结果 205 例患者中有 6 例基因型不确定,剩余的 199 例患者 IL-28B 的 rs12980275 和 rs12979860 基因型比率分别为 AA 77%、AG 19%、GG 5% 和 CC 76%、CT 20%、TT 4%。IL-28B 基因型与 HBeAg 血清转化显著相关($P<0.01$)。在 rs12980275 基因型上,通过 HBV 基因型、年龄、HBV 水平及丙氨酸转氨酶和联合治疗,血清转化调整 AA 和 AG/GG 的优势比为 3.16。对于 rs12979860 也得到了相似的结果。IL-28B 也与乙型肝炎表面抗原清除有关。结论 IL-28B 与 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗疗效有关系。

关键词: IL-28B; 慢性乙型肝炎; 抗病毒; 疗效预测

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.14.022

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)14-1868-03

Prediction value of IL-28B gene polymorphism on antiviral curative effect in patients with chronic hepatitis B

Hu Xiaofeng, Chen Jianjie, Zhu Minfang, Ming Liping

(Department of Clinical Laboratory, Infection Diseases Hospital of Shanghai Pudong New Area, Shanghai 201299, China)

Abstract: **Objective** To investigate the role of IL-28B gene on the antiviral curative effect in the patients with chronic hepatitis B. **Methods** 205 HBeAg-positive patients treated with the antiviral therapy of pegylation interferon(PEG-IFN) were detected the IL-28B rs12980275 and rs12979860 genotypes by TapManSNP genotyping assay and the relationship between the IL-28B genotypes and HbeAg seroconversion at end of treatment was analyzed. **Results** Among 205 cases, 6 cases of genotype were uncertainty, the frequencies of IL-28B genotypes in other 199 cases were 77%, 19%, 5% for AA, AG, GG genotypes at rs12980275 and 76%, 20%, 4%, for CC/CT/TT genotypes at rs12979860 respectively. The IL-28B polymorphisms were significantly correlated with the HbeAg seroconversion at the end of PEG-IFN treatment ($P=0.001$). In rs12979860 genotype, by the HBV genotyp, age, HBV level, ALT and the combined therapy, the odds ratio (OR) of AA versus AG/GG was adjusted to 3.16 by HbeAg seroconversion. The similar result also obtained for the rs12980275 genotype. The IL-28B genotype was also associated with the HBsAg clearance. **Conclusion** The IL-28B gene polymorphism is associated with the antiviral curative effect in the patients with HBeAg positive chronic hepatitis B.

Key words: IL-28B; chronic hepatitis B; PEG-IFN; curative prediction

慢性乙型肝炎是一种全球流行的传染病,全球每年约 100 万人死于与 HBV 感染相关的肝脏疾病^[1],且我国属于 HBV 感染的高流行区,一般人群的 HBsAg 阳性率为 9.09%^[2],已构成严重的临床问题^[3]。常用的治疗慢性乙型肝炎方式是抗病毒治疗,抗病毒药物可抑制 HBV 复制,常用抗病毒药物主要分为干扰素和口服抗病毒药物,如拉米夫定等。其中干扰素是治疗乙型肝炎的首选药物之一^[4],但其不良反应如发热、脱发等使其应用受限。口服抗病毒药物中,拉米夫定虽具有良好临床疗效,但在使用过程中可出现不良反应如过敏、血液系统损害等,同时治疗中可出现 HBV 变异,增加治疗难度。只有 30%~40% 的患者会达到预期效果^[5],且费用高,副作用大,个体差异大^[6]。因此,预测慢性乙型肝炎抗病毒治疗效果是非常有价值的。

近来,与干扰素相关研究得到发展,但通过合并多个预测因子建立的多变量预测模型辨别能力有限,许多描述因子与病毒学或 HBV 感染有关^[7],而影响抗病毒治疗疗效的宿主因子仍未可知。目前,一些独立的基因组关联研究表明在 IL-28B

基因及其附近包括 rs12980275 和 rs12979860 与慢性丙型肝炎抗病毒治疗疗效有很大关系^[8]。尽管 IL-28B 影响抗病毒治疗疗效原理未知,但这些发现在一些研究中已经得到证实^[9]。IL-28B 基因表达蛋白质具有抗病毒作用^[10],而 IL-28B 多态性是否与慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗疗效有关,还未可知。此文试图探索 IL-28B 基因多态性在慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗疗效中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 接受抗病毒治疗的 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者 205 人,平均(35.0±11.4)岁,男性 149 人,女性 56 人。所有患者的乙型肝炎病毒表面抗原(HBsAg)至少在 6 个月内呈阳性。排除在研究期间同时感染丙型肝炎病毒(HCV)、人类免疫缺陷病毒及接受免疫、化疗等的患者^[11]。

