

HCV感染个体化基因检测方案

第四军医大学西京医院检验科 马越云

Review

Testing for HCV: the first step in preventing disease transmission and improving health outcomes for HCV-infected individuals

*John W Ward¹**

¹Centers for Disease Control and Prevention, Division of Viral Hepatitis, Atlanta, GA, USA

HCV感染检测是为预防疾病传播和改善患者健康迈出的第一步

testing for HCV has dramatically reduced HCV transmissions over the past two decades. In addition to testing donors of blood, tissue and organs to reduce the risk of transfusion/transplantation-associated HCV, testing can also motivate individuals to adopt safer behaviours. HCV testing, when accompanied by appropriate care and treatment, can reduce the extent of morbidity and mortality that often accompanies chronic HCV infection. Options for HCV treatment have recently been expanded and improved with the availability of more effective, anti-HCV drugs; furthermore, the remarkable results of clinical

requiring relatively short duration are on the immediate horizon. These advances have prompted new US initiatives to recommend HCV testing to the wider community (including those populations with a high prevalence of hepatitis C) and promote linkage to treatment for those found to be HCV-infected. Crucial to the success of these initiatives are the development of tests capable of identifying active infection, recent infection, or both, and implementation of testing strategies that facilitate broad access to HCV testing linked to care and treatment.

主要内容

1 丙肝的诊断

2 高敏HCV检测对丙肝诊断及治疗的价值

3 HCV基因分型的意义

4 IL-28b基因突变检测

丙型肝炎的诊断原则

* 丙型肝炎的诊断主要应包括两个方面：

➤ 是否存在丙型肝炎病毒的感染

* 病毒标志物主要包括血清抗-HCV和HCV RNA

➤ 有无肝脏损害及损害的严重程度

* 肝脏损害的检查主要包括肝功能、肝脏影像及

* 病理组织学等检查

HCV 感染的实验室检查



抗-HCV¹

- 用于HCV感染的筛查
- 操作简便、耗时短、成本低
- 窗口期长，不能判断活动性感染还是病毒已被清除
- 不适用于免疫缺陷人群

HCV RNA---诊断疾病及治疗管理最关键的指标¹⁻²

反映HCV在体内的复制及传染程度

PCR是HCV感染早期诊断的最佳手段



1.魏来, 等. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(1): 1-7.

2.江家骥, 主编. 丙型肝炎临床实践. 北京: 人民卫生出版社. 2010: 137-154.

HCV 抗体检测(EIA)：高危人群监测的完美工具

- * 价格低廉¹
- * 可重复进行¹
- * 对于免疫功能正常的个体，具有高度的敏感性(>99%)和特异性(99%)¹
- * 可检测出²:
 - * >95% 慢性感染
 - * 50–70% 急性感染
- * 试验阳性者需进行PCR定量试验进行确认：
 - * 高敏HCV RNA定量检测试剂
 - * 普通HCV RNA定量检测试剂

EIA = 酶联免疫分析; PCR = 聚合酶链式反应; TMA = 转录介导的扩增技术

WHO关于丙肝患者筛查、关怀与治疗的指南



GUIDELINES FOR THE SCREENING, CARE AND TREATMENT OF PERSONS WITH HEPATITIS C INFECTION

APRIL 2014

GUIDELINES

WHO Recommendation

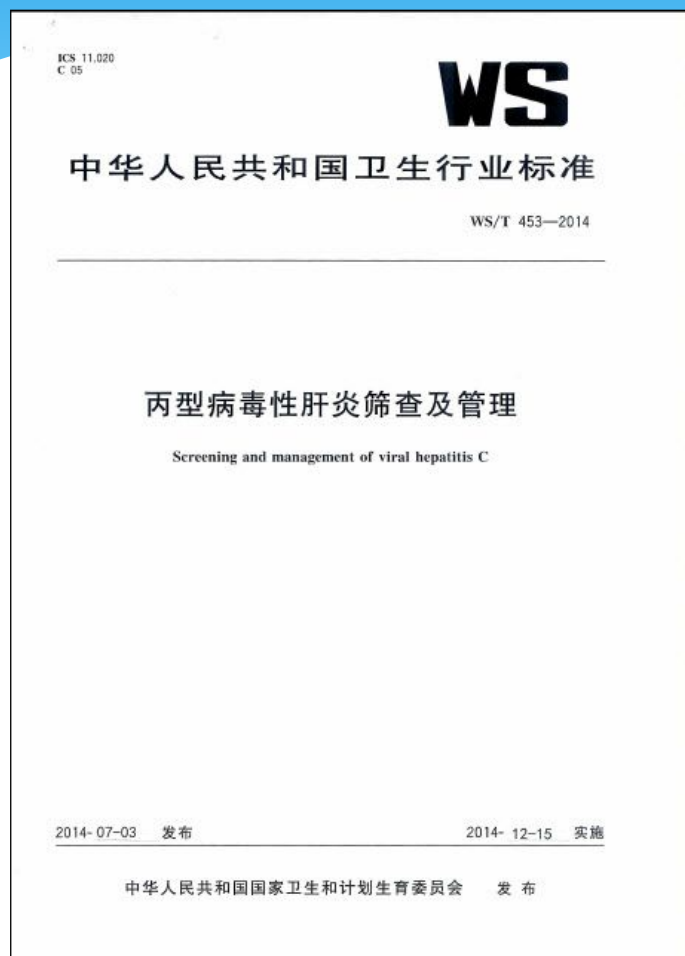
It is recommended that HCV serology testing be offered to individuals who are part of a population with high HCV seroprevalence or who have a history of HCV risk exposure/behaviour.

WHO Recommendation

It is suggested that nucleic acid testing for the detection of HCV RNA be performed directly following a positive HCV serological test to establish the diagnosis of chronic HCV infection, in addition to nucleic acid testing for HCV RNA as part of the assessment for starting treatment for HCV infection.

