

检测IL-28B rs12979860基因型预测 丙型肝炎疗效的研究

杨晴¹, 宋家武², 陈燕鸿¹, 钟曼华¹ (1. 珠海市人民医院 感染科, 广东 珠海 519000; 2. 中山大学附属第五医院 消化内科, 广东 珠海 519000)

摘要: 目的 检测宿主白细胞介素-28B (IL-28B) 基因rs12979860区域基因型, 分析其与丙型肝炎抗病毒疗效的关系。方法 选择2012年5月至2014年12月珠海市人民医院使用干扰素联合利巴韦林进行抗病毒治疗的丙型肝炎患者63例, 使用基因诊断试剂盒检测IL-28B rs12979860基因型, 通过治疗过程中HCV RNA定量等指标总结疗效, 分析宿主IL-28B rs12979860基因型与丙型肝炎抗病毒疗效的关系。结果 63例检测IL-28B rs12979860基因型的患者中有41例 (65.1%) 为C/C型, 16例 (25.4%) 为C/T型, 6例 (9.5%) 为T/T型。按抗病毒疗效标准判断, 63例中37例 (58.7%) 达到RVR, 49例 (77.8%) 达到SVR。其中IL-28B rs12979860为C/C型者41例中实现RVR 32例 (78.0%), cEVR 36例 (87.8%), SVR 37例 (90.2%), NR 1例 (2.4%), RR 2例 (4.9%)。C/T型者16例中实现RVR 5例 (31.2%), cEVR 8例 (50.0%), SVR 11例 (68.8%), NR 2例 (12.5%), RR 3例 (18.8%)。T/T型者6例中RVR者0例, cEVR 1例 (16.7%), SVR 1例 (16.7%), NR 4例 (66.7%), RR 1例 (16.7%)。经统计学分析, 不同基因型之间疗效有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 IL-28B rs12979860为C/C型患者经过干扰素联合利巴韦林治疗达到RVR率和SVR率均高于基因型为C/T型及T/T型患者。IL-28B rs12979860基因型检测对丙型肝炎抗病毒应答和病毒清除具有预测作用, 可帮助临床制定个体化治疗方案。

关键词: IL-28B rs12979860基因型; 丙型肝炎; 抗病毒治疗; 疗效

Research of prediction efficacy in antiviral treatment of hepatitis C by detecting genotypes of rs12979860 on IL-28B

YANG Qing¹, SONG Jia-wu², CHEN Yan-hong¹, ZHONG Man-hua¹ (1. Department of Infectious diseases, Zhuhai Municipal People's Hospital, Zhuhai 519000, China; 2. Department of Gastroenterology, Fifth Hospital Affiliated Sun Yat-Sen University, Zhuhai 519000, China)

Abstract: **Objective** To analyze the relationship between genotypes of rs12979860 on IL-28B and the anti-virus effects in HCV infection patients. **Methods** The rs12979860 genotypes of 63 HCV infected patients who were admitted in Zhuhai People's Hospital with IFN + RBV therapy were assayed and the anti-virus effects were also evaluated by HCV RNA quantitative real time PCR. The expression of rs12979860 genotype and anti-virus effects were analyzed in our study. **Results** The genotypes of these 63 cases were 41 (65.1%) for C/C, 16 (25.4%) for C/T, and 6 (9.5%) for T/T. After treatment, there were totality 37 cases (58.7%) had rapid viral response (RVR), and 49 cases (77.8%) had sustained viral response (SVR). In genotype C/C there were totality 32 cases (78.0%) had RVR, and 37 cases (90.2%) had SVR. In genotype C/T there were totality 5 cases (31.2%) had RVR, and 11 cases (68.8%) had SVR. In genotype T/T there were 0 case had RVR and 1 case (16.7%) had SVR. The efficacy data showed statistically significant differences ($P < 0.01$, $P < 0.05$). **Conclusions** In hepatitis C patients that use IFN + RBV to anti-virus therapy, the RVR and SVR of C/C genotypes of rs12979860 is significantly better than C/T and T/T genotypes. Detect the genotypes of rs12979860 can predict the clearance of virus in anti-virus therapy and it is helpful to personality therapy for hepatitis C patients.

