

國立臺灣大學臨床醫學研究所

博士論文

Graduate Institute of Clinical Medicine

College of Medicine

National Taiwan University

Doctoral Dissertation

慢性C型肝炎患者胰島素抗性、代謝和脂肪激素狀態：

病例對照研究與致病機轉探討

Insulin resistance, metabolic and adipokine profiles in  
chronic hepatitis C patients:

Case-control study and mechanistic exploration

研究生：許景盛

Ching-Sheng Hsu

指導教授：高嘉宏 博士

指導教授：楊偉勛 博士

Advisor: Jia-Horng Kao MD. Ph.D.

Advisor: Wei-Shiung Yang MD. Ph.D.

中華民國 九十九 年 十二 月

Dec, 2010

國立臺灣大學博士學位論文  
口試委員會審定書

慢性C型肝炎患者胰島素抗性、代謝和脂肪激素狀態：

病例對照研究與致病機轉探討

Insulin resistance, metabolic and adipokine profiles in  
chronic hepatitis C patients:

Case-control study and mechanistic exploration

本論文係 許景盛君 (學號 D94421001) 在國立臺灣大學  
臨床醫學研究所完成之博士學位論文，於民國九十九年十二  
月九日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

高嘉宏 楊偉勳 (簽名)  
(指導教授)

\_\_\_\_\_

沈明富

林慶宏

李昭隆

系主任、所長

高嘉宏

(簽名)

## 誌謝

本論文的完成首先要感謝我的指導教授 高嘉宏博士。雖然我從醫以來一直對於醫學研究充滿興趣，但是始終苦無入門之法。在高老師的諄諄善誘下，我從碩士班的研究開始，在師門下接受嚴格的指導與訓練，使我對臨床研究初窺門徑，並且順利地完成碩士學業。在碩士班畢業後，老師更繼續指導我的博士班研究。直至今日，我對臨床研究終於能有明確的認知及了解，並且能夠將此博士論文順利完成。若有任何值得稱讚與成就之處，皆當歸功於高老師這七年半來不厭其煩的帶領與細心教導。能夠作為老師的學生，是幸運、福氣，更是一種榮耀。感恩之意，實在無法以任何言語來表達。

臨床的研究及知識，是高老師對我教導的一部份。老師對於我與學弟妹們的教導，涵蓋了生命中所有重要的事物，從家庭生活的瑣事、研究工作的態度、社交的應對、視野拓展、藝術到人文的涵養上，老師的想法、作法及體貼考慮的仔細處，每一句話、每一秒鐘、每一個字、堅毅的背影與動作，不但令我獲益良多，更令我敬佩不已。

除了高嘉宏老師之外，本論文實驗室研究的部分，要歸功於我另一位指導教授 楊偉勳博士所給予的教導與指點。在楊老師的指導下，修正了原本的實驗研究方向，終於能順利完成論文實驗室研究的部份，並且繳交出論文的初稿。能夠聽到楊老師的講課以及與楊老師討論實驗研究是人生的一大樂事，老師不但幽默、妙語如珠、許多令人意想不到的驚奇想法，都能夠使得聽眾、學生時時刻刻得到啟發。楊老師的夫人，陳祈玲副教授，不但教導我許多有關資料統計分析的知識，也在臨床研究資料分析的方法

上給予我許多的幫助與建議。論文中許多研究的分析都是承蒙陳副教授的指導下終能順利完成。

本論文中大部份的臨床研究都是在劉俊人副教授、劉振驊醫師以及徐士哲醫師的大力協助下才能順利地進行收案，並且完成最後的研究分析。若是沒有良好的收案以及完整的臨床資料紀錄時，所有臨床研究都將無法順利地進行與完成，因此在這裡對他們所有的辛苦與努力付出表達由衷感謝之意，並對所有加入臨床研究的受試者致上最崇高的敬意。此外還要感謝劉俊人副教授、賴明陽教授、陳培哲教授以及陳定信教授給予學生臨床研究方面的指點與提攜，並且對許多發表的論文給予了相當寶貴的意見。

感謝日本廣島大學的茶山一彰教授與拓植雅貴助理教授對我細胞學實驗技術的悉心指導，並提供 C 肝病毒複製子以協助本論文的實驗進行。同時感謝黃麗華教授提供能表現 C 肝核心蛋白的細胞株，協助本論文的實驗分析。

感謝所有關心我、支持我的學長姐與學弟，楊勝舜醫師、林志陵醫師、王齡弟醫師、黃奕文醫師、梁程超醫師與曾岱宗醫師，給予我莫大的支持及各方面的協助。

感謝慈濟醫院台北分院的長官與同事的支持，趙有誠院長、徐榮源副院長以及王嘉齊主任提供我一個穩定的環境來進行學業與研究。感謝陳建華主任、王品超醫師與蘇偉志醫師在臨床工作上的鼎力相助，在此僅致謝忱。

實驗室和行政工作方面，王志強先生、劉偉良博士、王紫珊小姐、鄭惠如小姐、陳亭之小姐、周郁菁小姐、王榮蓮小姐以及司彥翔小姐，在此

一併致謝。

感謝論文指導委員會的諸位老師，包括林憲宏教授、余明隆教授與張明富教授所給予的許多寶貴建議，並對本論文詳加指正，特此致謝。

最後感謝我的家人，雙親辛苦的將我扶養長大，給予我最好的環境與教育。內人蘇亞蘋女士給予我絕對的支持，照顧三位可愛的寶貝，許嘉露、許雙羽以及許嘉乘，讓我無後顧之憂，能專心的工作與研究。

謹獻上本論文給所有一切關心我的師長、同事、親友以及所有加入臨床研究的受試者，並期許自己能永保此刻的感恩心，能不斷地努力研究來造福人群，以不負大家對我的厚愛。



# 目 錄

口試委員會審定書.....	i
誌謝.....	ii
中文摘要.....	viii
英文摘要.....	xii
<b>壹、緒論</b> .....	1
第一章 C 肝病毒感染的自然病史以及臨床治療.....	4
第一節 C 型肝炎病毒感染的自然史.....	4
第二節 C 肝患者的預後以及治療的目標.....	5
第三節 慢性 C 型肝炎患者的標準治療方式.....	5
第四節 慢性 C 肝患者對干擾素相關治療反應的臨床預測指標....	7
第五節 干擾素相關治療後的病毒學反應評估指標.....	8
第六節 C 肝病毒動力學.....	10
第七節 接受抗病毒藥物治療的適當對象.....	12
第八節 抗 C 肝病毒藥物治療的臨床評估.....	13
第二章 C 肝病毒感染與宿主脂質及葡萄糖代謝的關係.....	15
第一節、 宿主葡萄糖及脂質代謝與 C 肝病毒的密切關係.....	15
第二節、 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖代謝的關係.....	15
2.1 葡萄糖代謝與胰島素抗性的產生.....	15
2.2 糖尿病、胰島素抗性與 C 肝病毒感染.....	16
2.3 C 肝病毒感染引起胰島素抗性與肝臟纖維化的可能原因	17
2.4 C 肝病毒引起胰島素抗性的分子機轉.....	18
第三節、C 肝病毒感染與宿主脂質代謝的關係.....	23
3.1 肝臟脂肪變性.....	23

3.2 脂肪性肝病與其他慢性肝臟疾病的交互作用.....	24
3.3 肥胖導致之非酒精性脂肪肝病與胰島素抗性.....	24
3.4 肝臟脂肪變性、脂肪肝炎與肝臟纖維化.....	26
3.5 肝臟脂肪變性和慢性 C 肝患者肝臟纖維化進展.....	27
3.6 脂肪代謝惡化 C 肝患者肝臟纖維化的可能機轉.....	29
3.7 肝臟脂肪變性減少的正面效應.....	31
3.8 脂肪變性與抗病毒治療反應的關係.....	32
3.9 肥胖、肝臟脂肪變性與酒精性肝臟疾病.....	32
3.10 肝臟脂肪變性、肥胖與肝癌.....	33
3.11 肝臟脂肪變性與藥物性肝臟疾病.....	35
3.12 肝臟脂肪變性與其他肝臟疾病.....	35
<b>第四節、宿主基因多形性變異與新型抗 C 肝病毒藥物.....</b>	<b>37</b>
4.1 介白質 28B 基因多形性與 C 肝病毒感染之相關性.....	37
4.2 IL28B 基因的角色.....	39
4.3 新型抗 C 肝病毒治療藥物.....	40
<b>第五節、研究的問題及其重要性.....</b>	<b>40</b>
<b>第六節、研究的假說與特定目的.....</b>	<b>41</b>
<b>貳、研究方法與材料.....</b>	<b>43</b>
<b>一、葡萄糖代謝及脂肪代謝與 C 型肝炎病毒感染之相關性研究.....</b>	<b>43</b>
1.1 探討慢性 C 肝病毒感染與患者體內代謝特徵的關係性.....	43
1.2 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與胰島素抗性的關係性.....	43
1.3 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與宿主脂肪特徵的關係性...	44
1.4 探討慢性 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後早期病 毒動力學與各種臨床特徵的關係性.....	46

1.5 探討不同 C 肝病毒基因型對患者代謝特徵與肝臟組織學關係的影響性.....	47
二、 C 肝病毒蛋白對葡萄糖及脂肪代謝訊息傳遞途徑的影響和機制..	48
三、實驗材料及方法.....	48
<b>參、結果</b> .....	54
一、葡萄糖代謝及脂肪代謝與 C 型肝炎病毒感染之相關性研究.....	54
1.1 探討慢性 C 肝病毒感染與患者體內代謝特徵的關係性.....	54
1.2 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與胰島素抗性的關係性.....	55
1.3 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與宿主脂肪特徵的關係性...	56
1.4 探討慢性 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後早期病毒動力學與各種臨床特徵的關係性.....	58
1.5 探討不同 C 肝病毒基因型對患者代謝特徵與肝臟組織學關係的影響性.....	62
二、 C 肝病毒蛋白對葡萄糖及脂肪代謝訊息傳遞途徑的影響和機制..	64
<b>肆、討論</b> .....	65
<b>伍、展望</b> .....	87
<b>陸、論文英文簡述</b> .....	96
<b>柒、參考文獻</b> .....	109
表 1-32 等.....	148-184
圖 1-15 等.....	185-205
附錄：列出個人在碩博士班修業期間所發表之相關論文清冊.....	206-209



## 中文摘要

關鍵詞：慢性 C 型肝炎、C 型肝炎病毒、持續病毒學反應、胰島素抗性、代謝、脂肪激素、單核苷酸多形性

C 型肝炎病毒感染一直是全球公共衛生上的重要課題。根據世界衛生組織的估計，全球目前至少有一億八千萬以上的人遭到 C 肝病毒的感染。就 C 肝病毒感染的自然史而言，急性 C 肝病毒感染後有百分之五十五到八十五的人會變成為慢性的 C 肝病毒感染。這些慢性 C 肝病毒感染者中有七成在 10 年後變成慢性 C 型肝炎的患者，變成慢性 C 型肝炎的患者中，有近兩成的人在 20 年後會產生肝硬化。在肝硬化的 C 肝患者中，每年有百分之一到四的風險產生肝癌，百分之四到五的風險肝臟衰竭。

慢性 C 肝病毒感染治療的主要目標為永久消滅病毒，也就是持續追蹤檢驗 C 肝患者時仍檢測不到血清 C 肝病毒的核糖核酸。臨床上稱這些人為達到持續病毒學反應(sustained virologic response, SVR)，就是病毒學上的 C 肝治癒(cure)。然而 C 肝病毒感染治療的終極目標為希望使 C 肝患者的肝臟組織學及臨床的相關參數能夠進步，一方面能減緩肝臟組織纖維化的進展及肝硬化產生，另一方面則希望能夠防止肝臟衰竭與肝癌的發生。

目前臨床上已有許多 C 肝病程進展以及干擾素治療的預測因子可以評估患者未來的預後以及接受治療後的反應，這些因素主要分為兩大類，一類是與病毒相關的因子，另一類則是與宿主(host)相關的因子，利用這些預測因子吾人將可以給予病人個人化的 C 肝追蹤及治療。與病毒相關的預測因子中，除了治療前的 C 肝病毒量與病毒基因型外，評估 C 肝患者接受治療時的 C 肝病毒量變化為目前臨床上預測患者 SVR 的重要參考指標。值得注意的是，最近許多臨床及實驗室研究皆指出，C 肝病毒感染與宿主的葡萄糖代謝、脂質代謝及肝臟脂肪變性有密切的關係存在，宿主的代謝特

徵會影響 C 肝患者的抗病毒治療效果。因此清楚了解 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖代謝及脂質代謝的關係已經成為現今全球肝病研究中的熱門課題。

因此吾人研究的主要目標為釐清 C 肝病毒感染對葡萄糖代謝與脂肪代謝的影響，並且探討脂肪變性、胰島素抗性、以及脂肪細胞激素與 C 肝病毒感染的關係。找尋影響 C 肝病態生理機轉的可能標的，進而改善未來 C 肝患者臨床預後與治療。

因此在臨床研究部分，吾人首先比較 C 肝患者及健康成人在血清中代謝特徵的差異性。吾人發現，C 肝患者會較健康成年人有較高的血清高密度脂蛋白膽固醇(high-density lipoprotein-cholesterol, HDL)、脂締素(adiponectin)濃度、但是較低的總膽固醇、三酸甘油酯與低密度脂蛋白膽固醇(low-density lipoprotein-cholesterol, LDL)濃度值。進一步比較 C 肝患者血清中代謝特徵與抗病毒治療效果時亦發現，C 肝患者接受干擾素相關治療時的早期病毒量下降程度與身體質量指標(BMI)以及血清中的 HDL 濃度有關。此外吾人亦發現血清中的 C 肝病毒量與血清中胰島素及三酸甘油酯濃度間存有正比例的關係，並且血清中 C 肝病毒量與宿主脂肪代謝特徵的關係會隨著 C 肝病毒基因型的不同而不同。進一步的研究更發現，雖然宿主的代謝特徵會影響 C 肝患者肝臟組織的纖維化，然而這個影響作用也會因不同 C 肝病毒基因型的感染而產生不一樣的效果。

另一方面，幾個重要的研究團隊最近共同指出，與介白質 28B(interleukin 28B, IL28B, 合成 interferon- $\lambda$ 3)相關之單核苷酸多形性(single nucleotide polymorphism, SNP)和 C 肝患者接受干擾素抗病毒藥物的治療效果間存有強烈的關聯性。因此吾人進一步研究 C 肝患者血清脂肪代謝特徵與 IL28B SNP 的關係性。初步的研究發現，帶有 IL28B SNP rs8099917 的 TT 基因型患者除了會較 GT 基因型患者在接受標準長效型干擾素治療後有較高的 SVR 外，TT 基因型患者也較 GT 基因型患者在接

受治療前有較低的血清中三酸甘油酯濃度。

實驗室研究方面，吾人利用能表現不同濃度 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白(HCV core protein)的肝癌細胞株(Huh 7-based cell lines)來分析宿主脂肪與膽固醇合成途徑上重要基因的表現。研究發現，表現 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白的細胞較控制組有較低的細胞內三酸甘油酯與膽固醇濃度。此外不同濃度的 C 肝病毒核心蛋白對於細胞內膽固醇與脂肪酸製造途徑上的基因表現可以產生不同的影響，表現 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白的細胞較控制組細胞，在 3-羥基-3-甲基戊二酸單醯輔酶 A 合成酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) synthase)、還原酶(HMG-CoA reductase)以及微粒體三酸甘油酯轉移蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTTP) 的 mRNA 表現量上都相對降低，但是在法尼基轉移酶 1 (farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1, FDFT1)與 ATP citrate lyase mRNA 的表現量上則相對增加。C 肝病毒核心蛋白低表現量細胞中 SREBP1c 的 mRNA 表現量為增加，但是其表現量會隨著 C 肝病毒核心蛋白量增加而逐漸下降。另外，表現 C 肝病毒核心蛋白的細胞較控制組在 SREBP2 mRNA 的表現量上相對增加，但是其表現量也會隨著 C 肝病毒核心蛋白量的增加而下降。

## 結語

醫學進步已使現今慢性 C 型肝炎病毒的感染成為一種可以治療、甚至治癒的疾病。目前臨床上依據不同的預測因子，包括 C 肝病毒基因型、治療中的病毒動力學變化以及宿主不同的單核苷酸多形性，已經可以給予患者更有效率與更少副作用的個人化治療。然而臨床因子對於 C 肝患者的自然病史以及抗病毒治療的影響，特別是宿主代謝因子對 C 肝患者干擾素治

療的影響，以及背後的病態生理機轉，仍有待吾人累積更多的研究資料加以闡明。如果未來能夠對於宿主代謝因子與 C 肝病毒間之作用關係更加了解，吾人相信這些知識將能應用於臨床上，改善未來 C 肝患者的藥物治療方式，使其變得更有效率、副作用也更加減少。



## 英文摘要

**Key Words:** hepatitis C virus, chronic hepatitis C, insulin resistance, lipid metabolism, adipokines, sustained virologic response, single nucleotide polymorphism

Hepatitis C virus (HCV) is a major causative agent of chronic hepatitis, liver cirrhosis, end-stage liver disease and hepatocellular carcinoma worldwide. About 55% to 85% HCV infected people will become chronic hepatitis, 5% to 20% of them will turn to liver cirrhosis after duration of 20 to 25 years, 30 % of these cirrhotic patients will become end stage liver disease in 10 years, and once cirrhosis is established, the risk of hepatocellular carcinoma is approximately 1% to 5 % per year. In Taiwan, about 2–4% Taiwanese people are chronic carriers of HCV; hence, effective tackling this virus is an important issue in Taiwan.

The goal of treating chronic hepatitis C (CHC) patients is to eradicate the virus or, in a clinical term, to attain a sustained virological response (SVR, defined as undetectable serum HCV RNA level 24 weeks after treatment cessation). However, currently approved pegylated interferon (Peg-IFN) plus ribavirin (RBV) therapy has many unpleasant side effects and is only effective in a certain proportion of patients with HCV genotype 1 (GT1) infection, especially in Western countries. Therefore, identifying baseline and on-treatment factors predictive of SVR in CHC patients is important in terms of increasing efficacy, avoiding unnecessary side effects and saving medical costs.

Several factors have been linked to the therapeutic response of CHC patients, including viral factors, host factors, metabolic factors, histological

factors, the type of regimens, and the duration of infection. Among these factors, early viral kinetics following therapy has become increasingly recognized and widely used in both clinical trials and daily practice. On the other hand, there is increasing interest in the impact of chronic HCV infection on metabolic abnormalities, including glucose, lipid, cytokines, insulin resistance and adipokines. Insulin resistance and type 2 diabetes have increased incidence in CHC patients than in other disease or chronic hepatitis B patients, and serum lipid profiles as well as hepatic steatosis are associated with HCV infection and may affect the therapeutic response of CHC patients. However, the interactions between HCV infection and host metabolism as well as the underlying mechanisms remained not fully clarified.

To examine the influence of hepatitis C virus infection on adipokines, glucose and lipid metabolism, we examine the underlying mechanisms by which HCV affects host adipokines, glucose and lipid metabolism, and vice versa, from both clinical and molecular points of views. We found CHC patients had higher alanine aminotransferase (ALT) and high-density lipoprotein-cholesterol levels, but lower total cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low-density lipoprotein-cholesterol levels than controls. By using multiple linear regression analyses for subjects with available adiponectin data, presence of HCV infection was independently associated with higher serum adiponectin. In addition, we found body mass index and genotype were related to viral load decline at day 2, and baseline viral load and HDL level were correlated with viral load decline between day 2 and day 28 in multivariate analysis. Genotype 2, lower baseline viral load and more substantial viral load decline at day 28 predicted a higher SVR.

Recently, several groups have found that the genetic polymorphism near

IL28B gene may predict the therapeutic response of CHC GT 1 infected patients receiving Peg-IFN plus RBV. Thus, it is important and will be informative to evaluate the association of genetic polymorphism near IL28B gene, SVR and metabolic profiles in CHC GT 1 infected patients. We found Taiwanese CHC patients with rs8099917 TT genotype have a better SVR and lower baseline serum TG level than subjects with GT genotype.

In the in vitro studies, we found that cells expressing HCV core proteins had lower cellular triglyceride and total cholesterol levels than controls ( $P < 0.05$ , ANOVA;  $P < 0.05$ , Nonparametric test for trend). HCV GT1 core proteins might down-regulate mRNA expressions of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) synthase, HMG-CoA reductase and microsomal triglyceride transfer protein, but up-regulate mRNA expressions of farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 and ATP citrate lyase. Although mRNA expression of SREBP1c was up-regulated under lower levels of HCV core proteins, its expression was down-regulated with increasing HCV core protein levels. The mRNA expression of SREBP2 was up-regulated by HCV core proteins, but down-regulated with the increasing HCV core protein levels.

**CONCLUSIONS:** HCV is a curable disease, and the evaluation of HCV genotype, viral kinetic parameters as well as host gene SNPs before treatment has let individualized therapies for CHC patients become possible approaches. However, the interactions and underlying mechanisms of host factors and HCV infection, especially glucose and lipid metabolism as well as their impacts on therapeutic responses, remain not fully understood. Further experimental and clinical studies based on these lines of evidence are needed to clearly clarify underlying mechanisms and provide clinicians useful information to optimize

the mangement of chronic HCV infection.





## 壹、緒論

全球目前約有 1.8 億人口遭受慢性 C 型肝炎病毒的感染。根據世界衛生組織估計，每年有超過六百四十萬以上的人遭受急性 C 肝病毒的感染。從疾病的自然史來看：急性 C 型肝炎病毒感染後有百分之五十到八十的患者會轉變為慢性 C 型肝炎病毒感染，慢性 C 型肝炎病毒感染者中有五分之一的人會變成肝硬化<sup>1</sup>，之後每年有百分之一至五的患者最後會產生肝細胞癌<sup>2</sup>。根據肝病防治學術基金會的估計，台灣目前約有百分之二至四的人口遭到 C 型肝炎病毒的感染。因此 C 型肝炎病毒感染是不但是一個影響台灣也是全球醫療、公共衛生與社會經濟的重要課題。

C 型肝炎病毒是一種屬於 flaviviridae family 的 RNA 病毒，可以藉由體液或是血液散播(parenterally)。因此除了教育大眾避免危險性的曝露(exposure)，對於高危險族群的篩檢，以提早檢測出並治療 C 肝感染患者，為目前防止 C 肝病毒傳播的最重要方法。然而對於已被 C 肝病毒感染的患者，特別是佔絕大多數的慢性 C 肝患者，現今臨床上的治療主要目標為永久消滅病毒，也就是希望持續追蹤檢驗這些 C 肝患者的血清時仍檢測不到 C 肝病毒的核糖核酸(RNA)。臨床上稱這些人為達到持續病毒學反應(sustained virologic response, SVR)，就是病毒學上的 C 肝治癒(cure)。但是治療的終極目標則是希望能藉此病毒學上的 C 肝治癒使患者的肝臟組織學以及臨床上各種相關參數皆恢復正常，除了減緩肝臟組織纖維化的進展速度與肝硬化產生外，另一方面則希望能夠避免肝臟衰竭、各種併發症與肝癌的發生。

目前慢性 C 肝感染可以使用長效型干擾素(pegylated interferon)合併口服雷巴威林(ribavirin)來治療，然而其療效仍然有限，並且會產生許多的不良反應。因此許多學者嘗試尋找各種臨床參數及指標來評估 C 肝患者接受治療後的反應，希望藉由應用這些臨床特徵來減少患者接受治療時所可能產生的不良反應並且可以提高療效。現今臨床上已有許多評估 C 肝病程進展以及對干擾素相關治療反應的預測指標可供使用，部分的臨床特徵甚至已被臨床上常規用來評估疾病的預後以及預測患者接受抗病毒治療後的可能反應。這些預測指標主要可以分為兩大類，一類是與病毒(virus)相關

的因子，另一類則是與宿主(host)相關的因子，藉由這些預測指標的應用，臨床上目前已經可以給予 C 肝患者個人化的追蹤及治療。與病毒相關的預測指標中，除了治療前的 C 肝病毒量及病毒基因型外，評估 C 肝患者接受治療時的 C 肝病毒量變化(也就是早期病毒動力學變化)為目前臨床上預測患者接受抗病毒治療後 SVR 的最重要參考指標。此外運用 C 肝病毒動力學變化所建立的數學模式不但可以模擬病毒與宿主的互相影響，也可以應用來預測治療藥物或兩者間交互作用的可能機轉。

值得注意的是，目前許多研究皆指出，宿主的葡萄糖代謝、脂質代謝及肝臟脂肪變性與 C 肝病毒感染有密切的關係存在。C 肝患者除了較其他疾病或病毒感染患者有較高的肝臟脂肪變性盛行率外，也有不同的血清胰島素與脂肪特徵濃度。此外許多臨床與實驗室的研究皆發現，宿主的代謝特徵除了可能影響慢性 C 肝患者肝臟纖維化的進展速度外，並且可以被用來預測以及影響患者接受抗病毒治療後的效果與代謝特徵血清濃度。因此清楚了解 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖及脂質代謝的關係已經成為現今全球肝病研究的熱門課題。

另一方面，幾個重要的研究團隊最近共同指出，與介白質 28B(interleukin 28B, IL28B, 合成 interferon- $\lambda$ 3)之單核苷酸多形性(single nucleotide polymorphism, SNP)和 C 肝患者接受干擾素抗病毒的治療效果有關，因此研究與 IL28B SNP 與 C 肝病毒的可能交互作用，了解 IL28B SNP 在 C 肝病毒感染中所扮演的角色，並且釐清 C 型肝炎病毒與 IL28B SNP 及其他臨床特徵的相關性，就成為重要的研究題目及改善 C 肝治療的可能契機。因此探討 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖與脂質代謝甚至各種宿主基因 SNP 的關係，其所獲得的知識不但可以釐清可能的病態生理機轉，也有助於設計並進行後續的相關試驗，並應用於臨床上以改善現今 C 肝病毒感染患者的處置及治療。

吾人以下將針對 C 肝病毒感染、治療與宿主葡萄糖及脂質代謝的關係，就第一、C 肝病毒感染的自然病史以及臨床治療，第二、C 肝病毒感染與宿主葡萄糖的關係，第三、C 肝病毒感染與宿脂質代謝的關係，第四、宿主基因多形性變異與新型抗 C 肝病毒藥物等四方面來做背景介紹及文獻回顧，並探討現今仍需研究的問題及其重要性，建立研究假說與目的，

並設計與進行實驗，最後將討論研究結果在臨床上的應用性及貢獻。



## 第一章、C 肝病毒感染的自然病史以及臨床治療

### 第一節、C 型肝炎病毒感染的自然史

根據 C 肝自然史的觀察研究發現(圖 1)，急性 C 肝病毒感染後有百分之五十五到八十五的人會變成為慢性的 C 肝病毒感染<sup>3</sup>。急性 C 肝病毒感染後，嬰幼兒以及年輕的婦女有較高的機可以自然痊癒(spontaneous resolution)<sup>3</sup>。慢性 C 肝病毒感染對於被感染者以及他們所接觸的人都有重要的影響：對於被感染者，慢性感染會增加他們進展至肝硬化以及肝癌的機會；對於被接觸者，慢性感染將會增加他們感染的機會。慢性 C 肝患者在經過 25 至 30 年的感染後，產生肝硬化的機會為 5% 至 25%<sup>4-6</sup>，根據以婦女與小孩為對象的前瞻性追蹤研究報告指出，如果年輕時就已被 C 肝病毒感染時，經過 20 至 30 年的慢性感染後只有 1% 到 3% 的人得到肝硬化<sup>7-9</sup>。然而依據醫學中心的病人所進行的回溯性追蹤研究報告則指出，20% 至 25% 的慢性 C 肝患者在長期追縱後被診斷有肝硬化產生<sup>10,11</sup>。此外年長者、肥胖者、免疫受抑制者(同時有愛滋病毒感染者)以及酒精攝取每天超過 50 克者，肝臟纖維化進展至肝硬化的速度會較快<sup>12,13</sup>。較令人擔心的是，C 肝的肝硬化患者在 10 年內有高達 30% 的機會發生肝臟衰竭，並且每年有 1% 到 3% 的機會產生肝細胞癌<sup>13</sup>。另外，C 肝病毒感染還可以引起肝臟器官以外的疾病，譬如 mixed cryoglobulinemia(types II 以及 III)。事實上，不管 C 肝患者的肝臟疾病是否嚴重，當 cryoglobulinemia 已引起臨床症狀時，患者就該接受 C 肝的抗病毒治療。

臨床上目前可以利用各種已被驗證過的系統分期方法(包括 Ishak, IASL, Metavir or Batts-Ludwig staging systems)來評估肝臟切片組織的纖維化程度，尋找出那些有較高的機會產生肝臟纖維化進展的患者<sup>11,13</sup>。若是患者的肝臟纖維化程度較為輕微時(no or minimal fibrosis，譬如 Ishak stage 0-2; Metavir, IASL 或 Batts-Ludwig stage 0-1)，患者在未來 10 至 20 年間發生與肝臟相關之併發症以及死亡的危險性就相對較低，相較之下，若是患者已經有肝臟組織橋連纖維化(bridging fibrosis，譬如 Metavir stage 3)產生時，將有較高機會產生肝臟纖維化進展與硬化，未來發生肝臟相關併發

症或死亡的危險性就相對較高，因此對於這類患者就會建議治療<sup>3</sup>。

## 第二節、C 肝患者的預後以及治療的目標

由 C 肝的自然病史，吾人可以知道治療 C 肝病毒感染將有下列各種好處：一、減低 C 肝病毒的傳染力，二、降低患者產生肝硬化或肝臟衰竭的危險性，三、降低肝癌的風險，四、提高 C 肝患者的存活率，五、改善 C 肝患者的生活品質，使患者的生產力增加，減少因病請假或早退的頻率，使患者的工作日數或時間增加，有益國計民生<sup>14-16</sup>。

C 肝病毒感染治療的目標為防止 C 肝病毒感染引起併發症以及死亡。由於慢性 C 肝病程的進展十分緩慢，常需幾十年的時間才有明顯併發症產生，因此想要評估抗病毒藥物治療減少併發症發生的效果是件相當困難的事，利用病毒學的指標取代臨床治療目標作為抗病毒藥物治療效果的評估就成為臨床上較為可行的方式。目前臨床上對於治療效果的短程目標 (short-term outcomes) 可以分為生化學目標(肝功能 ALT 值恢復正常)、病毒學目標(使用敏感的 PCR 檢驗方式仍偵測不到血清中的 HCV RNA)、以及組織學目標(肝臟纖維化指標無惡化且發炎指標進步 2 分以上)<sup>17, 18</sup>。

目前根據在患者接受治療時的不同時間點上，吾人可以利用幾種不同的病毒學指標來評估患者對於治療的反應。其中最重要的指標就是持續病毒學反應(sustained virological response, SVR)，臨床定義為 C 肝患者於治療結束二十四週後的血清以極敏感的 PCR 檢驗方式(< 50IU/mL)仍檢測不到 C 肝病毒的核糖核酸(HCV RNA) (Table 2)，也就是病毒學上的 C 肝治癒。然而患者在接受治療達到 SVR 後，特別是達到 SVR 時仍有肝硬化者，在治療後數年仍有機會得到肝細胞癌<sup>19</sup>。

## 第三節、慢性 C 型肝炎患者的標準治療方式

目前 AASLD<sup>16</sup>、EASL 以及 APASL 建議的慢性 C 肝患者標準治療為每週一次長效型干擾素(pegylated interferon alfa, PEG-IFN)的皮下注射與每日一次口服雷巴威林(ribavirin, RBV)的合併治療，這樣的建議是基於三個不同大型臨床研究的結論，這些研究皆發現長效型干擾素與雷巴威林的合併治療比傳統型干擾素合併雷巴威林的治療有較好的治療效果<sup>17, 18, 20</sup>。此

外這些研究還發現治療藥物的劑量、治療時間的長短以及不同的 C 肝病毒基因型會影響治療的效果。

目前市面上有兩種長效型干擾素已得到美國 FDA 的評鑑通過，可以使用於臨床上 C 肝患者的治療，一種是 peginterferon alfa-2b (Peg-Intron, Schering Plough Corp., Kenilworth, NJ)，另一種則是 peginterferon alfa-2a (Pegasys, Hoffmann-La Roche, Nutley, NJ)<sup>21</sup>，兩種藥物的結構、劑型以及臨床上使用劑量都不一樣。

Peginterferon alfa-2b 的標準使用劑量為 1.5 µg/kg/week，乃是依照體重來調整給予的劑量。Ribavirin 的標準劑量則為按照體重而調整 (weight-based ribavirin) 從每日 800 mg 到 1,400 mg (800 mg for <65 kg; 1,000 mg for 65 to 85 kg; 1,200 mg for 85 to 105 kg; 以及 1,400 mg for >105 kg but <125 kg)<sup>17</sup>。

Peginterferon alfa-2a 的標準使用劑量為固定皮下給予注射 180 µg/week 以及按照體重而調整的 ribavirin 標準劑量，從每日 1,000 到 1,200 mg (1,000 mg for ≤75 kg 以及 1,200 mg for >75 kg)<sup>18</sup>。由臨床試驗觀察到 ribavirin 有兩種好處，第一可以改善病人的 ETVR (End-of-treatment Virological Response，見後述)，但是更重要的是與單接受 peginterferon 治療的患者相比較實，ribavirin 可以減少患者接受治療後的復發率 (relapse rate)。

至於合併治療的時間要多久才能達到最好的療效呢？臨床試驗的結果告訴吾人，治療時間的長短需依據 C 肝病毒的基因型來做決定。遭 C 肝病毒基因型第一型感染的患者被建議需要接受 48 週的 peginterferon alfa-2a 以及按照體重而調整的 ribavirin 標準劑量，然而遭 C 肝病毒基因型第二或第三型感染的患者則被建議需要接受 24 週的 peginterferon alfa-2a 合併低劑量的 ribavirin (low dose ribavirin, 800 mg)<sup>20</sup>。

對於遭 C 肝病毒基因型第四型感染的患者所需要合併治療的時間要多久呢？根據六個臨床試驗 meta-analysis 的結論，目前建議遭 C 肝病毒基因型第四型感染的患者需要接受 48 週的 pegylated interferon 以及按照體重而調整的 ribavirin 標準劑量<sup>22</sup>。然而最近的一個隨機性分派臨床試驗 (randomized trial) 的研究則發現，假如患者接受治療時有達到 EVR，

peginterferon alfa-2b 合併按照體重固定調整的 ribavirin 劑量(10.6 mg/kg per day) 治療 36 週就已經足夠。不過針對這個研究結果，目前仍需要累積更多其他的臨床試驗資料來驗證<sup>23</sup>。

由於 C 肝病毒基因型第五或第六型的全球盛行率並不高，因此收案於臨床試驗中遭 C 肝病毒基因型第五或第六型感染的人數並不多。最近一個針對遭 C 肝病毒基因型第六型感染者接受合併治療的回溯性研究分析發現，接受 48 週 pegylated interferon 及 ribavirin 的標準治療會比接受 24 週治療者有更好的治療效果<sup>24</sup>。對於遭 C 肝病毒基因型第五型感染者，由於在治療藥物劑量以及時間長短上仍沒有足夠的研究資料，因此目前在治療的建議上還沒有任何共識。

#### 第四節、慢性 C 肝患者對干擾素相關治療反應的臨床預測指標

對於準備接受標準 C 肝治療的患者，治療前預測指標的評估可以協助醫師們瞭解 C 肝患者接受治療後 SVR 的可能比率，並且給予患者們治療上的適當建議。然而要注意的是，臨床實務上不可以因為患者沒有較好的治療前預測指標時就建議患者不要接受治療。

依據患者接受治療後 SVR 的有無，目前臨床上已有許多 C 肝干擾素治療的預測指標可以評估患者接受治療後的反應。這些指標主要分為兩大類，第一類是與病毒相關的指標，第二類則是與宿主(host)相關的指標<sup>25-34</sup>，利用這些預測指標吾人將可以評估病人對治療的反應以及給予病人個人化的 C 肝治療。與病毒相關的預測指標中，除了治療前的 C 肝病毒量與病毒基因型外，評估 C 肝患者接受治療時的 C 肝病毒動力學變化(viral kinetics)為目前臨床上預測患者 SVR 的最重要參考指標(見後述)。