利用HCV RNA检测确诊感染、确定治疗起点

《丙型病毒性肝炎筛查及管理》标准



5 丙型病毒性肝炎患者的筛查

5.3 筛查和确认

5.3.1 5.1中规定的人群均应检测抗-HCV，阳性者应检测HCV RNA以确认现症感染。

5.4 检测方法

5.4.2 HCV核酸检测

RT-PCR用于检测HCV RNA，阳性者提示病毒复制。

6 丙型病毒性肝炎患者的管理

6.1 报告

6.1.1 首诊或主治医师发现抗-HCV阳性的患者，应及时检测HCV RNA，没有条件检测HCV RNA的医疗机构，应让其到上级医疗机构检测。

HCV RNA检测是证实HCV感染的基本方法

HCV RNA检测

PCR定性和定量

HCV RNA检测 的适用对象

- 抗-HCV阳性者
- 需进行抗-HCV治疗的HCV感染者
- 抗-HCV阴性，原因不详肝病、免疫抑制或疑为急性HCV感染者

HCV RNA检测 的意义

- 早期诊断和确诊HCV感染
- HCV RNA与疗程、转归有关
- 是观察对治疗应答情况的核心指标
- 在开始治疗前，应检测HCV RNA以确定基线

1.魏来，等. 临床肝胆病杂志, 2011, 27(1): 1-7.

2.江家骥, 主编. 丙型肝炎临床实践. 北京: 人民卫生出版社. 2010: 137-154.

3.WHO. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection 2014.

HCV RNA检测是慢性丙肝个体化治疗的基石

ALT 和其他指标
HCV抗体
HCV RNA定量:
抗体确认检测

HCV RNA 定量
(RVR、EVR、非
EVR)

诊断

治疗方案

治疗/ 应答
预测

治疗末和
随访
(SVR)

HCV RNA 定量
病毒基因型
患者体质
肝纤维化评分

HCV RNA 定量

疾病管理的全程都需要准确的HCV RNA 定量检测

慢性丙型肝炎治疗目标 - 清除HCV，获得SVR

中国（2004年）¹：

1

清除或持续抑制体内的HCV，以改善或减轻肝损害、阻止进展为肝硬化、肝衰竭或HCC，并提高患者的生活质量

2

欧洲（2014年）²：

The goal of therapy is to eradicate HCV infection to prevent liver cirrhosis, HCC, and death. The endpoint of therapy is undetectable HCV RNA in a sensitive assay (<15 IU/ml) 12 and 24 weeks after the end of treatment (i.e. an SVR)

3

美国（2014年）³：

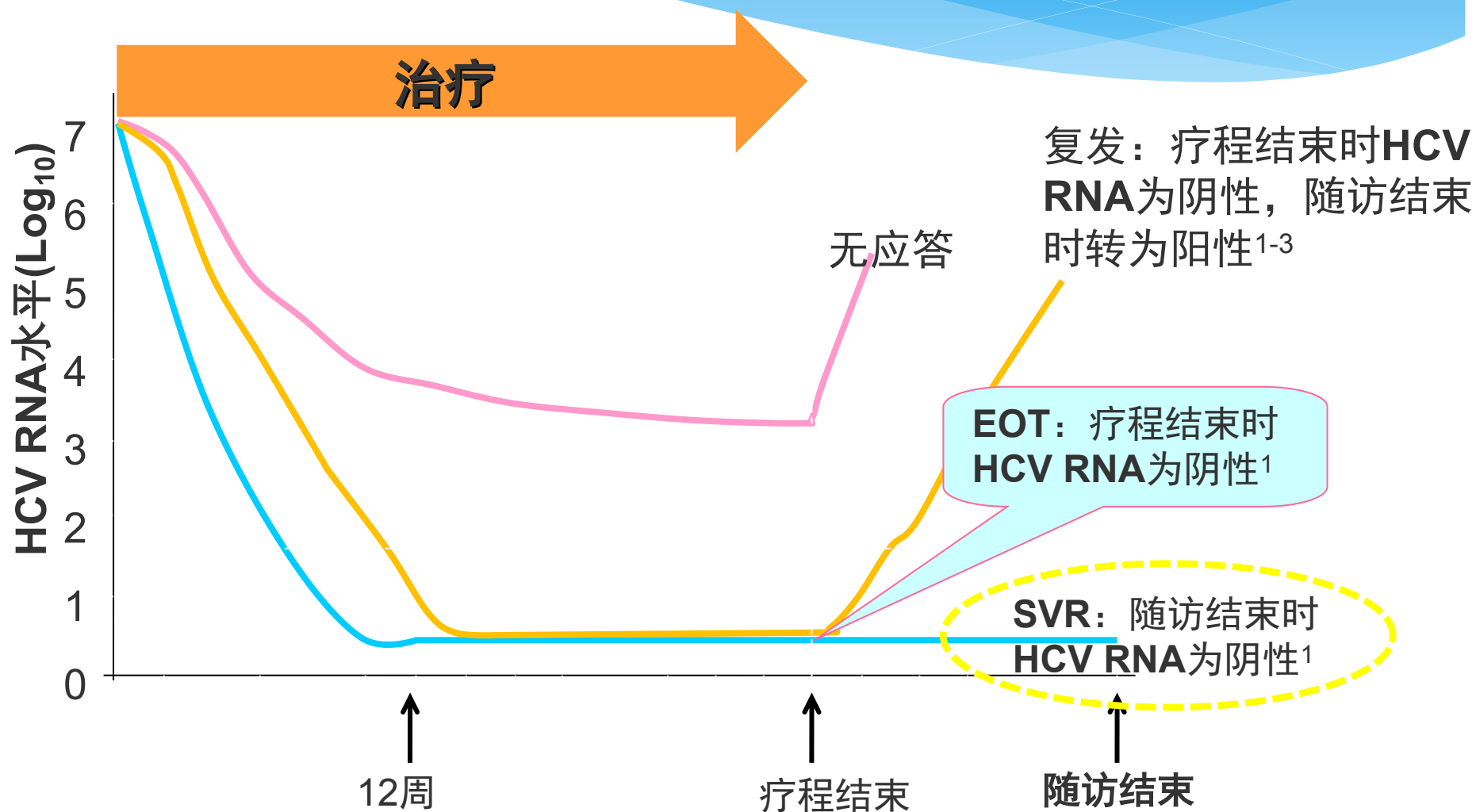
The goal of treatment of HCV-infected persons is to reduce all-cause mortality and liver-related health adverse consequences, including end-stage liver disease and hepatocellular carcinoma, by the achievement of virologic cure as evidenced by an SVR

1. 中华医学会肝病学会, 中华肝脏病杂志, 2004, 12(4): 194-198.