Key words: rs12979860 on IL-28B genotype; Hepatitis C; Antiviral treatment; Efficacy

针对丙型肝炎病毒进行抗病毒治疗,是慢性丙型肝炎及其导致的代偿期肝硬化的根本性治疗。国内目前阶段抗病毒治疗的方案是使用注射干扰素[普通干扰素IFN- α 或聚乙二醇化干扰素(PEG-IFN- α)]+口服利巴韦林,疗程为24~48周,由于这一方案经济成本高及疗程较长,并且副作用较大,致使一部分病人最终难以完成治疗,同时最终的抗病毒疗效存在差异^[1-3]。近年来有文献报道,丙型肝炎治疗时其应答效果除了与HCV基因亚型有关外^[4,5],还与患者白细胞介素-28B(IL-28B)基因多态性和治疗后病毒是否持久清除相关^[6-8]。我们在前期曾使用珠海赛乐奇生物公司研发的IL-28B基因型快速诊断试剂^[9,10],对慢性丙型肝炎抗病毒患者检测宿主IL-28B基因型并结合疗效进行了分析,发现不同IL-28B基因型与丙型肝炎抗病毒应答疗效有关^[11],为了深入了解IL-28B基因型与丙型肝炎疗效的关系,对临床制定个体化抗病毒治疗方案提供帮助,并对试剂研发提供更多临床数据,我们进一步扩大样本数量,补充临床资料,完成了63例使用抗病毒治疗丙型肝炎患者的IL-28B基因rs12979860区域基因型检测,并增加了有关抗病毒疗效分析的内容,现将结果进行报告。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例资料来自珠海市人民医院感染肝病科2012年5月至2014年12月治疗的慢性丙型肝炎患者,全程进行抗病毒治疗并资料完整者共计63例,男40例,女23例,年龄21~65岁,平均41.2岁。其中慢性活动性丙型肝炎45例(71.4%),代偿期肝硬化18例(28.6%)。其中45例进行了HCV亚型检测,其中1-a型3例,1-b型2例,2-a型19例,2-b型20例,6-a型1例。

1.2 抗病毒治疗方法 治疗应用普通干扰素IFN- α 或聚乙二醇化干扰素PEG-IFN,联合口服利巴韦林900~1 200 mg/d,24~48周(在治疗过程中检测,达到RVR者,疗程定为24周)。63例中,使用IFN- α 30~50 μ g,隔日一次皮下注射并联合利巴韦林患

者37例;PEG IFN- α -2a 135~180 μ g,每周一次并联合利巴韦林患者26例。

1.3 丙型肝炎病毒核酸(HCV RNA)定量检测 入组患者分别在治疗前、治疗后12周、24周、36周、48周及停药后24周,抽血标本送我院分子生物学实验室进行HCV RNA定量检测。判定标准:HCV RNA低于 5.0×10^2 拷贝/ml为低于检测下限,高于 5.0×10^2 拷贝/ml为高于检测下限。治疗前HCV RNA为 $9.16 \times 10^3 \sim 1.03 \times 10^8$ 拷贝/ml,平均 8.10×10^5 拷贝/ml。

1.4 IL-28B rs12979860基因型检测 采血标本送至珠海赛乐奇生物技术有限公司PCR实验室,采用其开发研制的生物传感器基因芯片检测^[9,10],基因检测法进行对照。提取DNA对位点rs12979860测序,进行基因分型。①以PCR法扩增rs12979860DNA区段,上游引物IL-28 F5'-GGACGAGAGGGCGTTAGAG-3'、下游引物IL-28 F5'-GGCTCAGGGTCAATCACAG-3'。②反应步骤:94 $^{\circ}$ C预热5分钟、94 $^{\circ}$ C变性30秒、58 $^{\circ}$ C退火30秒、72 $^{\circ}$ C延伸30秒、循环数35个,最后延伸7分钟。③获得PCR产物,以测序仪测序后进行IL-28B rs12979860基因分型(C/C、C/T、T/T)。