1.2 检测方法 利用酶联免疫吸附测定包对 HBsAg 和 HBeAg 及 anti-HBe 进行测定,采用实时聚合酶链反应分析测定 HBV-DNA 水平,HBV 基因型由片段长度多态性决定或采用探针分析法进行分析^[11]。

1.3 IL-28B 基因分型 采用 TapMan SNP 基因分析法检测 19 号染色体 IL-28B 基因附近单核苷酸多态性 rs12979860 和 rs12980275^[12]。通过聚合酶连锁反应进行放大,利用实时 PCR 系统读出终结点。利用序列检测系统软件读出荧光值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 及 SAS9.2,利用 *t* 检验、*U* 检验、 χ^2 检验和 Fisher exact test 进行组间率比较。利用二分类变量回归模型鉴别与 HBeAg 血清转化和 HBV-DNA 水平小于 2 000 IU/mL 有关的独立因子。利用 Kaplan-Meier 分析和 Cox 比例风险模型估测 IL-28B 基因与 HBeAg 血清转化及 HBsAg 清除的关系。利用似然性比率检定法建立回归模型,采用双边假设检验,计算相应的优势比和 95% 置信区间, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

利用干扰素治疗 1 年($n=85$),治疗 32 或 52 周并附加拉米夫定 52 周($n=83$),用干扰素治疗 32 周,并外加拉米夫定 96 或 104 周($n=23$),用干扰素 16~42 周($n=14$)。76 个患者(37%)经过干扰素治疗后再次接受治疗。

2.1 IL-28B 基因分型结果 rs12980275 和 rs12979860 密切相关,只有 6 个患者分类不确切。检测的 205 例患者的 IL-28B 的基因型结果显示:rs12980275 中 AA、AG、GG 基因型患者 152 例(74.14%)、37 例(18.04%)、10 例(4.87%);rs12979860 中 CC、CT、TT 基因型患者 151 例(76%)、39 例(20%)、9 例(4%)。统计分析显示,两者的基因型存在明显相关性($r=0.94, P=0.001$)。

2.2 IL-28B 基因型和 HBeAg 血清转化关系 治疗结束后 HBeAg 血清转化率随 IL-28B 基因型变化较显著($P=0.001$)。90 例患者(43.90%)达到 HBeAg 血清转化,其中 rs12980275 的 AA、AG、GG HBeAg 血清转化患者分别有 52 例(57.77%)、27 例(30.00%)、11 例(12.22%),与 AG/GG 相比,AA 的 HBeAg 血清转化明显升高($\chi^2=6.477, P=0.001$);rs12979860 中 CC、CT、TT HBeAg 血清转化患者分别有 50 例(55.55%)、29 例(32.22%)、11 例(12.22%),与 CT/TT 相比,CC 的 HBeAg 血清转化明显升高($\chi^2=6.231, P=0.001$)。经过治疗,在调整其他预测因子后,IL-28B 基因多态性和 HBeAg 血清转化的关系保持较稳定的显著性。在 HBeAg 血清转化患者中,AA 对比 AG/GG 调整比例(OR)为 3.16($P=0.013$),CC 对比 CT/TT 的 OR 为 2.89($P=0.024$)。

2.3 IL-28B 基因型与 HBV-DNA 水平的 HBeAg 减少程度关系 为与以前的预测模型比较,定义 6 个月后 HBeAg 血清转化或 HBV-DNA 水平小于 2 000 UI/mL 时表示疗效较好。调整后,IL-28B 与 HBeAg 血清转化之间是独立关联的(AA 比 AG/GG 的比率为 3.54, $P=0.008$,CC 比 CT/TT 的比率为 3.24, $P=0.016$)。当 IL-28B 基因型添加到之前的指数时,IL-28B 基因型与疗效关系并不显著,AA 对 AG/GG 比率为 1.28($P=0.588$),CC 对 CT/TT 比率为 1.03($P=0.948$)。

2.4 IL-28B 基因型和 HBeAg 血清转化的关系 有 100 个患者(49%)利用 93 周完成 HBeAg 血清转化,95 个患者中有 15 个患者(17%)在 HBeAg 血清转化后复发。另外有 25 个患者停止治疗后,完成 HBeAg 血清转化。同时发现 HBeAg 血清转化与 IL-28B 有关,对于 AA、AG、GG, HBeAg 血清转化率分别为 54%、35%、20%($P=0.005$),相对 AG/GG 基因型,AA 与 HBeAg 血清转化关系更为密切。在 Cox 比例风险模型中,

当对 HBV 及 ALT、HBV-DNA 水平校正后,AA 与 HBeAg 血清转化关系较为密切($P=0.018$)。CC 同样表现其关系较密切($P=0.041$)。而对二者综合分析并非为疗效显著因子($P>0.76$)。