目前臨床上被用來預測 SVR 的指標主要是經由下列幾種試驗研究所發現的：(1)登記有案的臨床試驗(registration trials)通常有很嚴格的收案與排除進入臨床試驗的標準，因此無法忠實反映出真實世界中一般 C 肝患者的狀況；(2) 以社區民眾為研究對象的試驗計劃(community-based trials)通常這類研究計畫的執行沒有臨床試驗嚴謹；(3)以退伍軍人的資料庫(Veterans Affairs databases)主要以男性為研究對象，因此無法反映出一般大眾中 C 肝患者的狀態。儘管上述研究有各種缺點，使用多變項分析的方式

(multivariate analyses)進行研究後仍然可以找到兩個重要的 SVR 預測指標：C 肝病毒基因型(viral genotype)與治療前的 C 肝病毒量(pretreatment viral load)<sup>17, 18, 20</sup>，C 肝病毒基因型非第一型的患者(大部分為病毒基因型第二或第三型)以及治療前 C 肝病毒量低於 600,000 IU/mL 者有較高的持續病毒學反應(SVR)<sup>20</sup>。除了基因型與治療前病毒量之外，與 C 肝患者接受治療後預後較好的治療前預測指標還包括：長效型干擾素的劑量(1.5 µg/kg/week versus 0.5 µg/kg/week)、ribavirin 的口服劑量(>10.6 mg/kg)、女性、年齡小於 40 歲、不是非裔美國人種(non-African-American race)、較高的 ALT 值(正常值上限三倍以上，three-fold higher than the upper limit of normal)者、體重較輕者(≤75 kg)、沒有胰島素抗性(insulin resistance)、肝臟組織切片檢查並無發現橋連纖維化(bridging fibrosis)、肝臟脂肪變性(hepatic steatosis) 以及肝硬化的患者<sup>17, 18, 35</sup>。此外最近研究還發現，宿主的介白質 28B 基因多形性變異(IL28B gene polymorphisms)為相當重要的治療反應預測指標(見後述)。

#### **第五節、干擾素相關治療後的病毒學反應評估指標**

目前臨床上預測患者 SVR 的最重要參考指標為評估 C 肝患者接受治療時血清中 C 肝病毒動力學變化(viral kinetics)，也就是病毒學反應的評估指標，包括：治療結束時病毒學反應(end-of-treatment virologic response，ETVR)、早期病毒學反應(early virologic response，EVR)以及快速病毒學反應(rapid virologic response，RVR)。

#### **治療結束時病毒學反應(End-of-treatment Virologic Response，ETVR)**

治療結束時病毒學反應(ETVR)其臨床定義為：C 肝患者於治療二十四或四十八週結束時的血清以極敏感的 PCR 檢驗方式仍檢測不到 C 肝病毒的核糖核酸(HCV RNA)。雖然 ETVR 無法用來準確地預測患者將來是否可以達到 SVR，但是為達到 SVR 的必要條件。

#### **早期病毒學反應(Early Virologic Response，EVR)**

早期病毒學反應(EVR) 的定義為：以 C 肝病毒核糖核酸定量試劑檢



驗，當患者接受治療十二週時的 C 肝病毒量較治療前的病毒量減少 100 倍或以上時稱之。

EVR 為目前臨床上預測患者接受以干擾素為基礎的抗病毒藥物治療後無法達到 SVR 的最佳評估指標，當患者接受治療無法達到 EVR 時，在未來治療結束後將無法達到 SVR<sup>18,36</sup>。由兩個大型多中心、針對先前無接受過干擾素為基礎的抗病毒藥物治療(treatment-naïve)之 C 肝病毒基因型第一型感染者為對象的臨床試驗所進行的回溯性研究分析發現，當患者接受治療十二週時的 C 肝病毒量仍較治療前的病毒量無法減少 100 倍或以上時，這些患者將來治療失敗的機會將非常的高<sup>18,36</sup>。先前無接受過干擾素相關抗病毒藥物治療(treatment-naïve)之 C 肝病毒基因型第一型感染者，若是無法達到 EVR 時，將有 97%至 100%的機會無法達到 SVR。因此患者接受治療後沒有達到 EVR 時，將可以建議提早停止藥物治療。相反地，當患者接受治療達到 EVR 時，未來可以成功達到 SVR 的機率只有 65%到 72%，因此 EVR 並非預估患者接受治療後可以達到 SVR 的良好指標。目前還針對治療時沒有達到 RVR 之患者的 EVR 細分為 cEVR(complete EVR)與 pEVR(partial EVR)兩種。cEVR 定義為：患者治療四週時沒有達到 RVR，但是以敏感的 C 肝病毒核糖核酸檢驗患者接受治療十二週時的血清卻檢測不到病毒量(< 50IU/mL)時稱之。pEVR 則為患者治療四週時沒有達到 RVR，但是治療十二週時的血清中 C 肝病毒量較治療前的病毒量減少 100 倍或以上時稱之<sup>34</sup>。最近的臨床研究發現，cEVR 較 pEVR 對 SVR 有較好的預測能力(83% versus 21%)<sup>36</sup>。由於大部分 C 肝病毒基因型第二或第三型感染者對於以干擾素為基礎的抗病毒藥物治療效果很好，患者接受十二週治療後皆已經檢測不到血清中的 C 肝病毒量，因此 EVR 對於 C 肝病毒基因型第二或第三型感染者的臨床應用價值相對較低。

### **快速病毒反應(Rapid Virologic Response, RVR)**

快速病毒學反應(RVR)的定義為：患者接受治療四週時，以敏感的 C 肝病毒核糖核酸試劑檢驗時仍檢測不到 C 肝病毒量(< 50IU/mL)時稱之，當患者接受治療達到 RVR 時將有很高的機會在未來治療結束後達到 SVR<sup>37,38</sup>。

為了減少 C 肝患者對於抗病毒藥物的曝露以及因治療所可能引起的不良反應，許多研究學者致力於找尋較早的時間點以作為評估患者接受治療後的可能病毒學反應。目前臨床研究發現，儘管在不同的 C 肝基因型病毒感染下或是患者接受不同的干擾素治療方式，RVR 皆為評估 C 肝患者未來可以達到 SVR 的良好指標<sup>39</sup>，然而西方國家報告指出，只有將近 15% 到 20% 的 C 肝病毒基因型第一型感染者以及 66% 的 C 肝病毒基因型第二或第三型感染者在接受治療後能達到 RVR<sup>39,40</sup>。在一個接受 peginterferon alfa-2a 治療之 C 肝病毒基因型第一型感染者的回溯性分析研究中發現，有 RVR 者的 SVR 可以高達 91%，有 cEVR 者的 SVR 可以達到 75%，至於有 ETVR 者的 SVR 只有 45%<sup>39</sup>。

由於 RVR 代表患者能夠在很短的時間內將 C 肝病毒自血清中清除掉，因此接受治療時有 RVR 者可以考慮將治療的時間縮短<sup>38,39</sup>，然而 RVR 的 NPV(negative predictive value)並不高，所以當患者沒有達到 RVR 時並不代表應該考慮停止患者的抗病毒藥物治療。

除了上述較為常用的病毒學指標外，對於患者在接受治療二十四週時血清中的 HCV RNA 檢測不到，但是在治療期間內又再度檢測到血清中的 HCV RNA 時，臨床上定義為(virologic breakthrough)。對於治療時達到 ETVR，但是在治療結束後追蹤的二十四週內又再度檢測到血清中的 HCV RNA 時，臨床上定義為復發(virologic relapse)。當患者接受治療二十四週時的 C 肝病毒量較治療前的病毒量沒有減少 100 倍時則稱為對治療無效者(null responders)；對於治療二十四週時 C 肝病毒量有減少 100 倍或以上，但是治療期間內仍檢測得到血清中的 HCV RNA 時則稱為對治療部份有效者(partial nonresponders)。

## 第六節、C 肝病毒動力學

除了上述病毒學反應評估指標外，由於 C 肝患者接受抗病毒藥物治療後，血清中的病毒量會隨時間而產生改變(動力學變化，viral kinetics)。藉由量測不同時間點的血清中病毒量，一方面可以評估患者對干擾素為基礎抗病毒藥物治療的可能反應，給予個人化治療，包括：療程時間的長短、是否可以終止治療(as a stopping rule)，藉以減少藥物劑量與治療的時間、

並降低藥物可能的毒性與費用外，還可以利用這些病毒動力學變化的資料，建構數學模式以了解並闡釋 C 肝病毒、藥物以及宿主三者間交互作用。

### C 肝病毒動力學數學模式

根據愛滋病毒慢性感染<sup>41-43</sup>、C 肝病毒<sup>44</sup>以及 B 肝病毒感染者<sup>45, 46</sup>接受治療時的病毒動力學數學模式，不但能夠使吾人對於病毒本身與宿主的免疫反應變化有更深入地了解，對於一些臨床觀察得到的現象也能提出適當的解釋機轉與合理的解釋，許多針對干擾素與各種的反轉譯以及蛋白酶抑制藥物的人體外研究(reverse-transcriptase inhibitors and protease inhibitors)皆有利用病毒動力學數學模式來分析藥物的抗病毒效果。目前已有幾個以微分方程式所建構的數學模式被應用來研究 C 肝病毒的動力學變化<sup>47</sup>，利用由各個病患依最小平方法(standard least-square procedures)所得來的數據可以估計模式中的各種參數。Neumann 等人於 1995 發表了兩篇以數學模式來研究 HIV 與 CD4+ T 淋巴細胞動力變化的文章之後<sup>41, 42</sup>，於 1998 年發表了第一個 C 肝病毒的動力學數學模式<sup>44</sup>。這個模式乃基於 C 肝患者體內病毒是處於一個病毒製造與清除(virus production and clearance)的動態平衡(dynamic equilibrium)的假設之下，利用數學模式以及微分方程式來解釋干擾素相關治療對於 C 肝病毒感染的作用以及影響，並且估計出干擾素對於病毒製造(virus production)的影響以及干擾素抗病毒藥物對於慢性 C 肝感染的治療效果(efficacy)<sup>44</sup>。

基於這個數學模式，當病毒製造與清除的動態平衡因為干擾素的作用而改變時，臨床上就可以在藥物治療早期時觀察到患者血清中 HCV RNA 濃度呈現兩階段或是多階段的下降(biphasic or multiphasic decline)，也因此可以利用數學的方式來對這個現象進行分析<sup>44, 48, 49</sup>。藉由 C 肝早期病毒動力學模式的分析估算，吾人可以知道 C 肝病毒在體內的半衰期很短(half-life of free hepatitis C virions *in vivo*, <5 hours)，抗病毒藥物治療早期時觀察到的第一階段快速病毒下降(rapid first phase, day 1)現象與血清中 C 肝病毒的清除有關，第二階段病毒下降(second phase, days 2 to 14)的現象則與已被 C 肝病毒感染之肝臟細胞的清除有關(the clearance of productively infected cells)。當假定干擾素的治療效果只部分阻斷 C 肝病毒的複製時(partially

blocking viral production)，依此數學模式就可以對慢性C肝患者接受抗病毒藥物治療後病毒典型的兩階段下降現象提出適當的解釋<sup>44, 48, 49</sup>。因此由病毒動力學數學模式所獲得的知識不但可以闡明抗病毒治療時宿主與病毒間交互作用的機轉，也成為吾人了解抗C肝病毒藥物治療的重要核心知識，並且對於C肝患者的臨床醫療處置以及的藥物治療上都有重要影響<sup>50</sup>。

然而現今使用的C肝病毒動力學數學模式仍有許多缺點：第一、大部分的C肝病毒動力學數學模式都是依照Neumann於1998年所提出的數學模式<sup>44</sup>進行改良的，但是這個模式乃依照接受傳統型短效干擾素治療C肝患者的資料所建構而成的，該模式是否適用於評估現今接受長效型干擾素合併雷巴威林標準治療的C肝患者則仍未知。第二，雷巴威林的效果在Neumann於1998年所提出的模式中並沒有詳細的討論，因此若是能夠以接受長效型干擾素或長效型干擾素合併雷巴威林治療的慢性C肝患者的臨床數據來建構新型數學模式時，對現今C肝治療的研究上將會更具意義<sup>51</sup>。第三、C肝病毒量在PEG-IFN alfa 2b每週給藥前(藥物濃度的相對低點時)都會有反彈的現象，因此抗病毒藥物的效度以及已被病毒感染之肝臟細胞的清除速率的估計值會因為藥物動力學(pharmacokinetics and pharmacodynamics)的不同而有被高、或低估的可能性<sup>52, 53</sup>。第四、由於C肝病毒量的檢驗方式將決定可以被偵測到的最低病毒濃度(閾值，threshold，檢驗方式的敏感度)，當血清中C肝病毒濃度低於此閾值時都將被視為檢測不到病毒濃度(undetectable values)，因此建構數學模式時應該將病毒定量檢驗方式的敏感度(sensitivity)列入考量<sup>54</sup>。最後，大部分的數學研究模式都是依據西方人臨床資料所建構而成，這些模式是否適用於亞洲人種仍未知。

## 第七節、接受抗病毒藥物治療的適當對象

現今對於慢性 C 肝患者的治療建議皆是根據過去許多臨床試驗所累積資料的分析結果，然而這些臨床試驗對於患者的選擇通常訂有很嚴格的收案與排除標準，因此這些研究結果常常無法反映出所有實際上需要接受治療的 C 肝大眾狀況。特別是對於某些特殊 C 肝族群的治療，譬如同時有腎臟疾病、憂鬱症、藥癮患者、小孩以及同時合併有愛滋病毒與 C 肝病毒感染的患者，目前臨床相關資料仍不足夠，有待未來累積更多的臨床資

料。此外，跟所有醫學治療的建議一樣，C 肝治療方式的建議也必須同時考量該治療對病患的可能好處以及危險性，因此實際應用這些治療建議於臨床時，還必須依據病人的病況做適當的調整<sup>16</sup>。

2009 年美國肝臟醫學會對於需要接受 C 抗病毒治療者的條件有如下建議：(1)年齡須滿 18 歲，(2)血清中可以檢驗出 HCV RNA，(3)肝臟組織切片檢查證實有慢性肝炎與顯著的肝臟纖維化(significant fibrosis, bridging fibrosis or higher)，(4) 肝臟功能代償良好(compensated liver disease)包括 total serum bilirubin <1.5 mg/dL；INR 1.5； serum albumin >3.4g/dL，platelet count 75,000 /mm<sup>3</sup> 以及無證據顯示為肝臟衰竭(譬如肝腦病變或腹水)，(5) 正常的血液學或生化學指標(男性 hemoglobin 13 g/dL，女性為 12 g/dL；neutrophil count 1500 /mm<sup>3</sup> 以及血清中 creatinine <1.5 mg/dL，(6) 沒有禁忌症，願意接受治療並遵守治療的要求。

至於美國肝臟醫學會對於 C 抗病毒治療禁忌症的建議則為：(1)嚴重且沒有良好控制的憂鬱症，(2)接受腎臟、心臟或肺臟器官移植者，(3)自體免疫性肝炎或是其他可能被 peginterferon 或是 ribavirin 所惡化的自體免疫疾病，(4) 沒有良好控制的甲狀腺疾病，(5)懷孕或是不願避孕者，(6)同時患有其他嚴重疾病者，譬如嚴重的高血壓、心臟衰竭、冠狀心臟疾病、糖尿病、或慢性阻塞性肺病者，(7)年齡不到 2 歲，或是(8)對於抗 C 肝病毒治療藥物過敏者。

然而這些選擇病患的治療建議只是指導方針，並非固定僵化的條文。對於實際臨床上病患的處置及治療考量，仍需就個案的狀況做調整(case-by-case)，並且同時考量醫師治療經驗以及病患對於治療所可能引發的風險之接受程度。

## 第八節、抗 C 肝病毒藥物治療的臨床評估

目前對於所有準備接受抗 C 肝病毒藥物治療的患者皆建議需先接受憂鬱症相關症狀以及冠狀動脈心臟疾病危險因子的評估，並且患者其他的系統性疾病，譬如糖尿病或高血壓，皆需已經在良好的控制之下。臨床上已有許多被驗證過、可供使用的憂鬱症評估計分表被應用來量測患者接受治療時的反應以及副作用的發生<sup>55,56</sup>，因此比較理想的評估方式為：前三

個月的治療期間需每個月評估一次，之後到治療結束前則建議每二到三個月評估一次。每次評估時皆需要檢視患者所發生的副作用、憂鬱症狀以及是否有按時服用藥物與接受治療。實驗室的追蹤檢查項目則包括血液學的檢驗、血清中 creatinine 與 ALT 濃度以及第四、十二、二十四週、之後每四至十二週、治療結束時與治療結束後二十四週時的 HCV RNA 濃度，此外治療期間的甲狀腺功能需要每十二週時評估一次。雖然患者治療達到 SVR 者，在肝臟組織學以及臨床病程上都會有明顯地進步<sup>57,58</sup>。但是對於達到 SVR 但已有肝硬化的患者，其五年內發生肝臟衰竭、肝硬化以及死亡的風險性仍然較高<sup>58</sup>，因此目前建議須要繼續接受定期的肝細胞癌篩檢<sup>59</sup>。此外目前並無建議對於治療後達到 SVR 者需做肝臟切片檢查。



## 第二章、C 肝病毒感染與宿主脂質及葡萄糖代謝的關係

### 第一節、宿主葡萄糖及脂質代謝與 C 肝病毒的密切關係

目前許多研究皆指出，宿主的葡萄糖代謝、脂質代謝及肝臟脂肪變性與 C 肝病毒感染有密切的關係存在。C 肝患者除了較其他疾病或病毒感染患者有較高的肝臟脂肪變性盛行率外，也有不同的血清代謝特徵濃度。此外許多臨床與實驗室的研究皆發現，宿主的代謝特徵除了可能影響慢性 C 肝患者肝臟纖維化的進展速度外，並且可以被用來預測以及影響患者接受抗病毒治療後的效果與代謝特徵血清濃度。最近的臨床研究甚至顯示，調控宿主葡萄糖及脂質代謝反應時，甚至合併降血脂或血糖藥物於 C 肝標準治療中時，可以改善部分患者的 SVR<sup>60-62</sup>。因此清楚了解 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖及脂質代謝的關係已經成為現今全球肝病研究中的熱門課題，並且為 C 肝病毒感染的治療開啟新的契機。以下吾人將分別依 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖或脂質代謝的關係做詳細的背景及文獻回顧。

### 第二節、C 肝病毒感染與宿主葡萄糖代謝的關係

#### 2.1 葡萄糖代謝與胰島素抗性的產生

長久以來，肝臟脂肪變性就被認為是其他代謝因子，特別指葡萄糖代謝/胰島素抗性的副產物，胰島素抗性目前被認為可能是造成非酒精性脂肪肝患者與 C 肝患者肝臟脂肪變性及肝臟纖維化加劇的主要原因<sup>63-65</sup>。按照非酒精性脂肪肝病的研究發現：肝臟脂肪變性、血脂肪代謝異常與肥胖都會導致慢性發炎進而產生胰島素抗性，最後變成第二型糖尿病<sup>66</sup>。

臟器脂肪(visceral fat)以及皮下脂肪會分泌許多引起肥胖者持續慢性發炎的物質，這些物質包括許多不同的荷爾蒙、細胞激素、神經傳導物質以及凝血控制因子，因此對於糖尿病、脂質異常、高血壓、感染性疾病以及許多癌症都會造成不良的影響<sup>67</sup>。這些脂肪分泌物質也會對過度肥胖(adiposity)者的發炎以及免疫反應產生影響，進一步造成肥胖患者體內的組織損傷。此外肥胖也會改變脂肪組織的細胞組成以及功能。

在肥胖患者以及肥胖鼠模式中可以看到巨噬細胞(macrophages)浸潤脂

肪組織的現象。巨噬細胞浸潤的程度與身體質量指數(BMI)以及肥胖的程度相關。大部分脂肪組織中浸潤的巨噬細胞是來自於骨髓，但是肥胖者的巨噬細胞與脂肪細胞會同時存在於脂肪組織中，而且這兩種細胞在功能上會互相重疊，特別是前脂肪細胞(pre-adipocytes)在某些情形下會呈現吞噬與抗微生物的能力，並且可以轉化為巨噬細胞。此外肥胖患者脂肪組織中的巨噬細胞會單獨或是與脂肪細胞或是前脂肪細胞一同促進體內細胞激素、荷爾蒙以及生長因子的分泌，造成患者的慢性發炎狀態以及胰島素抗性(insulin resistance)。

Eckel等於2005年將「胰島素抗性」描述為代謝症候群病態生理機轉的一個假說，從血糖的觀點對「胰島素抗性」來下定義<sup>68</sup>。Eckel等認為因為患者有胰島素功能上的缺損，造成空腹的高胰島素血症或是飯後的高胰島素血症。因此胰島素抗性的定義為：當宿主需要增加體內的胰島素量以維持正常生理代謝的需求，並引起了代償性高胰島素血症現象的產生<sup>69</sup>。當患者有胰島素抗性產生時，胰島素對身體內肝臟血糖製造的抑制作用會發生失常，因此臨床上可以觀察到患者有高血糖(hyperglycemia)與葡萄糖耐受不良(glucose intolerance)的現象。所以目前胰島素抗性被認為是引起代謝症候群以及其主要病理表現(包括代謝症候群)或併發症的原因。肥胖的患者通常會有胰島素抗性，胰島素抗性會進一步造成高胰島素血症、血清中脂肪酸濃度增加以及高血糖症<sup>70</sup>。

## 2.2 糖尿病、胰島素抗性與C肝病毒感染

除了肥胖、代謝症候群或其併發症的原因之外，目前研究發現病毒也會引起胰島素抗性，特別是遭第一型與第二型C型肝炎病毒感染的患者，可能會藉由肝臟內TNF- $\alpha$ 濃度增加來引起胰島素抗性<sup>71</sup>。許多流行病學的研究發現C型肝炎病毒感染後會有第二型糖尿病的臨床表現。國外的研究報告(北美、歐洲、與中東)指出慢性C型肝炎病毒感染者的糖尿病盛行率約為24%至62%，較其他種類肝臟疾病患者的糖尿病盛行率(約為3%至13%)為高。糖尿病患者中的C肝抗體盛行率為4.2%至28%，也較一般族群的C肝抗體盛行率為高。目前的研究發現，即使校正了肝臟細胞功能失常對代謝作用的影響後，C肝患者仍有較高的血糖異常及糖尿病的盛行率。一個



在美國進行的大型社區調查研究(Third National Health and Nutrition Examination Survey)發現，在20歲以上的成人當中，有C肝病毒感染者較無C肝病毒感染者的糖尿病盛行率可以增加三倍以上<sup>72</sup>。美國印地安女性(American-Indian women)、年齡較長、肥胖以及C肝抗體陽性者，為診斷糖尿病的獨立影響因子<sup>73</sup>。年齡較長、肥胖、較嚴重的肝臟纖維化與有糖尿病家族史者皆為C肝患者將來發生第二型糖尿病的危險因子<sup>74</sup>。此外研究也發現，雖然有C肝病毒感染者較無C肝病毒感染者的血糖異常(glucose abnormalities)比率可以增加三倍(32% versus 12%; P=0.0003)<sup>75</sup>，然而若患者有肝硬化時，雖然C肝病毒感染者仍較無病毒感染者的血糖異常比率為高，但是兩者血糖異常比率的差異性並沒有統計上的意義(40% versus 36%)。這現象似乎暗示著，C肝病毒感染對糖尿病的影響在C肝疾病病程的早期時就已經開始發生。

由於胰島素抗性在引起糖尿病的產生中扮演主要的角色，因此發現慢性C肝患者有較一般族群為高的胰島素抗性發生比率時並不令人意外，最近的研究甚至指出30%到70%的慢性C肝患者可以有某種程度胰島素抗性的表現<sup>76,77</sup>。慢性C型肝炎患者不但有較高的第二型糖尿病盛行率也有較高的胰島素抗性，並且同時伴有胰島素抗性或是第二型糖尿病的慢性C型肝炎患者常會有較嚴重程度的肝臟纖維化存在<sup>78</sup>。針對嚴重肝臟纖維化患者的研究發現，胰島素抗性與C型肝炎病毒感染有明顯地相關性。Hui等的研究<sup>64</sup>則明白指出C型肝炎病毒感染為引起胰島素抗性的重要獨立因子，而胰島素抗性為預測C型肝炎病毒感染患者肝臟組織纖維化以及纖維化進展的獨立因子。嚴格說來，這些研究證據都只顯示C型肝炎病毒與胰島素抗性有很強的相關性存在。一直到2004年Shintani等的基因轉殖鼠實驗才成功地證明出C型肝炎病毒核心蛋白會造成胰島素抗性<sup>79</sup>，真正提出了C型肝炎病毒引起胰島素抗性的直接證據。值得注意的是，最近的部分研究指出，雖然C肝病毒感染與胰島素抗性有強烈關聯性，但是與代謝症候群並無明顯關連。

### 2.3 C肝病毒感染引起胰島素抗性與肝臟纖維化的可能原因

過去的研究發現，血清中胰島素與葡萄糖濃度升高將會刺激肝臟星狀

細胞分泌結締組織生長激素(connective tissue growth factor)以及細胞外間質的產生(extracellular matrix)<sup>80,81</sup>，這兩者在肝臟纖維化進展過程中扮演直接的角色<sup>82,83</sup>。針對體重過重的C型肝炎病毒感染患者的研究發現：患者血清中胰島素濃度的增加與肝臟纖維化程度有關，和病毒的基因型無關<sup>83</sup>。相對而言，胰島素濃度在較瘦的C型肝炎病毒感染患者體內並沒有很大的差異，與纖維化程度也沒有明顯相關性存在。

此外許多因子被發現與胰島素抗性有關，包含細胞激素(如 TNF- $\alpha$ )、脂肪激素(包括脂締素、瘦素、阻抗素(resistin)、游離脂肪酸(free fatty acids)、acylation stimulating protein 與 adipsin)以及其他的蛋白質和激素(包括 norepinephrine、thyroxine、glucocorticoid、insulin 和 PPAR agonist)，這些因子對於 C 型肝炎病毒感染的影響也值得深入研究。

#### 2.4 C肝病毒引起胰島素抗性的分子機轉

雖然目前對於引起胰島素抗性的機轉仍不清楚，部分研究已經指出某些病理改變可能扮演其中的關鍵角色。高血糖、高血脂、糖化產物的形成(glycation end-products)以及增加非飽和性脂肪酸(nonesterified fatty acids)與其相關代謝產物的釋出-包括甘油(glycerol)、賀爾蒙與由脂肪組織所釋出的細胞激素-都被認為可能是引起肝臟細胞胰島素抗性的可能原因<sup>84</sup>，特別是那些可以引起發炎反應的細胞激素(proinflammatory cytokines)被認為扮演著相當重要的角色。當巨噬細胞(macrophage)浸潤到脂肪組織(white adipose tissue)中時會使體內與引起發炎反應相關的細胞激素濃度增加，這也給予了脂肪組織及肝臟功能異常反應兩者間一個分子層次的連結<sup>85</sup>。另一方面，竇狀(sinusoidal liver cells)區的細胞也會藉由增加氧化壓力及增加分泌與發炎反應相關的細胞激素(譬如tumor necrosis factor alfa與 interleukin-6)來加劇肝臟細胞的胰島素抗性。貝他細胞( $\beta$ -cell)功能的異常也被認為在形成胰島素抗性的過程中扮演著重要角色<sup>86</sup>。此外研究指出，當C肝患者若是伴隨有其他的糖尿病的危險因素時，包括肥胖(特別是指有較高的體格指標者，BMI)、年齡較長或是有糖尿病的家族史，都會有較高的機會得到糖尿病。

**2.4.1 腫瘤壞死因子(Tumor necrosis factor, TNF)** 體內的腫瘤壞死因子阿爾法(TNF- $\alpha$ )產生過多為胰島素抗性與C肝病毒感染時都會出現的共同病理現象。有許多的致病機轉被用來解釋TNF- $\alpha$ 在胰島素抗性發生中所扮演的角色<sup>71, 87</sup>。研究發現C肝基因型第一型患者血液中的胰島素抗性與腫瘤壞死因子阿爾法受體1(soluble TNF- $\alpha$ -receptor 1)、瘦素(leptin)以及鐵蛋白(ferritin)濃度間存在著顯著的關聯性。由於過去的研究發現TNF- $\alpha$ 的表現與肥胖及胰島素的嚴重程度有關，因此一般相信TNF- $\alpha$ 在C肝患者的胰島素抗性中也扮演著重要角色。目前認為TNF- $\alpha$ 在C肝患者的發炎反應中扮演著一個整合性的角色，C肝患者血清中TNF- $\alpha$ 與TNF- $\alpha$ 受體的濃度增加，並且與代表肝臟發炎的生化指標ALT(alanine aminotransferase)及肝臟組織學的發炎程度間存有密切的關聯性<sup>88, 89</sup>。許多的分子機轉被提出來解釋TNF- $\alpha$ 與胰島素抗性的關聯性，包括脂肪細胞的胰島素受體及受質(IRS-1)的酪氨酸磷酸化作用(tyrosine phosphorylation)受到抑制、脂肪分解增加(lipolysis)、調降脂肪細胞製造的蛋白(包括IRS-1、glucose transport protein 4 (GLUT-4)、PPAR- $\alpha$ 以及脂締素)以及對貝他細胞產生直接毒性。特別是TNF- $\alpha$ 對IRS-1與IRS-2所造成的絲氨酸/蘇氨酸酪氨酸磷酸化作用(serine/threonine phosphorylation)被認為會影響胰島素受體與受質間的作用，使得IRS-1與IRS-2無法被適當的酪氨酸磷酸化(tyrosine phosphorylation)。當IRS-1與IRS-2的酪氨酸磷酸化作用受到影響時，IRS-1與IRS-2就無法與下游的其他訊息傳遞的分子產生作用(包括phosphatidylinositol 3 (PI3) kinase)，造成細胞內的胰島素訊息傳遞途徑受到影響<sup>90</sup>。目前的研究不但發現TNF- $\alpha$ 的活性與C肝患者的胰島素抗性有關，也發現TNF- $\alpha$ 的基因型(特別是與啟動子相關的基因多型性)會影響C肝患者TNF- $\alpha$ 的釋放、胰島素抗性以及肝臟疾病的嚴重程度<sup>91</sup>。

**2.4.2 Suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS-3)** Suppressor of cytokine signaling 1 (SOCS-1)與SOCS-3蛋白會藉由ubiquitin-mediated degradation的方式將IRS-1與IRS-2分解來調降胰島素訊息傳遞途徑(insulin signaling)的作用。此外SOCS-1與SOCS-3會抑制Janus kinase訊息傳遞途徑上的訊息傳遞因子及轉譯作用的活化因子(signal transducers and activators)，進而影響

細胞內許多重要的病態生理反應，包括與胰島素或干擾素相關的各種反應<sup>92, 93</sup>。SOCS-1與SOCS-3會藉由與Janus kinase結合或是與細胞激素受體在細胞質內的部分結合或是抑制干擾素所引起的酪氨酸磷酸化作用(tyrosine phosphorylation)以及signal transducers and activators of transcription 1向細胞核內移動及活化基因的作用來抑制Janus kinase訊息傳遞。因此SOCS-1與SOCS-3可以阻斷干擾素所引起的抗病毒與增殖的作用(antiproliferative activities)<sup>94</sup>。許多與發炎反應相關的細胞激素(proinflammatory cytokines)，包括TNF- $\alpha$ 與interleukin-6，與胰島素皆會調升SOCS蛋白的表現<sup>95</sup>。在肥胖鼠的動物模式研究中發現，SOCS-3可以抑制胰島素所引起的IRS-1酪氨酸磷酸化作用以及與PI3 kinase控制單元p85的結合作用<sup>96</sup>。在一個針對肥胖C肝基因型第一型患者所進行的研究中發現，肥胖患者的phosphoenolpyruvate carboxy kinase ( $P = .01$ )以及SOCS-3 ( $P = .047$ )會比較瘦患者有較高表現，進而抑制胰島素的訊息傳遞作用，這個發現同時也解釋了肥胖(obesity)降低干擾素作用的可能機轉<sup>95</sup>。此外該研究也發現，肥胖患者比較瘦患者( $P = .013$ )，或者是對干擾素治療無反應者(nonresponders)較有反應者(responders) ( $P = .014$ )有較高的SOCS-3免疫反應性(immunoreactivity)。最近的研究發現SOCS-3的表現與C肝患者干擾素相關治療的病毒反應有關<sup>97</sup>，並且發現對干擾素相關治療沒有達到持續病毒反應(SVR)之C肝患者的SOCS-3表現量會較有達到持續病毒反應之C肝患者或是控制組患者為高( $P = 0.01$ )。此外，該研究還發現C肝基因型1b型患者的SOCS-3表現量較遭病毒基因型第2型感染患者為高，C肝基因型第1型病毒感染伴有較高比率的代謝症候群(metabolic syndrome)與肥胖，並且遭基因型第1型病毒感染患者較遭第2型感染的患者有較高的SOCS-3表現量，但是較低的SVR比率。因此該研究指出，C肝基因1b型病毒感染可能藉由誘導SOCS-3的表現來使SVR比率的降低，此外SOCS-3的過度表現也可以解釋為何C肝基因1b型患者有較高的代謝症候群盛行率以及對干擾素相關的治療效果較差。

**2.4.3 胰島素受體受質1(Insulin-receptor substrate 1)** 胰島素以及類胰島素生長因子(insulin-like growth factor)是藉由胰島素受體的磷酸化作用將胰

島素受體受質，如IRS-1與IRS-2，酪氨酸磷酸活化後對下游的訊息傳遞因子產生作用，包括協調細胞內PI3 kinase，Pkd/Akt，Grb2/Sos以及Ras cascades等，然後將訊息傳遞下去。比較C肝患者與非C肝患者的的肝臟切片組織後可以發現，C肝患者肝臟組織中胰島素受體以及IRS-1的量較非C肝患者肝臟組織高2至3倍<sup>98</sup>。此外C肝患者肝臟組織中的胰島素受體，與健康對照組相較時，對IRS-1的酪氨酸磷酸活化作用降低，使得IRS-1與胰島素受體的結合效率降低，並進一步影響到IRS-1與PI3 kinase調控單元p85的交互作用，使得PI3 kinase訊息傳遞途徑以及Akt磷酸化訊息傳遞途徑的活化作用降低<sup>98</sup>。這些影響作用對於體內的葡萄糖恆定非常重要，因為PI3 kinase訊息傳遞為體內調控胰島素代謝作用的主要途徑，包括葡萄糖、脂質以及蛋白質代謝、glucose transporter 4轉譯、與mammalian target of rapamycin相關的蛋白質製造和控制細胞存活(cell survival)<sup>84</sup>。目前研究也發現，不同C肝病毒基因型感染時對於IRS-1、IRS-2與胰島素傳遞途徑的影響是不一樣的。由肝癌細胞株的研究中得知，表現C肝基因型1b或3a型病毒核心蛋白細胞中的IRS-1蛋白表現量下降，但是IRS-2蛋白表現量並沒有減少<sup>99</sup>。C肝基因型3a型病毒核心蛋白可以藉由調降PPAR- $\gamma$ 以及調升SOCS-7來增加IRS-1的分解作用，然而C肝基因型1b型病毒核心蛋白卻是藉由活化mammalian target of rapamycin來產生分解作用。

**2.4.4 其他脂肪細胞激素(Other Adipocytokines)** C肝患者的代謝異常也與脂肪細胞激素，包括脂締素及瘦素有關，在正常狀況下這些激素是處於一種平衡的狀態。血清中的瘦素有引發纖維化的效果，可以促進肝臟纖維化與脂肪變性產生；然而脂締素有抗發炎的作用，會限制肝臟纖維化與脂肪變性的進展。在非酒精性脂肪肝疾病的研究上發現脂締素(adiponectin)<sup>100</sup>與調節人體對胰島素的敏感性、第二型糖尿病的病態生理反應、高血脂症以及動脈粥狀硬化有關。肥胖者、第二型糖尿病患者、高血脂症以及冠狀動脈疾病患者血清中的脂締素濃度較低。脂締素基因的多形性也被發現與胰島素抗性、體重以及第二型糖尿病有關聯。此外脂締素也被發現可能可以增加脂肪酸的代謝並且對抗TNF- $\alpha$ 的作用。除了經由與代謝症候群相關的因子來影響身體組織，目前的研究也發現脂締素可能可以直接造成血管