1.5 疗效判定标准 病毒学应答的相关定义^[12]:

①快速病毒学应答(RVR):治疗4周时HCV RNA载量低于检测下限;②完全早期病毒学应答(cEVR):治疗12周时血清HCV RNA载量低于检测下限;③部分早期病毒学应答(pEVR):治疗12周时血清HCV RNA载量下降 $> 10^2$ 拷贝/ml,但未低于检测下限;④持续病毒学应答(SVR):治疗结束后随访24周HCV RNA载量仍低于检测下限;⑤无应答(NR):治疗结束时HCV RNA仍可被检出;⑥复发(RR):治疗结束时HCV RNA载量低于检测下限,但停药后HCV RNA又可被检出。

1.6 其他检查 患者每12周检测抗-HCV、肝肾功能、血常规、自身免疫标记等,每24周检查肝脏彩超或CT、MRI。

1.7 统计学处理 数据使用SPSS 15.0软件进行分析,

表1 不同IL-28B rs12979860基因型丙型肝炎患者抗病毒疗效比较[例(%)]

基因型	RVR	cEVR	SVR	NR	RR
C/C型	32 (78.0)	36 (87.8)	37 (90.2)	1 (2.4)	2 (4.9)
C/T型	5 (31.2)	8 (50.0)	11 (68.8)	2 (12.5)	3 (18.8)
T/T型	0 (0.0)	1 (16.6)	1 (16.6)	4 (66.7)	1 (16.6)
总数	37 (58.7)	45 (71.4)	49 (77.8)	7 (11.1)	6 (9.5)
χ^2	16.249	17.500	15.921	17.161	12.930
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.025

注:经卡方检验比较,C/C型与C/T型、T/T型在RVR、cEVR、SVR、NR、RR应答类型有显著性差异,P值分别 < 0.01 , < 0.05

组间差异性比较资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

2 结果

2.1 IL-28B基因分型 经检测IL-28B rs12979860基因型,63例患者中41例为C/C型,占65.1%,16例为C/T型,占25.4%,6例为T/T型,占9.5%。

2.2 抗病毒疗效 治疗结束随访24周判定疗效,本组63例中共有37例(58.7%)达到RVR,45例(71.4%)达到cEVR,49例(77.8%)达到SVR,7例(11.1%)为NR,6例(9.5%)为RR。其中IL-28B rs12979860为C/C型患者41例中,达到RVR者32例(78.0%),cEVR者36例(87.8%),SVR者37例(90.2%),为NR者1例(2.4%),RR者2例(4.9%)。C/T型患者16例中,达到RVR者5例(31.2%),cEVR者8例(50.0%),SVR者11例(68.8%),为NR者2例(12.5%),RR者3例(18.8%)。T/T型患者6例中,达到RVR者0例,cEVR者1例(16.7%),SVR者1例(16.7%),为NR者4例(66.7%),RR者1例(16.7%),见表1。

3 讨论

由于实施丙型肝炎抗病毒治疗时,疗效受多因素影响,在HCV基因亚型差异不大时全面预测疗效存在不足。国外研究表明^[13,14],检测丙型肝炎患者IL-28B rs12979860基因多态性位点,对干扰素 α 治疗后HCV清除有预测作用。国内文献报道^[15,16],IL-28B rs12979860基因型不同的患者抗病毒疗效有差异。我们在前期研究基础上,扩大样本并完善补充资料和疗效分析内容,采用基因芯片对照基因检测法,对63例丙型肝炎抗病毒治疗患者检测IL-28B基因rs12979860区域基因型,总结资料,本地丙型肝炎患者中,IL-28B rs12979860基因为C/C型者占多数(65.1%)。分析抗病毒治疗后疗效,显示基因C/C型患者RVR和SVR率为三组中最高,即C/C型患者早期病毒学应答率以及停药后持续病毒学应答率高,同时C/C型患者的NR及RR率在三组中最低,即无应答率和停药后复发率低。经统计学分析,疗效较IL-28B rs12979860为C/T基因型及T/T基因型的患者好,表明IL-28B rs12979860基因型为C/C型丙型肝炎患者,经过规范的抗病毒治疗,多数可以获得较好治疗结果,疗效持久稳定,不需延长疗程。IL-28B rs12979860基因型为T/T型患者,早期病毒学应答率及持续病毒学应答率低,无应答率高,使用干扰素 α 联合利巴韦林抗病毒疗效不佳,在临床需要结合病情改变治疗方案或者延长用药时间。IL-28B rs12979860基因型为C/T型的患者,抗病毒疗效在C/C型与T/T型患者之间。本研究通过对63例