2.5 IL-28B 基因型及联合 HBeAg 血清转化和 HBV-DNA 水平降低之间的关系 有 57 个患者(28%)达到 HBeAg 血清转化和 HBV-DNA 水平降为小于 2 000 UI/mL。IL-28B 联合 HBeAg 和 HBV-DNA 治疗效果并不显著。通过多元回归分析当只调整显著因子 HBV 时,AA 更易达到 HBeAg 血清转化及 HBV-DNA 水平小于 2 000 UI/mL 的效果($P=0.11$),对于 CC 得到类似结果($P=0.21$)。

2.6 IL-28B 基因型和 HBsAg 清除的关系 有 18 个患者达到 HBsAg 清除效果。通过单变量分析,HBsAg 清除发生在 IL-28B 所有基因型中,通过调整 HBV 基因型发现 AA 与 HBsAg 清除有较大关系(AA 对比 AG/GG, HR 为 3.47),CC 对比 CT/TT, HR 为 2.57。

3 讨 论

近年来,IL-28B 基因多态性逐渐引起国内外专家的重视,而与乙型肝炎抗病毒疗效的相关性更成为近年研究的热点,研究认为:rs12979860 位点的 CC 型基因能更好地自发清除 HBV,rs8099917 位点的 G 等位基因与 HCV 的持续感染正相关^[12]。尽管我国是 HBV 感染的高流行区。但是目前国内尚未见 IL-28B 基因多态性与乙型肝炎相关性的研究报道。本课题初步对 IL-28B 基因 rs8099917、rs12979860 两位点的基因多态性与核苷(酸)类似物治疗 HBeAg(+)-CHB 患者疗效的相关性进行了研究。本实验中,我们对乙肝病毒 e 抗原(HBeAg)阳性的 205 例慢性乙型肝炎患者采用干扰素(PEG-IFN)的抗病毒治疗方法,采用 TapManSNP 基因分析法检测 IL-28B rs12980275 和 rs12979860 的基因型,并分析基因型与 HBeAg 血清转化的关系。本研究发现在 205 例患者中有 6 例基因型不确定,剩余的 199 例患者 IL-28B 的 rs12980275 和 rs12979860 基因型比率分别为 AA77%、AG19%、GG5% 和 CC76%、CT20%、TT4%。IL-28B 基因型与 HBeAg 血清转化显著相关($P<0.01$)。在 rs12980275 基因型上,通过 HBV 基因型、年龄、HBV 水平及丙氨酸转氨酶和联合治疗,血清转化调整 AA 和 AG/GG 的优势比为 3.16。对于 rs12979860 也得到了相似的结果:IL-28B 也与乙型肝炎表面抗原清除有关。本实验的研究结果提示:IL-28B 基因多态性 rs12979860、rs12980275 可以作为预测抗病毒治疗疗效中 HBeAg 血清转化,而且与 HBV 基因型及 HBVDNA 水平是独立相关的。IL-28B:rs12980275-G/T 和 rs12979860-C/T 两位点的基因多态性与 HBeAg 阳性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗疗效有密切关系。

人体 HBV 感染后多样化的临床表现和抗病毒疗效的多样化是 HBV 本身基因组的多态性、特定的环境因素和人体的遗传因素这三者协同交互作用的结果^[13]。HBV 感染本身是一个多因素参与与作用的复杂过程,不能简单归结为某一特定因素的影响。随着研究不断深入,基因多态性研究必将为 HBV 的防治展现更广阔的前景^[14]。

参考文献

[1] Maddrey WC. Hepatitis B:an important public(下转第 1872 页)

水平,不能反应感染的严重程度,对预后意义也有局限^[5]。

自 Assicot 等^[6]首次报道 PCT 作为细菌感染的早期指标以来,已经引起了全球医学界的广泛关注,把它作为诊断指标或抗菌药物应用指导都可以在各种杂志文献学术会议上见到它^[7-9],并且已有不少大中型医院在开展 PCT 的检测(半定量或定量)。但目前仍未得到临床广泛认可,因为使用 PCT 诊断的安全性和临床价值仍不十分明确。

在本文的探讨中,未在诊断价值方面作验证,只在对抗菌药物应用指导方面作了一些探讨。从总的来看,应用血清 PCT 水平指导抗菌药物应用,在抗菌药物的使用时间、住院时间、住院费用等两组间比较都具有统计学意义。但细化到各个科室,不同科室的不同疾病利用 PCT 的价值不尽相同。从本文的表 1、表 2 就可以看出:内科的 COPD 患者可以用 PCT 的水平评估感染的严重程度及预后,但不能随意用 PCT 的动态监测结果停用抗菌药物,在研究过程中因个别患者的病情严重或/和自身的身体不良状况,停用抗菌药物,可能造成病情的反复而延长病程甚至危及生命;儿科的 URI 患者可以用 PCT 的动态监测结果,及时停用抗菌药物,从而减少抗菌药物的暴露时间,但用 PCT 的水平评估感染的严重程度及预后,往往多与临床不符(婴幼儿可能有生理性的升高);妇科虽然两组在费用比上无统计学意义,但抗菌药物的使用时间和住院时间明显缩短;外科和麻醉科在本研究中价值体现最大,在抗菌药物的应用比较中都有显著的统计学意义。