粥狀變化的產生，不需要先經由代謝症候群的相關路徑才產生作用。動物實驗上也發現脂締素可能可以減少肝臟組織的纖維化。由於脂締素可以增加人體對於胰島素的敏感性，並且調控組織的發炎反應。因此針對非酒精性脂肪肝疾病患者的肝臟功能分析時可以發現，血清中ALT值與脂締素血清值的高低是成反相關的，較低的脂締素濃度者會有較高程度的肝臟脂肪變性與壞死性發炎反應。最近研究發現，胰島素抗性與脂締素的關聯性只存在於C肝基因型第3型的患者中，無法在C肝基因型第1型患者中被觀察到<sup>101</sup>。至於C肝患者肝臟脂肪變性與脂締素的關聯性目前仍沒有定論，部分研究發現C肝基因型第3型的患者中可以觀察到脂締素與脂肪變性的相關性<sup>102, 103</sup>，因此認為體內脂締素與腫瘤壞死因子間失衡，可能為造成C肝基因型第3型患者脂肪變性進展的原因。也有研究更進一步指出，C肝基因型第3型患者脂締素中的高分子量脂締素濃度才有較明顯地降低，因此只有高分子量脂締素(high-molecular-weight adiponectin)才與肝臟或全身的胰島素抗性有關<sup>101</sup>。然而也有研究發現C肝基因型第3型患者與健康成人兩者在血中脂締素與瘦素的濃度上並沒有太大差異，並且認為C肝基因型第3型患者的脂締素與脂肪變性間並沒有相關性存在<sup>104</sup>。此外也有研究認為，C肝患者肝臟脂肪變性與脂締素的關聯性可以在非基因第3型患者中被觀察到<sup>103, 105</sup>，並且與抗病毒治療結束時病毒學反應(end-of-treatment response)而非持續病毒學反應(SVR)有關，因此脂締素在C肝患者代謝異常中所扮演的角色仍有待更進一步的研究以確認。

有關C型肝炎患者血清中瘦素(leptin)的可能影響，目前也沒有定論。C肝患者的血中瘦素濃度在接受治療時會下降，並且在治療結束後再回升至治療前的濃度。相反的，血清中的脂締素濃度在治療期間會上升，並且在治療結束後追蹤時仍持續維持在較高的濃度。值得注意的是，脂締素與瘦素的改變與接受治療結束後的持續病毒學反應無關。這些證據告訴吾人，可能是一種與發炎反應以及脂肪激素有關的未知機轉，藉由胰島素抗性引起肝臟脂肪變性，並進一步造成纖維化的進展<sup>106</sup>。目前並沒有證據指出C肝患者血中瘦素濃度與胰島抗性有直接的關係，但是可以確定瘦素、肝臟脂肪變性或纖維化間有顯著並獨立的相關性存在<sup>107-109</sup>。

最近發現，C肝患者肝臟切片組織中protein phosphatase 2A的表現會被

調升，並且可以影響胰島素以及adenosine monophosphate-activated protein kinase的訊息傳遞，以抑制干擾素所引發的訊息傳遞作用(IFN-alfa signaling)<sup>110, 111</sup>。因此C肝病毒藉由protein phosphatase 2A來影響肝臟細胞的胰島素抗性為解釋C肝患者有較高的糖尿病盛行率的可能致病機轉之一，值得進行更深入的研究。

### 第三節、C 肝病毒感染與宿主脂質代謝的關係

相對於 B 型肝炎病毒，C 型肝炎病毒的慢性感染常會伴隨著肝臟脂肪變性的產生。不管在細胞實驗、動物實驗以及人類肝臟組織切片的研究上皆可以發現 C 型肝炎病毒感染會引起肝臟脂肪變性。這個現象暗示著三個重要問題：第一，慢性 C 型肝炎病毒感染與肝臟脂肪變性的同時出現僅只是單純隨機出現或是 C 型肝炎病毒感染會引起肝臟脂肪變性的產生？第二，肝臟脂肪變性在 C 型肝炎病毒慢性感染中扮演著何種角色，特別是在慢性 C 型肝炎患者的疾病進展過程中扮演著何種角色？第三，我們要如何解決上述的問題，並且進一步來改善現今與未來 C 型肝炎病毒感染相關疾病的治療？

#### 3.1 肝臟脂肪變性

過去單純肝臟脂肪變性在臨床上並不被認為是具有重要性的疾病，但是在逐漸累積的實證醫學數據下，肝臟脂肪變性目前已被認為會讓肝臟組織較易產生肝臟發炎(NASH)與纖維化。非酒精性脂肪肝炎(Nonalcoholic steatohepatitis, NASH)這個名詞在 1998 年由 Ludwig 等人所提出，被認為是非酒精性脂肪肝病(Noalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的一部份。非酒精性脂肪肝病(NAFLD)為在沒有過量飲酒患者的肝臟組織中發現包含所有酒精性肝臟疾病的典型病理組織學變化(包含肝臟脂肪變性、脂肪性肝炎、肝臟纖維化與肝硬化)，與代謝症候群(metabolic syndrome)有密切關係<sup>112</sup>。近年來由於與非酒精性脂肪肝病密切相關的肥胖症、第二型糖尿病、血脂異常以及多種代謝疾病在全球迅速暴增，非酒精性脂肪肝病已被認為是一個影響全球健康的重要慢性肝臟疾病。最近一項使用核磁共振

(proton magnetic resonance spectroscopy)對美國城市居民的研究就發現，有高達三分之一的美國城市居民有肝臟脂肪變性。肝臟脂肪變性(非酒精性脂肪肝疾病中最輕度者)常在肝臟切片的組織中被發現，並且可以與其他的慢性肝臟疾病同時存在。大部分肝臟脂肪變性的患者並沒有任何症狀，但是仍有機會變成隱晦型肝硬化(cryptogenic cirrhosis)、肝細胞癌以及必須接受肝臟移植的末期肝臟衰竭。因此當肥胖症或是肝臟脂肪變性與其他肝臟疾病同時存在時，將會加速肝臟組織的損傷。這暗示著積極地處理肥胖症以及減少肝臟脂肪變性將可能改善肝臟組織的損傷，並且減緩肝臟組織纖維化的進展。

### 3.2 脂肪性肝病與其他慢性肝臟疾病的交互作用

針對 C 型肝炎病毒感染患者的研究也發現，肝臟脂肪變性的存在會加速肝臟組織纖維化的進展，減輕體重則可以減少肝臟組織的損傷。此外許多研究也發現肝臟脂肪變性、肥胖與許多的代謝性因素會影響酒精或藥物性肝臟疾病，並且可能為造成肝細胞癌的危險因子。雖然目前對於肥胖有關的脂肪性肝病的病理機制仍不清楚，但是過度的氧化壓力、對細胞凋亡機制的敏感性增加、對細胞的損傷反應失調、與代謝症候群有關的胰島素抗性增加、高胰島素血症以及高血糖症都被認為在這機制中扮演重要角色。此外肝臟細胞再生作用的改變以及肝臟初始細胞(bipotential hepatic progenitor cells) 的活化都會使得肝臟組織的纖維化更加嚴重。以下吾人將針對非酒精性脂肪肝病、胰島素抗性、肝臟脂肪變性到肝臟纖維化、脂肪性肝病變在 C 型肝炎病毒感染時的角色作詳細說明。此外肥胖症和肝臟脂肪病變與酒精以及藥物所造成之肝臟疾病間交互作用，甚至在產生肝細胞癌化過程中所扮演的角色也將詳細討論<sup>113</sup>。

### 3.3 肥胖導致之非酒精性脂肪肝病與胰島素抗性

由於肥胖患者的臟器脂肪以及皮下脂肪會分泌許多不同的荷爾蒙、細胞激素、生長因子、神經傳導物質以及凝血控制因子，引起肥胖者體內持續的慢性發炎以及影響免疫作用，並進一步造成患者的組織損傷以及胰島素抗性(insulin resistance)產生。



肝臟內至少有三種從脂肪組織所產生的物質，包括脂締素 (adiponectin)、游離脂肪酸(free fatty acids)以及 tumor necrosis factor- $\alpha$ ，這些物質會調節肝臟內的發炎反應進而引起非酒精性脂肪肝病。脂締素與肝臟細胞內脂締素受體作用後可以抑制脂肪酸的吸收，並且促進脂肪酸的氧化以及脂質的輸出。脂締素能夠抑制肝臟細胞內脂肪的累積，並且增強肝臟對於胰島素的敏感性，因此可以保護肝臟避免非酒精性脂肪肝病的產生。相反的 TNF- $\alpha$  是一個前細胞凋亡激素(proapoptotic cytokine)，可以吸引發炎細胞進而引起組織損傷。此外 TNF- $\alpha$  可以誘導肝臟內轉錄因子 NF- $\kappa$ B 的活化，增加肝臟內包括 TNF- $\alpha$ 、IL-6 與 IL-1 等各種前發炎細胞激素的表現並且讓 Kupffer 細胞活化。TNF- $\alpha$  也會調降與胰島素傳導途徑相關的各種蛋白表現(譬如 glucose transporter 4 以及 peroxisome proliferator-activated factor  $\gamma$ )進而增加胰島素抗性的程度。因此脂締素與 TNF- $\alpha$  會互相拮抗、互相抑制對方的活性以及製造。研究也發現肥胖患者血中脂締素的量會減少，並且與胰島素抗性、臟器脂肪(visceral adiposity)、TNF- $\alpha$  以及 IL-6 的量呈反比，脂肪組織中脂締素 mRNA 的量也會受到 TNF- $\alpha$  以及 IL-6 的抑制。此外肥胖、有胰島素抗性的患者以及接受胰島素增敏劑(insulin sensitizers, thiazolidinediones)的患者，在減輕體重後可以使血中脂締素與皮下組織內脂締素 mRNA 的量增加。

另一方面，不同的身體脂肪存積方式會有不同的代謝反應，特別是有不同的胰島素敏感性反應。中廣型肥胖患者會有軀體脂肪(包含皮下與臟器脂肪)的增加，臟器脂肪增加會造成較高的胰島素抗性與較多的脂肪分解。此外臟器脂肪為肝臟脂肪酸的重要來源。臟器脂肪組織藉由肝門靜脈與肝臟連結，因此臟器脂肪組織內脂肪酸的高代謝率會造成生理上的重大影響。相對而言，下半身肥胖患者體內的脂肪酸濃度以及代謝變化都較中廣型肥胖者正常，並且較不易受身體質量指數影響。此外脂締素大部份是由皮下脂肪組織而不是臟器脂肪組織所產生，因此中廣型肥胖患者較下半身肥胖者有較高的胰島素抗性，並且較易有肝功能指數異常與非酒精性脂肪肝病。研究也發現肝臟脂肪變性的程度最主要與臟器脂肪量有關，第二才是與身體質量指數或是體內脂肪的總量有關，與皮下脂肪量的相關性最弱

114。

因此吾人可以了解，臟器脂肪才是造成肥胖者胰島素抗性以及慢性發炎的主因，利用脂肪抽吸術減少皮下脂肪並無法讓體內代謝異常產生很大的改善。一項利用脂肪抽吸術減少中廣型肥胖婦女患者皮下脂肪的研究發現，患者的皮下脂肪在接受手術十周後有明顯的減少，但是臟器脂肪只有輕微的減少。患者體內的胰島素抗性、脂締素、TNF- $\alpha$ 、IL-6、C-reactive protein、胰島素、血糖與脂質都沒有明顯的改變。相對而言，利用改變生活形式、減肥藥物或是胃間隔手術(bariatric surgery)來減重的患者，皮下脂肪以及臟器脂肪都有明顯的減少，胰島素抗性以及與肥胖相關的慢性發炎反應都有顯著的進步。因此改變生活形式、使用減肥藥物或是胃間隔手術可以使肥胖患者每日的淨能量支出增加(也就是能量的消耗比能量的獲得更多)，使用脂肪抽吸術並無法達到這種效果。所以脂肪存在的位置(不是脂肪總量的減少)才是減少肥胖患者胰島素抗性、肥胖相關的慢性發炎反應以及改善臨床表現的關鍵因素。至於腹部脂肪的積存與胰島素抗性是否有因果上的相關性，仍待更進一步的研究結果。

### 3.4 肝臟脂肪變性、脂肪肝炎與肝臟纖維化

肥胖患者常會有肝臟脂肪變性(肝臟脂質的過度存積)，而肝臟脂肪變性的程度與患者脂肪的多寡有關。脂肪肝臟疾病患者肝臟內脂肪酸(FFA)的氧化增加時會造成體內氧化活性物質(reactive oxygen species, ROS)增加，過多的 ROS 會使肝臟內氧化壓力增高與粒線體功能失調，並且導致肝臟細胞損傷與肝臟星狀細胞(hepatic stellate cells, HSC)的活化。由於脂肪肝清除腸道 LPS(lipopolysaccharide)內毒素的效果較差，較多的 LPS 進入人體後會引發細胞激素的產生，並且刺激週邊脂肪組織分泌 TNF- $\alpha$ 。此外當血糖與胰島素濃度增高時(胰島素抗性的表現)會使肝臟星狀細胞製造出較多的結締組織生長因子(connective tissue growth factor)、TGF- $\beta$ 、angiotensin II、瘦素(leptin)、脂締素(adiponectin)、以及正腎上腺素(norepinephrine)，這些物質都會加速肝臟星狀細胞的活化以及肝臟纖維化的產生。因此肥胖患者的肝臟切片檢查中除了可以見到肝臟脂肪變性外，部分患者還可以被發現有肝臟細胞損傷(脂肪肝炎)以及肝臟纖維化。某些病人還可以見到嚴重的肝臟纖維化與肝硬化，甚至肝細胞癌<sup>115, 116</sup>。

### 3.5 肝臟脂肪變性和慢性 C 肝患者肝臟纖維化進展

研究發現慢性 C 型肝炎患者常伴隨有肝臟組織脂肪變性，約百分之三十到七十的慢性 C 型肝炎患者的肝臟組織切片檢查中可以發現肝臟組織脂肪變性。由於這個盛行率較單純因隨機所造成的比率高了 2.5 倍，因此暗示著 C 型肝炎病毒的感染可能直接造成肝臟的脂肪變性<sup>78</sup>。從另一個角度來看，慢性 C 型肝炎患者同時有肝臟脂肪變性存在時將決定患者的臨床表現、是否需要轉介、或是需要進一步接受肝臟切片的檢查。

肝臟脂肪變性對於 C 型肝炎病毒的感染非常重要，越來越多的證據顯示肝臟脂肪變性在慢性 C 型肝炎患者病程的進展上扮演重要角色。許多的研究皆指出肝臟脂肪變性與肝臟纖維化有重要關係，但是大部分的研究並沒有針對影響代謝的相關因子(包含肥胖、糖尿病、或是胰島素抗性)做調整。Adinolfi 等發現有較嚴重肝臟脂肪變性者的肝臟纖維化惡化速率也較快。Elizabeth 等在慢性 C 型肝炎患者的研究中也發現了相似的結果。Westin 等發現先前的肝臟切片檢查時有較嚴重肝臟脂肪變性存在時，後續追蹤的肝臟組織切片檢查時會見到較明顯的肝臟纖維化惡化。最近研究也指出，再次肝臟切片時的肝臟脂肪變性程度增加者，肝臟纖維化惡化的速度會較快。儘管大部分慢性 C 型肝炎患者都是輕度的肝臟脂肪存積，但即使是輕度的肝臟脂肪變性，仍會伴隨有身體質量指數(BMI)的增加以及較高的血清中三酸甘油酯濃度，並且加快肝臟纖維化惡化的速度。

同時有 C 型肝炎病毒感染與脂肪變性的患者，除了有門靜脈區纖維化(portal fibrosis)增加外，還會有 perisinusoidal fibrosis 以及與脂肪肝炎(steatohepatitis)類似的 chicken-wire appearance 的變化。許多危險因子皆會使 C 型肝炎患者以及與肥胖有關的脂肪肝臟疾病者之肝臟纖維化加速惡化，這些危險因子包含：身體質量指數增加、第二型糖尿病、年齡增加以及酒精類飲料的攝取。這些危險因子皆會加重肝臟脂肪變性的嚴重度<sup>78</sup>。較特別的是，當慢性 C 型肝炎患者病程進展至肝硬化時(與非酒精性脂肪肝炎患者一樣)會有肝臟脂肪變性減少的現象發生，造成肝硬化患者脂肪變性減少的機制目前仍然不清楚，可能與肝硬化後造成的門脈系統分流，導致肝臟與血中胰島素接觸的減少有關<sup>117</sup>。

宿主與病毒的因素都可以引起 C 型肝炎患者肝臟的脂肪變性。細胞實

驗與動物實驗的證據均顯示 C 型肝炎病毒有直接造成肝臟細胞脂肪變性的能力。C 型肝炎病毒蛋白可以造成細胞內脂質的累積，可能與 C 型肝炎病毒蛋白干擾粒線體的功能以及影響脂肪酸的氧化反應，或是干擾宿主體內脂肪的代謝途徑有關。C 型肝炎病毒的核心蛋白已經被證實會減少微粒體三酸甘油酯轉移蛋白(microsomal triglyceride transfer protein)的活性，進而干擾 VLDL 的合成與分泌。除了這些利用第一型 C 型肝炎病毒所建立之脂肪變性體外研究模式的發現外，臨床研究也發現遭第一型 C 型肝炎病毒感染患者常常會有較低的血清膽固醇以及三酸甘油酯濃度<sup>118</sup>。此外遭第三型 C 型肝炎病毒感染的患者會有較高比率與較嚴重的肝臟脂肪變性，並且患者之肝臟脂肪變性程度與肝臟細胞內病毒的複製量有關，並且在抗病毒藥物治療成功後其脂肪變性的程度就會明顯的減少。更重要的是，最近的研究也指出改變脂肪的代謝反應可以影響 C 型肝炎病毒的複製。

除了病毒的影響外，許多證據顯示宿主的因素，特別是身體質量指數的增加，或是中廣型肥胖(central adiposity)，為造成肝臟脂肪變性的重要因素(詳見前述)。在不同基因型的 C 型肝炎病毒感染患者中都可以發現，體重過重者比體重較輕者有較高程度的肝臟脂肪變性，而胰島素抗性目前被認為在這致病機轉中扮演重要角色。過去許多文獻都認為遭第三型病毒感染患者的肝臟脂肪變性與病毒的作用有關，遭非第三型病毒感染患者的脂肪變性與代謝因素有關，但是現今較為正確的解釋為：在病毒與代謝這兩種因素的共同作用下造成了肝臟的脂肪變性，但是在不同的病毒基因型感染時這兩者對於脂肪變性的影響比重並不一樣。最近的研究結果支持著這個「兩者共同作用」的概念：對於抗病毒治療藥物達到持續病毒反應(SVR)的遭非第三型病毒感染者中，46%患者的肝臟脂肪變性程度會減少，29%患者的肝臟脂肪變性會完全消失。如果把代謝相關因素、病毒基因型以及對於抗病毒藥物治療的反應皆列入考量後發現：在遭第三型病毒感染的患者中，38%的人是屬於病毒引起肝臟脂肪變性者(viral steatosis)(達到持續病毒反應後肝臟脂肪變性完全消失者)，24%為病毒與代謝兩者共同造成肝臟脂肪變性者(mixed viral-metabolic steatosis)(在代謝狀態沒有改變下，患者達到持續病毒反應時肝臟脂肪變性的程度會有部份減少)，30%為代謝因素

造成的肝臟脂肪變性(metabolic steatosis)(在代謝相關方面沒有改變下，患者達到持續病毒反應時肝臟脂肪變性的程度不會改變)，8%的患者屬於無法歸類者(unclassified steatosis)。遭非第三型病毒感染的患者中，12%是屬於病毒造成肝臟脂肪變性者(viral steatosis)、6%為病毒與代謝兩者共同造成肝臟脂肪變性者、67%屬於代謝因素造成的肝臟脂肪變性(metabolic steatosis)。部分遭第三型病毒感染的患者在減輕體重後肝臟脂肪變性的程度明顯減少，更證明了病毒並不是造成 C 型肝炎病毒感染患者肝臟脂肪存積的唯一原因。

臨床上還必須考量其他可能造成肝臟脂肪變性的因素，譬如酒精的攝取。關於酒精對 C 型肝炎病毒感染患者肝臟脂肪變性可能造成的影響，目前仍然眾說紛紜，部分可能是因為無法詳實紀錄患者的酒精攝取史所致。

### 3.6 宿主脂肪代謝惡化 C 肝患者肝臟纖維化的可能機轉

肝臟脂肪變性與肥胖症可以藉由許多不同的致病機轉造成慢性 C 型肝炎患者的肝臟纖維化惡化，這些機制包括：氧化壓力的增加(oxidative stress)、肝臟星狀細胞(subsinusoidal stellate cells)的活化、對於細胞凋亡的敏感性增加(apoptosis)以及對於肝臟細胞傷害後的再生反應失調(dysregulated response)。此外肝臟纖維化的惡化也會因為其他代謝因子的出現而加劇，譬如高胰島素血症與高血糖症。肝臟纖維化的惡化也可能是因為肝臟細胞再生過程異常以及肝臟初始細胞活化時(bipotential hepatic progenitor)所造成的副產物。

**3.6.1 氧化壓力的增加** 研究證據顯示，脂肪肝對於肝臟內氧化物增加時所造成的傷害較為敏感。慢性 C 型肝炎病毒感染患者體內的抗病毒發炎反應會增加宿主體內的氧化壓力與增加脂肪的過氧化作用，導致與發炎有關的細胞激素產生(proinflammatory cytokines)，最後造成細胞的死亡。研究也發現遭 C 型肝炎非第三型病毒感染患者的體內有明顯的 DNA 氧化傷害(oxidative DNA damage)，這暗示著病毒基因型可能在氧化壓力的過程中扮

演著某種角色。

**3.6.2 脂肪性肝炎(Steatohepatitis)** 雖然 C 型肝炎病毒感染常伴隨有肝臟脂肪變性的發生，但是脂肪性肝炎的一些表徵(譬如肝臟細胞脹大(hepatocyte ballooning)以及中性球浸潤)卻不常在 C 型肝炎患者中被發現。50%的 C 型肝炎患者的肝臟切片組織可以見到肝臟脂肪變性，但是只有 6%到 18%的 C 型肝炎病人肝臟切片組織可以見到脂肪性肝炎<sup>119</sup>，而且只要有脂肪性肝炎出現，通常都有較嚴重的肝臟纖維化。肝臟細胞脹大(hepatocyte ballooning)在原發性非酒精性脂肪肝炎的患者中被視為氧化壓力的一个指標。由於 C 型肝炎病毒感染本身即為氧化壓力的來源，同時有肝臟脂肪變性與 C 型肝炎病毒感染時，將可能藉由與非酒精性脂肪肝炎類似的病理機制引起肝臟損傷。有些證據可證明這個假說的可能性：在慢性 C 型肝炎患者中，肝臟脂肪變性與 perisinusoidal fibrosis 有顯著的相關性，門脈區域纖維化(portal fibrosis)與肝臟脂肪變性也有高度的相關性，這些觀察的結果與脂肪性肝炎患者相類似。而且當 C 型肝炎患者減輕體重後，肝臟脂肪變性、門脈區域纖維化以及星狀細胞/肌纖維母細胞(stellate cell/myofibroblast)的活化皆會減少。門脈區域肌纖維母細胞(myofibroblast)數目的減少暗示著：肝臟脂肪變性不只藉由局部的星狀細胞來加劇肝臟纖維化的惡化，並且可以藉由較遠的門脈區域肌纖維母細胞來影響肝臟的纖維化。

**3.6.3 細胞凋亡(Apoptosis)** 肝臟細胞凋亡是與肥胖症相關之脂肪性肝臟疾病的一个特徵。Feldstein 等發現肝細胞凋亡與肝臟細胞發炎以及纖維化有正相關性存在，暗示著細胞凋亡與脂肪性肝臟疾病病程的進展有關。以多變項分析慢性 C 型肝炎患者的肝臟切片後也發現，中度與重度的肝臟脂肪變性和肝臟細胞凋亡的增加有關。此外慢性 C 型肝炎患者肝臟脂肪變性增加時，與細胞凋亡調節有關的 Bcl-2 mRNA 的量會減少，Bax/Bcl-2 的比率會增加。當肝臟脂肪變性存在時，細胞凋亡增加時會伴隨著肝臟纖維化的惡化以及肝臟星狀細胞(stellate cells)的活化，沒有肝臟脂肪變性時，這些關係也不存在。Farinati 等研究也發現，C 型肝炎第三型病毒感染以及肝臟脂肪變性的程度增加與 Fas/Fas-ligand 系統的活化有關。最近的研究甚至指出，檢測血清中與細胞凋亡有關的 apoptotic caspase 活性可以作為一種

偵測慢性 C 型肝炎患者早期肝臟損傷的敏感方法。

**3.6.4 胰島素抗性(Insulin resistance)** 肝臟脂肪變性、肥胖與胰島素抗性的關係，請見前述。

### **3.6.5 肝臟細胞傷害後的再生反應失調(Altered Hepatocyte Regeneration)**

過去的研究發現酒精造成肝臟損傷後，肝臟細胞的再生反應會發生失調，在人類與鼠脂肪肝的研究模式中也可以觀察到此一現象<sup>120</sup>。酒精性肝臟疾病患者的肝臟細胞再生作用會減弱，在鼠與人類的脂肪肝病研究中也同樣發現肝臟細胞再生作用有減弱的現象。由於 C 型肝炎病毒感染會使肝臟細胞增生的驅動力增加，但是脂肪性肝炎以及其他因素會減弱肝臟細胞的增生力，當這兩種力量不平均時會造成肝臟初始細胞(bipotential hepatic progenitor cells, HPC)的增生以及膽管反應(bile ductular reaction)<sup>121</sup>。膽道上皮細胞會表現包括 TGF-beta、monocyte chemoattractant protein-1 以及 platelet-derived growth factor(PDGF) 等各種蛋白以吸引及活化肝臟星狀細胞(stellate cells)，最後導致膠原蛋白(collagen)的沉積<sup>122, 123</sup>。根據 115 名 C 肝患者肝臟切片組織的分析後發現，大部分增加的肝臟初始細胞(HPC)都位於接近膽管反應(bile ductular reaction)的區域，膽管反應(bile ductular reaction)中膽管區域的cytokeratin 7 (一種膽道與膽管上皮細胞的標誌)與肝臟的纖維化程度有高度的相關性<sup>124</sup>，並且 HPC 細胞的數目、肝臟纖維化程度以及膽管區域有很強的相關性。研究也發現肝臟脂肪變性是 HPC 細胞數目增加以及膽管反應程度大小的獨立相關變項，且 HPC 細胞數目與肝臟細胞停止複製的數目呈現明顯且獨立的相關性。這些研究結果暗示著一種可能的機制——肝臟脂肪變性能夠加速 C 肝患者肝臟門脈區域纖維化惡化。也暗示著門脈區域周邊的膽管反應是因為肝臟細胞增生反應的改變所造成的結果。

## **3.7 肝臟脂肪變性減少的正面效應**

藉由觀察 C 型肝炎患者肝臟脂肪變性減少後所造成的影響，吾人對於肝臟脂肪變性以及胰島素抗性在 C 型肝炎患者肝臟纖維化過程中的角色有更深入的了解。減輕體重後可以使遭受第一型或是第三型 C 型肝炎病毒感染

染患者的肝臟脂肪變性有顯著的進步<sup>125</sup>。雖然肝臟脂肪變性減少的程度與患者體重減少的比率有關，但是減少體重的4-5%就可以達到減少肝臟脂肪變性的效果，並不需要將體重完全減至標準的身體質量指數。肝臟的脂肪變性減少後，肝臟的纖維化程度也會減輕，而且肝臟星狀細胞的活化作用也會減弱。減輕體重與保持良好運動習慣將可以使肝臟功能與血清中胰島素濃度進步，並且讓患者的生活品質提升<sup>126</sup>。這個研究結果強烈暗示著在臨床治療慢性C型肝炎病毒感染時必須積極評估患者的肥胖狀態可能造成的影響。

### 3.8 脂肪變性與抗病毒治療反應的關係

許多學者認為控制肥胖與肝臟脂肪變性可以改善C型肝炎患者的抗病毒治療效果。遭非第三型病毒感染的C肝患者中，沒有或是只有較低程度肝臟脂肪變性者會對干擾素相關治療會有較好反應<sup>127, 128</sup>，但是對於受第三型病毒感染且有較低程度肝臟脂肪變性的患者中卻無法觀察到同樣的現象，這暗示著肝臟脂肪變性本身並不會減少干擾素相關治療的效果。另一方面，肥胖被認為是C肝患者對干擾素抗病毒治療效果較差的一個危險因子<sup>30, 95</sup>。肥胖者在接受單一劑傳統型干擾素治療後，血清中的干擾素濃度會較非肥胖者為低，對於2'5'-oligoadenylatesynthetase的誘導(2-5 OAS response ratio)也會相對較差<sup>129</sup>。目前的證據顯示按照患者體重來調整或增加干擾素等抗病毒治療藥物的劑量時可以增加肥胖患者的治療效果<sup>130-132</sup>。由於肥胖與肝臟脂肪變性會互相影響，肥胖是否可藉由肝臟脂肪變性以外的機轉影響C肝患者的抗病毒治療效果呢？肥胖與胰島素抗性是藉由何種機制減低患者對於干擾素的治療反應呢？這些問題仍待吾人未來更進一步的研究。

### 3.9 肥胖、肝臟脂肪變性與酒精性肝臟疾病

體重過重是引起酒精性肝臟疾病變成肝硬化的一個危險因子。針對大量飲酒患者所做的研究發現，體重過重會增加肝臟脂肪變性發生的機會，



而且是急性酒精性肝炎與肝硬化的危險因子。許多文獻報告顯示許多危險因子與酒精引起的肝臟損傷有關，但是對於肥胖造成酒精性肝臟損傷的機制目前仍在研究中。

酒精引起 Microsomal cytochrome P4502E1(CYP2E1)活性的增加被認為是造成酒精性肝臟損傷的一個重要病理機制。誘導 CYP2E1 可以增加氧化活性物質(reactive oxygen species, ROS)的產生，當體內的抗氧化物質被消耗殆盡時就會造成脂質的過度氧化與發炎反應。由於脂肪酸與酮體(ketones)也是 CYP2E1 的受質，當肥胖患者體內被傳送至肝臟的脂肪酸增加時，CYP2E1 的活性將會被誘發與提升，進一步造成前氧化物質(prooxidant species)的增加。

細胞激素代謝異常與肝臟巨噬細胞功能的改變，將使肥胖的嗜酒者更容易有肝臟損傷。當酒精性肝臟疾病患者體內循環的內毒素(endotoxin)增加時，將導致 Kupffer cell 的活化，前發炎細胞激素(proinflammatory cytokines)、前列腺素(prostaglandins)與其他因子的增加，肥胖存在時將更增加這些發炎物質的產生。在針對三十六位嗜酒患者所做的研究發現，單核球細胞(stimulated monocytes)所產生的前發炎細胞激素(proinflammatory cytokine)interleukin-1 $\beta$  會與身體質量指數、體脂肪比率、腹圍以及肝臟組織學分數(肝臟組織學記分的指標包含脂質、壞死、纖維化與發炎)成正相關。此外脂肪組織本身會產生各種不同的可溶性因子(如前述)，包含脂肪激素、神經傳導物質與細胞激素，這些可溶性因子都會影響酒精的肝臟組織損傷反應。減輕體重與限制飲食中的脂肪攝取是否可以減少酒精性肝臟疾病患者的肝臟損傷，則有待未來更進一步的研究。

### 3.10 肝臟脂肪變性、肥胖與肝癌

越來越多的學者認為肥胖及第二型糖尿病與原發性肝細胞癌(HCC)有關聯性存在<sup>133, 134</sup>。一項針對 19,271 位接受肝臟移植患者的研究發現，肥胖是酒精性肝臟疾病與原因不明性肝硬化患者得到肝細胞癌的獨立風險因子<sup>135</sup>。原因不明性肝硬化的肥胖患者通常在肝硬化前就有脂肪性肝炎，

因此一般推測假如酒精性肝臟疾病與原因不明性肝硬化患者先前有脂肪變性存在時，得到腫瘤的風險將會增加。流行病學研究也發現糖尿病的患者得到肝細胞癌的風險較高，得到非酒精性肝臟疾病的機會也較高<sup>136</sup>。台灣的研究則發現，第二型糖尿病會增加 C 肝抗體陰性患者或是血清中膽固醇濃度較高患者得到肝細胞癌的危險性<sup>137</sup>。此外在台灣一長達十四年的追蹤研究還發現，肥胖與糖尿病不但會增加肝細胞癌的危險性，並且兩者對於 B 肝患者與 C 肝患者所增加的危險性是不同的<sup>133</sup>。Bugianesi 等在肝硬化併發肝癌的研究中也發現，原因不明性肝硬化患者得到肥胖與糖尿病的比例較高，這樣的結果支持著非酒精性肝炎產生肝癌的假說<sup>138</sup>。Ratziu 等發現原因不明性肝硬化的體重過重患者會較瘦的患者有較高機會得到肝細胞癌(8/27, 30% vs. 0/10, 0%)，並且與 C 型肝炎病毒感染肝硬化患者得到肝細胞癌的危險性相類似(21%)<sup>139</sup>。

肝臟脂肪變性可能是慢性 C 肝患者產生肝臟腫瘤的一個共同致病因子。Ohata 等發現肝臟脂肪變性為臨床上慢性 C 肝患者產生肝細胞癌的獨立危險因子<sup>140</sup>。一些動物實驗的研究結果也支持這個論點，目前發現能夠表現 C 肝病毒蛋白的基因轉殖鼠有較高機會得到肝細胞腺瘤與肝細胞癌<sup>141</sup>，<sup>142</sup>，並且在這個實驗動物模式中只有部分動物帶有病毒所造成的肝臟脂肪變性。有肝臟脂肪變性的實驗動物可以不需要經過發炎反應就直接產生腫瘤，然而在沒有肝臟脂肪變性的實驗動物中，腫瘤要在模式動物受到了第二次的肝臟損傷後(second insult)(譬如受到肝臟毒性物質四氯化碳的作用後)才會產生腫瘤<sup>143</sup>。Moriya 等根據這些實驗研究的結果推論腫瘤發生的機制時認為：在沒有發炎反應作用下，C 型肝炎病毒的核心抗原表現會造成實驗動物體內脂質的過氧化增加(oxidation)。由於實驗動物體內的氧化還原平衡反應會隨著年紀增長而發生改變，當年輕的轉殖實驗動物產生氧化活性物質(ROS)時，這些 ROS 可以有效地經由抗氧化途徑被消除掉。相反地，這些抗氧化途徑在較年長的動物中會變的較沒有效率，使得細胞內脂質的過氧化增加，最後甚至導致腫瘤產生。對於 C 肝患者而言，由 ROS 造成的基因損傷是非常重要的致病機轉。單就肝臟脂肪變性而言並不足以使患者產生 ROS，可是經由肝臟脂肪變性的協助下，細胞損傷或是後代細胞增殖(progenitor cell expansion)的改變等病理作用將可能加劇患者產生的

ROS，但是真正扮演的角色至今仍是一個謎<sup>121, 144, 145</sup>。由於肝臟脂肪變性、肥胖與糖尿病已被證實為肝細胞癌的危險因子，就臨床治療的觀點而言，未來對於肝硬化以及肝細胞癌等高危險群的篩檢時，必須將肝臟脂肪變性、肥胖與糖尿病等危險因子也列入考量之中。

### 3.11 肝臟脂肪變性與藥物性肝臟疾病

許多藥物的肝臟毒性作用會因為肥胖與肝臟脂肪變性的存在而更增強。當脂肪肝患者體內的能量產生過程出現問題以及氧化壓力增加時，都可能會改變藥物對於粒線體功能的影響。譬如接受 tamoxifen 藥物治療的乳癌患者常常會得到脂肪肝。此外雖然肝臟的損傷與藥物引起的粒線體功能失調有關，但是較常在同時有其他肝臟脂肪變性危險因子存在的患者中被發現。研究發現肥胖與糖尿病是接受 methotrexate 治療時的患者產生肝臟纖維化損傷的危險因子，Langman 等更進一步發現，部分接受 methotrexate 治療且發生漸進性纖維化的患者，不但在組織學上有脂肪肝炎的變化，在臨床上也有(譬如肥胖或是糖尿病等)脂肪肝炎的危險因子。因此吾人可以推論：雖然有許多不同的因子可以引起脂肪性肝臟疾病的產生，如果有兩種或兩種以上的危險因子同時存在時，將可能造成較為嚴重的肝臟損傷。

### 3.12 肝臟脂肪變性與其他肝臟疾病

Brunt 等用較嚴格的脂肪性肝炎標準來分析 3,581 個肝臟切片組織後發現，有 12% 的人被診斷為脂肪性肝炎，在這些脂肪性肝炎的患者中有高達 22% 的人同時存有第二種肝臟疾病。這第二種肝臟疾病中大多數是 C 型肝炎，只有 13 個患者得到非 C 型肝炎的慢性肝臟疾病。這些非 C 型肝炎的慢性肝臟疾病包括慢性 B 型肝炎、藥物性肝炎、鐵質沉著症、原發性膽管性肝硬化以及抗胰蛋白酵素缺乏症( $\alpha$ -1 antitrypsin deficiency)。由於 Brunt 等是以脂肪性肝炎(至少有 perivenular fibrosis)患者的資料來進行第二種肝臟疾病的相關分析，因此許多只有單純肝臟脂肪變性以及第二種肝臟疾病同時存在的患者都沒有被納入分析中。如前所述，當有其他肝臟疾病與肝