2. EASL, Journal of Hepatology 2014. 60: 392-420.

3. AASLD-IDSA. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. <http://www.hcvguidelines.org>

获得SVR是丙型肝炎治愈的标准



SVR: 持续病毒学应答

1. Strader D, et al. Hepatology 2004; 39: 1147;
2. 中华医学会肝病学分会, 中华肝脏病杂志, 2004, 12(4): 194-198.
3. Dieterich DT, J Viral Hepat. 2009 Dec;16(12):833-43.

RGT治疗策略

RGT

-----Response Guide Therapy

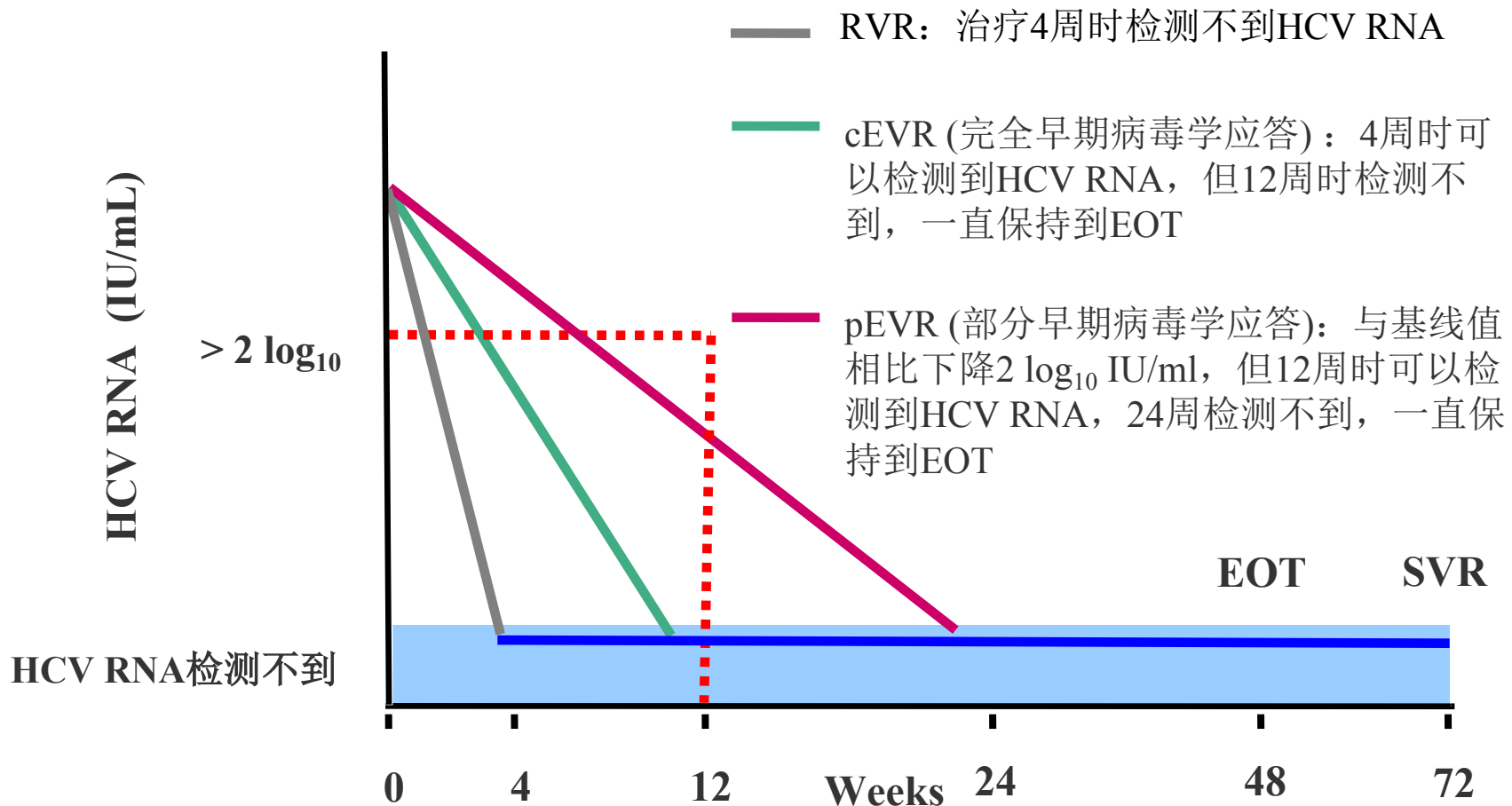
应答指导的治疗策略

-----在疗程中根据患者的病毒学应答类型

制定个体化的治疗方案

中国HCV患者治疗的临床实践—RGT

RGT-根据治疗中的病毒学应答，对抗病毒治疗患者进行疗效评价、决定疗程



治疗前检测HCV RNA

- * 2011 EASL指南 (European Association of the study of the liver hepatitis C virus clinical practice guidelines) : 根据**HCV**基因型对初治患者的疗效预测, 并结合患者治疗前和治疗过程中的**HCV**病毒载量, 选择**PEG-IFN- α** 与利巴韦林联合应用治疗方案并对用药作进一步调整
- * 根据2009 AASLD指南 (Diagnosis, Management, and Treatment of Hepatitis C: An Update), 治疗前**HCV RNA**水平一定程度上预测疗效, 治疗前**HCV RNA < 600,000 IU/ml**的患者, 其**SVR**获得率要更高

治疗过程中检测HCV RNA

病毒学应答	定 义	临床意义
快速病毒学应答（RVR）	治疗4周HCV RNA阴性	对2型、3型或低病毒载量的1型HCV感染，可考虑缩短疗程。
早期病毒学应答（EVR）	治疗12周，与基线HCV RNA水平相比，HCV RNA水平下降 $\geq 2 \log$ （部分EVR）；或HCV RNA阴性（完全EVR）。	在缺乏SVR的情况下作为预测指标
治疗后应答（ETR）	治疗24周或48周，HCV RNA阴性	
持续病毒学应答（SVR）	在治疗终止后24周，HCV RNA阴性	对治疗长期应答最好的预测指标
病毒突破（breakthrough）	患者仍在治疗阶段时，血清中HCV RNA重新转为阳性	
复发(relapse)	在治疗终止后，血清中HCV RNA重新转为阳性	
无应答(nonresponder)	在治疗24周后，仍无法清除血清中的HCV RNA	
无效应答（Null responder）	在治疗24周后，血清中HCV RNA下降 $< 2 \log$ 。	
部分应答(partial responder)	在治疗24周后，血清中HCV RNA下降 $> 2 \log$ ，但HCV RNA仍为阳性。	