PCT 作为单一的血清学指标,在诊断细菌感染、判断预后和指导抗菌药物应用方面具有简便、快速的特点^[10],但也存在局限性。要正确应用好这一指标。还得结合临床和其他相关

指标,尽最大限度减少抗菌药物的使用,降低细菌耐药率可以减轻患者负担,节约卫生资源。

参考文献

[1] 李传杰,蔡月莲,文晓君,等. 细菌感染性疾病临床疗效与病原学送检相关性分析[J]. 中国感染控制杂志,2010,1:34-36.

[2] 郑平荣. 抗生素的合理应用[J]. 临床合理用药,2010,3(10):80.

[3] 王力红,张京利,马文晖. 浅谈抗菌药物临床合理使用与医疗质量管理[J]. 中国医院. 2006(5):21-23.

[4] 沈发英. 抗菌药物不合理使用现状及对策[J]. 中国现代药物应用,2012,6(11):76-77.

[5] Schuetz P, Albrich W, Mueller B. Procalcitonin for diagnosis of infection and guide to antibiotic decisions: past, present and future [J]. BMC Med, 2011, 9:107.

[6] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection[J]. Lancet, 1993, 341(8844):515-518.

[7] 杨滨,康梅. PCT 在细菌感染性疾病诊断及治疗中的应用[J]. 现代预防医学,2009(3):596-597,601.

[8] 王晓梅,张建成,周平,等. 血清 PCT 的检测在发热性疾病诊断中的意义[J]. 实用医院临床杂志,2013,1:80-82.

[9] 肖俏,李松,屈平华,等. 血清 PCT 检测联合微生物培养的临床应用价值[J]. 国际检验医学杂志,2012,21:2658-2660.

[10] 李丰尧. PCT 检测在在感染性疾病中的临床诊断价值[J]. 中国实用医药,2013,10(8):136-137.

(收稿日期:2014-02-22)

(上接第 1869 页)

health issue [J]. J Med Virol, 2000, 61(1):362-366.

[2] 梁晓峰,陈园生,王晓军,等. 中国三岁以上人群乙型肝炎血清流行病学研究 [J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26:655-658.

[3] 叶永安,江锋,赵志敏,等. 慢性乙型肝炎中医证型分布规律研究 [J]. 中医杂志, 2007, 48:256-258.

[4] 白茜,赵桂珍. 抗病毒治疗在慢性乙型肝炎治疗中的重要性 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(1):5-9.

[5] Lau GK, 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, 352:2682-2695.

[6] Sonneveld MJ, Wong VW, Woltman AM, et al. Polymorphisms Near IL-28B and Serologic Response to Peginterferon in HBeAg-Positive Patients With Chronic Hepatitis B [J]. Gastroenterology, 2012, 142:513-520.

[7] Buster EH, Hansen BE, Lau GK, et al. Factors that predict response of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B to peginterferon-alfa [J]. Gastroenterology, 2009, 137(6): 2002-2009.

[8] Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL-28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance[J]. Nature, 2009, 461(1):399-401.

[9] Buster EH, Flink HJ, Cakaloglu Y, et al. Sustained HBeAg and

HBsAg loss after long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with peginterferon alpha-2b[J]. Gastroenterology, 2008, 135(2):459-467.

[10] Moucari R, Korevaar A, Lada O, et al. High rates of HBsAgsero-conversion in HBeAg-positive chronic hepatitis B patients responding to interferon: a long-term follow-up study[J]. J Hepatol, 2009, 50(1):1084-1092.

[11] Balagopal A, Thomas DL, Thio CL. IL-28B and the control of hepatitis C virus infection[J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 1865-1876.

[12] Cariani, E, Villa E, Rota C, et al. Translating pharmacogenetics into clinical practice: interleukin (IL)28B and inosine triphosphatase (ITPA) polymorphisms in hepatitis C virus (HCV) infection. [J] Clin Chem Lab Med, 2011, 49(8):1247-1256.

[13] Mizokami M. Discovery of critical host factor, IL-28B, associated with response to hepatitis C virus treatment. [J] Gastroenterol Hepatol, 2012, 27(3):425-429.

[14] Chen C, Tan B, Zhou Y, et al. IL-28B genetic variant is associated with the risk of schizophrenia in the Chinese Han population. [J] DNA Cell Biol, 2012, 31(6):988-992.

(收稿日期:2014-02-12)