臟脂肪變性同時存在時，肝臟脂肪變性就不能只單純的視為良性疾病變化。

鐵質與脂肪肝病間關係是非常複雜的，鐵質本身是氧化壓力的來源，並且已經被證實為許多慢性肝臟疾病病程進展的共同致病因子。鐵質與非酒精性脂肪肝臟疾病的關係至今仍不清楚。許多有胰島素抗性的患者血清中鐵質腸蛋白(ferritin)濃度較高，部分有胰島素抗性的患者也有輕度到中度的肝臟鐵質沉著產生。早期的研究發現非酒精性脂肪肝病患者 HFE 基因突變的比率較高，而且當非酒精性脂肪肝病患者肝臟內鐵質增加時，肝臟纖維化的程度也會增加。可是最近許多研究卻發現非酒精性脂肪肝病患者 HFE 基因突變的比率並沒有較高，非酒精性脂肪肝病、肝臟鐵質沉著以及肝臟纖維化增加間並沒有明顯的關聯存在，先前的研究結果可能是收案偏差所造成的錯誤。此外研究也發現非酒精性脂肪肝病患者的高鐵質腸蛋白血症(hyperferritinemia)與鐵質的過量無關，反而與胰島素抗性較有關聯，因此減輕體重可以改善高鐵質腸蛋白血症。幾個小型的實驗研究發現利用放血(venesection)可以改善胰島素抗性的一些代謝相關的指標，不過這種治療的方法目前僅止於在實驗研究中使用。

肝臟脂肪變性與肥胖在原發性肝臟鐵質儲存疾病(特別是在血色素沉著症 hemochromatosis)上扮演的致病角色目前仍不清楚。最近的研究指出血色素沉著症在有共同致病因子(譬如過量飲酒)存在時，較易進展至肝硬化。由於代謝因素可以加速慢性 C 型肝炎患者肝臟纖維化的惡化，肝臟脂肪變性應該也是血色素沉著症肝臟纖維化惡化的共同致病因子。

針對抗胰蛋白酵素缺乏症( $\alpha$ -1antitrypsin deficiency)成年患者的研究發現，肥胖是加速抗胰蛋白酵素缺乏症患者進展至末期肝臟疾病以及肝臟移植的促進因子。至於肥胖或是脂肪變性在其他慢性肝臟疾病病程上所扮演的角色，目前仍不清楚。

體重過重是引起酒精性肝臟疾病變成肝硬化的一個危險因子。針對大量飲酒患者所做的研究發現，體重過重會增加肝臟脂肪變性發生的機會，

而且是急性酒精性肝炎與肝硬化的危險因子。許多文獻報告顯示許多危險因子與酒精引起的肝臟損傷有關，但是對於肥胖造成酒精性肝臟損傷的機制目前仍在研究中。

酒精引起 Microsomal cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) 活性的增加被認為是造成酒精性肝臟損傷的一個重要病理機制。誘導 CYP2E1 可以增加氧化活性物質 (reactive oxygen species, ROS) 的產生，當體內的抗氧化物質被消耗殆盡時就會造成脂質的過度氧化與發炎反應。由於脂肪酸與酮體 (ketones) 也是 CYP2E1 的受質，當肥胖患者體內被傳送至肝臟的脂肪酸增加時，CYP2E1 的活性將會被誘發與提升，進一步造成前氧化物 (prooxidant species) 的增加。

細胞激素代謝異常與肝臟巨噬細胞功能的改變，將使肥胖的嗜酒者更容易有肝臟損傷。當酒精性肝臟疾病患者體內循環的內毒素 (endotoxin) 增加時，將導致 Kupffer cell 的活化，前發炎細胞激素 (proinflammatory cytokines)、前列腺素 (prostaglandins) 與其他因子的增加，肥胖存在時將更增加這些發炎物質的產生。在針對三十六位嗜酒患者所做的研究發現，單核球細胞 (stimulated monocytes) 所產生的前發炎細胞激素 (proinflammatory cytokine) interleukin-1 $\beta$  會與身體質量指數、體脂肪比率、腹圍以及肝臟組織學分數 (肝臟組織學記分的指標包含脂質、壞死、纖維化與發炎) 成正相關。此外脂肪組織本身會產生各種不同的可溶性因子 (如前述)，包含脂肪激素、神經傳導物質與細胞激素，這些可溶性因子都會影響酒精的肝臟組織損傷反應。減輕體重與限制飲食中的脂肪攝取是否可以減少酒精性肝臟疾病患者的肝臟損傷，則有待未來更進一步的研究。

#### 第四節、宿主基因多形性變異與新型抗 C 肝病毒藥物

##### 4.1 介白質 28B 基因多形性與與 C 肝病毒感染的相關性

在 2009 年時有幾個大的研究團隊不約而同地藉由基因體關聯性的研究方式 (genome-wide association studies, GWAS) 發現了介白質 28B (interleukin-28B, *IL28B*) 基因多形性 (single nucleotide polymorphisms,

SNPs)與 C 肝患者對長效型干擾素合併雷巴威林治療的反應之間有很強的相關性<sup>146-149</sup>。Suppiah 等人<sup>148</sup>以及 Tanaka 等人<sup>149</sup>發現基因多形性 rs8099917 (位於 *IL28B* 上游約~8 kb 處)的變異(variant)與 C 肝患者的 SVR 有很強的關聯性，Ge 等人<sup>147</sup>則發現與 SNP rs12979860 (位於 *IL28B* 上游約~3 kb 處)有較強的相關性，並且觀察到 rs12979860 與 rs8099917 在歐洲人種中(European populations)有較強的連鎖不平衡(linkage disequilibrium)關係性存在，但是該關係性在非裔人種(African ancestry)中較弱<sup>147</sup>。若是將所有近 1,700 位歐裔 C 肝患者的資料合併一起分析時，不同 *IL28B* 基因型患者的 SVR 可以有將近兩倍的差異性<sup>147, 148</sup>，假如單就 191 位非裔 C 肝患者的資料來分析時，這個差異性更可以高達三倍(OR = 3.1, 95% CI 2.1–4.7)，此外就基因型差異與治療失敗的關聯性而言，非裔 C 肝患者也比歐裔患者有較高的關聯性<sup>147</sup>。雖然 Tanaka 等人根據 314 日本 C 肝患者所進行的研究發現 *IL28B* 基因型與 SVR 有很強的相關性(OR 12.1, 95% CI 6.5–22.4, 相較於對干擾素治療無反應者)<sup>149</sup>，由於該研究與其他研究的設計以及研究的病患族群並不相同，Tanaka 等人的研究結果並不能直接與其他研究團隊的結果直接比對。然而該研究顯示出相當高的勝算比(odds ratio)，暗示著 *IL28B* 基因型變異對亞裔人種較歐裔或非裔人種有較大的影響，也告訴吾人當檢視同時包含有多個種族背景的 C 肝患者研究時，必須將 *IL28B* 基因多形性變異對不同族群影響的差異性列入考量。另一方面，Tanaka 等人的研究<sup>149</sup>發現 *IL28B* 基因多形性變異與治療無效(nonresponse, NR)有很強的相關性，暗示著這基因多形性變異與 C 肝患者接受干擾素相關治療時的早期反應有很非常強的關聯性存在。

所有這些 GWAS 的研究對於 *IL28B* 基因多形性變異與 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後反應的關聯性提供了相當強的支持證據，由於非裔 C 肝患者帶有較高對此治療無效之基因型的盛行率，因此儘管在臨床試驗中已經控制了其他可以影響治療效果的變項時，非裔 C 肝患者的 SVR 比率仍然會相對較低<sup>150</sup>。雖然目前對於真正影響 C 肝治療效果的基因變異處仍不清楚，然而有兩個研究指出與治療失敗相關的 *IL28B* SNPs rs8099917 基因型也同時伴隨有全血(whole blood)<sup>148</sup>或是 peripheral blood mononuclear cells (PMN)<sup>149</sup>中 *IL28A* 或 *IL28B* 基因表現的調降<sup>149</sup>，

暗示著 *IL28B* 基因多形性變異與 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後反應的關聯性可能與細胞激素調控的機轉有關。

#### 4.2 *IL28B* 基因的角色

*IL28B* 基因多形性變異與 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療的密切關係暗示著兩者的關聯性有一重要的生物學意義。已知 *IL28B* 基因與 interferon- $\lambda$ 3 的製造有關，*IL28A* (與 interferon- $\lambda$ 2 的製造有關) 以及 *IL29* (與 interferon- $\lambda$ 1 的製造有關) 與 *IL28B* 相毗連，都位在第十九對染色體上。這三種 interferon- $\lambda$  細胞激素(cytokine)都是藉由已知基因體序列以電腦計算的方式演算推導出可能存在未知蛋白後才被人類所發現的<sup>151, 152</sup>，並且被認為與抑制許多病毒的複製，包括 C 型肝炎病毒，有關<sup>153, 154</sup>。干擾素(interferon)為人體免疫系統對病毒感染後反應所產生的蛋白，Interferon- $\alpha$  為干擾素的原型(prototype)而 interferon- $\alpha$  為藥物製造所使用的版本 (pharmacologically manufactured version)，Interferon- $\alpha$ / $\alpha$  與 interferon- $\lambda$  蛋白會藉由與不同受體的結合來活化 JAK-STAT 的訊息傳遞途徑，JAK-STAT 傳遞途徑被活化後將會調升數百個與干擾素相關基因 (interferon-stimulated genes) 的表現，藉此減緩病毒的感染。最近研究發現與 interferon- $\lambda$  相關的基因變異跟 interferon- $\alpha$  治療的反應有關<sup>147-149</sup>，暗示著 interferon- $\lambda$  不僅可以活化 JAK-STAT 傳遞途徑，還可能有其他的生理作用。最近的研究發現 interferon- $\alpha$  可以活化 interferon- $\lambda$  基因的表現<sup>155</sup>，interferon- $\lambda$  與 interferon- $\alpha$  可以經由訊息傳遞途徑分別來活化不同干擾素相關基因以抑制 C 肝病毒的複製<sup>153</sup>，此外 interferon- $\lambda$  與 interferon- $\alpha$  的抗 C 肝病毒作用在兩者同時存在時有加乘的作用<sup>153</sup>。因此 interferon- $\lambda$  與 interferon- $\alpha$  兩者間可能存有交互作用，並且可以互補對方抗 C 肝病毒的作用。

由於 *IL28B* 基因變異與慢性 C 肝感染的強烈關聯性，使用 interferon- $\lambda$  來治療慢性 C 肝患者感染似乎成為一合理可行的想法。最近的臨床試驗發現，pegylated-IL29 (interferon- $\lambda$ 1, or interleukin-29) 可以被用來治療部分的慢性 C 肝患者，此外由於體內 interferon- $\lambda$  受體的分佈範圍較 interferon- $\alpha$  小，因此 interferon- $\lambda$  會較 interferon- $\alpha$  有較少的不良反應。這些 GWAS

研究的結果<sup>147-149</sup>以及先前的病毒學研究<sup>153</sup>暗示吾人，同時使用 interferon- $\lambda$  與 interferon- $\alpha$  來治療慢性 C 肝患者感染時，將可能有較目前標準治療較好的反應。

### 4.3 新型抗 C 肝病毒治療藥物

目前臨床上已陸續有許多新的治療藥物應用於慢性 C 肝患者的治療試驗中，包括許多種新的特異性標靶抗病毒治療藥物(specifically target antiviral therapy, STAT-C)，譬如 NS3/4A 蛋白酶抑制劑、NS5B 聚合酶抑制劑以及 NS5A 抑制劑，陸續進展到 phase II 甚至 III 的研究階段(表 3)，合併這些新的 STAT-C 藥物與目前長效型干擾素及雷巴威林三種藥物治療(triple combination) 的各種臨床研究，目前也已透露出許多令人振奮的消息。此外新型干擾素等相關製劑的使用，也已陸續進入臨床試驗階段。因此現階段 C 肝患者的臨床治療上最重要的研究課題為選擇何種新的治療藥物來增加患者的 SVR 比率，特別是那些目前在临床上發現對於標準治療效果較差的族群以及一些特殊族群患者，譬如(1) 遭 C 肝病毒基因型第一型感染合併高病毒量的患者(high viral load)；(2)有非裔血統的 C 肝患者(HCV-infected African-American patients)；(3)接受標準治療後復發或失敗的患者(relapse or fail to achieve an SVR)；(4)洗腎患者；(5)同時合併有愛滋病毒感染患者；(6)肝衰竭患者；(7)小孩；(8) 接受器官移植患者。

### 第五節、研究的問題及其重要性

第一、 C 肝病毒感染為目前全世界最重要的肝臟疾病之一，然而現今的 C 肝標準治療對相當比例的患者效果仍然不佳，許多患者接受標準治療後會產生不良反應，並且抗病毒藥物的治療費用相當昂貴。因此尋找出可能影響標準治療效果的臨床因子，利用這些臨床因子預測 C 肝患者對治療的可能反應，提早調整藥物的劑量及治療時間，給予 C 肝患者個人化的醫療方式，就成為全球目前醫藥公共衛生上相當重要的研究課題。

第二、 藉由調控這些可以影響 C 肝標準治療效果的臨床因子，改善現今 C 肝標準治療的效果，並減少不良反應的發生，為一個合理可行的方



法。

第三、代謝症候群與相關因子對糖尿病、脂質異常、高血壓、心血管相關疾病、感染性疾病以及癌症都會造成不良的影響，為現今全世界最重要的公共衛生課題之一。釐清 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖及脂質代謝的關係，不但可以令吾人對 C 肝病毒感染的病態生理機轉有更清楚了解，對於代謝症候群中葡萄糖及脂質代謝的病態生理作用也能夠得到許多不同的啟發。因此研究 C 肝病毒感染與宿主葡萄糖及脂質代謝的關係不但可以嘉惠 C 肝患者，對於代謝症候群與相關疾病患者，包括糖尿病、脂質異常、高血壓、心血管相關疾病、感染性疾病以及癌症等，都可以有不同程度的幫助。

## 第六節、研究的假說與特定目的

### 研究的假說

C 肝病毒感染對宿主的葡萄糖代謝或脂肪代謝途徑會產生影響，C 肝基因型第一型病毒核心蛋白可能與葡萄糖代謝或脂肪代謝反應有交互作用存在。

### 研究特定目的

本研究的目的是在於想要釐清 C 型肝炎病毒感染與宿主葡萄糖代謝、脂肪代謝、脂肪變性、胰島素抗性、以及脂肪細胞激素的相關性。找出 C 型肝炎病毒影響這些生理及病理指標的作用方式以及機轉。藉由 C 肝患者的臨床研究與 C 型肝炎病毒的分子細胞學研究，針對宿主葡萄糖代謝、脂肪代謝、胰島素抗性、脂肪激素和細胞激素等相關因素作分析。探討 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白對患者胰島素抗性、葡萄糖及脂質代謝、脂肪激素、細胞激素等狀態之影響。從另一個角度切入，找出減緩甚至改善 C 肝患者肝臟組織損傷的機轉，希望藉由本研究找尋出可以影響 C 肝病程進展或治療效果的重要調控因子，應用於臨床上以改善患者的疾病預後以及臨床治療。

研究目標如下：

1. C 型肝炎病毒感染與葡萄糖代謝、脂肪代謝、胰島素抗性、脂肪激素等相關因子的關係，以病例對照的研究設計(case control study)，比較慢性 C 型肝炎病毒感染者與接受健康檢查者在人體測量學指標、病毒學指標、血清學指標、胰島素抗性、代謝、脂肪激素和細胞激素以及相關生化指標上是否有差異。進一步以世代研究設計(cohort study)來探討 C 肝病毒複製與宿主胰島素抗性及血清脂肪特徵的關係性。藉此了解 C 型肝炎病毒感染與葡萄糖代謝、脂肪代謝、胰島素抗性、脂肪細胞激素相關因子的關係。
2. 比較慢性 C 型肝炎病毒感染者接受長效型干擾素與雷巴威林合併治療後，患者對於抗病毒治療的反應是否會受到葡萄糖代謝、脂肪代謝、胰島素抗性、脂肪細胞激素相關因子的影響，這些相關因子與過去已知的預後因子(包括：病毒的基因型、早期病毒動力學的變化、基礎病毒量、肝臟纖維化程度、肝臟脂肪變性的程度)的關聯性，期望能利用此研究所獲得的知識來改善 C 肝患者的預後。
3. 在細胞生物學的研究方面，將利用帶有不同 C 肝基因型病毒蛋白基因的載體來轉染肝癌細胞株，以及可以表現各式 C 型肝炎病毒蛋白的肝癌細胞株，以這些細胞株為實驗平台進行細胞內胰島素抗性、代謝、脂肪激素和細胞激素相關之訊息傳遞分析，以了解 C 型肝炎病毒蛋白與葡萄糖代謝、脂肪代謝、胰島素抗性、脂肪細胞激素間分子細胞層次交互作用的機轉。
4. 最後將應用本研究成果於臨床上，希望能改善現今臨床上 C 肝患者標準治療的不足處，使未來 C 肝患者治療有更好的效果以及更少的不良反應。

## 貳、研究方法與材料

### 一、葡萄糖代謝及脂肪代謝與 C 型肝炎病毒感染之相關性研究

#### 1.1 探討慢性 C 肝病毒感染與患者體內代謝特徵的關係性

研究設計為病例對照(case control study)：共收集 500 位慢性 C 肝患者以及 536 位性別及年齡相仿的健康對照組，利用單變項與多變項分析方法，比較兩組收案者在各個臨床特徵與代謝特徵上的差異性。

**病例組：** C 型肝炎患者定義為血清中 C 型肝炎病毒核糖核酸定性檢查為陽性(HCV- RNA $\geq$ 50IU/ml)，C 肝抗體陽性至少六個月以上，且 B 型肝炎表面抗原以及愛滋病毒抗體皆為陰性反應。由台大醫院的門診患者中，隨機選擇 500 位、18 歲(含)以上未曾接受抗病毒治療的 C 型肝炎患者進入本研究案中。

**健康成人對照組：** 由台大健康管理中心接受健康檢查的患者中隨機選取至少 536 位，年齡、性別與 C 型肝炎控制組相仿(age and sex frequency matched control)，C 肝抗體、B 型肝炎表面抗原以及愛滋病毒抗體皆為陰性反應的體檢患者為對照組。

所有個案都必須有簽署同意書，並且排除嚴重心肺疾病、甲狀腺疾病、肝衰竭(PT $\geq$ 3 秒或 Total bilirubin $\geq$ 2mg/dL)、腎臟衰竭、精神疾病、自體免疫疾病、遺傳性肝臟疾病者(譬如：血色素沉著症、威爾森氏症)、惡性腫瘤、藥癮患者、和酗酒(每日喝酒量超過 20 公克以上)。

利用單變項與多變項的統計分析方法，比較兩組收案者在各個臨床特徵包括身高、體重、BMI(身體質量指數)、血液、生化、肝功能、病毒學、血清代謝特徵與脂締素上的差異性。

#### 1.2 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與胰島素抗性的關係性

研究設計為回溯性世代分析(retrospective cohort study)：利用先前已收集

之 162 位慢性 C 肝患者的臨床資料，利用單變項與多變項分析方法，比較 C 肝患者血清中的 C 肝病毒量與胰島素抗性指標(HOMA-IR index)的關係性。

將先前已收集之 162 位 18 歲(含)以上，超過六個月以上未飲酒，以前沒有接受過干擾素、免疫抑制或任何抗病毒藥物治療的慢性 C 型肝炎患者，由台大醫院門診進行收案，並記錄其各個臨床特徵包括身高、體重、BMI、血液、生化、肝功能、病毒學、血清代謝特徵與 HOMA-IR index。其中 94 位患者由於準備接受干擾素治療而有較完整的肝臟組織學切片檢查資料。

### 1.3 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與宿主脂肪特徵的關係性

研究設計為前瞻性世代分析(prospective cohort study)：收集並分析 531 位 18 歲(含)以上，C 肝抗體反應陽性(anti-HCV antibody)且 ALT 值在治療前六個月內至少有兩次或兩次以上(每次間隔三個月)之結果值大於(或等於)正常值上限或上限兩倍以上( $ALT \geq 2x$ )且 C 型肝炎病毒核糖核酸檢驗為陽性反應( $HCV-RNA \geq 50IU/ml$ )，肝臟組織切片檢查(Modified Ishak 計分系統)<sup>156</sup>證實為輕度纖維化( $\geq F1$  程度)及肝炎變化，且無肝功能代償不全，並超過六個月以上未飲酒且以前沒有接受過干擾素、免疫抑制或任何抗病毒藥物治療之慢性 C 肝患者的臨床資料，包括身高、體重、BMI、血液、生化、肝功能、病毒學、血清代謝特徵與肝臟組織學切片檢查資料。將資料利用統計學單變項與多變項分析方法，比較不同 C 肝病毒基因型感染患者血清中的 C 肝病毒量與宿主肝臟脂肪變性以及血清脂肪特徵的關係性。

所有患者將接受為期 24 週或 48 週的長效干擾素(PEG-IFN- $\alpha$ )和口服雷巴威林(ribavirin)之合併治療(combination therapy)並且都在治療前、治療 1 個月時與治療 6 個月時接受 C 型肝炎病毒核糖核酸量的定量檢驗，在合併治療結束後之第 6 個月時接受 C 型肝炎病毒核糖核酸之定性檢查來決定是否有達到持續病毒反應(SVR)。當治療前、治療 1 個月時與治療

6 個月時之 C 型肝炎病毒核糖核酸定量檢查為陰性反應時，該收案者的血清將再接受 C 型肝炎病毒核糖核酸量之定性檢查。

### 進行步驟

按台灣肝臟研究會公佈最新 C 型肝炎治療準則 (TASL: chronic hepatitis C treatment guidelines) 與全民健康保險藥品給付規定:

a. 慢性 C 型肝炎病毒感染者先前沒有接受過干擾素、免疫抑制或任何抗病毒藥物治療，年齡大於 18 歲，C 肝抗體反應陽性 (anti-HCV antibody) 且 ALT 值在治療前六個月內至少有兩次或兩次以上 (每次間隔三個月) 之結果值大於 (或等於) 正常值上限或上限兩倍以上 ( $ALT \geq 2x$ ) 且 C 型肝炎病毒核糖核酸檢驗為陽性反應 ( $HCV-RNA \geq 50IU/ml$ )，肝臟組織切片檢查 (Modified Ishak 計分系統)<sup>156</sup> 證實輕度纖維化 ( $\geq F1$  程度) 及肝炎變化，且無肝功能代償不全者。

b. 所有個案都必須有簽署同意書，並且排除同時有 B 型肝炎或愛滋病毒感染、嚴重心肺疾病、甲狀腺疾病、肝衰竭、腎臟衰竭、精神疾病、自體免疫疾病、遺傳性肝臟疾病者 (譬如：血色素沉著症、威爾森氏症)、惡性腫瘤、懷孕、在生育年齡卻拒絕作避孕措施者、嚴重血液疾病 ( $Hb < 10g/dl$ , absolute neutrophil count :  $ANC < 1,500/mm^3$  or platelet  $< 75,000/mm^3$  at baseline)、藥癮患者、和酗酒 (每日喝酒量超過 20 公克以上)。

c. 所有收案者皆須先至台大醫院門診接受登記並且接受基本的理學檢查、病史、家族史、精神評估、血液、生化、肝功能、肝炎病毒檢驗、C 型肝炎病毒核糖核酸檢驗 (基因型與病毒量)、血清學、甲狀腺、胰島素抗性、代謝、脂肪激素、細胞激素、胸部 X 光、心電圖、腹部超音波、尿液和肝臟切片。

d. 基本的理學檢查要包括：身高、體重、BMI (身體質量指數)、血壓、腹圍與臀圍 (waist and hip circumference)。

e. 病史部分要紀錄喝酒與抽煙的狀態：酒 (煙) 的種類、喝酒 (抽煙) 的頻率、喝酒 (抽煙) 的量與時間 (歷史)。

f. 血液、生化常規檢查、肝功能、甲狀腺功能與尿液檢查項目如下：CBC 包含：White blood count (WBC)、Hemoglobin (Hb)、Platelet count、

WBC differential count，以及 Albumin、creatinine、Total/Direct bilirubin、AST/ALT、PT/APTT、FreeT4、TSH、anti-HCV、HBs Ag、anti-HIV、HCV RNA、HCV Genotype、ferritin、AFP and pregnancy test。

g. 胰島素抗性、代謝、脂肪激素和細胞激素相關激素檢查項目如下：血清中之 insulin、fasting glucose、HDL、LDL、total cholesterol 以及 triglyceride 值。

h. 個案回門診複診追蹤時都要接受基本的理學檢查、病史、精神評估、血液、生化、肝功能、甲狀腺功能，並且評估治療所可能引起的不良反應：

i. CBC、Platelet count 與血清中 ALT 值：每 4 週檢驗一次。

j. C 型肝炎病毒核糖核酸的定量檢查時間點為治療前、治療 1 個月時與治療 6 個月時。治療結束後之第 6 個月時檢驗血清中 C 型肝炎病毒核糖核酸定性檢驗，以判斷是否有達到持續病毒反應(SVR)( primary endpoint)。

k. C 型肝炎病毒基因型：治療前。

l. Free-T4 和 TSH：每 12 週檢驗一次。

m. 當以下情況發生時請將治療組患者的治療藥物減少為一半的劑量：當 Hb < 9g/dl 時減少 ribavirin 為一半的劑量，當 absolute neutrophil count (ANC) < 750/mm<sup>3</sup> 時或是 platelet count < 50,000/mm<sup>3</sup> 時減少長效型干擾素為一半的劑量。

n. 當以下情況發生時停止抗病毒藥物的治療：Hb < 8g/dl, neutrophil count < 500/mm<sup>3</sup>, platelet count < 30,000/mm<sup>3</sup>。

o. 所有患者治療結束後每 4 週時要回門診追蹤。

#### 1.4 探討慢性 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後早期病毒動力學與各種臨床特徵的關係性

研究設計為前瞻性世代分析(prospective cohort study): 吾人收集並分析 145 位接受長效型干擾素合併雷巴威林治療之慢性 C 肝患者的臨床資料以及治療期間患者血清中 C 肝病毒量的數據變化。利用單變項與多變項分析

方法，比較 C 肝患者早期病毒動力學變化數據與臨床各種參數的關係性。

### 1.5 探討不同 C 肝病毒基因型對患者代謝特徵與肝臟組織學關係的影響性

研究設計為回溯性世代分析(retrospective cohort study):利用先前已收集之 528 位慢性 C 肝患者的臨床資料，包括身高、體重、BMI、血液、生化、肝功能、病毒學、血清代謝特徵與肝臟組織學檢查資料。利用單變項與多變項分析方法，比較不同 C 肝病毒基因型感染對患者血清中代謝特徵與肝臟組織學纖維化嚴重程度關係的影響性。



## 二、C 肝病毒蛋白對葡萄糖及脂肪代謝訊息傳遞途徑的影響和機制

利用能表現 C 型肝炎病毒核心蛋白之肝癌細胞株(HuH-7)，分析 C 型肝炎病毒核心蛋白量對於細胞三酸甘油酯與總膽固醇表現量之影響以及對於葡萄糖與脂肪代謝訊息傳遞途徑上相關基因之核糖核酸表現量之影響

利用表現不同濃度 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白的肝癌細胞株 (Huh 7-based cell lines) 來分析脂肪與膽固醇合成途徑上的重要基因的表現，包括固醇調節區域結合蛋白 1c 與固醇調節區域結合蛋白 2 (SREBP1c, SREBP2)，醯基輔酶 A 合成酶(acyl-CoA synthetase short-chain family member 2, ACSS2)，腺苷三磷酸檸檬酸裂解酶(ATP citrate lyase)，3-羥基-3-甲基戊二酸單醯輔酶 A 合成酶以及還原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) synthase, HMG-CoA reductase)，微粒體三酸甘油酯轉移蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTTP) 以及法尼基轉移酶 1 (farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1, FDFT1)。吾人首先將細胞的三酸甘油酯與總膽固醇萃取出來後，比較 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白對三酸甘油酯與總膽固醇表現量的影響。其次將細胞內的核糖核酸萃取出來後利用 real-time PCR 來分析上述基因傳訊核糖核酸(mRNA)的表現量。

## 三、實驗材料及方法

### 血清學標記檢驗

B型肝炎表面抗原和C肝抗體將使用commercial kits (Ausria II, HCV EIA II, Anti-Delta, Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA)來檢驗。血清中脂締素濃度以ELISA assay (Human Adiponectin ELISA Kit, B-Bridge International, Inc., CA, USA)來分析。所有的檢驗試劑將按照廠商所提供的操作流程進行。

### C 型肝炎病毒核糖核酸的萃取與檢驗方法：



我們先使用 QIAmp<sup>R</sup> Viral RNA Mini Kit 將血清中的 C 型肝炎病毒核糖核酸分離出來，再利用反轉錄聚合酶連鎖反應(rtPCR)來取得互補雙股去氧核糖核酸(cDNA)，並利用聚合酶連鎖反應(PCR)來大量增殖這段 cDNA。反轉錄聚合酶連鎖反應(rtPCR)的分析方法則有兩種：分別是使用 LightCycler 的方法以及一般實驗室 in house 的方法。利用 LightCycler 的分析方法可以在一個單一毛細管中，結合及時聚合酶連鎖反應( real time PCR ) 和及時偵測各亞型特有之單一核苷酸( genotype-specific single nucleotide polymorphism, SNP ), 使用螢光探針( fluorescence hybridization probes )，藉由偵測 Ct 值以及加熱解離曲線( melting curve ) 來完成血清中的 C 型肝炎病毒核糖核酸之定量與定性分析。至於使用 in house 的反轉錄聚合酶連鎖反應方式所得到的 cDNA，則是採用特定 PCR 引子之定型法 ( PCR with type-specific primers) 來鑑別 C 型肝炎病毒的基因型<sup>64, 157</sup>。

#### **細胞培養(Cell culture)**

將在 37°C，5%CO<sub>2</sub> 並且含有 10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS:Biological Industries, Kibbutz Beit Haemek, Israel) 與 2% Penicillin-Streptomycin 與 L-glutamine 的 Dulbecco's modified Eagle medium(DMEM)中的 HuH-7 細胞以密度為 9 x 10<sup>5</sup> cells per 60-mm dish 或是 4.5 x 10<sup>5</sup> cells per well in 6-well 的方式，在進行轉殖前先培養 24 小時。C191/S2、#3、#6、#7 以及#21 為以 Huh-7 細胞為基礎帶有嵌入 C 肝基因型第 1b 型病毒核心蛋白基因片段(cDNA fragments) 的 S2 載體(S2 retrovirus based vector)之複製子(replicons)，能穩定表現不同濃度 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白(為陽明大學黃麗華教授所提供)。帶有這些複製子的細胞將以上述培養 HuH-7 細胞之培養液中加入濃度為 400 µg/ml 的 G418 (Geneticin; Gibco-BRL) 來進行培養。

#### **質體(Plasmid constructions)**

C 肝基因型 1b 型或 3a 型病毒核心蛋白基因片段(cDNA fragments)乃是利用 C 肝患者治療前血清萃取與複製而得來的(為日本廣島大學茶山教授所提供，Dr. Kazuaki Chayama, Hiroshima University, Hiroshima, Japan.)簡言之，所有的

質體皆是以標準的重組 DNA 技術所分離出來的，使用 PCR 的方式利用 C 肝病毒核心蛋白基因的引子(primer)以及 DNA 聚合酶(KlenTaqLA DNA polymerase, Ab Peptides, Inc. USA)<sup>158</sup> 增加 C 肝基因型 1b 型或 3a 型病毒核心蛋白基因的複製片段。PCR 的複製產物將以電泳的方式來檢驗與分離 (electrophoresis on 2.5% agarose gel), DNA 片段於定序後將進行限制酶的切割並嵌入 p3xFLAG-CMV<sup>TM</sup>-10 vector (SIGMA, Missouri, USA) 載體之中，於再次定序之後將所需要的質體選殖出來。

#### **細胞轉殖並選殖穩定細胞株(Transfection and selection of stable clones)**

HuH-7 細胞以密度為  $9 \times 10^5$  cells per 60-mm dish 的方式，在進行轉殖前先培養 24 小時，再使用 Arrest-In<sup>TM</sup> Transfection Reagent (GenDiscovery Biotechnology, Inc, Taiwan) 並按照所提供的操作流程來進行來細胞轉殖，將能表現 C 肝病毒核心蛋白之 PCR 產物的質體轉殖至肝癌細胞內。簡言之，混合 4 $\mu$ g (DNA) 的質體與 21 $\mu$ l Arrest-In<sup>TM</sup> Transfection Reagent 試劑，並放置混合液於室溫下 20 分鐘，之後加入混合液於細胞的培養液中。先將細胞先培養於不含 G418 之培養液中 24 小時，再培養於含 G418 800 $\mu$ g/ml 的培養液中。轉殖後每隔 3 至 4 天進行選殖一次直至單一細胞株被選殖出來。

#### **分離並反轉錄細胞內之核糖核酸(RNA isolation and reverse transcription)**

利用 TRIzol<sup>®</sup> reagent (Invitrogen<sup>TM</sup>, California, USA.) 的試劑將細胞之核糖核酸萃取出來，然後將 1 $\mu$ g 的 RNA 混合 ReveTra Ace (TOYOBO, Japan) 以及 20 $\mu$ l 之混合試劑(包含 25pmol 的 random primer (TaKaRa Bio Inc, Japan) 與 10.8 $\mu$ l RNase free water) 來進行 RNA 的反轉錄作用。混合試劑將先於 65 $^{\circ}$ C 下進行反應 5 分鐘後再加入 4 $\mu$ l 的 5x buffer、2 $\mu$ l 的 10mM dNTP、2 $\mu$ l 的 0.1M DTT、0.2 $\mu$ l 的 RNase inhibitor (TaKaRa Bio Inc, Japan) 與 1 $\mu$ l 的 ReveTra Ace。然後置於 30 $^{\circ}$ C 下進行反應 10 分鐘，42 $^{\circ}$ C 下進行反應 60 分鐘，95 $^{\circ}$ C 下進行反應 5 分鐘，最後將 cDNA 儲藏於 -80 $^{\circ}$ C 冰箱內。

#### **聚合酶連鎖反應(Real time-PCR)**

使用 7300 Real Time PCR System (Applied Biosystems)以及 Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems)來進行個基因產物的聚合酶連鎖反應。簡言之，將 1pmol 的 sense 以及 anti-sense specific primers (表 32)，12.5 $\mu$ l 的 SYBR Green PCR Master Mix，1 $\mu$ l 的 cDNA 以及 9.5 $\mu$ l 的 distilled water 混合。PCR cycle conditions 為 50 $^{\circ}$ C 下進行反應 2 分鐘，95 $^{\circ}$ C 下進行反應 10 分鐘，95 $^{\circ}$ C 下進行反應 15 秒以及 60 $^{\circ}$ C 下進行反應 1 分鐘共 40 cycles。Huh-7 cells 將被逐倍稀釋成 (10 倍、50 倍、100 倍、500 倍以及 1000 倍) 以作為標準曲線的相對定量使用 (standard curves of relative quantitation)，而 36B4 基因的表現量將被使用來作為其他基因的比較基準 (endogenous control gene)。

PCR 產物轉殖後對於細胞所可能造成的不良反應，將以細胞的外型、生長速率、non-HCV 蛋白質的表現以及細胞毒性等來做分析。細胞毒性的分析是以 MTS assay 與 CellTiter96 Aqueous 1 solution proliferation assay (Promega, Madison, WI)按照標準的操作流程來進行。Non-HCV 蛋白質乃是分析甲型胎兒蛋白 ( $\alpha$ -fetoprotein) 的表現量使用 AFP kits of AXSYM systems (Abbott, GmbH Diagnostica, Wiesbaden, Germany) 來測量的。