治疗后中检测HCV RNA

- * 称为复发 (relapse) : 治疗后HCV RNA水平可能会转为阳性
- * 实现SVR: 24周后HCV RNA仍为阴性

HCV诊治框架中的试验

试验类别	监测	确诊	治疗疗程	评估治疗应答	预测持续应答
HCV抗体 (EIA)	X				
HCV基因型			X		
HCV RNA		X		X	X

†随着定量分析（10-50 IU/mL）的敏感性增加，定性分析的重要性下降

EIA =酶联免疫分析

肝脏炎症和纤维化检测

➤肝脏纤维化非侵入性检测手段：

一系列的生化标记物，如：**FibroTest/超声检查/FibroScan**

➤肝组织活检：肝脏炎症和疾病分期的金标准

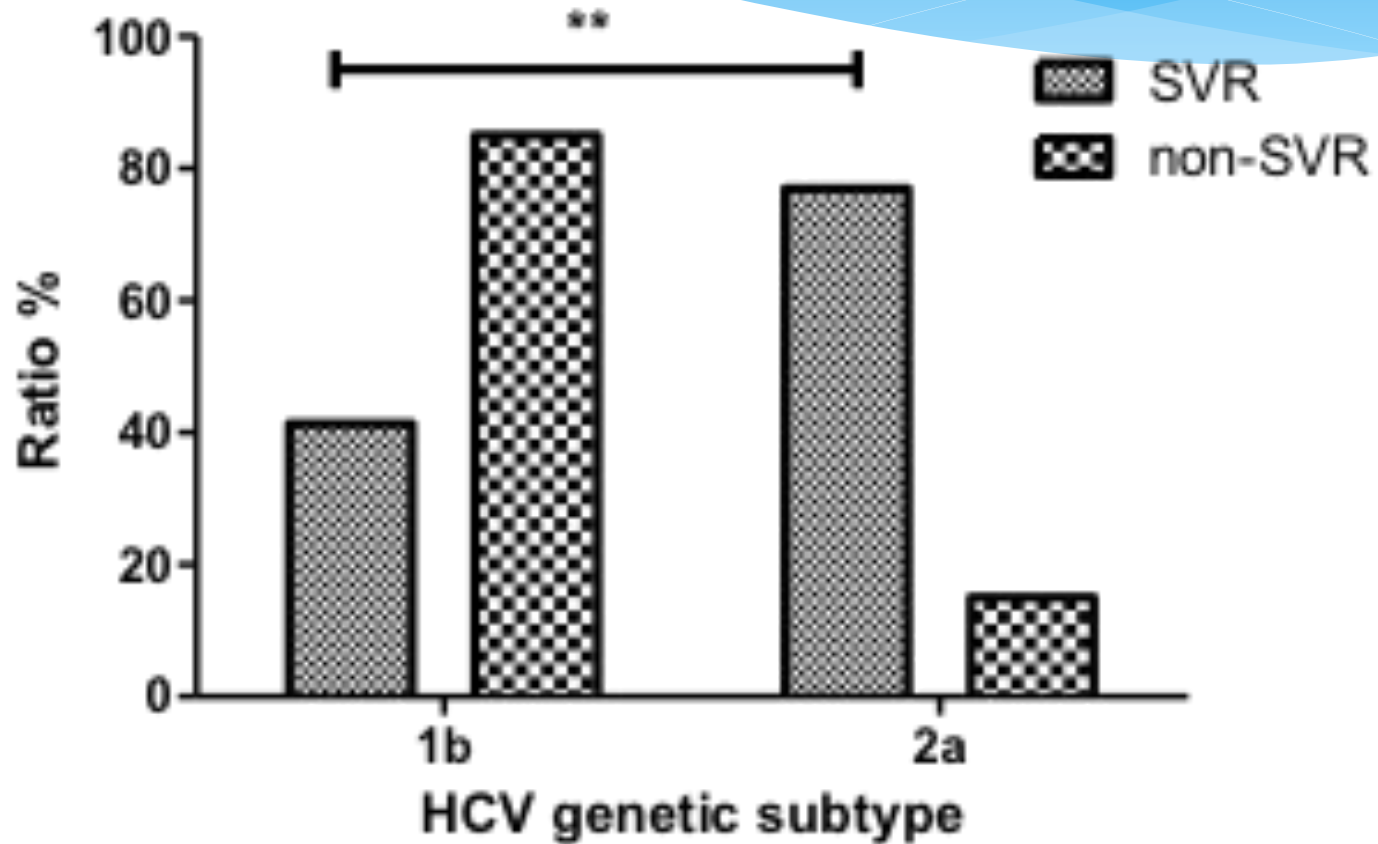
HCV RNA基因型与SVR

- HCV为I型：提示40-54%的HCV患者在使用PEG-IFN- α /RBV48周后可获得SVR
- HCV为II型或III型：提示65-82%的HCV患者在使用PEG-IFN- α /RBV24周可获得SVR。
- HCV II型感染者的SVR获得率略高于III型

HCV基因型决定不同的治疗方案

- 1型或4型患者，标准治疗方案为PEG-IFN- α 与利巴韦林联合治疗48周，利巴韦林1000 mg（体重 ≤ 75 kg）或者1200 mg（体重 > 75 kg）
- 2型或3型患者，标准治疗方案为PEG-IFN- α 与利巴韦林联合治疗24周，利巴韦林800 mg
- 2011年AASLD推荐HCV慢性感染基因1型的最优治疗，为采用BOC或TVR结合PEG-IFN- α 与利巴韦林三联治疗48周