患者检测IL-28B rs12979860基因型并分析其与抗病毒疗效的关系,结果表明IL-28B rs12979860基因型不同丙型肝炎患者抗病毒治疗的效果存在差异。进一步说明了基线对丙型肝炎患者进行IL-28B基因型检测对预测抗病毒应答效果具有重要意义,通过检测宿主IL-28B rs12979860基因型可以在基线预测疗效,给患者提出疗程建议,为评估治疗预后、制定个体化方案提供帮助。本研究也为继续研制IL-28B rs12979860基因型的基因芯片试剂盒提供了进一步的数据。总之,宿主IL-28B rs12979860基因型检测为指导临床制定丙型肝炎合理抗病毒方案、减少费用支出等方面提供依据和帮助,最终为提高丙型肝炎的抗病毒疗效起到积极作用。

参考文献

- [1] 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[J]. 中华实验和临床感染病杂志,2009,3:43-47.
- [2] Ghany MG, Strader DB, Thomas DB, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update[J]. J Hepatology,2009,49:1335-1374.
- [3] EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection[J]. J Hepatol,2011,3:401-402.
- [4] 谢尧,徐道振,陆志稼,等. HCV基因型对慢性丙型肝炎干扰素疗效的影响[J]. 中华肝脏病杂志,2004,12:72-75.
- [5] Shields WW, Pockros PJ. Ribavirin analogs[J]. Clin Liver Dis,2009,13:419-427.
- [6] Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus[J]. J Nature,2009,461:798-801.
- [7] Thomas JU, Alexander JT, Shelton SB, et al. IL28B genotype is associated with differential expression of intrahepatic interferon-stimulated genes in patients with chronic hepatitis C[J]. J Hepatol,2010,52:1888-1896.
- [8] Rao HY, Sun DG, Jiang D, et al. IL28B genetic variants and gender are associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus infection[J]. J Viral Hepat,2011,10:1365-1373.
- [9] Song JW, Li PY, Yao L, et al. Development and preliminary clinical evaluation of a novel biosensor-based microarray (BBM) assay for detection of rs8099917 and rs12979860 for HCV individual therapy[J]. Gastroenterology,2012; 142,S-944.
- [10] Li PY, Song JW, Yao L, et al. A novel biosensor-based microarray assay for detecting rs8099917 and rs12979860 genotypes[J]. World J Gastroenterol,2012,18:6481-6488.
- [11] 杨晴,陈燕鸿,宋玲英,等. 宿主IL28B基因型与丙型肝炎抗病毒疗效的关系探讨[J]. 临床医药文献电子杂志,2014,7:33-37.
- [12] Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update[J]. J Hepatology,2009,49:1335-1374.
- [13] Rao HY, Sun DG, Jiang D, et al. IL28B genetic variants and gender are associated with spontaneous clearance of hepatitis C virus infection[J]. J Viral Hepatitis,2011,10:1365-1373.
- [14] 赵莹莹,邢卉春,成军. 2012年亚太肝脏协会HCV感染管理策略专家共识解读[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版),2012,4:33-37.
- [15] 石晓东,姜晶,牛俊奇. 白细胞介素28B的基因多态性与丙型肝炎病毒感染转归的关系[J]. 临床肝胆病杂志,2011,1:28-31.
- [16] 谢俊强,郭小燕,李新华. 白细胞介素-28B基因多态性与丙型肝炎病毒感染自然清除的相关性[J]. 中华传染病杂志,2012,9:538-541.

收稿日期:2014-11-02