#### **汙染控制(Contamination control)**

為避免實驗時假陽性的產生，將依照Kwok與Higuchi (1989)的建議進行PCR。

#### **西方點墨法(Western Blots)**

將細胞溶解後加入 1 mL 的萃取液，以高速離心後取上清液。接著將上清液加入 TCA 使蛋白質沉澱，然後再用高速離心，並於離心後丟棄上清液。接著利用高熱使蛋白質分子變性，使用膠體電泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)將蛋白質依其個別的分分子量分離開，然後利用轉印設備將膠體中的蛋白質轉移至硝基纖維紙上，再將鍵結有蛋白質的硝基纖維紙與含有標定特殊物質的專一性抗體作用 (此一級抗體可以辨識並鍵結至特殊蛋白上, immunoblot)。將可辨識前述特

定抗體並且結合(HRP)horseradish peroxidase 的二級抗體與之作用，就可以鑑定出有含特定胺基酸的蛋白質<sup>159</sup>。

### 測量細胞三酸甘油酯以及總膽固醇的濃度(Measurements of cellular triglyceride and total cholesterol concentration)

將細胞溶解後依照蛋白質的濃度來進行調整，並使用 Trinder-based colorimetric end-point assays (Randox Laboratories Limited, Crumlin, UK)的方法，利用酵素與直接分光光度計來量測細胞三酸甘油酯以及總膽固醇的濃度<sup>160</sup>。

### 胰島素抗性的計算方式：

胰島素抗性的計算方式(IR)是採用 homeostasis model assessment<sup>64, 161</sup>

$$\text{HOMA-IR} = \text{fasting insulin (mU/L)} \times \text{fasting glucose (mg/dL)} \times 0.05551 / 22.5$$

### 抗病毒治療反應的定義

對於抗病毒治療達到**持續病毒學反應(sustained virological response, SVR)**，乃是收案者在接受合併治療結束後之第6個月時接受C型肝炎病毒核糖核酸之定性檢查為陰性反應者。對於抗病毒治療**無持續病毒學反應(non-SVR)**乃是收案者在接受合併治療結束後之第6個月時之C型肝炎病毒核糖核酸之定性檢查為陽性反應者。**快速病毒學反應(RVR)**定義為收案者在接受合併治療4週時檢測不到病毒量；**早期病毒學反應(EVR)**定義為收案者在接受合併治療12週時病毒量至少下降100倍者；**c-EVR(complete EVR)**定義為無RVR者在治療第12週時檢測不到病毒量；**p-EVR(partial EVR)**定義為無RVR者在治療第12週時病毒量下降100倍者。**復發者(relapser)**乃是收案者在接受合併治療結束時之C型肝炎病毒核糖核酸之定性檢查為陰性反應，但是在合併治療結束後之第6個月時接受C型肝炎病毒核糖核酸之定性檢查為陽性反應者。對於抗病毒治療達到**生化反應者**乃指收案者在接受合併治療結束後之第6個月時ALT數值仍在正常範圍者。

## 統計分析

所有類別變項是以 Fisher exact test, Chi-square test, Mann-Whitney U-test 和 Kruskal-Wallis test 的方法做分析，對於各種連續變項則是以 t-test 方法做分析，各組之間的比較乃是以 ANOVA 方法做分析。對於各種獨立變項以及胰島素抗性、代謝、脂肪激素和細胞激素等相關因子作多變項線性回歸分析、邏輯式回歸分析以及 Pearson's correlation test。所有的統計數值皆是以統計軟體 Stata statistical software (version 8.0, Stata corp, College Station, Tex) 來進行分析的結果，分析都採雙尾檢定，當 p 值小於 0.05 時被認為具有統計學上的意義。



## 叁、結果

### 一、葡萄糖代謝及脂肪代謝與 C 型肝炎病毒感染之相關性研究

#### 1.1 探討慢性 C 肝病毒感染與患者體內代謝特徵的關係性

##### 病例組與對照組之臨床特徵比較

慢性 C 肝患者較健康成人有較低的血清三酸甘油酯、總膽固醇以及低密度膽固醇脂蛋白(LDL)濃度，但是有較高的 HDL 以及 ALT 濃度 (表 4)。

由於當患者有較嚴重的肝臟纖維化時常會伴隨有較高的胰島素濃度 (hyperinsulinemia) 以及葡萄糖耐受不全 (impaired glucose tolerance) 的現象，為了檢視本研究患者肝臟疾病的嚴重程度，吾人分析了 461 位慢性 C 肝患者的血小板數目 (platelet count, PLT) 以及 Aspartate Aminotransferase-to-Platelet Ratio Index (APRI) (表 5)。假如以  $APRI=1^{162}$  為顯著肝臟纖維化的分界點 (cutoff level of significant hepatic fibrosis) 時，本研究中 51% 的收案者皆有顯著的肝臟纖維化或硬化。

##### 慢性 C 肝患者的血清代謝特徵

利用多變項線性迴歸方法控制年齡、性別與體格指標等變相後分析慢性 C 肝感染與血清代謝特徵的關係時，吾人發現慢性 C 肝病毒感染與 ALT 值間存有正比例的關係，與血清三酸甘油酯及總膽固醇濃度則成反比例的關係 (表 6)。

##### ALT 值與慢性 C 肝患者的血清代謝特徵的關聯性

由於慢性發炎與體內的代謝恆定間存有密切的關係，而 ALT 值為評估肝臟損傷的重要指標，因此了解 ALT 值對慢性 C 肝患者血清代謝特徵的影響就成為相當重要的研究課題。依照 ALT 正常值的上限 (upper limit of normal, ULN, 30 IU/L for men and 20 IU/L for women) 吾人將本研究的族群分成兩組，比較兩組在慢性 C 肝病毒感染與血清代謝特徵的關係上是否有所差別。吾人發現當 ALT 在正常值範圍時，C 肝病毒感染與較年輕、女性、

以及較高的總膽固醇濃度有關，當 ALT 比正常值高時，C 肝病毒感染與較低的血清三酸甘油酯及總膽固醇濃度有關 (表 7)。此外為了排除高血糖與血脂肪異常對 ALT 值與慢性 C 肝患者血清代謝特徵關係的可能影響，吾人將高血糖、高血清三酸甘油酯及總膽固醇濃度(fasting glucose  $\geq$  110 mg/dL, triglyceride  $\geq$  150 mg/dL or total cholesterol  $\geq$  200 mg/dL, according to the suggestion of ATPIII)的患者皆排除後再次進行分析，得到相似的結果 (表 7)。

### **脂締素與慢性 C 肝患者及血清代謝特徵的關係**

本研究中有 668 位的收案者(包括 210 位慢性 C 肝患者以及 458 位非慢性 C 肝的對照者)有足夠血清進行脂締素的濃度分析。根據多變項分析結果吾人發現，C 肝患者有較健康成人為高的血清脂締素濃度(表 8)，此外使用逐步線性回歸分析時吾人亦發現 ALT 值與脂締素濃度皆會影響 C 肝病毒感染與血清三酸甘油酯以及總膽固醇濃度的關係。

#### **1.2 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與胰島素抗性的關係性**

針對 C 肝病毒感染與胰島素抗性的相關性做分析，發現 C 肝病毒量與胰島素抗性 HOMA-IR 指標間存有密切的關聯性，C 肝病毒量與 HOMA-IR 胰島素抗性指標間存有正比例的關係性。

### **胰島素抗性與代謝指標(Insulin resistance and metabolic factors)**

以 HOMA-IR $>$ 2.4 作為判定患者是否有胰島素抗性(insulin resistance)的標準時，慢性 C 肝患者中有胰島素抗性者較無胰島素抗性者有較高的 BMI、C 肝病毒量、空腹血糖值、ALT 值以及血清三酸甘油酯濃度，但是較低的脂締素濃度數值(表 9)。

### **C 肝病毒量與胰島素抗性(HCV titer and insulin resistance)**

按照患者 C 肝病毒量對數值高低區分為三個族群後進行多變相線性迴歸分析後發現，胰島素抗性與較高的 BMI、血清三酸甘油酯濃度、ALT 值、C 肝病毒量對數值以及較低的脂締素濃度數值間存有顯著且獨立的關

聯性。此外 C 肝病毒量對數值與 HOMA-IR 對數值存有正比例的關係性(圖 4.)，有胰島素抗性者較無胰島素抗性者的 C 肝病毒量對數值有顯著的差異(圖 5.)。多變項分析發現：C 肝病毒量對數值與胰島素抗性間存有劑量比例的關係(dose-response relationship)，胰島素抗性與 BMI、血清三酸甘油酯濃度及 ALT 數值間有顯著且獨立的正比例關聯性，但是與脂締素濃度間為負比例的關聯性(表 10)。

### C 肝病毒基因型與胰島素抗性(HCV genotypes and insulin resistance)

單變項分析發現與 C 肝基因型非第一型比較時，C 肝基因型第一型病毒所感染的患者有較低的脂締素濃度以及較高的胰島素抗性(表 11)，進一步以多變項分析控制相關影響因子，包括年齡、性別、BMI、血清三酸甘油酯、總膽固醇濃度、ALT 值以及脂締素濃度時，C 肝基因型第一型病毒所感染的患者仍較 C 肝基因型非第一型病毒所感染的患者有較高的胰島素抗性以及較低的脂締素濃度(表 12)。

### 胰島素抗性與肝臟組織學的關係(Insulin resistance and liver histology)

單變項分析發現胰島素抗性與肝臟脂肪變性有正比例的關係性( $r = 0.2044$ ,  $p=0.0481$ )，與脂締素濃度有反比例的關係性( $r = -0.3408$ ,  $p=0.0008$ )，此外肝臟脂肪變性與胰島素抗性及肝臟纖維化嚴重度有正比例的關係性( $r = 0.2998$ ,  $p=0.0033$ )(表 13)。進一步以多變項分析控制相關影響因子，包括年齡、性別、BMI、血清三酸甘油酯、總膽固醇濃度、ALT 值以及脂締素濃度時，胰島素抗性與 BMI 以及肝臟脂肪變性的正比例關聯性以及與脂締素濃度的反比例關聯性仍然不變(表 14)。雖然在初期 162 位 C 肝患者的研究中吾人沒有觀察到胰島素抗性與肝臟纖維化嚴重度間顯著的關聯性，然而在以多變項分析控制相關影響因子時可以見到肝臟脂肪變性與肝臟纖維化嚴重度間顯著且獨立的正比例關聯性(表 15)。此外後續增加收案人數至 528 位時，可以觀察到胰島素抗性與肝臟纖維化嚴重度間的確存有顯著的關聯性(表 28)。

## 1.3 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與宿主脂肪特徵的關係性



吾人收集並分析 531 位遭 C 肝病毒基因型第一型或第二型感染的慢性 C 肝患者的臨床資料，比較 C 肝患者血清中病毒量與宿主臨床特徵—特別是血清代謝特徵—的關係。將資料按照不同 C 肝病毒基因型分開，並以多變相回歸方法分析各種臨床因子與 C 肝病毒量的關係時發現：雖然 C 肝病毒基因型第二型感染者的 C 肝病毒量與宿主的血清脂肪特徵間存有正比例的相關性，然而在病毒基因型第一型感染患者的血清中卻無發觀察到兩者的相關性。值得注意的是，吾人發現病毒基因型第一型感染患者的血清 C 肝病毒量與患者的肝臟脂肪變性程度間存有反比例的相關性。因此研究結果暗示：不同 C 肝病毒基因型與宿主代謝特徵間關係是不一樣的。

### C肝患者的臨床與代謝特徵

總共有 531 位慢性 C 肝患者收案至本研究中，所有患者的臨床與代謝特徵請見(表16)。本研究案患者的 BMI 平均值為 25.6 kg/m<sup>2</sup>，按照東南亞族群的標準而言，本研究案大部分是屬於過重(overweight)的患者<sup>163</sup>。有 328 (61.8%) 位患者為 C 肝基因型第一型病毒所感染，200 (37.7%) 位患者為 C 肝基因型第二型病毒所感染，此外有 3 (6%) 位患者被 C 肝基因型第一型及第二型病毒同時感染。

### 肝臟組織學

總共有 454 (85.5%) 位患者的肝臟組織發炎程度為 Metavir activity score < 3，329 (62.0%) 位肝臟組織纖維化程度為 Metavir fibrosis score < 3，以及 475 (89.5%) 位患者的肝臟脂肪變性為 steatosis grade < 16% (表16)。

### 與C肝病毒量相關的臨床因子

(表17)、(圖6)及(圖7)呈現以單變項統計學方法評估臨床因子與 C 肝病毒量關聯性的分析結果。進一步使用逐步線性迴歸分析(Stepwise linear regression analyses)來檢視 C 肝病毒量與臨床特徵的關聯性，臨床特徵包括：年齡、性別、BMI、血清三酸甘油酯、總膽固醇濃度、LDL、HDL、空腹血糖值、胰島素抗性指標(HOMA-IR index)、C 肝病毒基因型、肝臟組織學

發炎程度、肝臟纖維化嚴重程度、肝臟脂肪變性程度、血小板數值、AST值、ALT值以及GGT，並利用最後所挑選出的臨床特徵來建構一多變項統計分析模式。多變項的分析模式下顯示，C肝基因型第一型病毒感染、較嚴重的肝臟組織學發炎、較輕微的肝臟纖維化、較高的胰島素抗性指標數值以及較高的血清三酸甘油酯濃度伴隨著較高的血清C肝病毒量數值( $P<0.05$ ) (表18)。

由於肥胖可以影響宿主的脂肪代謝，為了減低肥胖對於C肝病毒感染及脂肪代謝間交互作用的可能影響，吾人檢視BMI $\leq 27$  kg/m<sup>2</sup> 163患者之C肝病毒量與臨床特徵的關聯性。在BMI $\leq 27$  kg/m<sup>2</sup>的C肝患者中，為C肝基因型第一型病毒所感染、有較高的血清總膽固醇濃度或較高的胰島素抗性指標數值( $P<0.05$ )者會有較高的血清C肝病毒量數值(表19)。

#### C肝基因型第二型病毒量與宿主脂肪特徵的相關性

為檢視不同C肝病毒基因型感染對於C肝病毒感染及脂肪代謝間交互作用的可能影響，吾人依照不同C肝病毒基因型將患者分組進行分析。在C肝基因型第一型病毒所感染的患者中，女性、有較嚴重的肝臟組織學發炎、較輕微的肝臟纖維化或較輕微的肝臟脂肪變性者將有較高的血清C肝病毒量數值(表20)，然而宿主脂肪特徵與胰島素抗性指標數值與C肝基因型第一型病毒量並無顯著相關性存在。相反地，較高的C肝基因型第二型病毒量與較高的血清三酸甘油酯濃度、GGT值或較高的胰島素抗性指標數值有顯著地相關性存在(表20)。

#### 1.4 探討慢性 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後早期病毒動力學與各種臨床特徵的關係性

吾人比較 C 肝患者早期病毒動力學變化數據與臨床各種參數的關係後發現：身體質量指標(BMI) 及 C 肝病毒的基因型與患者治療後兩天時之 C 肝病毒下降量有關，治療前的 C 肝病毒量以及高密度膽固醇脂蛋白濃度(HDL)則與患者接受治療後第一個月時的 C 肝病毒下降量有關。另外吾人也發現，C 肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量、BMI 以及肝功能 ALT 值等臨床參數與快速病毒反應(RVR)有關。多變項回歸分析後吾人發現，C

肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量、代謝有關的 BMI 和 HDL 以及肝功能 ALT 值等五個臨床參數和患者治療早期時的 C 肝病毒下降量有關。值得注意的是，只有 C 肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量以及治療第 28 週時的 C 肝病毒下降量等三個臨床參數與 C 肝患者接受治療後的持續病毒學反應(SVR)有關。因此本研究的結果不但暗示了上述各種臨床參數對 C 肝治療的可能影響與致病機轉外，也指出其影響 C 肝患者治療效果的作用時間點，提供未來研究的可能方向。此外本研究更以證據顯示，利用臨床上 C 肝患者的病毒基因型、治療前 C 肝病毒量以及治療第 28 週時的 C 肝病毒下降量資料將可以令吾人更精確地預測出患者對抗病毒治療的可能療效。

### **C肝患者治療前的臨床與代謝特徵**

總共有145位接受長效型干擾素合併雷巴威林治療之慢性C肝患者收案進入本研究計畫，所有患者接受治療前的臨床資料請見(表21)。以及治療期間患者血清中C肝病毒量的數據變化。本研究案患者的BMI平均值為 25.9 kg/m<sup>2</sup>，其分布範圍按照東南亞族群的標準而言大部分屬於過重 (overweight)的患者。有81 (55.9%)位患者遭C肝病毒基因型第一型所感染，61 (42.1%)位患者遭C肝病毒基因型第二型所感染，此外有3 (2.1%)位患者同時遭C肝病毒基因型第一型及第二型所感染。

### **肝臟組織學**

總共有 118 (82%)位患者的肝臟組織發炎程度為 Metavir activity score  $\geq 1$ ，120 (83%)位肝臟組織纖維化程度為 Metavir fibrosis score  $\leq 4$ ，以及124 (97.6%)位患者的肝臟脂肪變性為 steatosis grade  $< 2$ 。

### **治療後的病毒學反應以及臨床追蹤**

在145位接受治療的慢性C肝患者中，110位接受24週的療程，3位在治療過程中退出研究(dropped out)，2位失去聯繫(lost to follow-up)，2位患者因為在接受治療時不良反應發生，因此沒有接受完整的24週藥物治療療程。其他的35位患者(全是遭C肝病毒基因型第一型所感染者)則接受48週的

療程，3位患者失去聯繫，8位患者因為在接受治療時不良反應發生，因此沒有接受完整的48週藥物治療療程。111位患者在接受治療時達到RVR，138位患者達到EVR，最後總共有110位患者達到SVR (表21及圖8-10)。

以完成計畫書療程分析法(Per-protocol analysis)分析時，在111(111/143, 77.6%)位達到RVR的患者中，52位為C肝病毒基因型第一型所感染(52/80, 65%)，56位為C肝病毒基因型第二型(56/60, 93.3%)所感染，3位為同時合併有C肝病毒基因型第一型與第二型(3/3, 100%)所感染。

總共有143位患者有治療第十二週時的血清C肝病毒量資料，138位患者有EVR (138/143, 96.5%)，只有一位為C肝病毒基因型第一型所感染的患者有 p-EVR，以及28位患者有c-EVR。兩位C肝病毒基因型第一型所感染的患者有 RVR但是在治療第十二週時檢測到血清中C肝病毒量，所有在治療第十二週檢測不到血清中C肝病毒量者，76位為C肝病毒基因型第一型所感染的患者(76/81, 93.8%)，59位為C肝病毒基因型第二型所感染的患者(59/60, 98.3%)，2位為同時合併有C肝病毒基因型第一型與第二型所感染的患者(2/2, 100%)。所有c-EVR的患者中25位為C肝病毒基因型第一型所感染的患者(25/28, 89.3%)，3為C肝病毒基因型第二型所感染的患者(3/4, 75%)。

總共有137位患者有治療結束後第二十四週時的血清C肝病毒量資料，110位患者有SVR (110/137, 80.3%)。在SVR的患者中有54位為C肝病毒基因型第一型所感染者(54/76, 71.1%)，54位為C肝病毒基因型第二型所感染的患者(54/59, 91.5%)，2位為同時合併有C肝病毒基因型第一型與第二型所感染的患者(2/2, 100%)。

### **C肝患者治療後的病毒學反應以及臨床特徵的關聯性**

單變項分析發現治療前病毒量(baseline viral load)以及病毒基因型(genotype)與患者的SVR有關(表21)。此外與無SVR患者比較時，有SVR者在接受治療前3個月的各個時間點之C肝病毒量下降幅度都較大，暗示著SVR患者有較好的病毒動力學表現(表22)。

### **接受干擾素相關抗C肝病毒治療早期時病毒量下降之預測指標**

單變項分析發現，許多治療前的臨床特徵，包括年齡、病毒基因型、

肝臟纖維化程度、治療前病毒量、白血球以及血小板數目，皆可以預測C肝患者接受治療後早期時病毒量的下降幅度，然而空腹血糖值、血清中三酸甘油酯、總膽固醇濃度以及ALT值則與早期時病毒量的下降幅度無明顯關聯性。

以多變項回歸分析後發現，病毒基因型與BMI (adjusted odds ratio分別為0.25以及0.83)與患者接受治療後前兩天病毒量的下降幅度有明顯關聯性存在(表23)，治療前病毒量與HDL濃度(adjusted odds ratio分別為2.78與0.95)則與患者接受治療後第二天至第二十八天的病毒量下降幅度有明顯關聯(表23)。

利用同樣模式分析時發現，病毒基因型、治療前病毒量、ALT值以及BMI (adjusted odds ratio分別為0.07、0.41、1.01以及0.83)為RVR的獨立預測指標(表24)；然而並沒有發現適當的c-EVR的預測指標(表25)。此外雖然病毒基因型及肝臟纖維化程度(adjusted odds ratio分別為0.27與0.51)為SVR的獨立預測指標(表24)，然而將患者接受治療早期時病毒的下降量加入多變項分析模式中調整時，只有病毒基因型、治療前病毒量以及治療第二十八天時病毒量的下降幅度 (adjusted odds ratio分別為0.27、0.38以及2.32)為SVR的獨立預測指標(表26)。

將患者依病毒基因型與治療前病毒量分組時(圖9及圖10)發現，94.4% (17/18)有較低治療前病毒量、達到RVR為C肝基因型第一型病毒所感染者有SVR，

相較下，只有32% (8/25)有較高治療前病毒量、無達到RVR且為C肝基因型第一型病毒所感染者治療後有達到SVR。91.7% (44/48)達到RVR且在接受治療第十二週時檢測不到C肝病毒量的C肝基因型第一型病毒所感染者可以達到SVR，36% (9/25)無法達到RVR但在接受治療第十二週時檢測不到C肝病毒量的基因型第一型病毒感染者可以達到SVR，只有一位無法達到RVR且在接受治療第十二週時仍檢測得到C肝病毒量的基因型第一型病毒感染者可以達到SVR。所有較低治療前病毒量、達到RVR之C肝基因型第二型病毒感染者有SVR，但是沒有任何較高治療前病毒量、無達到RVR之基因型第二型病毒感染者有SVR。

### 1.5 探討不同 C 肝病毒基因型對患者代謝特徵與肝臟組織學關係的影響性

已知宿主代謝因子會影響患者肝臟纖維化進展，由於不同 C 肝病毒基因型感染對宿主代謝因子的關聯性是不同的，因此不同 C 肝病毒基因型感染對患者肝臟纖維化進展的影響是否不同呢？

#### C 肝患者的臨床與代謝特徵

回溯分析先前已收案的 528 位慢性 C 肝基因型第一型或第二型感染的患者。有 328 位患者為 C 肝基因型第一型病毒所感染，200 位患者為 C 肝基因型第二型病毒所感染，所有患者的臨床與代謝特徵請見(表 27)。為 C 肝基因型第一型病毒所感染者較為 C 肝基因型第二型病毒所感染有較高的 C 肝病毒量但是較低的 ALT 值。本研究案患者的 BMI 平均值為 25.6 kg/m<sup>2</sup>，按照東南亞族群的標準而言，本研究案大部分是屬於過重(overweight)的患者<sup>163</sup>，此外兩組患者的血清胰島素抗性指標平均值以及分布相類似(P=0.65)。

#### 與 C 肝病毒量相關的臨床因子

臨床代謝特徵與肝臟組織學有密切的相關性(表 28)，當 C 肝患者有糖尿病(空腹血糖值  $\geq 126$  mg/dL)、肥胖(BMI  $> 24$  kg/m<sup>2</sup>)、較高的胰島素抗性 HOMA-IR 指標、較高的 ALT 值或較低的血清 LDL 濃度時常會伴隨有較嚴重的肝臟纖維化變化(P $<0.05$ )，此外空腹血糖值(圖 12)、BMI、肝臟脂肪變性、血清總膽固醇濃度與肝臟纖維化嚴重度成正比例的關係(P $<0.05$ )，而 LDL 濃度(圖 11)與肝臟纖維化嚴重度成反比例的關係(P $<0.05$ )。排除肝硬化以及較嚴重肝臟纖維化(advanced fibrosis)的患者進行分析時，脂肪特徵與肝臟纖維化嚴重度的正比例關係仍然不變。然而單變項分析時只有 ALT 值與肝臟組織發炎程度存有顯著的相關性(P $<0.05$ ) (表 28)。

使用逐步線性迴歸分析方法來檢視肝臟纖維化嚴重程度與脂肪特徵的關係時發現，年齡較長、有較高的 BMI 值、較高的血糖值、較嚴重的肝臟組織學發炎、較低的血清 C 肝病毒量或較低的血清總膽固醇濃度的 C 肝患者將有較嚴重的肝臟組織學纖維化(advanced hepatic fibrosis)(P $<0.05$ )，要注意是空腹血糖值，而不是胰島素抗性(P=0.446)，與較嚴重的肝臟組織學纖維化有關聯(表 29 & 圖 12)。

### C肝病毒基因型與代謝因子影響肝臟纖維化進展的關聯性

以單變項的方法分析時發現，為C肝基因型第一型病毒所感染者有糖尿病、較高BMI值、較高胰島素抗性HOMA-IR指標、較高血糖值、較高ALT值、較低血清總膽固醇或LDL濃度時將伴隨有較嚴重的肝臟組織學纖維化，然而為C肝基因型第二型病毒所感染者有糖尿病、肥胖、較高血糖值、較高BMI值或較高ALT值時將伴隨有較嚴重的肝臟組織學纖維化(表30)。使用逐步線性迴歸分析方法來檢視不同C肝病毒基因型對肝臟纖維化嚴重度與脂肪特徵關係的影響時發現，當患者年齡較長、有較嚴重的肝臟組織學發炎或較低血清總膽固醇時將伴隨有較嚴重的肝臟組織學纖維化。然而為C肝基因型第一型病毒所感染者有較高血糖值時，或是為C肝基因型第二型病毒所感染者有較高BMI值時將伴隨有較嚴重的肝臟組織學纖維化(表31)。



## 二、 C 肝病毒蛋白對葡萄糖及脂肪代謝訊息傳遞途徑的影響和機制

### 2.1 C型肝炎基因型第一型病毒核心蛋白影響三酸甘油酯與總膽固醇合成

與控制組(S2)相較時，表現不同濃度C肝基因型第一型病毒核心蛋白的細胞(C191/S2 #3)有較低的三酸甘油酯與膽固醇濃度。此外當C肝基因型第一型病毒核心蛋白表現量逐漸增加時(C191/S2 #3, #6, #7, #21)，細胞內三酸甘油酯與膽固醇濃度會逐漸地下降(圖13)。

### 2.2 C型肝炎基因型第一型病毒核心蛋白影響三酸甘油酯與總膽固醇合成途徑上之相關基因

與控制組相較，並以36B4基因的表現量為基準校正時，表現C肝基因型第一型病毒核心蛋白的細胞(C191/S2 #3)在SREBP1c、HMG-CoA synthase 1、HMG-CoA reductase 以及MTTP的mRNA表現量都相對較低，但是在SREBP2、FDFT1與ATP citrate lyase mRNA的表現量則相對增加(圖14)。

### 2.3 C型肝炎基因型第一型病毒核心蛋白表現量的高低會影響三酸甘油酯與總膽固醇合成途徑上之相關基因的表現

與控制組相較，並以36B4基因的表現量為基準校正時，當C肝基因型第一型病毒核心蛋白表現量逐漸增加時(C191/S2 #3, #6, #7, #21)，細胞中SREBP1c、SREBP2、HMGCR、HMGCS1以及MTTP的mRNA表現量逐漸下降，但是FDFT1以及ATP citrate lyase的mRNA表現量則逐漸上升。此外在C肝病毒核心蛋白表現量較低的細胞中SREBP1c的mRNA表現量為增加，但是其表現量會隨著C肝病毒核心蛋白量增加而逐漸下降。在表現C肝病毒核心蛋白細胞中，SREBP2 mRNA的表現量為相對增加，但是其表現量也會隨著C肝病毒核心蛋白量增加而下降(圖14)。



## 肆、討論

C 型肝炎病毒感染為全世界公共衛生最重要的課題之一，台灣自從民國 73 年 7 月開始全面推行新生兒注射 B 肝疫苗後，國內的 B 肝帶原率已下降至 1% 至 2%，因此 C 型肝炎病毒感染將逐漸取代 B 型肝炎病毒感染成為台灣最重要的慢性肝臟疾病，對於國家、社會的經濟與民生影響甚鉅。清楚了解 C 型肝炎病毒感染的自然病史，減少 C 肝病毒的感染以及傳播，並且成功治癒 C 肝病毒感染患者將成為近年來台灣最重要的公共醫藥衛生研究課題之一。身為一位臨床肝膽科醫師以及研究者而言，能夠改善現今慢性 C 肝患者的治療方式，增加 C 肝患者治癒的機會，並且減少所有治療可能引起的不良反應，為吾人對這個重要研究課題所應盡的責任與義務，也是吾人對於社會、國家以及全世界所能提供的最微薄貢獻之一。

現今臨床上使用的標準治療—長效型干擾素皮下注射合併口服雷巴威林—來治療慢性 C 肝患者已經可以達到相當好的療效。值得注意的是，亞洲患者對於這種 C 肝標準療法的效果甚至較歐美患者為佳。就亞洲地區最常見的 C 肝基因型第一型以及第二型的病毒感染而言，六成以上遭 C 肝基因型第一型病毒感染的患者，以及八成以上遭 C 肝基因型第二型病毒感染的患者，在接受標準治療後都可以完全痊癒。然而這種 C 肝的標準治療仍有許多缺點：有至少四成以上的 C 肝患者在接受治療的過程中會有較嚴重的不良反應產生，此外某些特殊族群，以及有相當比例的 C 肝患者對這種標準治療的反應仍然不佳。另外，這種標準治療的費用至今仍然相當昂貴。因此臨床醫師如果能在治療開始前就能先分辨出哪些病人將來對 C 肝標準治療的效果較好時，就可以建議患者縮短治療的療程，以減少不良反應發生的機會與治療的費用。此外如果醫師能夠在治療前就先分辨出將來對標準治療效果不佳的病人時，就可以建議這些病人接受延長治療至一年甚至一年半以上來增加療效。假如醫師在治療前就能先分辨出對治療反應無效的病人，甚至可以直接建議患者提早停藥，或是接受其他實驗性的新療法。目前臨床上已經可以利用各種不同臨床參數來評估並預測 C 肝患者對於標準治療的反應，減少或延長治療的時間，降低治療時不良反應發生的機會，並增加治療效果。這些臨床 C 肝患者治療的評估參數中最為人所

重視的就是患者治療時的病毒動力學分析以及治療前的各種臨床特徵，特別是 C 肝病毒基因型、病毒量、患者的肝臟組織學、代謝特徵以及基因多形性。由於病毒因子、患者的肝臟組織學以及基因多形性等指標相對於宿主代謝因子而言為不可調控的因子，因此「藉由調控代謝因子來改善現今 C 肝患者標準治療」就成為一可行合理的想法，值得進行深入研究。

吾人於博士生的研究中在指導教授 高嘉宏老師的指導下，對慢性 C 型肝炎患者接受干擾素相關治療時的病毒動力學分析以及治療前的各種臨床特徵，特別是胰島素抗性、代謝和脂肪激素狀態，進行一系列的病例對照研究，之後在 高嘉宏教授與 楊偉勛教授兩位老師的引領下進行致病機轉分子層面的探討。吾人首先進行一病例對照研究比較慢性 C 肝患者與健康對照組的血清代謝特徵，以探討慢性 C 肝病毒感染與患者體內代謝特徵的關係性。吾人的研究結果同時驗證了其他研究學者跟 B 肝患者或甲狀腺疾病患者的比較結果，吾人發現慢性 C 肝患者的確與健康對照有很大的差異性，有較低的血清血脂肪特徵但是有較高的脂締素濃度。由於血清脂締素濃度為胰島素抗性的相關指標，並且同時期已有許多國外的學者發現胰島素抗性在慢性 C 肝患者的疾病進展上扮演重要角色。然而胰島素抗性與 C 肝病毒感染間之因果關係始終無法切確肯定，臨床研究報告上有相當大的歧異。因此吾人認為，假如 C 肝病毒本身確實會引起胰島素抗性，那麼 C 肝病毒的數量應該與胰島素抗性也有直接關聯。因此吾人進行一回溯性世代研究，分析慢性 C 肝患者血清中的病毒量與血清中胰島素抗性指標 (HOMA-IR) 的關係。吾人發現血清中 C 肝基因型第一型與第二型病毒量的確與胰島素抗性有正比例的關係性。同時期 Yoneda 等人也發表了類似的研究結果，更證明了吾人假說的真確性。2007 年 Miyanari 等人在 *Nature Cell Biology* 的研究報告指出：C 肝病毒需要在 lipid droplet 的協助下才能進行複製。由於 C 肝病毒感染過去長期以來一直被認為會引起肝臟脂肪變性並且與宿主脂質代謝有密切關聯，然而脂質代謝與 C 肝病毒感染間之因果關係始終無法釐清，臨床研究報告上對於兩者的關連性報告有相當大的歧異，不同的 C 肝病毒基因型感染間，特別是病毒基因型第三型與非第三型間，存有很大的差異性。因此吾人認為，假如 C 肝病毒的複製需要脂質的協助，那麼 C 肝病毒的複製或數量應該與血清中的脂肪特徵有直接的關

聯性。因此吾人以前瞻性世代研究，分析慢性 C 肝患者血清中的病毒量與血清中脂肪特徵的關係。吾人發現慢性 C 肝患者血清中病毒量的確與宿主血清中的三酸甘油酯以及總膽固醇濃度有比例性的關係性。比較特別的是，吾人發現血清中 C 肝基因型第一型與第二型的病毒量與血清中脂肪特徵的關連性竟然不同。假如 C 肝基因型第一型與第二型的病毒感染的確與血清中代謝特徵有不同的關連性，由於過去許多研究已經證實代謝因子會影響 C 肝患者疾病與肝臟纖維化的進展，C 肝基因型第一型與第二型病毒感染是否也會因與代謝特徵不同的關連性而對患者的肝臟纖維化有不同的影響呢？因此吾人回溯性分析前述世代研究的患者，分析不同 C 肝病毒基因型的慢性感染對患者血清中代謝特徵與肝臟組織學纖維化嚴重度的影響性，並發現當 C 肝基因型第一型病毒所感染的患者有較高血糖值時，或是 C 肝基因型第二型病毒所感染的患者有較高 BMI 值時，患者將伴隨有較嚴重的肝臟組織學纖維化。根據前述的研究結果，吾人已得到許多證據證明 C 肝病毒感染與宿主代謝的密切相關性，因此吾人進一步想探討代謝因子在臨床上 C 肝病毒感染患者的重要應用、也是最重要的研究課題：是否這些代謝因子會影響 C 肝患者的治療？過去已有許多研究發現，C 肝患者的治療效果會受到代謝因子的影響，甚至代謝因子可以用來評估患者的 SVR<sup>164, 165</sup>，且 C 肝患者治療達到 SVR 後，其血清中的代謝特徵也會產生改變<sup>166, 167</sup>。由於吾人過去在碩士班研究期間曾在高嘉宏老師的指導下曾針對 C 肝患者干擾素相關治療上最重要的評估指標「病毒動力學」進行過相關的分析研究<sup>168</sup>，因此吾人有一直覺的想法：如果代謝因子可以影響 C 肝治療，代謝因子應該與接受 C 肝治療患者的病毒動力學間存有一臨床聯結。為此吾人進行一前瞻性世代研究探討慢性 C 肝患者接受長效型干擾素合併雷巴威林治療後 C 肝病毒早期病毒動力學與各種代謝特徵的關係性。研究結果吾人發現 BMI、HDL 等代謝特徵與 C 肝患者治療早期的病毒動力學相關，並且可以用來評估患者的治療早期血清中的 C 肝病毒下降量。吾人的研究結果不但再次印證 C 肝病毒感染與宿主代謝的密切關係外，也指出代謝特徵可能影響 C 肝病毒在宿主體內不同階段的清除速度，暗示著調控這些代謝因子可能可以增加治療的效果。