HCV 1b基因型较难获得SVR



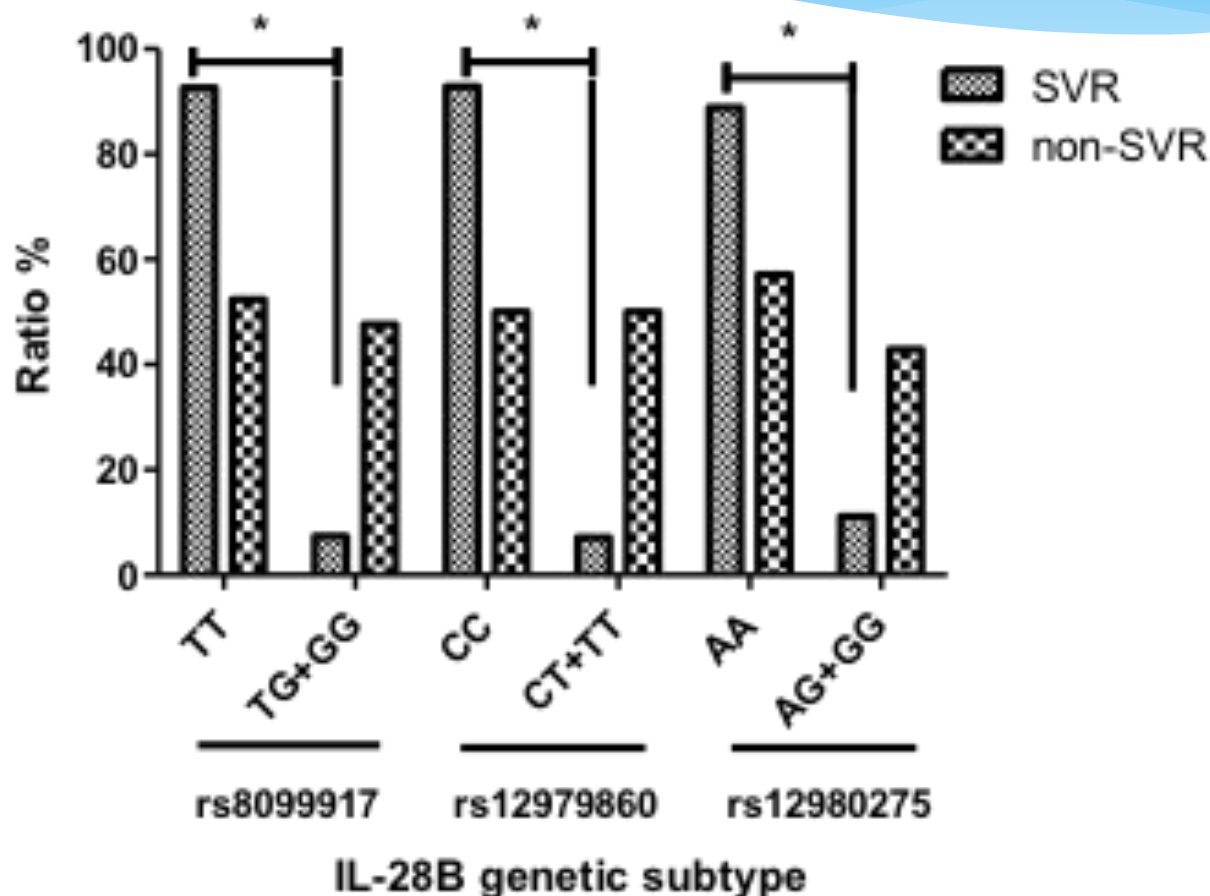
基因型分布与SVR关系

未获得SVR患者中HCV 1b亚型比率为85.00% (17/20) ; 1b亚型与2a亚型获得SVR的比率分别是41.38% (12/29) 和76.92% (10/13) , 差异有统计学意义 ($\chi^2=25.68$, $P < 0.01$)

IL28b基因多态性与丙型肝炎治疗及预后

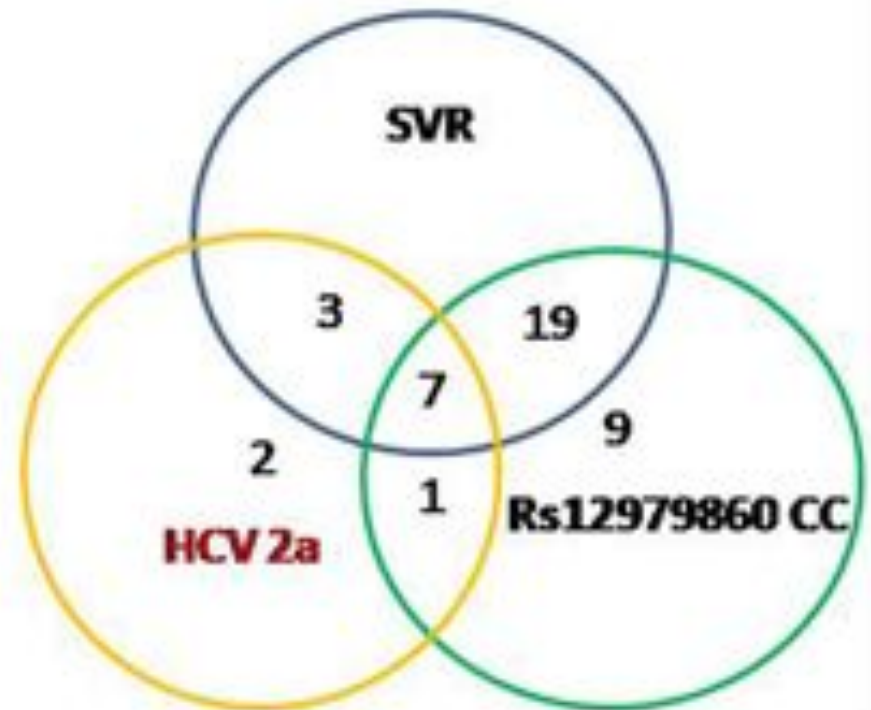
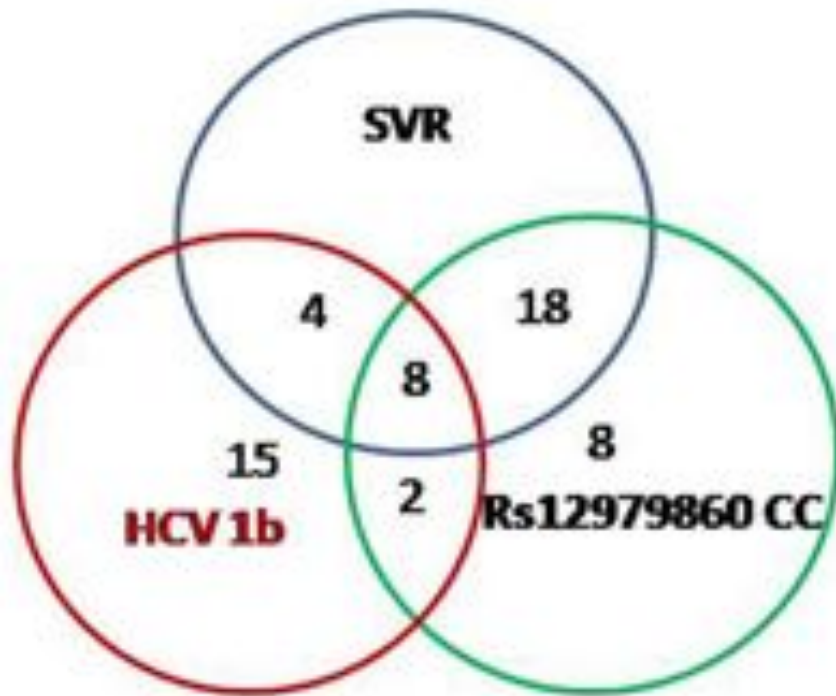
基因多态性	结果判断
rs12979860	邻近IL28b基因，位于IFN-λ3编码基因上游3kb处，是目前已知的与HCV感染者的持续病毒学应答（SVR）情况最相关的指标，其中C/C与SVR相关联，C/T和T/T与非病毒学应答（NVR）关系密切。SNP rs12979860 T基因型也与应用PEG-IFN/RBV治疗引起的初相病毒载量的下降显著关联，但仅与I型慢性HCV患者的二相病毒载量下降有关。 Ge D, <i>et al.</i> Nature, 2009, 461: 399-401. Bochud PY, <i>et al.</i> J Hepatol, 2011, 55: 980-988.
rs8099917	位于IL28B基因下游8kb处，是与非病毒学应答最相关的指标，不需要与其它临床变量共用，其中T/T为保护性基因型，G/T与G/G为非保护性基因型。G等位基因与丙肝病毒相关的肝细胞损伤之间关联密切。能提高SNP rs12979860 C/T基因型的非病毒学应答预测价值。 Tanaka Y,<i>et al.</i> Nat Genet, 2009, 41: 1105-1109. Fischer J, <i>et al.</i> Hepatology, 2012, in press.
rs12980275	位于IL28B基因下游2.4kb处，也能用于预测I型HCV应用PEG-IFN/RBV治疗的效果，其中A/A为保护性基因型，A/G与G/G为非保护性基因型，但是对感染2/3型HCV的患者无预测价值。SNP rs12980275 A/G基因型患者如果治疗前的低密度脂蛋白-胆固醇浓度>130mg/dL，HCV RNA≤600000IU/mL，预期治愈率可能大于80%。 Sonneveld MJ, <i>et</i> Gastroenterology, 2012, 142: 513-520.e1. Clark PJ, <i>et al.</i> J Viral Hepat, 2012, 19: 332-340.

IL-28B野生基因型更易获得SVR



48例资料完善的CHC患者中，IL-28B rs8099917 TT型获得SVR比例为（25/27，92.41%）；IL-28B rs12979860 CC型获得SVR比例为（26/28，92.86%）；IL-28B rs12980275 AA型型获得SVR比例为（24/27，88.89%）

IL-28B SNP与CHC型别和SVR相关



病例分享

*董某，女，24岁，2014-3-4 诊断为慢性丙型肝炎

*启动PegIFN联合RBV抗病毒治疗

*治疗经过：

时间	抗病毒治疗周数	HCV-RNA检测结果 (检测下限1000IU/ml)
2014-3-4	基线	52200 IU/ml
2014-3-31	4周	<1000 IU/ml RVR?
2014-6-2	12周	<1000 IU/ml
2014-8-25	24周	<1000 IU/ml

低敏的病毒载量检测结果误差较大、检测下限高、不利于临床疗效判断。

病例分享

时间	抗病毒治疗周数	HCV-RNA检测结果 检测下限 15 IU/ml
2014-11-20	36周	145000 IU/ml NR!
2014-12-4	37周	468000 IU/ml

- 高敏的HCV-RNA检测方法的应用对患者治疗效果的判断更佳准确
- 结果判断：PegIFN联合RBV治疗无应答的患者
- 对于无应答患者，应在治疗24周停止治疗
- 高敏的**HCV-RNA**检测方法更为精确、准确、可信度高。

高敏HCV RNA 检测的临床价值

疾病诊断

- 抗-HCV阳性标本的准确诊断，**避免**

假阴性或假阳性检测结果

疗效监测（RGT）

- 准确的**基线评估**，有助于制定有效的个体化治疗方案，提高RVR和EVR率
- 准确**评估抗病毒治疗过程中RVR和EVR**（尤其是病毒载量 $<1 \times 10^4$ IU/mL时），指导个体化治疗，提高SVR率
- **准确评估治疗终点**，降低复发率，提高SVR率

病例分享

*陈某某，男，42岁，神木县医院查抗-HCV 阳性

检测一： HCV RNA $<1000\text{IU/ML}$

检测二： H-HCV RNA $1.68 \times 10^4\text{IU/ML}$

按照指南，检测一的情况不需要治疗；

检测二的情况，患者应该启动治疗；

由于检测结果的不准确，很容易耽误病人的治疗，精准的HCV RNA检测非常必要！

基线HCV RNA水平影响治疗决策

基线HCV RNA水平可预测SVR

PROPHESYS:

接受PEG IFN α -2a/RBV治疗的基因1型患者高RVR和SVR率的预测因子研究（N=2109）根据患者预测因子进行评分，包括基线HCV RNA

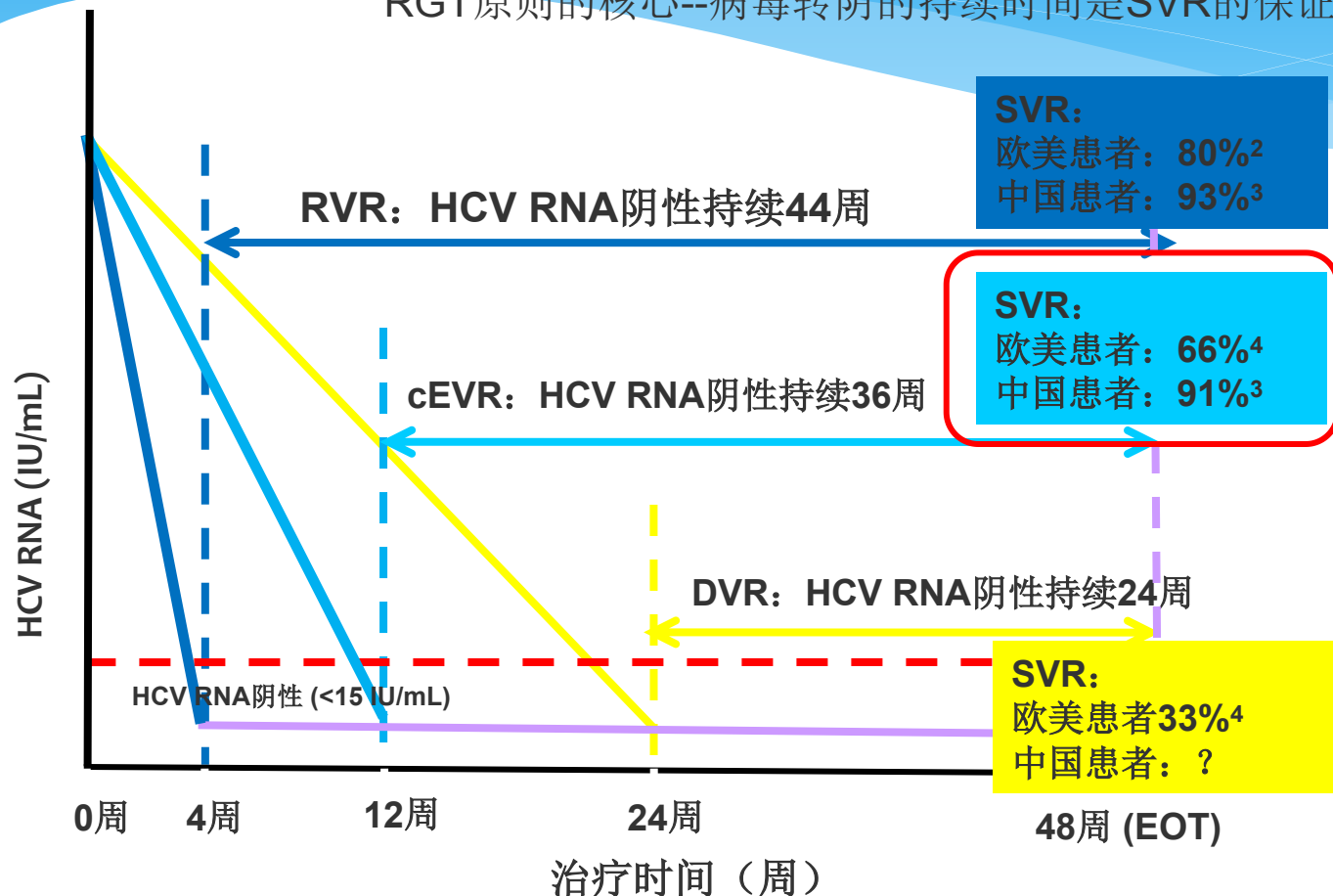
预测因子		评分*
年龄, 年	≤ 35	2
	> 35 to ≤ 45	1
	> 45	0
HCV RNA, IU/mL	$\leq 100,000$	3
	$> 100,000$ but $\leq 400,000$	2
	$> 400,000$ but $\leq 800,000$	1
	$> 800,000$	0
血小板计数, $\times 10^9/L$	> 150	1
AST/ULN*	≤ 1	1
	> 1	0

由于线性范围窄导致高病毒载量患者误判为低病毒载量，可导致对患者病情判断不准确而使患者未能获得最佳治疗方案！

*丙肝治疗的SVR率随两联治疗应答预测（DTPR）评分的增加而增加，DTPR评分0-2分、3-4分和 ≥ 5 分的SVR率分别为35%、54.9%、76.7%。

更快的应答，意味着更高的SVR发生率

所有的个体化因素都将反映在病毒学应答动态变化的过程中
RGT原则的核心--病毒转阴的持续时间是SVR的保证¹



1. Marcellin P, et al. J Hepatology 2007, 47: 580–587.

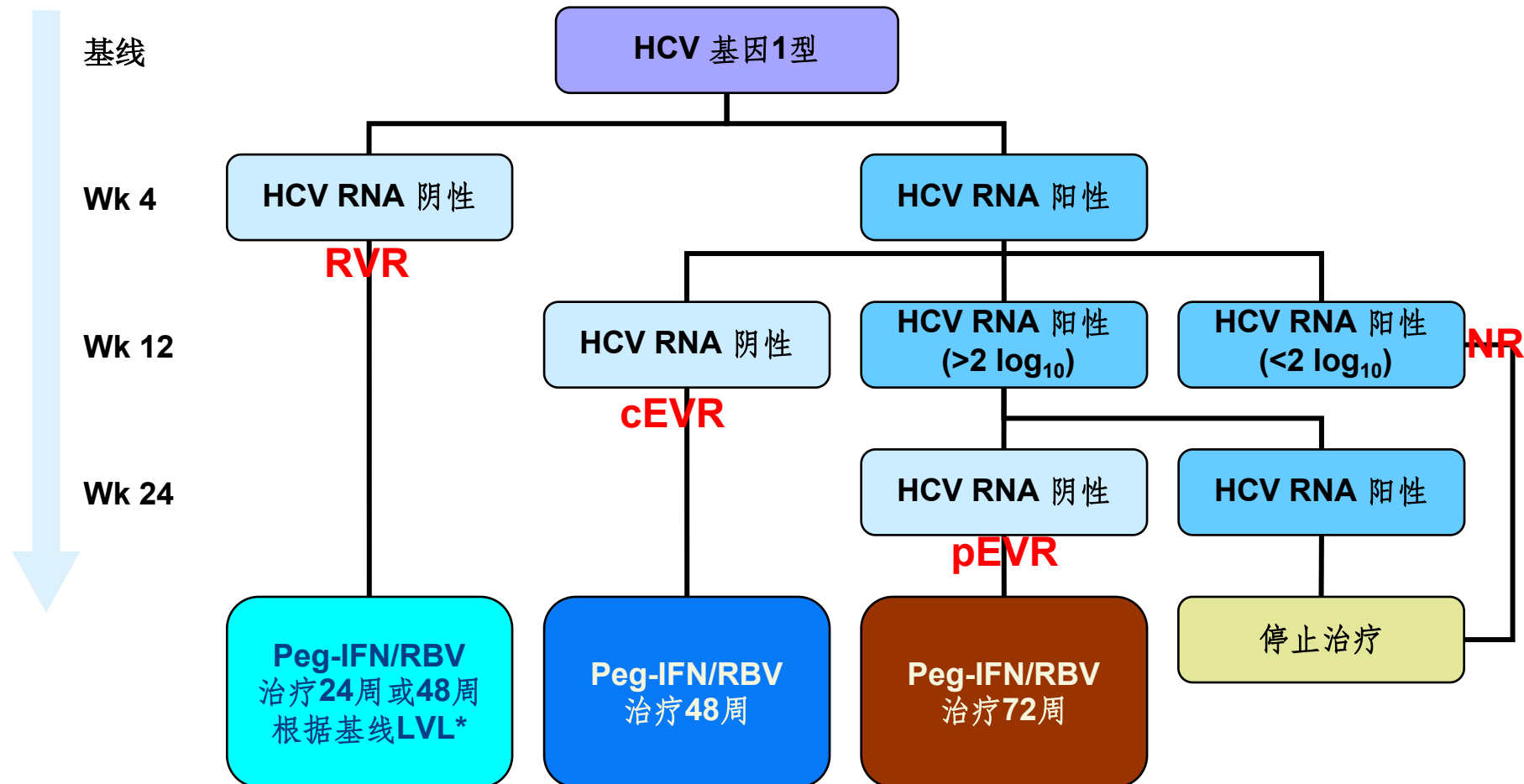
2. Lee S and Ferenci P, Antiviral Ther 2008; 13S1:9