最後，為了能夠了解 C 肝病毒對宿主葡萄糖、脂肪代謝、胰島素訊息

傳遞途徑的可能影響機制，吾人開始進行相關分子生物學實驗室的研究與分析。C 肝病毒可以製造出許多病毒特異的蛋白，而不同的基因型病毒的特異蛋白也會不一樣。假如 C 肝病毒本身的確可以影響葡萄糖、脂肪代謝、胰島素等訊息傳遞途徑，不同的基因型 C 肝病毒所製造特異蛋白必定在這些訊息傳遞途徑中扮演相當重要的角色。明瞭 C 肝病毒所製造的特異蛋白對這些訊息傳遞途徑的影響應該可以給予吾人相當重要的知識。C 肝病毒本身為正單股 RNA 病毒，其共有序列的開放讀架中(open reading frame)主要包含了結構基因(C、E1、E2)以及非結構基因(NS2 至 NS5B)兩大部分。利用基因轉殖鼠的研究平台，許多研究學者將 C 肝病毒的各個基因轉殖進入老鼠體內，並且進行各種的分析與試驗。部分學者發現能夠表現 C 肝核心蛋白的基因轉殖鼠可以有肝臟脂肪變性的表現，因此 C 肝核心蛋白目前被認為在肝臟脂肪變性與影響宿主的代謝上扮演著重要角色<sup>169</sup>。吾人因此利用能夠表現 C 型病毒核心蛋白之肝癌細胞株(HuH-7)，比較不同 C 型肝炎病毒核心蛋白量對於細胞三酸甘油酯與總膽固醇表現量以及對於葡萄糖與脂肪代謝訊息傳遞途徑上相關基因之 mRNA 表現量之影響。吾人發現 C 肝基因型第一型病毒的核心蛋白(HCV GT1 core protein)的表現將會減少細胞三酸甘油酯與總膽固醇濃度，並且會調降細胞內 MTP 基因以及其他與膽固醇合成有關基因的 mRNA 表現，但是會調升 ATP citrate lyase (三酸甘油酯合成的重要基因)以及 FDFT1(與 geranylgeranyl lipid 的基因合成以及 C 肝病毒的複製有關)基因的 mRNA 表現。對於 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白如何影響肝臟細胞組合以及分泌富含三酸甘油酯的 VLDL 以及脂質與膽固醇的合成上提供了可能的解釋機轉，並解釋了慢性 C 肝感染時所呈現的部分臨床表徵，譬如患者的肝臟脂肪變性以及慢性 C 肝患者有較低的血清中膽固醇與三酸甘油酯濃度。

以下吾人將針對在博士生研究所得到的結果進行討論，內容主要將分成第一、C 肝患者與健康對照者代謝特徵的差異性。第二、C 肝病毒感染與葡萄糖代謝及胰島素抗性的關係。第三、C 肝病毒感染與宿主脂肪代謝的關係。第四、調控與影響 C 肝患者代謝的其他重要臨床因子。第五、代謝因子對 C 肝患者肝臟纖維化的影響。第六、代謝因子對干擾素治療之 C 肝病毒動力學的影響。第七、分子層面的交互作用等六個部分做詳細討

論。

## 第一、C 肝患者與健康對照者血清代謝特徵的差異性

由於過去的流行病學以及臨床觀察研究發現，C 肝患者較其他疾病患者有較高的糖尿病盛行率以及較高的肝臟脂肪變性比率。因此長期以來宿主的代謝包括糖尿病、胰島素抗性以及肝臟的脂肪變性一直被認為可能與 C 肝病毒的感染有關<sup>170,171</sup>，甚至許多最近的研究也指出宿主的代謝特徵可以影響 C 肝患者對長效型干擾素合併雷巴威林抗病毒的治療反應<sup>30</sup>。然而許多因素，包含其他患者的疾病狀態、宿主發炎反應的程度、糖尿病或血脂異常的狀態、相關藥物的服用以及患者的肝臟組織學變化，皆可能影響上述比較分析的結果。因此如果能夠以一病例對照的研究方式比較 C 肝患者與健康對照組在血清中代謝特徵的差異性，並且分析及控制可能影響宿主代謝的相關因子，除了有助於吾人能更清楚了解 C 肝病毒感染所引起的代謝表現與影響外，更能提出一較確切的證據來證明 C 肝病毒感染與代謝的相關性。為此吾人針對此一重要問題進行一病例對照臨床研究，比較 500 位慢性 C 肝患者以及 536 位非 C 肝之健康成人對照組的血清中代謝特徵，並發現 C 肝患者較健康成人有較低的血清三酸甘油酯、總膽固醇以及低密度膽固醇脂蛋白(LDL)濃度，但是有較高的低密度膽固醇脂蛋白(HDL)濃度。此外吾人的初步臨床研究亦發現 C 肝患者有較健康成人為高的血清脂締素濃度，與過去非酒精性脂肪肝炎研究所發現的結果似乎不盡相同，而且血清脂締素濃度與血清三酸甘油酯及總膽固醇有密切關聯。值得注意的是，脂締素為胰島素抗性的相關指標，吾人的研究結果暗示著 C 肝患者與對照組可能有不同的脂締素或胰島素抗性(見下述)。

## 第二、C 肝病毒感染與葡萄糖代謝及胰島素抗性的關係

過去流行病學的研究發現，慢性 C 肝患者有較高的糖尿病盛行率，而糖尿病患者也有較高的 C 肝抗體陽性比率<sup>72</sup>。此外從長期追蹤的世代研究中也發現，在慢性 C 肝病毒感染下患者有較高的機會發生糖尿病<sup>171, 172</sup>。

因此許多研究學者陸續針對 C 肝病毒感染與糖尿病以及糖尿病前驅病徵「胰島素抗性」作一系列的研究，希望能了解 C 肝病毒感染與葡萄糖代謝的交互作用。於是許多與糖尿病相關的疾病狀態、包括胰島素抗性、代謝症候群、非酒精性脂肪肝炎以及脂肪細胞激素等與 C 肝病毒的臨床關係或交互作用就成為相當熱門的研究課題。從非酒精性脂肪肝炎的研究發現，血清中脂締素濃度與肝臟發炎程度成逆向的關聯性<sup>173</sup>，然而最近在慢性 C 肝患者的研究中卻發現兩者成正向的關聯性，暗示著脂締素可能與 C 肝感染以及病毒因子本身有關<sup>174</sup>，部分研究也指出 C 肝患者血清中脂締素濃度的增加可能是因為病毒感染後所引發的發炎反應<sup>175</sup>。吾人在病例對照研究中發現 C 肝患者較健康對照者有較高的血清脂締素濃度，不但對此假說提供了支持性的證據，也指出 C 肝病毒感染與血清中脂締素間的確存有交互作用。值得注意的是，脂締素為胰島素抗性的相關指標，因此吾人的研究結果代表著 C 肝患者與對照組可能有不同的胰島素抗性。由於研究當時已許多研究已顯示 C 肝病毒感染與胰島素抗性有密切關係，並且認為胰島素抗性為可能造成 C 肝患者肝臟纖維化的重要因子，因此假設 C 肝病毒本身可以引起胰島素抗性並影響 C 肝患者的臨床代謝表現就成為一相當合理的想法。為解答此一重要問題並證實吾人的假設為真確，吾人必須對 C 肝病毒感染與葡萄糖代謝及胰島素抗性的相關性進行研究分析。首先為清楚了解血糖與 C 肝病毒感染的關連性<sup>118</sup>，吾人以病例對照的研究方式，依據患者病史的詢問以及病歷紀錄的內容進行分析後發現慢性 C 肝病毒感染與異常空腹血糖值有密切關聯性。由於病史的詢問以及病歷紀錄通常會有低估血糖異常發現的比率，因此 C 肝病毒感染與異常血糖值的真實關聯性應該較本研究所觀察得到的更為強烈。如果 C 肝病毒感染與血糖異常兩者間有明確的連結存在，假設 C 肝病毒本身可以引起宿主的胰島素抗性就相當合理。為證明此一假設的真確性，吾人以世代研究的方式，從另一個角度探討 C 肝病毒量與患者胰島素抗性的關係。吾人認為：如果病毒本身可以引起胰島素抗性，C 肝病毒量的高低與胰島素抗性間應該存有比例性的關係。研究結果發現，C 肝病毒量與胰島素抗性 HOMA-IR 指標間的確存有一劑量反應性(dose-response relationship)的關聯性，而且在控制可能影響胰島素抗性的相關變項下，C 肝病毒量與 HOMA-IR 胰島素抗性指標

的正比例關係性依然不變，因此該研究對於 C 肝病毒本身可以引起胰島素抗性提供了支持性臨床證據。此外吾人還發現，C 肝的不同基因型病毒感染對於患者的胰島素抗性以及脂締素濃度有不同的影響。在控制可能影響胰島素抗性與血清中脂締素濃度的相關變項下進行分析時可以觀察到，C 肝基因型第一型病毒所感染的患者會較為第二型病毒所感染的患者有較高的胰島素抗性 HOMA-IR 指標，但是較低的血清脂締素濃度，並且血清中的脂締素濃度，與胰島素抗性 HOMA-IR 指標一樣，也跟 C 肝病毒量間存有一正比例的關聯性。

脂締素為一有抗發炎以及抗纖維化作用的荷爾蒙蛋白，可以調節葡萄糖以及脂肪酸的代謝反應。脂締素可以藉由過氧化增生活化受體  $\alpha$  (peroxisome proliferators activated receptor- $\alpha$ , PPAR- $\alpha$ ) 以及腫瘤壞死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 來調控脂肪代謝以及抗發炎的作用<sup>173, 176, 177</sup>。許多細胞或基因轉殖鼠的證據皆顯示 C 肝病毒與其病毒蛋白可以藉由影響 PPAR- $\alpha$ 、retinoid receptor  $\alpha$  以及 multidrug resistance 3 genes<sup>178, 179</sup> 等基因的表現來影響宿主的脂肪代謝，此外這些基因也被認為與脂締素的功能有關<sup>180</sup>，因此 C 肝病毒與其特異的病毒蛋白似乎可以藉由這些基因與脂締素間產生交互作用。吾人的研究發現慢性 C 肝患者有較一般健康成人為高的血清脂締素濃度，以及血清中的脂締素濃度跟 C 肝病毒量間存有一正比例的關聯性，正給予了這個假說一個支持性的臨床證據。此外，目前的研究發現脂締素與 C 肝的病毒因子有關<sup>174, 181</sup>。根據人體組織以及實驗室的研究發現，慢性 C 肝患者 PPAR- $\alpha$  基因的表現會受到抑制<sup>182</sup>。此外，C 肝患者血清中的脂締素濃度與肝臟脂肪變性以及發炎程度成正相關，C 肝患者肝臟細胞內脂締素受體 (Adipo R1 以及 Adipo R2) 基因的 mRNA 表現與磷酸烯醇丙酮酸羧基激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK，為一肝臟的胰島素抗性指標) 基因的表現則成顯著的反相關性<sup>175</sup>。因此吾人合理推論 C 肝病毒、胰島素抗性與脂締素間應該有密切交互作用存在，有待未來累積更多的研究證據以了解其中的作用機轉。

最近的研究也指出，當 C 肝患者在接受干擾素相關治療達到 SVR 後，原本的胰島素抗性會產生改善<sup>181</sup>。此外 C 肝患者的肝臟脂肪變性<sup>183</sup> 以及肝臟纖維化嚴重程度<sup>64</sup> 都被認為與胰島素抗性有正比例的關係存在(見後

述)。因此所有的臨床研究證據皆告訴吾人：C 肝病毒感染、胰島素抗性以及脂締素間存在有相當密切與複雜的關係，C 肝病毒感染可以藉由引起患者的胰島素抗性，進而加劇患者的肝臟脂肪變性，以及使患者肝臟纖維化更加惡化。

### 第三、C肝病毒感染與宿主脂肪代謝的關係。

由上述吾人的研究結果以及其他研究學者的發現，目前許多證據皆顯示C肝病毒感染與宿主的脂肪、葡萄糖以及胰島素的代謝有密切的關聯性。針對C肝病毒感染與宿主血清脂肪特徵以及肝臟脂肪變性的關係，國外的研究發現C肝的病毒基因型扮演重要角色，不同C肝病毒基因型與宿主的代謝特徵有不同的關連性。譬如被C肝基因型第三型病毒感染者的C肝病毒量與患者肝臟脂肪變性的嚴重程度有關，然而同樣的現象卻無法在非基因型第三型病毒感染者中被觀察到<sup>184, 185</sup>。此外代謝症候群與C肝患者肝臟脂肪變性的關聯性也因不同病毒基因型感染而有差異，譬如代謝症候群對C肝非基因型第三型病毒感染者的肝臟脂肪變性影響較大，與C肝病毒量較無關聯<sup>186</sup>。因此許多證據皆顯示，C肝基因型第三型與非第三型病毒感染對宿主代謝表現的影響上有很大的差異性，然而對於亞洲地區最常見的C肝病毒基因型第一型以及第二型感染患者血清代謝特徵與C肝病毒感染的關係性，目前仍不清楚。因此了解C肝病毒基因型第一型以及第二型感染與宿主血清中代謝特徵的關係性，就成為非常重要的研究課題。針對此一重要問題吾人收集並分析531位遭C肝基因型第一型或第二型病毒感染的慢性C肝患者之臨床及病毒學資料，並以統計學的分析方法，比較患者血清中C肝病毒量與宿主臨床特徵——特別是血清代謝特徵——的關係。吾人發現，患者的C肝病毒量與血清中的脂肪特徵，包括血清總膽固醇以及三酸甘油酯的濃度，存有一比例性的關係。這個發現同時給予了「C肝病毒與宿主脂肪代謝存有交互作用」的假說一個直接的支持性證據。

進一步分析不同C肝基因型病毒對宿主脂肪代謝的影響，並以多變項回歸方法分析各種臨床因子與C肝病毒量的關係時發現：C肝基因型第一型病毒量與性別、肝臟組織學的發炎程度、肝臟纖維化嚴重度以及肝臟



脂肪變性有明顯相關性，但是 C 肝基因型第二型病毒量則與血清中總膽固醇濃度、GGT 值以及胰島素抗性有顯著的關聯性。因此 C 肝病毒基因型第二型感染者的 C 肝病毒量與宿主的血清脂肪特徵間存有正比例的相關性，但是在 C 肝病毒基因型第一型感染患者的血清中卻無法觀察到兩者的相關性。值得注意的是，吾人的研究亦觀察到遭 C 肝基因型第一型病毒感染患者的血清中病毒量與患者肝臟脂肪變性嚴重程度間存有顯著的反相關性。因此吾人的研究結果透露出幾個重要訊息：第一、不同 C 肝病毒基因型感染與宿主代謝反應的交互作用是不一樣的。第二、雖然過去傳統上認為 C 肝基因型第一型病毒所感染患者的肝臟脂肪變性應該是經由血清中的脂肪特徵或胰島素抗性所造成的，然而吾人的研究結果似乎顯示應該存有其他可能的途徑造成患者的肝臟脂肪變性。第三、不同的 C 肝病毒基因型應該可以藉由不同基因型特異的病毒蛋白、或是與宿主代謝產生不同的交互作用，或是其他目前仍未知的機轉來引起肝臟脂肪變性或影響宿主代謝反應。

許多證據皆顯示脂蛋白(lipoprotein)會與C肝病毒產生作用。最近的研究也指出，與脂蛋白結合的C肝病毒顆粒可以在低密度脂蛋白受體(low-density lipoprotein receptor, LDLr)<sup>187</sup>，高密度脂蛋白受體以及 scavenger receptor class B type I (SR-BI)的協助下進入細胞內來感染細胞<sup>188, 189</sup>，而oxidized LDL (oxLDL)則可以阻止C肝病毒進入細胞<sup>190, 191</sup>。另一方面，雖然C肝病毒合成許多病毒蛋白於細胞質中，但是每種病毒蛋白都會以其特定的方式固定在細胞膜上。目前研究認為C肝病毒可能藉由細胞脂質因子以及與細胞膜相連脂肪小滴(lipid droplet)的協助下進行病毒的複製<sup>192</sup>，然而對於這些細胞脂質因子的真正影響機轉，譬如是否可以協助C肝病毒進入細胞內，或是影響細胞的複製仍不清楚。吾人的研究發現：血清中C肝病毒量與三酸甘油酯及總膽固醇濃度成正比例關係，暗示血清的脂肪因子可能扮演協助C肝病毒顆粒複製的角色。此外吾人亦觀察到較瘦C肝患者血清中C肝病毒量與總膽固醇及HDL濃度成一反比例的關係，一方面給予了C肝病毒感染與膽固醇代謝關聯性假說一支持性的證據，另一方面也顯示出SR-BI/HDL及LDLr在C肝病毒感染中可能扮演不同的角色。

最近的研究發現，當 C 肝患者有較高的血清總膽固醇以及 LDL 濃度時

對於抗病毒治療藥物會有較好的效果<sup>193</sup>，吾人研究亦發現 C 肝病毒感染與血清總膽固醇濃度及血清三酸甘油酯濃度有密切的關係，除暗示著病毒本身複製與總膽固醇與三酸甘油酯間存在著交互作用，更支持著假說——血清中的脂肪特徵或是調控宿主的脂肪特徵可以影響 C 肝病毒的複製——的正確性。至於血清三酸甘油酯濃度與 C 肝病毒感染的關連性，可能還與 C 肝病毒核心蛋白影響肝臟合成及分泌極低密度脂蛋白 ApoB-containing very low density lipoproteins (VLDL)<sup>194</sup> 的作用有關，進而造成三酸甘油酯囤積在肝細胞內，產生肝臟脂肪變性，並使慢性 C 肝患者有較健康者或其他疾病對照者為低的血清三酸甘油酯濃度的臨床表現。未來需要進行更多的實驗研究以了解其真正的作用機轉。

#### 第四、調控與影響C肝患者代謝的其他重要臨床因子。

從前面的討論已知 C 肝病毒感染及宿主代謝因子間存有相當複雜的病態生理交互作用，並且發現 C 肝病毒的基因型在這交互作用中扮演重要角色，然而是否有哪些常見的臨床因子會影響兩者的關係呢？临床上已知慢性 C 肝病毒的感染與血清 ALT 值有很密切的關聯性，最近研究也發現宿主的代謝因子會影響肝臟疾病患者的 ALT 值<sup>195,196</sup>，然而對於 ALT 值是否可以影響 C 肝患者的代謝因子則不清楚。雖然 C 肝患者在临床上常常可以觀察到有較其他疾病患者或是健康對照組為低的血清總膽固醇濃度，但是吾人的研究發現：兩者的關係只有當 C 肝患者的 ALT 值高於正常值上限時才會變得較為顯著。由於 ALT 值為肝臟細胞壞死與發炎的重要指標，而發炎與壞死已知可以引起並影響身體內的許多重要反應，甚至包括細胞脂肪激素的分泌以及胰島素抗性產生，因此吾人可以相當合理的推論：肝臟發炎程度以及 ALT 的值高低必然在慢性 C 肝病毒感染所相關的脂肪及葡萄糖代謝異常上扮演相當重要的角色。而吾人的研究結果也發現因 C 肝病毒感染所引起的肝功能異常狀態，譬如不同的 ALT 值或是肝臟發炎的程程度，似乎可以使宿主血清的代謝特徵產生不同的變化，正好給予了此一推論支持性的證據。

除了ALT值以及肝臟的發炎狀態外，過去的研究已發現肝臟組織學的

變化，特別是肝臟纖維化的程度，會影響C肝患者的胰島素抗性以及血清中的脂肪特徵，因此吾人進一步檢視肝臟組織學變化——包括肝臟纖維化程度、發炎程度以及肝臟脂肪變性的嚴重度——對C肝病毒與宿主代謝特徵關係的影響。與已知的研究結果相類似<sup>197, 198</sup>，吾人亦觀察到肝臟組織學的發炎程度與血清中C肝病毒量濃度有正比例關係。然而不同於已知的研究結果<sup>184</sup>，吾人觀察到肝臟脂肪變性與血清中C肝病毒量濃度成反比例關係。這不同的觀察結果可能是因為吾人使用不同的脂肪變性評估指標，並且所研究的對象為C肝基因型第一或二型病毒所感染的患者，並非基因型第三型病毒，而目前的許多報告皆指出C肝基因型第一與二型病毒所感染患者之肝臟脂肪變性主要與BMI、代謝症候群以及非酒精性脂肪肝炎有關。此外由於已知肝臟脂肪變性會加速C肝患者肝臟纖維化變化的進展<sup>186, 198</sup>，因此吾人的研究亦發現血清中C肝病毒量濃度與肝臟纖維化變化的進展成反相關性。至於是否C肝基因型第一及二型病毒與基因型第三型病毒有不同的肝臟脂肪變性作用，甚至可以減少患者的肝臟脂肪變性，仍需更進一步研究以釐清。

吾人進一步分析台灣C肝患者胰島素抗性、脂締素濃度、肝臟脂肪變性、以及肝臟纖維化的關係時也發現，雖然胰島素抗性與肝臟脂肪變性及血清中脂締素濃度有正比例的關連性，肝臟脂肪變性與肝臟纖維化進展變化之間也有顯著相關性，但是吾人並沒有在研究中觀察到胰島素抗性與肝臟纖維化間存有顯著的關聯性，這可能是因為台灣的C肝患者主要為基因型第一型病毒所感染，雖然肝臟纖維化可以透過肝臟脂肪變性產生，但是C肝基因型第一型病毒所感染患者的肝臟脂肪變性主要是受代謝因子所影響<sup>186</sup>，胰島素抗性只佔基因型第一型病毒所感染患者肝臟脂肪變性的部分原因，因此無法觀察到胰島素抗性與肝臟纖維化間的明顯關聯性。此外肝臟脂肪變性進展到肝臟纖維化需要一段時間以及其他因子的協助(second hits)，因此無法在基因型第一型或第二型病毒感染患者中觀察到胰島素抗性與肝臟纖維化進展變化之間的直接關係是合理的。

## 第五、代謝因子對C肝患者肝臟纖維化的影響

目前已有許多證據顯示C肝病毒感染與宿主代謝之間有密切的關聯性<sup>199-201</sup>，然而兩者的關聯性在不同C肝病毒基因型的感染時是不一樣的<sup>193, 202-205</sup>。雖然宿主的代謝特徵會影響C肝病程以及肝臟纖維化的進展，但是C肝病毒基因型對C肝與宿主代謝的關聯性可以有不同的影響作用，因此不同的C肝病毒基因型是否也會對C肝病程與肝臟纖維化的進展也有不同的影響力呢？為了明瞭在不同的C肝病毒基因型感染下，宿主代謝因子對C肝患者肝臟纖維化進展的影響作用是否不同，吾人針對台灣慢性C肝基因型第一型或第二型病毒所感染的患者之臨床代謝特徵以及肝臟組織學資料進行回溯性的研究分析，並將患者的臨床代謝特徵、肝臟組織學資料、病毒學特徵、生化學特徵放入同一個統計模式中進行研究分析。吾人發現在不同C肝病毒基因型感染下(基因型第一型與第二型)，宿主代謝因子對患者肝臟纖維化進展的影響作用是不一樣的。該研究結果不但對於宿主代謝特徵影響C肝患者肝臟纖維化的進展提供了一個臨床證據，也對於C肝病毒感染可以直接影響宿主代謝反應的假說，由C肝病毒基因型差異性的角度，提供了一個有力的證據。

在此研究的單變項分析中，吾人發現糖尿病、肥胖、較嚴重的肝臟脂肪變性、ALT值、較低的血清總膽固醇濃度、較低的血清LDL濃度與較嚴重的肝臟纖維化有密切關係。值得一提的是，吾人觀察到血清中LDL濃度與肝臟組織纖維化的嚴重程度成明顯地反相關性，除此之外吾人的研究報告與先前其他學者的報告相當吻合<sup>65</sup>。由於肝臟星狀細胞被活化後(activated hepatic stellate cells, HSCs, 為肝臟損傷時最主要的膠原蛋白製造細胞)<sup>206</sup>，可以表現CD81、LDL receptor以及C1q receptor的mRNA，此三者目前皆被認為可能是C肝病毒的受體(putative HCV receptors)<sup>207</sup>，因此吾人的研究暗示著C肝病毒蛋白可能藉由LDL受體與HSCs產生交互作用以影響肝臟的纖維化產生。另一方面，目前已知宿主的胰島素抗性以及脂肪變性會影響C肝患者肝臟纖維化的進展，許多研究報告甚至指出當慢性C肝患者接受治療達到SVR後，原本患者血清中的脂質異常或高血糖的現象都會恢復到較為正常的狀態<sup>127, 208</sup>，然而這些代謝變化能夠影響纖維化的生成作用仍不清楚，未來有待更多研究的進行以闡明其背後的真正機轉。

以多變項分析後吾人發現：C肝基因型第一型或第二型病毒所感染患

者的空腹血糖值與肝臟纖維化嚴重程度成一顯著的正相關性，但是與患者胰島素抗性(HOMA-IR index)指標的高低，或胰島素抗性(HOMA-IR index value > 2.4)無明顯關聯性。雖然先前其他學者的研究結果認為胰島素抗性與肝臟脂肪變性<sup>209</sup>或肝臟纖維化進展<sup>210</sup>有密切的關聯，然而吾人的研究結果似乎顯示胰島素抗性(HOMA-IR index)指標與肝臟纖維化進展間並沒有關聯性。但是吾人的分析中有三個地方必須要注意：第一、與其他臨床因子相比較時，吾人分析模式中的血清中總膽固醇濃度以及肝臟發炎壞死嚴重程度對於肝臟組織纖維化的影響力相對較大，因此在多變項的分析模式中可能造成干擾的效果(confounding effects)而降低胰島素抗性與其他因子對肝臟纖維化的影響性。第二點、吾人的分析中可以觀察到C肝基因型第一型病毒所感染患者的空腹血糖值高低是肝臟纖維化嚴重程度(advanced hepatic fibrosis)的一個重要預測因子(adjusted odds ratio is 31.18)。第三、一般而言，許多代謝或肝臟疾病的表徵都須經過好幾年的病程變化後才會變得較為明顯而可以在臨床上被觀察得到。譬如，本研究中對於慢性C肝病毒感染定義為C肝抗體陽性以及血清中C肝病毒RNA陽性至少六個月以上。然而對於某些疾病的表徵而言，六個月的觀察時間可能仍太短而不足以在臨床的分析中得到一個顯著且肯定的相關性結果。儘管上述的幾個論點，吾人的研究結果仍然顯示出胰島素抗性的存在以及胰島素抗性可以影響C肝基因型第一型病毒所感染患者肝臟纖維化的進展變化。此外，吾人的研究雖然顯示胰島素抗性(HOMA-IR index)指標無法被用來預測C肝患者肝臟纖維化的進展變化，但是暗示著應該存有一個空腹血糖濃度的閾值(a threshold effect of hyperglycemia)來預測肝臟纖維化的進展變化。

進一步檢視不同C肝病毒基因型感染下宿主代謝因子對C肝患者肝臟纖維化進展的影響性時，吾人發現較嚴重的肝臟纖維化(advanced hepatic fibrosis)在C肝基因型第一型病毒所感染患者中與較高的空腹血糖值有關，然而在C肝基因型第二型病毒所感染的患者中，嚴重肝臟纖維化則與較高的BMI值有關。由於高血糖與高胰島素血症可以藉由調升結締組織生長因子(connective tissue growth factor, CTGF)基因的表現<sup>81</sup>，刺激活性氧分子(reactive oxygen species, ROS)的製造，活化NADPH oxidase、磷酸化(phosphorylate) MAP kinase以及刺激HSCs來製造第一型膠原蛋白(type I

collagen)<sup>211</sup>使肝臟纖維化產生，因此吾人合理的推論認為C肝基因型第一型病毒的特異蛋白應該會與這些基因、酵素或分子產生很重要的交互作用。另一方面，由於肥胖可以引起慢性的發炎反應，並且可以藉由TNF-alpha<sup>212</sup>、改變肝臟細胞的再生作用或是活化肝臟的progenitor cells<sup>113</sup>來引起肝臟纖維化產生，因此吾人合理的推論認為C肝基因型第二型病毒的特異蛋白應該會與TNF-alpha或肝細胞再生作用訊息傳遞途徑上的基因或分子產生交互作用。未來仍需要更多的研究投入以驗證吾人上述假說的真實性。

然而此回溯性世代研究中有幾個問題需要注意：第一、本研究乃是單一時間上橫斷面的研究設計(cross-sectional design)，因此其研究解果只能告訴吾人代謝特徵與肝臟纖維化的相關性。未來需要進行長期性的追蹤、縱向、並且有對照組的臨床試驗(longitudinal design and paired controls)才能清楚告知吾人兩者的真正因果關係。第二、研究中大部分C肝患者的肝功能ALT值為異常，65.9% 患者的ALT值超過正常值上限的兩倍，因此吾人的研究推論目前只能應用到肝功能ALT值異常的患者身上。第三、雖然降血糖藥物(hypoglycemic agents)、胰島素增敏劑(insulin sensitizers)、以及抗憂鬱藥物(anti-depressants)皆可能會影響研究的分析，然而對於本研究中的C肝基因型第一型與第二型病毒所感染的患者而言，兩組患者在這些藥物的使用上並沒有明顯的差異性。第四、吾人使用肝臟穿刺針進行肝臟切片檢查，並且至少取得完整、沒有分斷且 $\geq 18-20$  mm長度的肝臟組織來進行病理檢查以避免取樣的誤差。此外，所有的肝臟組織乃是由同一位已具有相當多年經驗的病理科專家來進行病理分析，以避免intraobserver variability以及可能因為不同病理科醫師的判讀所引起的不同觀察者間差異(interobserver variability)。然而肝臟組織切片本身的技術仍有先天性的缺點，對於肝臟組織學的病理評估上仍可能產生誤差、輕判並影響最後分析的結果，因此未來進行相關研究與檢查時，若能使用較先進、非侵襲性的肝臟組織學檢查方式以評估肝臟疾病與纖維化的嚴重程度時，應該會有較大的幫助。

## 第六、代謝因子對干擾素治療之C肝病毒動力學的影響。

C肝患者接受干擾素治療後的早期病毒動力學分析為目前C肝臨床治療上，最重要、也最常為臨床醫師們用來評估治療效果的方法。藉由C肝患者早期病毒動力學資料的分析，目前吾人可以準確地預測出病人對於干擾素相關治療的可能療效。譬如一個病人若是經過了12週的干擾素相關治療後，仍然無法使血清中C型肝炎病毒量下降為原病毒量的百分之一時，吾人將可以準確地預期這位患者的C肝治療將會失敗(準確度達97%以上)。此外運用C肝病毒動力學模式以及病毒量變化的資訊，吾人還可以模擬病毒與宿主的互相影響，更加明瞭慢性C肝病毒感染的自然病史，還可以預測治療藥物或病毒與宿主間交互作用的可能機轉，並且設計及給予患者個人化的抗病毒藥物治療。因此了解各種臨床因子與C肝病毒早期病毒動力學的關係，就成為非常重要的研究課題。

吾人過去在碩士班期間於高嘉宏老師的指導下，曾經針對台灣接受長效型干擾素合併口服雷巴威林治療之慢性C肝患者早期病毒動力學變化做初步的分析研究。吾人於2003年四月至2004年六月間，觀察六位接受24週長效型干擾素合併口服雷巴威林治療之慢性C肝患者的病毒量動力學變化資料，並且利用患者治療期間的C肝病毒量以及ALT值的變化，估計台灣C肝患者的病毒動力學參數資料。吾人發現台灣C肝患者的 $\epsilon$  (抗病毒藥物抑制C肝病毒製造的效果估計參數，effectiveness at inhibiting viral production, 0.4128-0.9904)以及 $\delta$  (已遭C肝病毒感染之肝臟細胞的減少速率，loss rate of infected cells, 0.0019-0.1245)兩種參數值與西方國家白種人的報告數據相似，然而台灣患者在接受治療的第七天至第十四天時C肝病毒量Log值的下降程度為0.15至1.21，而且所有患者在接受治療的十二週後都檢測不到病毒量。因此該研究暗示著：於接受干擾素相關藥物治療的早期時，台灣C肝患者較西方白種人患者有較大幅度的C肝病毒下降量，並且有較高比率的C肝患者已經檢測不到血清中的病毒量<sup>213</sup>。

為了明瞭各種臨床因子與C肝病毒早期病毒動力學的關係，吾人進行一臨床前瞻性研究，收集並分析台灣145位接受長效型干擾素合併雷巴威林治療之慢性C肝患者的臨床資料以及治療期間患者血清中C肝病毒量的數據變化。吾人比較C肝患者早期病毒動力學變化數據與臨床各種參數的關係後發現：身體質量指數(BMI)以及C肝病毒的基因型與患者接受治療

後兩天時之 C 肝病毒下降量有關，治療前的 C 肝病毒量以及高密度膽固醇脂蛋白濃度(HDL)則與患者接受治療後第一個月時的 C 肝病毒下降量有關。另外吾人也發現，C 肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量、BMI 以及肝功能 ALT 值等臨床參數與快速病毒反應(RVR，也就是 C 肝患者接受治療後第一個月時檢測不到 C 肝病毒量)有關。使用多變項回歸分析後發現，C 肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量、與宿主代謝有關的 BMI 和 HDL 以及肝功能 ALT 值等五個臨床參數和患者接受治療早期時的 C 肝病毒下降量有關。值得注意的是，只有 C 肝病毒的基因型、治療前的 C 肝病毒量以及治療第 28 週時的 C 肝病毒下降量等三個臨床參數與 C 肝患者接受治療後的持續病毒學反應(SVR，也就是臨床上最後判定 C 肝患者是否能夠治療成功)有關。此外吾人亦發現 RVR 以及治療前的 C 肝病毒量在預測 C 肝基因型第二型病毒所感染患者的 SVR 上扮演非常重要的角色。由於不同時間點的病毒下降量暗示著不同的作用機轉，譬如治療後兩天的病毒下降量主要與血清中 C 肝病毒的清除速率有關，治療後第二至第一個月時的病毒下降量主要與肝臟中已被感染肝臟細胞的清除速率有關。因此本研究的結果不但指出了上述各種臨床參數對於 C 肝患者治療時病毒學反應的可能影響外，也暗示著可能的致病機轉及其可能影響 C 肝患者治療效果的作用時間點，提供未來研究與臨床治療試驗的研究方向。此外本研究更以證據顯示，利用臨床上 C 肝患者的病毒基因型、治療前與第 28 週時的 C 肝病毒量資料將可以更精確地預測出患者對干擾素相關抗病毒藥物治療的病毒學反應。

根據患者 C 肝病毒量時序性變化資料的分析後，吾人發現 C 肝病毒基因型為患者接受干擾素相關治療時早期病毒量下降(第二至第二十八天的病毒下降量除外)的最重要獨立預測因子。按照 C 肝患者接受干擾素相關治療後病毒動力學之數學—兩階段病毒量下降—模式<sup>44</sup>的機轉分析，吾人可以推論：C 肝基因型第一型或第二型病毒所感染的患者在 SVR 的差異性，主要為兩種基因型病毒感染在病毒動力學第一階段的病毒量下降時就已經產生顯著的差異性。C 肝病毒基因型不但是早期病毒動力學的重要預測因子，也是預測 SVR 的最重要獨立因子。在控制患者治療前的 C 肝病毒量以及第二至第二十八天病毒下降量等兩個重要 SVR 預測因子來進行



分析時，病毒基因型依然為預測 SVR 的最重要獨立因子<sup>32</sup>。第二、「治療前的病毒量」被發現是第二至第二十八天的病毒下降量以及 RVR 的獨立預測因子，暗示著治療前病毒量對於 C 肝患者治療效果的影響，不僅是反應較低治療前病毒量可以有較好的療效外，也指出治療前病毒量的高低可能會影響到病毒動力學的第二階段，也就是患者對於已感染 C 肝病毒肝臟細胞的清除速度。

至於其他臨床因子與病毒動力學的關係是如何呢？由於已有許多證據支持 C 肝病毒感染與脂質代謝的關聯性<sup>214-216</sup>，因此病毒動力學的知識應該可以令吾人更加清楚明瞭肥胖及脂質代謝與 C 肝病毒感染的交互作用。吾人發現 BMI，一個常被使用來評估患者肥胖以及代謝的臨床特徵，可以作為第二天病毒下降量以及第二十八天病毒下降量的獨立預測指標，而血清中的 HDL 濃度則可以作為第二至第二十八天病毒下降量的獨立預測指標。因此吾人合理推論肥胖及脂質代謝特徵與 C 肝病毒感染間存有交互作用，並且認為該交互作用應發生在 C 肝病毒感染後的 28 天內。然而其背後的機制，包括是否會影響血清中 C 肝病毒的清除或是已被 C 肝病毒感染的肝臟細胞清除速率，則仍待未來更進一步的研究以釐清。

雖然已有許多證據顯示肝臟組織學為 C 肝患者接受治療後是否可以達到 SVR 的重要評估因子<sup>217</sup>，然而肝臟組織學對於 C 肝患者病毒動力學的影響目前仍不清楚。吾人的研究發現血小板的數目(為一個肝臟纖維化程度的評估指標)<sup>218</sup>為 RVR 的預測指標( $P=0.052$ )，肝臟的纖維化程度則為 SVR 的重要預測指標，因此吾人認為肝臟組織學變化對於 C 肝患者的病毒動力學應有重要的影響作用。曾有研究學者提出假說，當肝臟的組織與結構遭到構扭曲時，肝臟細胞與藥物的接觸機會將會減少，進而導致抗病毒藥物的治療效果降低<sup>219</sup>。吾人的研究結果不但給予了這假說一個支持性的證據，並且強化了肝臟組織學纖維化預測 SVR 的重要角色。此外吾人亦發現血清 ALT 值為 RVR 的重要預測因子。由於較高的 ALT 值代表著較嚴重的肝臟發炎或壞死，以及較強的免疫作用。因此血清 ALT 值與 RVR 的密切關聯性亦同時告訴吾人，宿主的免疫作用在 C 肝早期病毒動力學上應該扮演著相當重要的角色。

最後，吾人將患者接受治療早期時的病毒下降量加入統計模式中分析

後發現，C 肝病毒基因型、治療前的 C 肝病毒量以及治療第 28 週時的 C 肝病毒下降量等三個臨床參數，為 C 肝患者接受治療後是否能夠達到持續病毒學反應(SVR)的最重要獨立預測因子。吾人的研究結果不但給予慢性 C 肝患者治療的新概念——治療期間的病毒學反應(on-treatment virological response)為 C 肝患者接受抗病毒藥物治療時最準確的預測因子——一個支持性的證據，亦指出 RVR 以及治療前的 C 肝病毒量為預測 C 肝基因型第二型病毒所感染患者將來是否會有 SVR 的最重要預測指標。吾人發現，C 肝基因型第二型病毒感染的患者中，有較低的治療前病毒量以及 RVR 者，都可以在治療最後追蹤結束時達到 SVR；若是沒有達到 RVR 時，將無人可以達到 SVR。此外吾人的研究亦指出，當 C 肝基因型第一型病毒感染的患者在治療第十二週檢測不到病毒量(或是無法達到 cEVR)時，在治療最後追蹤結束時將有很高的機會達到 SVR。因此 RVR 應為 C 肝基因型第一型或第二型病毒感染患者接受標準治療後是否會達到 SVR 的最重要預測指標<sup>220</sup>，然而是否需要對現今 C 肝基因型第一型或第二型病毒所感染患者的標準治療以及評估流程做調整，則有待未來累積更多的臨床研究證據以闡明。

然而吾人的病毒動力學研究中有幾個重要的研究限制，第一、所有 C 肝患者在第一週時皆接受單一劑的長效型干擾素皮下注射，而非長效型干擾素合併雷巴威林的標準治療，因此治療前七天的病毒學反應應為單一劑長效型干擾素的效果，而第七天後的病毒學反應才是長效型干擾素與雷巴威林合併治療的效果。此外本研究所使用的口服雷巴威林劑量乃是按照體重來做調整，並非固定不變的標準治療劑量。因此不同的研究設計將影響本研究病毒動力學的分析結果，也會減少與其他類似研究的可比較性<sup>221</sup>。第二、先前台灣進行的研究發現，台灣 C 肝患者較西方白人的 C 肝患者有較好的病毒學反應(在接受六個月長效型干擾素合併雷巴威林的治療後，C 肝基因型第一型病毒所感染的台灣患者可以有高達 65.8%的 SVR)<sup>222</sup>。此外最近的研究也指出，C 肝基因型第二型病毒所感染的患者在接受較短的 16 週治療後，仍可以達到與 24 週治療相同的療效<sup>188</sup>。因此台灣健保局(the Bureau of National Health Insurance)在最初只給予 C 肝基因型第一型病毒感染的患者 24 週長效型干擾素合併雷巴威林的療程，並不是國際上標準

的 48 週療程。因此本研究中只有 43 % 基因型第一型病毒感染的患者接受了 48 週的標準療程，有 57% 第一型病毒感染的患者接受了 24 週的療程。第三、C 肝病毒下降量會受到 PCR 所能檢測的最小數值(亦即檢測不到 C 肝病毒量，HCV RNA negativity)所影響，因為病毒下降量的數值永遠無法超過治療前 C 肝病毒量與 PCR 所能檢測最小數值的差值。然而「C 肝病毒下降量」可以較現階段臨床上所常用的評估標準——「檢測不到 C 肝病毒量」，提供吾人以及患者接受治療期間更多病毒學反應的相關資訊。因此同時檢視這定性(檢測不到 C 肝病毒量)與定量(C 肝病毒下降量)的測定結果，將可以提供醫師們更多有用的臨床資訊。第四，「患者被 C 肝病毒感染時間的長短」被認為是評估治療病毒學反應的一個重要指標，但是考慮到可能產生回憶偏差(recall bias)影響結果，吾人並沒有將其納入此次的研究分析中。

總結吾人的臨床研究發現：慢性 C 肝基因型第一型或第二型病毒感染患者較健康成人有較低的血清血脂肪特徵以及較高的脂締素濃度。C 肝病毒量與血清中胰島素抗性、三酸甘油酯以及總膽固醇濃度有顯著的比例性關係，並且 C 肝病毒感染與宿主代謝的關係會受到病毒基因型、ALT 值、患者的 BMI 以及肝臟組織學變化所影響。此外不同 C 肝病毒基因型與患者代謝的不同關係，也會影響 C 肝患者肝臟組織纖維化的進展。最後，慢性 C 肝患者接受干擾素相關治療時的早期病毒動力學變化，也會受到 BMI 和 HDL 的影響。鑑於現今標準 C 肝治療對於難治性 C 肝患者(difficult-to-treat)的治療效果仍然不佳，未來或許可以藉由調控患者的葡萄糖或脂質代謝，包括調節患者血清中的脂肪特徵或胰島素抗性(譬如合併降血脂藥物、糖尿病藥物、或是增加血清中的脂締素濃度)，來改善慢性 C 肝患者的治療效果，甚至減緩肝臟組織學纖維化的進展。另一方面，目前對於脂締素與胰島素抗性以對 C 肝患者肝臟組織學纖維化以及病程進展的病態生理機轉仍不清楚，或許未來可以藉由調控脂締素或胰島素抗性來改善患者的肝臟纖維化、甚至肝硬化。此外結合 C 肝患者的病毒動力學知識，除了可以協助吾人改善現今 C 肝標準治療的方式外，還可以使吾人對於胰島素抗性、脂締素、脂肪特徵、新型抗病毒藥物<sup>223</sup>以及新合併療法等的背後病態生理機轉有更充分的了解。

## 第七、分子層面的交互作用

吾人的細胞研究結果顯示，C 肝基因型第一型病毒的核心蛋白(HCV GT1 core protein)的表現會調降細胞內微粒體三酸甘油酯轉移蛋白(MTTP)基因以及其他與膽固醇合成有關基因的 mRNA 表現，但是會調升 ATP citrate lyase (三酸甘油酯合成的重要基因)以及 FDFT1(與 geranylgeranyl lipid 的合成以及 C 肝病毒的複製有關的基因)<sup>224</sup> 基因的 mRNA 表現。前者的調降作用可以解釋為何慢性 C 肝病毒感染時患者有較低的血清膽固醇濃度，而後者的調升作用則可以解釋為何慢性 C 肝患者有肝臟脂肪變性的表現，以及 C 肝病毒核心蛋白協助 C 肝病毒複製(de novo HCV replication)的可能機制。

首先，吾人以 Huh 7 肝癌細胞株為實驗平台驗證了 C 肝第一型病毒核心蛋白可以調降 MTTP 的 mRNA 的表現，暗示在 Huh 7 細胞內的 C 肝第一型病毒核心蛋白，如同過去在基因轉殖鼠的研究模式<sup>199</sup> 以及慢性 C 肝患者肝臟組織中的研究發現<sup>224</sup>，可以影響 MTTP 蛋白的活性。因此 C 肝病毒可能藉由降低 MTTP 的活性來影響肝臟合成以及分泌富含三酸甘油酯的 VLDL，以及 VLDL 顆粒的大小、進而引起與病毒相關的脂肪變性<sup>199</sup>。吾人的研究結果不但支持上述的假說，也顯示出吾人所使用的細胞學研究模式以及基於此模式所進行的後續實驗結果應是可以信賴的。根據在 C 肝基因型第一型或第二型病毒所感染患者的研究中發現，MTTP 基因的 mRNA 表現量與血清中的胰島素、HOMA-IR 胰島素抗性指標以及 BMI 值皆呈反比例的關係。此外 MTTP 基因的 mRNA 表現量也與患者血清中的 C 肝基因型第三型病毒量呈反相關性。另一方面，C 肝基因型第三型病毒所感染患者肝臟組織的 MTTP 活性也較其他基因型病毒所感染的患者低，並且 MTTP 活性與降低的血清中總膽固醇濃度、apo B 以及 LDL 濃度間存在有顯著的關聯性<sup>225-227</sup>。然而目前的研究結果對於上述關聯性仍無法提出一個合理的解釋機轉。此外吾人的研究亦發現當 Huh-7 細胞表現 C 肝病毒的核心蛋白時，細胞的總膽固醇濃度會較控制組相對降低，暗示除了 MTTP 基因的表現受到抑制外，細胞內膽固醇合成途徑上的相關基因也

可能受到 C 肝病毒核心蛋白的抑制，這也為臨床 C 肝患者血清中膽固醇降低提供了另一個可能解釋的原因。未來需要針對這些膽固醇合成途徑上的相關基因進行大量表現(overexpression) 或是基因剔除(knock out)的試驗以釐清可能的機轉。

第二、許多研究指出當 C 肝病毒感染時患者膽固醇合成相關基因的表現會被調升時<sup>226</sup> 並使細胞的膽固醇合成增加<sup>228</sup>。但是這樣的推論與臨床實際上所觀察到的現象並不一致，大部分的臨床研究報告皆顯示慢性 C 肝患者有較低的血清中膽固醇濃度<sup>188</sup>，然而吾人的研究報告卻發現，C 肝第一型病毒核心蛋白的大量表現可以調降 HMG-CoA synthase 以及 HMG-CoA reductase mRNA 的表現，似乎可以較為合理解釋慢性 C 肝患者常見的低血清中膽固醇濃度的臨床表現。比較特別的是，吾人亦觀察到 C 肝第一型病毒核心蛋白的大量表現也同時調升了膽固醇合成途徑上 FDFT1 基因 mRNA 的表現。由於 C 肝病毒需要四異戊二烯化蛋白質(geranylgeranylated proteins)來協助病毒的複製，而 geranylgeranylated proteins 乃是由膽固醇合成途徑上的甲羥戊酸途徑(mevalonate pathway)以及法尼基轉移酶(farnesyltransferase)所催化生成的<sup>229</sup>，而 FDFT1 乃是膽固醇合成途徑上的第一個特異酵素，為 mevalonate pathway 上 farnesyltransferase 下游的第一個酵素。因此當 C 肝第一型病毒核心蛋白的大量表現時，細胞內 FDFT1 基因 mRNA 的表現量增加是相當合理，這個現象代表雖然 C 肝病毒會調降膽固醇的合成，但是卻可以藉由調升 FDFT1 基因的表現來增加 geranylgeranylated proteins 的產生以及 C 肝病毒的複製，甚至可能藉由 C 肝病毒蛋白刺激調升 farnesyltransferase I<sup>227, 230</sup> 的表現(圖 15)。

第三、吾人驗證先前其他學者的研究發現並觀察到：當 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白大量表現時，ATP citrate lyase<sup>231</sup> 基因的 mRNA 表現量將會增加。ATP citrate lyase 為合成 cytosolic acetyl-CoA 最主要的酵素，而 acetyl-CoA 為許多重要生化合成途徑所必需的分分子，包括脂質合成以及膽固醇合成。然而與控制組相較時，吾人並沒有觀察到其他有關脂質合成相關基因的表現量有顯著增加。雖然許多報告認為 C 肝病毒可能藉由降低 MTP 的活性來影響肝臟合成以及分泌 VLDL，進而引起與病毒相關的脂

肪變性，但是 ATP citrate lyase 基因 mRNA 表現量的增加並進而造成脂質的合成增加，亦可做為 C 肝病毒核心蛋白引起肝臟脂肪變性的另一合理解釋。然而所有與脂質合成相關基因表現量的總和，才是決定吾人是否真正能在臨床上觀察到肝臟脂肪變性產生的可能原因，因此細胞三酸甘油酯的濃度高低才是肝臟脂肪變性是否出現的重要關鍵。吾人的研究發現，與控制組相比較時，當 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白大量表現時，細胞三酸甘油酯的濃度並沒有相對增加，甚至有降低的現象，暗示著 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白並不會增加細胞內三酸甘油酯的濃度來產生肝臟脂肪變性。目前臨床上的觀察研究發現，C 肝第一型病毒感染患者的肝臟脂肪變性主要與代謝症候群及其相關疾病有關，與病毒本身較無關係，因此吾人的細胞實驗結果正好符合於臨床上的觀察研究報告。至於是否可能存有其他因子降低脂質合成相關基因的表現量，有待未來進一步的研究分析以證實。

總之，吾人發現 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白可以影響肝臟細胞的脂質合成以及膽固醇合成，甚至降低細胞三酸甘油酯與總膽固醇的表現量。吾人研究結果解釋了部份 C 肝感染時所呈現的臨床代謝表徵，譬如：慢性 C 肝患者有較低的血清中膽固醇以及三酸甘油酯濃度，慢性 C 肝基因第一型感染患者的肝臟脂肪變性與病毒本身可能無關。未來需要以以不同種類的細胞株、C 肝傳染性病毒株(HCV infectious clones)、以及不同的 C 肝病毒基因型特異蛋白來驗證上述的研究結果的真實性。

## 伍、展望

醫學進步已使現今慢性C型肝炎病毒的感染逐漸成為一種可以治療、甚至治癒的疾病，但是慢性C肝患者雖然可以使用標準的長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來進行治療，仍有近四成以上的C肝基因型第一型病毒感染患者，以及兩成C肝基因型第二型病毒感染的患者對現今的標準治療仍然無效<sup>17, 18, 20, 232, 233</sup>。某些特殊族群，包括洗腎患者、肝硬化患者、嚴重的憂鬱症患者、器官移植者、自體免疫性疾病、較年長者、對先前干擾素治療失敗者、肥胖者以及胰島素抗性較高者，對於此標準治療的反應仍然不佳。此外至少有六成以上的C肝患者在接受治療的過程中會有不良反應發生<sup>17</sup>，甚至有四成以上的患者在接受治療時會產生較嚴重的不良反應。另外，這種標準治療的費用至今仍然相當昂貴。因此尋找出適當的治療前評估(預測)指標，使醫師在患者治療開始前就能先分辨出病人是否將來對於治療的效果較好、較差、可能會產生併發症或是需要合併其他的藥物治療，如此就可以先設計出適合於每位患者的治療計畫，給予每位患者最佳的個人化治療。譬如：縮短或延長治療的療程，甚至避免不需要的治療；減少不良反應與副作用的發生，甚至提早給予其他輔助藥物或治療以減少治療的不適及不良反應；合併新的治療藥物或是使用新種類的合併療法；使患者能以最少的費用、最短的時間獲得最高的治癒機會，並且減少所有可能的不良反應。

因此尋找出適當的治療前預測指標是現今C肝臨床治療上相當重要的研究課題，目前已有許多重要的臨床評估指標被發現，包括，病毒基因型、治療時的病毒學反應(RVR、EVR)、治療前病毒量、準種(quasi-species)的複雜程度、病毒ISDR(interferon sensitivity-determine region)、C肝病毒NS5A/B或Core基因多形性、患者IL28B或ITPA基因多形性、種族、胰島素抗性、肥胖、肝臟脂肪變性、肝纖維化與肝硬化、性別、年齡、治療方式、先前是否接受過干擾素治療、肝功能(r-GT, ALT)、同時合併有其他病毒感染以及腎臟功能異常等<sup>25-34, 234</sup>。進一步依據這些預測指標是否可以被調控，吾人可將其再分為可調控及不可調控等兩大類。不可調控的指標，包括，病毒學的相關因素(病毒基因型、病毒學反應、病毒量、準種、病毒

蛋白基因多形性)、年齡、患者的基因多形性、種族、肝纖維化與肝硬化、性別以及同時合併有其他病毒感染等，在臨床的應用上，主要可以作為患者治療前的評估，並作為藥物治療計畫的參考。

不可調控指標中最為大家所熟知的就是患者接受治療時的病毒動力學的評估。依據病患接受治療時的病毒動力學變化以及相關指標(RVR, EVR, ETVR)吾人可以預估患者的病毒學可能反應以及 SVR，甚至可以依據這些指標來延長或縮短合併治療的時間。根據吾人以及其他學者的研究結果，RVR 為目前評估接受標準 C 肝治療患者是否可以達到 SVR 的最重要指標<sup>232, 233, 235</sup>，而 EVR 則為患者是否應該停止標準 C 肝治療的最重要評估指標<sup>16</sup>。包括台灣大學與高雄醫學大學的研究團隊皆指出，如果 C 肝病毒基因第一型感染的患者在治療前的病毒量較低並且治療時有達到 RVR 者，將會有較高的 SVR 比率，並且該類患者接受 24 周治療的效果與接受 48 治療者相當<sup>232, 233</sup>。此外如果 C 肝病毒基因第二或三型感染的患者在治療時有達到 RVR 時，該類患者將有較高的 SVR 比率<sup>40, 236</sup>。高雄醫學大學的研究報告甚至指出：當 C 肝病毒基因第二型感染的患者治療中達到 RVR 時，接受 16 週治療的效果與接受 24 週治療者是不相上下<sup>237</sup>。因此 C 肝患者可以根據病毒基因型、治療前病毒量的高低以及治療中是否有達到 RVR 來進行個人化的臨床治療。雖然已有許多研究學者找尋出較 RVR 更早時間點的病毒學反應(譬如第一天、第一週或第二週等)指標，希望利用這些較早的病毒學指標取代 RVR 以評估接受標準 C 肝治療患者的 SVR 預測指標，然而目前對於這些較早指標的臨床應用上仍沒有達到共識。另一方面，吾人最近與交通大學合作建構適合於台灣人的 C 肝病毒動力學數學模式，以微分方程組來解構接受干擾素治療 C 肝患者之早期病毒動力學反應。初步分析結果發現，利用慢性 C 肝患者接受治療時前三天的病毒量變化，吾人可以模擬出 SVR 患者在接受干擾素治療的早期時有 C 肝病毒量短暫上升的變化。因此除了依據單一時間點的病毒量變化(如 RVR, EVR)外，分析慢性 C 肝患者接受治療時前三天 C 肝病毒量的變化模式(pattern)，似乎也可作為評估患者 SVR 的良好方法。此外 C 肝病毒量的變化模式還可以提供吾人較單一點病毒量變化更多的臨床資訊，除了可以預測患者的病毒學反應外，還可以藉由變化模式的分析來了解病毒與宿主的交互作用



以及變化。然而為使病毒量變化模式的分析評估更為精確，一方面需要藉助電腦科技的協助，另一方面則需要更多患者資訊的輸入與累積使模式更為穩定。相信不久的未來，吾人將能夠藉由單一時間點的病毒量變化以及病毒量變化模式的分析使C肝患者治療效果的預估更為精確。

另一個最近較大家所注意的不可調控指標就是C肝病毒本身的因素，包括基因型、病毒量、準種以及病毒蛋白基因的多形性。目前的研究發現，不同的C肝病毒基因型對於治療的效果是不一樣的。由歐美各國針對白種人的研究資料顯示，C肝病毒基因第一型對於長效型干擾素合併雷巴威林治療的反應為29%-52%，基因第二或第三型對治療的反應為79%-84%<sup>17, 18, 20</sup>。因此2009年美國肝臟醫學會(AASLD)治療準則建議：遭C肝病毒基因第一或第四型感染的患者需要接受48週的長效型干擾素與雷巴威林的合併治療，第二或三型患者的標準治療則為24週的合併治療<sup>16</sup>。然而由於C肝特異性標靶抗病毒治療藥物(specifically target antiviral therapy, STAT-C)的陸續加入以及不同種類合併治療方式與療程，根據病毒基因型的治療準則建議應該會在未來作大幅的修改，譬如，C肝患者將因為這些新型藥物的加入使得治療效果大為增加，未來對於各C肝病毒基因型標準療程的治療時間應該會較目前更為縮短。此外在合併各種效果更佳的治療藥物下，各病毒基因型治療的效果在可見的未來將可能都高達九成以上而無明顯的差異性。因此病毒基因型對於臨床治療的重要性將大幅減少，甚至其未來主要的臨床角色將被侷限於用來評估對治療效果較差的難治性病人以及特殊族群。另一方面，最近的研究已發現，在面對一些治療評估具有較強影響能力的因子時(譬如RVR以及IL28B基因相關之單核苷酸多形性)，許多過去已知治療預測因子的重要性將相對降低。吾人最近針對IL28B相關之單核苷酸多形性以及HCV Core基因多形性的分析研究發現，在RVR與IL28B基因相關之單核苷酸多形性的存在下，C肝病毒基因型以及HCV Core基因多形性在預測患者接受標準治療時的SVR上，似乎已經變得沒有重要性。然而其科學上的重要性並不會因此而減少，在C肝病毒自然病史的研究上，病毒學相關因子絕對佔有非常重要的角色。此外許多新型藥物的產生乃是根基於各種不同C肝病毒基因型以及病毒特異蛋白與宿主的交互作用機轉所設計出來，因此明瞭這些病毒因子將可以令吾人在未來設計出更好

的治療藥物，其相關知識也可以幫助吾人對於其他病毒與疾病的了解。

患者基因的單核苷酸多形性則是最近研究的重點，特別是在2009年幾個研究團隊藉由基因體關聯性的研究方式(GWAS)發現了*IL28B*基因多形性變化與C肝病毒的自然清除以及患者長效型干擾素合併雷巴威林治療反應間的相關性後<sup>146-149</sup>，各種與C肝患者臨床上或治療上重要的表現型(phenotype)相關的GWAS研究都在陸續進行中，希望能找尋出適當的單核苷酸多形性指標(SNP)來預測患者各種在臨床上或治療上重要的表現型，譬如，目前發現ITPA的基因多形性與C肝患者接受雷巴威林治療時的溶血性貧血有關<sup>238</sup>。雖然目前只有發現*IL28B*基因相關之SNP與不同族群C肝患者的干擾素治療反應有較顯著及一致性的相關性，然而*IL28B*基因相關之SNP只能解釋部分患者干擾素相關治療反應的差異性，將近六成的非洲人種、近三成的白種人及與將近一成的黃種人C肝患者，其*IL28B*基因相關之SNP是屬於對於治療反應較差的者<sup>146</sup>，因此需要尋找其他重要的SNP基因指標並配合*IL28B*基因相關之SNP來評估患者的治療反應，吾人相信未來許多其他重要的基因SNP評估指標將被陸續找尋出來。此外對於其他新型C肝治療藥物，*IL28B*基因相關之SNP是否仍能作為評估患者治療反應的良好指標，仍需要更進一步的研究以釐清。另一方面，除了C肝病毒的自然清除以及對於干擾素相關治療反應的評估外，對於C肝患者疾病的病程進展，包括肝炎、肝臟纖維化的變化、肝硬化以及相關併發症與肝癌等的評估指標，許多相關的GWAS研究仍在陸續進行中，配合許多基因指標的共同評估，相信未來對於C肝患者以及臨床醫師將能夠提供更多有用的資訊，這也將是未來研究的重要方向。

可調控的指標，包括，胰島素抗性、肥胖以及治療方式，在臨床的應用上，吾人可以調控這些指標，藉由改變這些指標來改善或增加治療的效果。譬如，可以加入調控胰島素抗性的藥物，配合食物或運動，甚至是降血脂或減肥藥物的治療，以及調整治療時間的長短，改用新型DAA藥物，或是合併新型抗病毒藥物與標準的長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來治療患者。

許多研究學者試著加入降血脂或血糖的藥物，配合標準的長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來治療C肝患者，希望能夠改善患者的病毒學反

應。雖然細胞學的研究顯示C肝病毒的複製會受到調控脂肪與葡萄糖代謝藥物的影響<sup>239</sup>，然而在使用降膽固醇藥物的人體臨床研究試驗結果上並沒有得令人滿意的結果<sup>240, 241</sup>。譬如，以每日20 mg的atorvastatin來治療C肝患者時，雖然患者血清中的膽固醇以及LDL濃度在接受治療後有顯著的下降，但是患者第四周與第十二週血清中的C肝病毒量並沒有因為藥物治療後就產生明顯的降低<sup>240</sup>。此外進一步合併HMG-CoA reductase inhibitors與標準治療進行臨床人體試驗時，目前仍沒有觀察到一致性的結果。譬如，合併使用Fluvastatin與長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來治療HIV與HCV基因型第1型病毒合併感染的患者時，雖然接受Fluvastatin合併治療的患者可以在RVR上被觀察到顯著的進步，但是在最後的SVR上有無加入Fluvastatin於合併治療中並沒有顯著的差異<sup>242</sup>。然而在小規模的觀察試驗中，加入Fluvastatin於合併治療中來治療C肝基因型第1型高病毒量感染的患者時，卻發現合併Fluvastatin與標準治療時可以有不錯的SVR<sup>243</sup>。因此加入HMG-CoA reductase inhibitors後可否確實可以使C肝患者SVR顯著的改善，仍待未來更進一步的研究。

另一方面，雖然目前在使用降膽固醇藥物合併治療的研究結果上還沒有得到一致性的結論，但是有關於使用降血脂藥物的人體臨床研究試驗上，似乎有較令人滿意發現<sup>244</sup>。在病例對照的研究中，15位C肝患者接受了口服bezafibrate (400 mg/day)八週的治療，並且與另外15位無接受治療的高血脂C肝對照組相較時，口服bezafibrate的治療組患者在血清的ALT值以及C肝病毒量上都有顯著的降低。此外有八位患者接受了32週的bezafibrate、interferon以及ribavirin的合併治療，其中四位患者達到了SVR。未來需要進行大規模的臨床試驗，並且合併標準治療來觀察加入bezafibrate的療效。

有關於使用調整胰島素抗性藥物合併標準C肝治療的研究上，目前也有令人興奮的發現。雖然在最初小規模針對先前曾接受長效型干擾素相關治療失敗之C肝患者的臨床試驗中(The INSPIRED-HCV study)，合併Pioglitazone與標準治療十二週後並沒有觀察到顯著的病毒學反應<sup>245</sup>。然而在後續的研究中，針對慢性C肝基因型第一型病毒感染患者，以Metformin配合標準的長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來治療已有胰島素抗性

的C肝患者時，發現C肝患者接受Metformin合併治療時可以有較好的病毒學反應<sup>61</sup>。在此一多中心隨機分派的試驗中，總共有59位患者接受Metformin的合併治療，另外有64位患者接受標準治療(peginterferon alfa-2a 180 microg/week與1000-1200 mg/day的ribavirin)。雖然接受合併治療的患者有較對照組為高的SVR(53% vs. 42%)，但是並沒有達到統計上顯著的差異性。進一步次分析時發現，女性患者對於Metformin的合併治療有較好的SVR反應(58% (15/26) vs. 29% (8/28)， $P = 0.03$ )。比較治療前十二週C肝患者的病毒反應時，接受Metformin合併治療的女性患者有較顯著的C肝病毒下降量(-4.88 (1.18) vs. -4.0 (1.44)， $P = 0.021$ )，但是在男性患者中則沒有觀察到顯著的差異性。另一方面，針對慢性C肝基因型第四型病毒感染患者，以Pioglitazone配合標準的長效型干擾素注射合併口服雷巴威林來治療已有胰島素抗性(HOMA-IR>2)的C肝患者時，發現C肝患者接受Pioglitazone合併治療時可以有較好的SVR以及病毒學反應<sup>246</sup>。在此隨機分派的試驗中，有48位C肝基因型第四型病毒感染以及同時有胰島素抗性的患者接受了Pioglitazone(30 mg/day)的合併治療48週，另外有49位患者接受48週的標準治療(Peg-IFN-alpha-2b/RBV)。該研究發現，接受合併治療的患者較對照組有較好的RVR(27.08 vs. 6.1%； $P=0.006$ ) 以及SVR(60.4 vs. 38.7%； $P=0.04$ )。此外接受合併治療的患者在胰島素抗性指標(HOMA-IR index)上較對照組在第24週時以及治療追蹤結束時都有明顯的下降(-1.8 +/- 0.3，-2.1 +/- 0.3 vs. -1.1 +/- 0.6，-1.3 +/- 0.7；兩者皆 $P=0.001$ )。相信在不久未來，將會有更多大規模合併調整胰島素抗性藥物與標準C肝治療藥物的臨床試驗結果出現，並對於現今標準C肝長效型干擾素注射合併雷巴威林治療的方式產生重大的影響。

比較有趣的是，假如將可調控的指標以及不可調控的指標放在一起時會產生何種的變化呢？目前C肝病毒臨床研究上最為重要的不可調控指標為患者*IL28B*基因多形性的變化，而可調控的指標則為患者的脂肪與葡萄糖代謝特徵，然而兩者間是否有任何的交集呢？如前所述，已有許多的臨床研究報告顯示，C肝患者接受干擾素治療後血清中的代謝特徵會產生明顯的變化，因此認為兩者之間存有密切的交互作用是相當合理的假設。由於代謝與免疫系統為生物維持生命運作的最基本系統，許多關於代謝以及

免疫反應或是營養及病源偵測的系統在各個生物物種的演化上皆維持相當穩定與不變，因此體內的代謝調節與免疫反應兩大系統間其實是有很大的重疊性，兩個系統的功能間會相互影響(highly integrated and dependent on the other)，因此可以將兩者視為一個恆定系統(central homeostatic mechanism)。此外依照胚胎發育學上的研究發現，免疫細胞與脂肪細胞其實是同源並且來自於同一個祖先，這也可以解釋為何免疫發炎反應時會影響到患者的代謝反應<sup>247</sup>。因此就演化與胚胎學的觀點而言，C肝患者細胞內脂肪及葡萄糖代謝反應的訊息傳遞鏈與干擾素訊息傳遞鏈間應該存有相當程度的交互作用。由於干擾素為人體免疫系統對病毒感染後反應所產生的蛋白，而interferon- $\lambda$ 與interferon- $\alpha$ 會藉由與不同受體的結合來活化細胞內的訊息傳遞途徑並且影響不同干擾素相關基因以抑制C肝病毒的複製<sup>153</sup>。如果細胞內脂肪及葡萄糖代謝的訊息傳遞與干擾素訊息傳遞鏈上存有交互影響時，臨床上除了觀察到干擾素治療所引起的代謝異常變化外，也應該可以觀察到*IL28B*基因多形性變化與患者血清中代謝特徵的關連性。此外C肝病毒的自然清除以及患者長效型干擾素合併雷巴威林治療反應間的相關性是否可能與患者的代謝訊息傳遞有關呢？根據吾人最近的初步研究結果顯示，當慢性C肝患者有不同的*IL28B*基因多形性變化時，與患者血清中的代謝特徵確實會有不同的關連性，然而這個研究結果還需要進一步的深入研究以及更多其他的相關證據來確實。

總結吾人的研究有下述發現：慢性C肝基因型第一型或第二型病毒感染患者較健康成人有較低的血清血脂肪特徵以及較高的脂締素濃度。C肝病毒量與血清中胰島素抗性、三酸甘油酯以及總膽固醇濃度有顯著的比例性關係，並且C肝病毒感染與宿主代謝的關係會受到病毒基因型、ALT值、患者的BMI以及肝臟組織學變化所影響。此外不同C肝病毒基因型與患者代謝的不同關係，也會影響C肝患者肝臟組織纖維化的進展。最後吾人發現慢性C肝患者接受干擾素相關治療時的早期病毒動力學變化，也會受到BMI和HDL的影響。另一方面在細胞學的研究上，吾人發現C肝基因型第一型病毒核心蛋白可以影響肝臟細胞的脂質合成以及膽固醇合成，甚至降低細胞三酸甘油酯與總膽固醇的表現量。因此吾人的研究一方面指出C肝病毒感染與臨床上患者的胰島素抗性、葡萄糖以及脂肪代謝和脂肪激素的

狀態有密切關係外，並且暗示在治療患者的C肝疾病時需要同時評估其代謝狀態及注意其他代謝疾病。此外吾人也將C肝病毒感染與代謝的關聯性與人體測量學、生化學、病毒學以及血清學等其他臨床常用指標相結合，希望能以較簡單與經濟的方式協助醫師們評估患者臨床C肝病毒的感染狀況及預後。吾人的臨床研究也證實單純應用簡單的病毒學反應及相關指標(病毒量、RVR以及病毒基因型)就可以協助大多數患者治療計畫的擬定與效果的評估，以較簡單與經濟的方式來評估C肝患者的臨床治療與預後，對於國家財政以及衛生單位C肝疾病的防治上將有重大的幫助及深遠的影響。另一方面，吾人在細胞學實驗的研究中對於臨床C肝基因型第一型病毒感染患者有較低血清中三酸甘油酯與總膽固醇濃度的可能機轉，以及C肝基因型第一型病毒感染患者有較低比率肝臟脂肪變性的原因提出了可能解釋。

鑑於現今標準C肝治療對於難治性C肝患者(difficult-to-treat)的治療效果仍然不佳，未來或許可以藉由調控患者的葡萄糖或脂質代謝，包括調節患者血清中的脂肪特徵或胰島素抗性(譬如合併降血脂藥物、糖尿病藥物、或是增加血清中的脂締素濃度)，甚至合併其他新型藥物，譬如C肝特異性標靶抗病毒治療藥物，以及重組不同種類的合併治療方式與療程，來改善慢性C肝患者的治療效果，甚至減緩肝臟組織學纖維化的進展，肝硬化與相關併發症的產生，以及肝癌的發生。另一方面，由於吾人的研究發現脂締素與胰島素抗性對C肝患者肝臟組織學纖維化以及病程進展上有重要影響，然而其病態生理機轉仍不清楚，或許未來可以藉由調控脂締素或胰島素抗性在臨床上改善患者的肝臟纖維化、甚至肝硬化產生，並且利用細胞學或動物的研究模式探討其病態生理機制。此外結合C肝患者的病毒動力學知識，利用數學方法以及電腦科技的協助下，除了可以協助吾人改善C肝的治療方式外，還可以協助吾人模擬C肝病毒與宿主所可能產生的各種交互作用，甚至可以模擬分析各類藥物對於C肝病毒以及宿主的影響，使吾人對於葡萄糖及脂肪代謝、胰島素抗性、脂締素、脂肪特徵、新型抗病毒藥物<sup>223</sup>以及各種合併療法等的各種病態生理機轉有更充分的了解。

現今醫學進步已使現今慢性 C 型肝炎病毒的感染成為一種可以治療、甚至治癒的疾病。臨床上依據不同 C 肝病毒基因型以及治療中的病毒

動力學變化，已經可以給予患者更有效率與更少副作用的個人化治療。令人興奮的是，許多種新型特異性標靶抗病毒治療藥物、新型干擾素相關製劑以及各種新型免抑調控藥物的陸續出現，加上目前標準的長效型干擾素及雷巴威林藥物治療，未來各種不同種類的合併治療方式都將陸續進入臨床試驗階段。然而新型藥物的費用一般都相當昂貴，並且需要經過較長期的臨床追蹤及觀察研究，探討可能產生的種種不良反應後，最後才能上市並且使用於患者的治療，因此由臨床試驗至一般大眾可以安全使用的等待時間都相當長久。相反地，目前臨床上已有許多長期被使用來治療代謝疾病的藥物，包括各種不同的降血脂藥物以及糖尿病控制藥物，這些藥物的使用以及安全性早已廣為醫師們所熟悉。一般而言，這些降血脂藥物以及糖尿病藥物相對於各種新型的抗病毒藥物都會較為便宜。因此利用調控宿主葡萄糖及脂肪代謝因子與 C 肝病毒的交互作用來增加治療的效果，相對新型抗病毒藥物而言會較為安全，費用也較低廉。由實驗室與臨床試驗研究至使用於治療一般患者身上的等待時間也相對較短，因此較新型抗病毒藥物的研究上更具優勢，值得更進一步深入研究。展望未來，吾人仍需累積更多的研究資料以闡明代謝特徵對於 C 肝病毒感染以及 C 肝患者臨床治療的影響。未來應該針對 C 肝病毒與代謝交互作用反應的可能相關宿主基因多形性變異做更深入了解，尋找出最適合於標準治療合併調控代謝藥物的預測指標，使未來 C 肝患者的治療變得更有效率、副作用更為減少並且更為符合經濟效益。

## 陸、論文英文簡述

To examine the influence of hepatitis C virus (HCV) infection on adipokines and host glucose and lipid metabolism, we conducted six studies to examine the underlying mechanisms by which HCV affects the host glucose and lipid as well as adipokines, and vice versa, from both clinical and molecular points of views.