3. 魏来. 中华肝脏病杂志. 2013;21(6):403-405

4. M.L. Shiffman, et al. Current Gastroenterol Report. 2010

中国基因1型患者RGT治疗方案

- 治疗过程中，0、4、12、24、48 周时HCV RNA 水平的动态变化是临床极有价值的预测工具，有助于更合理的进行个体化治疗。



可能导致“复发率”升高

**HCV RNA下降值
>2 log₁₀ (IU/mL)**

复发

误判为cEVR

普通试剂检测下限 (<500 IU/mL)

高敏 HCV 检测下限 ($<15 \text{ IU/mL}$)

0周

12周

24周

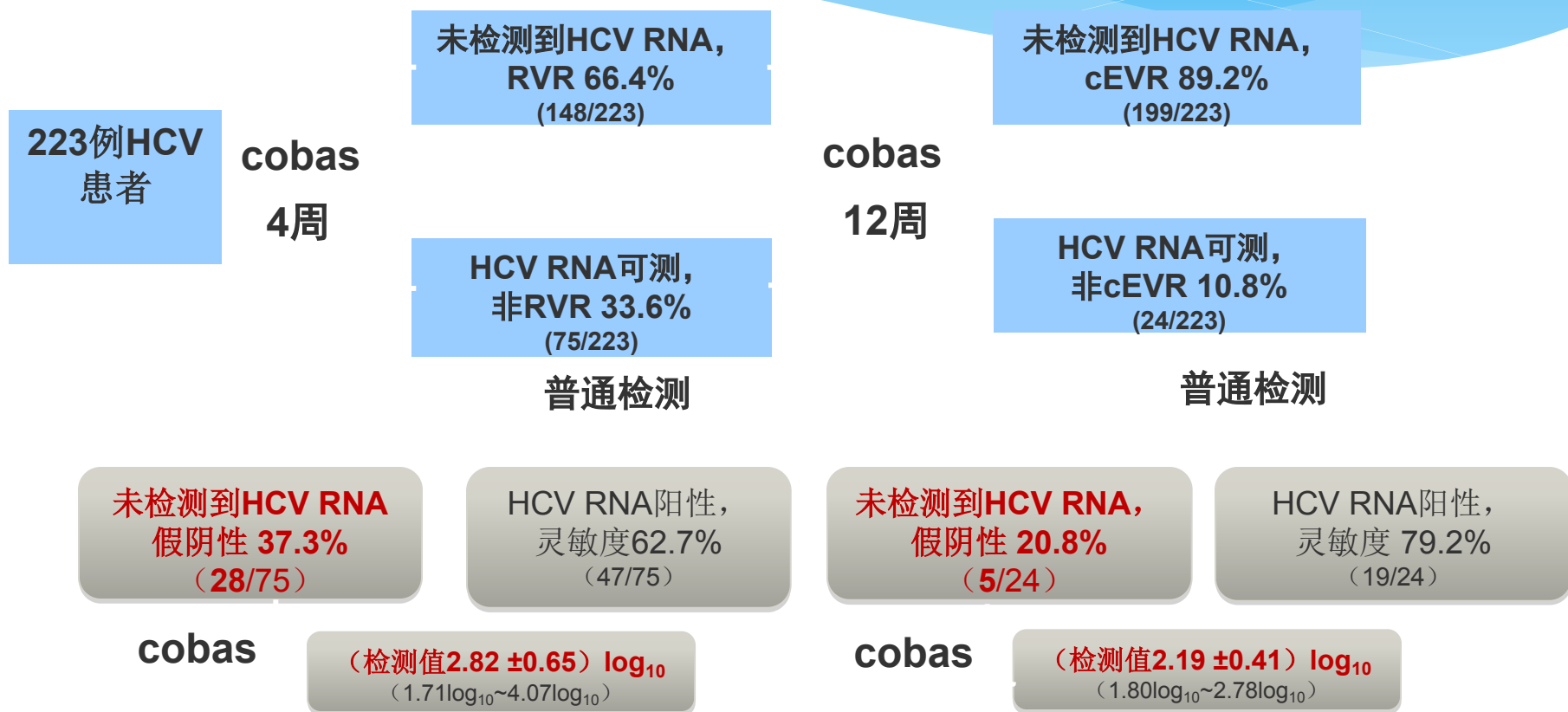
**48周
(EOT)**

**72周
(SVR)**

治疗时间 (周)

高敏 HCV – RNA 检测提供更精准的检测结果

收集223例接受派罗欣180 μg/周联合利巴韦林800-1200mg/日治疗前、治疗第4周和第12周的血清标本，分别采用 HCV – RNA试剂和普通PCR试剂检测血清HCV RNA 载量，比较和分析2种试剂对RVR 和EVR 的判定



普通PCR试剂可能影响对RVRT EVR的判断,也会影响对患者SVR的预测和疗程的确定

总 结

丙肝诊断和治疗需要更准确的检测结果，帮助临床医生准确诊断和判断治疗中应答，更好指导RGT治疗，降低风险和确定治疗终点

基因型鉴定、IL-28b分型和高灵敏的HCV RNA检测可有效避免治疗前和治疗中检测结果不准确引起的误判，是慢性丙肝个体化治疗得以贯彻的基础



Thank You!