### **1. The association of metabolic abnormalities with chronic hepatitis C: a case-control study**

The liver plays a pivotal role in nutrient and hormone metabolism; therefore, several metabolic abnormalities are common in liver disease. Hepatitis C virus (HCV) is a major causative agent of chronic hepatitis, liver cirrhosis, end-stage liver disease and hepatocellular carcinoma worldwide<sup>110, 166, 171, 248-259</sup>. However, clinical manifestations of HCV infection are heterogeneous and factors affecting liver disease progression remain to be fully elucidated.

Recently, there is increasing interest in the impact of chronic HCV infection on metabolic abnormalities, including glucose, lipid, cytokines, insulin resistance and adipokines. Although a body of experimental data from in vitro cell cultures and in vivo transgenic mice support the existence of interaction between HCV and host metabolic factors, the results from clinical and epidemiological studies remained controversial<sup>72, 76, 118</sup>. The inconsistencies may be due to small sample size, the selection of patients only



from hospitals or limited to hepatitis patients with cirrhosis, with diabetes, or to post liver-transplant. Although large population-based studies have been performed <sup>100, 260</sup>, the results still lack consistency and are limited to some metabolic factors.

Adiponectin, an adipokine, has been implicated in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), appears to have many favorable effects on glucose and lipid metabolism <sup>100, 260</sup>. It is positively correlated with insulin sensitivity and is decreased in obese and type 2 diabetic patients <sup>261</sup>. Adiponectin also antagonizes tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and modulates inflammatory responses <sup>173</sup>. In addition, adiponectin might have hepatic cytoprotective properties as improving hepatic steatosis and injury in animal models of NAFLD <sup>173</sup>. Our recent data further showed that adiponectin may correlate with hepatitis C viral factors at both serum and liver tissue levels <sup>174, 186</sup>.

Therefore, we examine the influence of adiponectin, glucose and lipid metabolism on chronic hepatitis C patients, and conducted a large case-control study with 500 HCV-infected index patients and 536 sex and age-matched controls.

To study the association of metabolic abnormalities with chronic hepatitis C, we conducted a case-control study with special emphasis on serum lipid pattern, fasting blood glucose and adiponectin. We enrolled 500 patients with chronic hepatitis C and 536 sex and age-matched controls. Unadjusted and adjusted associations of demographic and metabolic variables were estimated. We found chronic hepatitis C patients had higher alanine aminotransferase (ALT) and high-density lipoprotein-cholesterol levels, but lower total

cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low-density lipoprotein-cholesterol levels than controls. Stratifying ALT level according to its upper limit of normal, HCV infection was associated with younger age, female gender and higher TC levels in chronic hepatitis C patients with normal ALT levels, but with lower TC and lower TG levels in those with abnormal ALT levels. By using multiple logistic regression analyses for subjects with available adiponectin data, presence of HCV infection was independently associated with younger age, female gender, higher serum adiponectin and ALT level. In conclusion, metabolic profiles of chronic hepatitis C patients are affected by age, gender, serum adiponectin and ALT levels. Further longitudinal studies are needed to clarify the complex interplay between HCV infection and metabolic profiles.

## **2. The relationship between chronic hepatitis C virus infection and insulin resistance**

Insulin resistance is associated with fatty acids, obesity, dyslipidemia, glucose intolerance, hypertension, proinflammatory cytokines and adipokines<sup>68</sup>. In chronic hepatitis C, several lines of evidence have shown a close association between insulin resistance and liver fibrosis progression<sup>64, 262, 263</sup>. Recent studies also demonstrated a probable link between insulin resistance and poor antiviral response rate<sup>35, 264</sup>. Although a body of experimental data from in vitro cell cultures and in vivo transgenic mice support the existence of interaction between HCV and insulin resistance, the results from clinical and epidemiological studies remain controversial<sup>72, 118, 171, 248-250, 252, 253, 256</sup>. These

inconsistent observations are due to multiple factors, including limited sample size, different study designs, indirect causal relationship, lack of long-term follow-up after acute infection and lack of suitable animal models<sup>35, 175, 181, 265</sup>.

Adiponectin is known to serve as a modifier of insulin resistance and may harbor hepatic cytoprotective effects<sup>266</sup>. Adiponectin can improve hepatic steatosis and injury in a murine model and seems to induce insulin sensitivity and modulate inflammatory responses<sup>267, 268</sup>. Our previous studies have documented the correlation between adiponectin and hepatitis C viral factors as well as the response to antiviral therapy<sup>174, 181</sup>. Taking these data together, we therefore hypothesized that HCV infection could induce insulin resistance, and the interaction between HCV viral factors and insulin resistance may be related to the action of adiponectin. To prove this hypothesis, we conducted a study with special emphasis on the dose-response relationship between HCV viral load and insulin resistance index. The impact of HCV genotypes and serum adiponectin on this issue were also analyzed.

A total of 162 chronic hepatitis C patients with complete clinical data were enrolled. Among them, 94 received histologic examinations. Quantitative HCV RNA was assayed by a real time-polymerase chain reaction assay (PCR). Genotyping was done by reverse transcription PCR with type-specific primers. Pre-treatment IR index was determined by using homeostasis model assessment (HOMA) and index value of more than 2.4 was designated IR. Unadjusted and adjusted association of HCV RNA level and IR was further analyzed. In multivariate linear regression analysis, a dose-response relationship was observed between Log<sub>10</sub>HCV RNA level and the presence of IR. IR was positively correlated with body mass index, triglyceride, HCV RNA

and ALT levels, but negatively correlated with adiponectin level. Subgroup analysis stratified by HCV genotype showed that genotype 1 patients had significantly higher HOMR-IR index value and lower adiponectin levels. Histologic analysis showed that IR was positively associated with the severity of hepatic steatosis. In conclusion, our data indicate that higher HCV RNA levels are associated with the presence of IR in chronic hepatitis C patients. Further studies are needed to clarify the interplays between HCV infection, IR and adiponectin in an attempt to develop new adjuvant therapy for chronic hepatitis C.

### **3. The association between serum lipid profiles and chronic hepatitis C virus infection**

Although chronic hepatitis C virus (HCV) infection is an important cause of hepatocellular carcinoma<sup>2, 269</sup>, currently approved interferon-based treatment has many undesirable side effects and are not effective in a substantial proportion of patients, such as HCV genotype 1 patients<sup>270</sup>. Several factors have been used to predict the disease progression and therapeutic response in chronic hepatitis C (CHC) patients<sup>13, 204, 221</sup>, and approaches to adjust these factors to optimize anti-HCV therapy are undergoing<sup>78, 182, 240</sup>.

Current evidence and our previous studies have shown an association between HCV infection and diabetes mellitus, insulin resistance, hepatic steatosis as well as impaired lipid metabolism<sup>78, 204, 271</sup>, and indicated that lipid factors, such as steatosis and plasma lipid profiles, correlate with hepatitis C infection<sup>127, 194, 199, 200, 257, 271-273</sup>, liver fibrosis progression<sup>209</sup>, and may serve as

predictive factors of therapeutic responses in CHC patients<sup>193, 221, 274</sup>. However, several factors such as age, gender, obesity, alcohol consumption, diabetes mellitus, insulin resistance and hyperlipidemia may modify dyslipidemia and steatosis among CHC patients<sup>275, 276</sup>. Of note, lipid factors have been linked to HCV RNA replication in an in vitro model for HCV propagation<sup>230</sup>, and the lipid rafts, the scaffold for HCV RNA replication made mainly by cholesterol and sphingolipid<sup>277</sup>, and the lipid droplet, an organelle for the storage of neutral lipids, are critical for producing infectious viruses<sup>200</sup>. Moreover, an interaction between HCV infection and beta-lipoprotein metabolism is noted in clinical cases<sup>257</sup>; and different HCV genotypes, such as genotype 3 and non-3, have different associations with hepatic steatosis<sup>184, 185</sup>. However, the differential associations of lipid profiles with HCV genotype 1 and 2 infection remain largely unknown and deserves further studies.

Taking these lines of evidence together, we hypothesized that there exist genotypic differences on the association of lipid profiles and HCV RNA levels. Because HCV genotype 1 and 2 prevail in Taiwan, we thus investigated this association between these 2 genotypes, and used different analytic models to control the effects of various confounders.

Five hundred and thirty-one chronic hepatitis C patients infected by HCV genotype 1 or 2 were consecutively enrolled. Univariate and multivariate approaches were used to estimate the associations between demographic, metabolic, viral variables and HCV RNA levels. We found that higher serum triglyceride, total cholesterol and LDL correlated with higher HCV RNA level. In multivariate analysis, genotype 1 infection, severe hepatitis activity, milder hepatic fibrosis, higher HOMA-IR index and triglyceride level are associated

with higher HCV viral load ( $P < 0.05$ ). Sub-analysis on patients with lower BMI value showed higher HCV viral load was associated with higher HOMA-IR index and total cholesterol level ( $P < 0.05$ ). After stratification by HCV genotype, lipid profiles were significantly associated with HCV viral load in genotype 2 infection ( $P < 0.05$ ), but not genotype 1 infection. In conclusion, a proportional relationship is found between serum lipid profiles and hepatitis C viral load in patients with genotype 2 infection; however, whether manipulation of lipid profiles would improve the response to current anti-HCV therapy awaits further studies.

#### **4. The influence of HCV genotypes, especially genotype 1 and 2, on the association between metabolic profiles and hepatic fibrosis progression**

Several approaches have been used to predict the disease progression and therapeutic response in chronic hepatitis C (CHC) patients<sup>13, 28, 204, 278-280</sup>. Among them, adjusting the metabolic aspects of HCV infection has drawn much attention recently<sup>78, 182, 204, 240</sup>. Although metabolic derangements have been linked to severity of liver histology, such as hepatic steatosis, fibrosis progression, as well as hepatocellular carcinoma<sup>65, 83, 133, 275, 281-284</sup>, and an association of hepatic steatosis with liver fibrosis progression has been documented<sup>184, 185, 209</sup>. However, several factors such as age, gender, obesity, alcohol consumption, diabetes mellitus, insulin resistance, and hyperlipidemia may contribute to deranged metabolism as well as hepatic steatosis in CHC patients<sup>275, 276</sup>, and make the situations complicated. On note, the associations between diabetes mellitus, insulin resistance, lipid metabolism and HCV

infection<sup>194, 199-203, 273, 285</sup> are not the same among different HCV genotypes<sup>193, 204, 205, 286</sup>, and whether there exist different effects of HCV genotypes, especially between genotype 1 and 2, on the association of metabolic factors with liver fibrosis progression remains unclear.

Taking these lines of evidence together, we hypothesized the presence of HCV genotypic effect on the associations between metabolic factors and liver fibrosis progression in CHC patients. Because HCV genotype 1 and 2 prevail in Taiwan, we thus investigated this association between these two genotypes by using different analytic models to control the effects of various confounders. We consecutively enrolled 528 CHC patients infected by HCV genotype 1 or 2, and used univariate and multivariate approaches to determine the influence of HCV genotype on the association of metabolic characteristics with severity of liver histology. In univariate analysis, diabetes mellitus, obesity, higher grade of hepatic steatosis, HOMA-IR index, ALT level, but lower serum total cholesterol, and LDL level were associated with advanced hepatic fibrosis. Advanced hepatic fibrosis was associated with serum fasting blood glucose (adjusted odds ratio 13.72, 95% CI 2.15-87.7,  $p=0.006$ ), BMI (1.07, 1.01-1.13,  $p=0.027$ ), and total cholesterol level (0.03, 0.00-0.32,  $p=0.004$ ). Older age, lower serum total cholesterol level and more necro-inflammatory activity were associated with advanced hepatic fibrosis in both genotype 1 and 2 patients ( $P<0.05$ ). Advanced hepatic fibrosis was associated with fasting blood glucose level (adjusted odds ratio 31.18, 2.31-421.4,  $p=0.01$ ) in genotype 1 infection, whereas body mass index (1.16, 1.05-1.28,  $p=0.003$ ) in genotype 2 infection. In conclusion, age, serum total cholesterol, and hepatic necro-inflammation have important associations with severity of hepatic fibrosis in CHC patients.

Moreover, these associations are different between HCV genotype, the effects of fasting blood glucose level and body mass index are more on genotype 1 and genotype 2 patients, respectively.

## **5. The influence of host and viral factors on early viral load decline of Asian chronic hepatitis C patients receiving pegylated interferon plus ribavirin therapy**

The goal of treating chronic hepatitis C (CHC) patients is to eradicate the virus or, in a clinical term, to attain a sustained virological response (SVR, defined as undetectable serum HCV RNA level 24 weeks after treatment cessation)<sup>32</sup>. However, currently approved pegylated interferon (Peg-IFN) plus ribavirin (RBV) therapy has many unpleasant side effects and is only effective in a certain proportion of CHC patients<sup>270</sup>. Therefore, identifying baseline and on-treatment factors predictive of SVR in CHC patients is important in terms of increasing efficacy, avoiding unnecessary side effects and saving medical costs.

Several factors have been linked to the therapeutic response of CHC patients, including viral factors<sup>25-27, 287-289</sup>, host factors<sup>28, 29, 290, 291</sup>, metabolic factors<sup>30, 31, 97</sup>, histological factors<sup>217</sup>, the type of regimens<sup>32</sup> and the duration of infection<sup>33</sup>. Among these factors, early viral kinetics following therapy has become increasingly recognized and widely used in both clinical trials and daily practice<sup>3</sup>. Considering the clinical significance of early viral kinetics, it is thus reasonable to investigate the association of other predictors with viral kinetics. These attempts not only can provide information on individualized



treatment but also elucidate the underlying mechanisms of these predictors. Nevertheless, the influence of various host and viral factors on early viral kinetics remains largely unknown<sup>53, 292, 293</sup>.

To this end, we enrolled 145 consecutive naïve Asian CHC patients receiving combination therapy of Peg-IFN plus RBV to evaluate the impact of various host, viral, metabolic and histological factors on early viral load decline. Clinical and serial virological data were collected from 145 consecutive Asian chronic hepatitis C patients with pegylated interferon plus ribavirin therapy. A dose of pegylated interferon was administered at week 1. Then, it was administered weekly with daily oral ribavirin for 24 or 48 weeks. Genotyping and quantification of HCV RNA were done by molecular methods.

Eighty-one patients were infected by HCV genotype 1, 61 by genotype 2 and 3 by both genotypes 1 and 2. At the end of follow-up, 110 patients attained SVR. In multivariate analysis, body mass index and genotype were related to viral load decline at day 2, and baseline viral load and HDL level were correlated with viral load decline between day 2 and day 28. Genotype, baseline viral load, ALT level and body mass index could independently predict RVR, whereas only genotype 2, lower baseline viral load and more substantial viral load decline at day 28 predicted a higher SVR. In conclusion, HCV genotype, baseline viral load, pretreatment body mass index, HDL and ALT level have significant impact on early viral load decline of Asian CHC patients with interferon-based therapy. Only HCV genotype, baseline viral load and viral load decline at day 28 can independently predict SVR.

## **6. Hepatitis C virus core protein regulate the assembly of lipoproteins,**

## **lipogenesis and cholesterologenesis**

Current evidence has showed that CHC patients have an increased prevalence of hepatic steatosis<sup>118, 228</sup>, but lower serum triglyceride and total cholesterol levels<sup>127, 294</sup>. Hepatic steatosis and baseline serum lipid profiles may probably affect the treatment response of CHC patients<sup>295</sup>, and reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response<sup>167</sup> as well as a rebounding lipid profiles among CHC patients with successful hepatitis C treatment were observed<sup>296</sup>. Although the core protein of hepatitis C virus (HCV) has been attributed to the development of steatosis in mouse liver and is essential for the metabolic effects of HCV<sup>225, 227, 297</sup>, its roles on triglyceride or cholesterol biogenesis remain controversial. Some studies had demonstrated up-regulated expressions of SREBP1c and genes for lipid metabolism<sup>224, 298</sup> and down-regulated the expression of microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) by HCV and its core protein<sup>186</sup>. However, these lines of in-vitro evidence seem to be queried by some recent clinical surveys. For examples, metabolic syndromes and its components play essential roles for liver steatosis in CHC patients<sup>299</sup>, and an inverse association of HCV RNA and hepatic steatosis were demonstrated in Taiwanese CHC genotype 1 (GT1) patients<sup>298</sup>. Moreover, steatosis in patients infected with HCV GT3 is not related to a sustained SREBF1 driven increase in expression of genes involved in lipogenesis<sup>300</sup>, and the relationship between hepatic SREBP-1c mRNA expression and grade of steatosis among CHC patients was not positive as implicated from previous experiments<sup>158</sup>. In this study, we demonstrated that HCV genotype 1 core protein may affect cholesterol and lipid biosynthetic

pathway in human hepatoma cells, implying its clinical role among CHC patients.

We used Huh 7 based cell lines which may express different levels of HCV GT1 core proteins. Several important genes for cholesterol and fatty acid biosynthesis were chosen for analyses, such as sterol responsive element binding protein 1c (SREBP1c), sterol responsive element binding protein 2 (SREBP2), acyl-CoA synthetase short-chain family member 2 (ACSS2), ATP citrate lyase, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A (HMG-CoA) synthase, HMG-CoA reductase, microsomal triglyceride transfer protein (MTTP) and farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1 (FDFT1). Total RNA was extracted from cells and the mRNA expressions of genes regarding fatty acid or cholesterol biosynthesis were analyzed by real time PCR.

Comparing to controls, HCV GT1 core proteins down-regulated the mRNA expressions of HMG-CoA synthase, HMG-CoA reductase and MTTP, but up-regulated the mRNA expressions of FDFT1 and ATP citrate lyase. Although the mRNA expression of SREBP1c was up-regulated under lower levels of HCV core proteins, its expression was down-regulated gradually with the increasing HCV core protein levels. The mRNA expression of SREBP2 was also up-regulated by HCV core proteins, but down-regulated with the increasing HCV core protein levels. Finally, we found cells expressed HCV core proteins had lower cellular triglyceride and total cholesterol levels than controls. In conclusion, our data suggested that HCV GT1 core proteins may down-regulate mRNA expression of MTTP and some genes related to cholesterol biosynthesis, but up-regulate ATP citrate lyase, a key gene in triglyceride biosynthesis. These lines of evidence seem to give supports to

clinical observations of lower serum cholesterol levels and hepatic steatosis among CHC patients simultaneously. Further studies based on HCV infectious clones and different cell lines are needed to confirm our current findings.



## 柒、参考文献

1. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology*. Nov 2002;36(5 Suppl 1):S35-46.
2. Chen DS. Hepatitis C virus in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Princess Takamatsu Symp*. 1995;25:27-32.
3. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of hepatitis C: 2002--June 10-12, 2002. *Hepatology*. Nov 2002;36(5 Suppl 1):S3-20.
4. Poynard T, Yuen MF, Ratziu V, Lai CL. Viral hepatitis C. *Lancet*. Dec 2003;362(9401):2095-2100.
5. Alter MJ, Margolis HS, Krawczynski K, et al. The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The Sentinel Counties Chronic non-A, non-B Hepatitis Study Team. *N Engl J Med*. Dec 1992;327(27):1899-1905.
6. Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med*. Aug 1999;341(8):556-562.
7. Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology*. Jul 2000;32(1):91-96.
8. Kenny-Walsh E. Clinical outcomes after hepatitis C infection from contaminated anti-D immune globulin. Irish Hepatology Research Group. *The New England journal of medicine*. Apr 1999;340(16):1228-1233.

9. Vogt M, Lang T, Frosner G, et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med.* Sep 1999;341(12):866-870.
10. Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med.* Jun 1995;332(22):1463-1466.
11. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology.* Jun 1996;23(6):1334-1340.
12. Benhamou Y, Bochet M, Di Martino V, et al. Liver fibrosis progression in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. The Multivirc Group. *Hepatology.* Oct 1999;30(4):1054-1058.
13. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, CLINIVIR, and DOSVIRC groups. *Lancet.* Mar 1997;349(9055):825-832.
14. Serfaty L, Aumaitre H, Chazouilleres O, et al. Determinants of outcome of compensated hepatitis C virus-related cirrhosis. *Hepatology.* May 1998;27(5):1435-1440.
15. Niederau C, Lange S, Heintges T, et al. Prognosis of chronic hepatitis C: results of a large, prospective cohort study. *Hepatology.* Dec 1998;28(6):1687-1695.
16. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* Apr

2009;49(4):1335-1374.

17. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet*. Sep 2001;358(9286):958-965.
18. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. Sep 2002;347(13):975-982.
19. Kobayashi S, Takeda T, Enomoto M, et al. Development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C who had a sustained virological response to interferon therapy: a multicenter, retrospective cohort study of 1124 patients. *Liver Int*. Mar 2007;27(2):186-191.
20. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med*. Mar 2004;140(5):346-355.
21. Zeuzem S, Welsch C, Herrmann E. Pharmacokinetics of peginterferons. *Semin Liver Dis*. 2003;23 Suppl 1:23-28.
22. Khuroo MS, Dahab ST. Meta-analysis: a randomized trial of peginterferon plus ribavirin for the initial treatment of chronic hepatitis C genotype 4. *Aliment Pharmacol Ther*. Nov 2004;20(9):931-938.
23. Kamal SM, El Kamary SS, Shardell MD, et al. Pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in patients with genotype 4 chronic hepatitis C: The role of rapid and early virologic response. *Hepatology*. Dec

2007;46(6):1732-1740.

24. Nguyen MH, Trinh HN, Garcia R, Nguyen G, Lam KD, Keeffe EB. Higher rate of sustained virologic response in chronic hepatitis C genotype 6 treated with 48 weeks versus 24 weeks of peginterferon plus ribavirin. *Am J Gastroenterol*. May 2008;103(5):1131-1135.
25. Shiratori Y, Kato N, Yokosuka O, et al. Predictors of the efficacy of interferon therapy in chronic hepatitis C virus infection. Tokyo-Chiba Hepatitis Research Group. *Gastroenterology*. Aug 1997;113(2):558-566.
26. Zeuzem S, Lee JH, Franke A, et al. Quantification of the initial decline of serum hepatitis C virus RNA and response to interferon alfa. *Hepatology*. Apr 1998;27(4):1149-1156.
27. Chayama K, Tsubota A, Kobayashi M, et al. Pretreatment virus load and multiple amino acid substitutions in the interferon sensitivity-determining region predict the outcome of interferon treatment in patients with chronic genotype 1b hepatitis C virus infection. *Hepatology*. Mar 1997;25(3):745-749.
28. Berg T, Sarrazin C, Herrmann E, et al. Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology*. Mar 2003;37(3):600-609.
29. Missiha S, Heathcote J, Arenovich T, Khan K. Impact of asian race on response to combination therapy with peginterferon alfa-2a and ribavirin in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. Oct 2007;102(10):2181-2188.



30. Bressler BL, Guindi M, Tomlinson G, Heathcote J. High body mass index is an independent risk factor for nonresponse to antiviral treatment in chronic hepatitis C. *Hepatology*. Sep 2003;38(3):639-644.
31. Akuta N, Suzuki F, Suzuki Y, et al. Hepatocyte steatosis is an important predictor of response to interferon (IFN) monotherapy in Japanese patients infected with HCV genotype 2a: Virological features of IFN-resistant cases with hepatocyte steatosis. *J Med Virol*. Apr 2005;75(4):550-558.
32. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology*. Apr 2004;39(4):1147-1171.
33. Lin R, Liddle C, Byth K, Farrell GC. Virus and host factors are both important determinants of response to interferon treatment among patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. Mar 1996;3(2):85-96.
34. Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, et al. Factors affecting early viral load decline of Asian chronic hepatitis C patients receiving pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antivir Ther*. 2009;14(1):45-54.
35. Romero-Gomez M, Del Mar Vioria M, Andrade RJ, et al. Insulin resistance impairs sustained response rate to peginterferon plus ribavirin in chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology*. Mar 2005;128(3):636-641.
36. Davis GL, Wong JB, McHutchison JG, Manns MP, Harvey J, Albrecht J. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology*. Sep 2003;38(3):645-652.
37. Yu JW, Wang GQ, Sun LJ, Li XG, Li SC. Predictive value of rapid

virological response and early virological response on sustained virological response in HCV patients treated with pegylated interferon alpha-2a and ribavirin. *J Gastroenterol Hepatol.* Jun 2007;22(6):832-836.

38. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P, et al. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology.* May 2006;43(5):954-960.
39. Ferenci P, Fried MW, Shiffman ML, et al. Predicting sustained virological responses in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40 KD)/ribavirin. *J Hepatol.* Sep 2005;43(3):425-433.
40. Shiffman ML, Suter F, Bacon BR, et al. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med.* Jul 2007;357(2):124-134.
41. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* Jan 1995;373(6510):123-126.
42. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* Jan 1995;373(6510):117-122.
43. Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature.* May 1997;387(6629):188-191.
44. Neumann AU, Lam NP, Dahari H, et al. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon-alpha therapy. *Science.* Oct

- 1998;282(5386):103-107.
45. Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 1996;93(9):4398-4402.
  46. Tsiang M, Rooney JF, Toole JJ, Gibbs CS. Biphasic clearance kinetics of hepatitis B virus from patients during adefovir dipivoxil therapy. *Hepatology*. Jun 1999;29(6):1863-1869.
  47. Perelson AS, Herrmann E, Micol F, Zeuzem S. New kinetic models for the hepatitis C virus. *Hepatology*. Oct 2005;42(4):749-754.
  48. Zeuzem S, Schmidt JM, Lee JH, Ruster B, Roth WK. Effect of interferon alfa on the dynamics of hepatitis C virus turnover in vivo. *Hepatology*. Feb 1996;23(2):366-371.
  49. Herrmann E, Neumann AU, Schmidt JM, Zeuzem S. Hepatitis C virus kinetics. *Antivir Ther*. Jun 2000;5(2):85-90.
  50. Layden JE, Layden TJ. Viral kinetics of hepatitis C: new insights and remaining limitations. *Hepatology*. Apr 2002;35(4):967-970.
  51. Herrmann E, Lee JH, Marinos G, Modi M, Zeuzem S. Effect of ribavirin on hepatitis C viral kinetics in patients treated with pegylated interferon. *Hepatology*. Jun 2003;37(6):1351-1358.
  52. Shudo E, Ribeiro RM, Perelson AS. Modelling the kinetics of hepatitis C virus RNA decline over 4 weeks of treatment with pegylated interferon alpha-2b. *J Viral Hepat*. May 2008;15(5):379-382.
  53. Buti M, Sanchez-Avila F, Lurie Y, et al. Viral kinetics in genotype 1 chronic hepatitis C patients during therapy with 2 different doses of peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *Hepatology*. Apr

2002;35(4):930-936.

54. Thiebaut R, Guedj J, Jacqmin-Gadda H, et al. Estimation of dynamical model parameters taking into account undetectable marker values. *BMC Med Res Methodol.* 2006;6:38.
55. Zung WW. A Self-Rating Depression Scale. *Arch Gen Psychiatry.* Jan 1965;12:63-70.
56. Montgomery SA, Asberg M. A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry.* Apr 1979;134:382-389.
57. Pradat P, Tillmann HL, Sauleda S, et al. Long-term follow-up of the hepatitis C HENCORE cohort: response to therapy and occurrence of liver-related complications. *J Viral Hepat.* Aug 2007;14(8):556-563.
58. Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H, et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med.* Nov 2007;147(10):677-684.
59. Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* Nov 2005;42(5):1208-1236.
60. Milazzo L, Meroni L, Galazzi M, et al. Does fluvastatin favour HCV replication in vivo? A pilot study on HIV-HCV coinfecting patients. *J Viral Hepat.* Jul 2009;16(7):479-484.
61. Romero-Gomez M, Diago M, Andrade RJ, et al. Treatment of insulin resistance with metformin in naive genotype 1 chronic hepatitis C patients receiving peginterferon alfa-2a plus ribavirin. *Hepatology.* Dec 2009;50(6):1702-1708.
62. Khattab M, Emad M, Abdelaleem A, et al. Pioglitazone improves virological response to peginterferon alpha-2b/ribavirin combination

therapy in hepatitis C genotype 4 patients with insulin resistance. *Liver Int.* Mar;30(3):447-454.

63. Ratziu V, Saboury M, Poynard T. Worsening of steatosis and fibrosis progression. *Gut.* Sep 2003;52(9):1386-1387.
64. Hui JM, Sud A, Farrell GC, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression [corrected]. *Gastroenterology.* Dec 2003;125(6):1695-1704.
65. Sud A, Hui JM, Farrell GC, et al. Improved prediction of fibrosis in chronic hepatitis C using measures of insulin resistance in a probability index. *Hepatology.* May 2004;39(5):1239-1247.
66. Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology.* Jul 2001;121(1):91-100.
67. Schaffler A, Scholmerich J, Buchler C. Mechanisms of disease: adipocytokines and visceral adipose tissue--emerging role in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* Jun 2005;2(6):273-280.
68. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet.* Apr 2005;365(9468):1415-1428.
69. Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology.* Nov 2005;42(5):987-1000.
70. Schinner S, Scherbaum WA, Bornstein SR, Barthel A. Molecular mechanisms of insulin resistance. *Diabet Med.* Jun 2005;22(6):674-682.
71. Knobler H, Schattner A. TNF- $\alpha$ , chronic hepatitis C and diabetes:

a novel triad. *Qjm*. Jan 2005;98(1):1-6.

72. Mehta SH, Brancati FL, Sulkowski MS, Strathdee SA, Szklo M, Thomas DL. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among persons with hepatitis C virus infection in the United States. *Ann Intern Med*. Oct 2000;133(8):592-599.
73. Wilson C. Hepatitis C infection and type 2 diabetes in American-Indian women. *Diabetes Care*. Sep 2004;27(9):2116-2119.
74. Petit JM, Bour JB, Galland-Jos C, et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. Aug 2001;35(2):279-283.
75. Lecube A, Hernandez C, Genesca J, Esteban JI, Jardi R, Simo R. High prevalence of glucose abnormalities in patients with hepatitis C virus infection: a multivariate analysis considering the liver injury. *Diabetes Care*. May 2004;27(5):1171-1175.
76. Shaheen M, Echeverry D, Oblad MG, Montoya MI, Teklehaimanot S, Akhtar AJ. Hepatitis C, metabolic syndrome, and inflammatory markers: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey [NHANES III]. *Diabetes Res Clin Pract*. Mar 2007;75(3):320-326.
77. Harrison SA. Correlation between insulin resistance and hepatitis C viral load. *Hepatology*. May 2006;43(5):1168; author reply 1168-1169.
78. Lonardo A, Adinolfi LE, Loria P, Carulli N, Ruggiero G, Day CP. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease. *Gastroenterology*. Feb 2004;126(2):586-597.
79. Shintani Y, Fujie H, Miyoshi H, et al. Hepatitis C virus infection and

diabetes: direct involvement of the virus in the development of insulin resistance. *Gastroenterology*. Mar 2004;126(3):840-848.

80. Svegliati-Baroni G, Ridolfi F, Di Sario A, et al. Insulin and insulin-like growth factor-1 stimulate proliferation and type I collagen accumulation by human hepatic stellate cells: differential effects on signal transduction pathways. *Hepatology*. Jun 1999;29(6):1743-1751.
81. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, et al. High glucose and hyperinsulinemia stimulate connective tissue growth factor expression: a potential mechanism involved in progression to fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. Oct 2001;34(4 Pt 1):738-744.
82. Ratziu V, Munteanu M, Charlotte F, Bonyhay L, Poynard T. Fibrogenic impact of high serum glucose in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. Dec 2003;39(6):1049-1055.
83. Hickman IJ, Powell EE, Prins JB, et al. In overweight patients with chronic hepatitis C, circulating insulin is associated with hepatic fibrosis: implications for therapy. *J Hepatol*. Dec 2003;39(6):1042-1048.
84. Leclercq IA, Da Silva Morais A, Schroyen B, Van Hul N, Geerts A. Insulin resistance in hepatocytes and sinusoidal liver cells: mechanisms and consequences. *J Hepatol*. Jul 2007;47(1):142-156.
85. Canello R, Clement K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG*. Oct 2006;113(10):1141-1147.
86. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. Dec 14

2006;444(7121):840-846.

87. Greenberg AS, McDaniel ML. Identifying the links between obesity, insulin resistance and beta-cell function: potential role of adipocyte-derived cytokines in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest.* Jun 2002;32 Suppl 3:24-34.
88. Itoh Y, Okanoué T, Ohnishi N, et al. Serum levels of soluble tumor necrosis factor receptors and effects of interferon therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* May 1999;94(5):1332-1340.
89. Zylberberg H, Rimaniol AC, Pol S, et al. Soluble tumor necrosis factor receptors in chronic hepatitis C: a correlation with histological fibrosis and activity. *J Hepatol.* Feb 1999;30(2):185-191.
90. Paz K, Hemi R, LeRoith D, et al. A molecular basis for insulin resistance. Elevated serine/threonine phosphorylation of IRS-1 and IRS-2 inhibits their binding to the juxtamembrane region of the insulin receptor and impairs their ability to undergo insulin-induced tyrosine phosphorylation. *J Biol Chem.* Nov 1997;272(47):29911-29918.
91. Valenti L, Pulixi E, Fracanzani AL, et al. TNFalpha genotype affects TNFalpha release, insulin sensitivity and the severity of liver disease in HCV chronic hepatitis. *J Hepatol.* Dec 2005;43(6):944-950.
92. Cooney RN. Suppressors of cytokine signaling (SOCS): inhibitors of the JAK/STAT pathway. *Shock.* Feb 2002;17(2):83-90.
93. Rico-Bautista E, Flores-Morales A, Fernandez-Perez L. Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 2, a protein with multiple functions. *Cytokine Growth Factor Rev.* Dec 2006;17(6):431-439.



94. Song MM, Shuai K. The suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1 and SOCS3 but not SOCS2 proteins inhibit interferon-mediated antiviral and antiproliferative activities. *J Biol Chem.* Dec 25 1998;273(52):35056-35062.
95. Walsh MJ, Jonsson JR, Richardson MM, et al. Non-response to antiviral therapy is associated with obesity and increased hepatic expression of suppressor of cytokine signalling 3 (SOCS-3) in patients with chronic hepatitis C, viral genotype 1. *Gut.* Apr 2006;55(4):529-535.
96. Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C, et al. SOCS-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue of obese mice. *J Biol Chem.* Dec 2001;276(51):47944-47949.
97. Persico M, Capasso M, Persico E, et al. Suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) expression and hepatitis C virus-related chronic hepatitis: Insulin resistance and response to antiviral therapy. *Hepatology.* Oct 2007;46(4):1009-1015.
98. Aytug S, Reich D, Sapiro LE, Bernstein D, Begum N. Impaired IRS-1/PI3-kinase signaling in patients with HCV: a mechanism for increased prevalence of type 2 diabetes. *Hepatology.* Dec 2003;38(6):1384-1392.
99. Pazienza V, Clement S, Pugnale P, et al. The hepatitis C virus core protein of genotypes 3a and 1b downregulates insulin receptor substrate 1 through genotype-specific mechanisms. *Hepatology.* May 2007;45(5):1164-1171.

- 100.** Hui JM, Hodge A, Farrell GC, Kench JG, Kriketos A, George J. Beyond insulin resistance in NASH: TNF-alpha or adiponectin? *Hepatology*. Jul 2004;40(1):46-54.
- 101.** Wang AY, Hickman IJ, Richards AA, Whitehead JP, Prins JB, Macdonald GA. High molecular weight adiponectin correlates with insulin sensitivity in patients with hepatitis C genotype 3, but not genotype 1 infection. *Am J Gastroenterol*. Dec 2005;100(12):2717-2723.
- 102.** Petit JM, Minello A, Jooste V, et al. Decreased plasma adiponectin concentrations are closely related to steatosis in hepatitis C virus-infected patients. *J Clin Endocrinol Metab*. Apr 2005;90(4):2240-2243.
- 103.** Durante-Mangoni E, Zampino R, Marrone A, et al. Hepatic steatosis and insulin resistance are associated with serum imbalance of adiponectin/tumour necrosis factor-alpha in chronic hepatitis C patients. *Aliment Pharmacol Ther*. Nov 2006;24(9):1349-1357.
- 104.** Cua IH, Hui JM, Bandara P, et al. Insulin resistance and liver injury in hepatitis C is not associated with virus-specific changes in adipocytokines. *Hepatology*. Jul 2007;46(1):66-73.
- 105.** Zografos TA, Liaskos C, Rigopoulou EI, et al. Adiponectin: A New Independent Predictor of Liver Steatosis and Response to IFN-alpha Treatment in Chronic Hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. Jan 11 2008.
- 106.** Lo Iacono O, Venezia G, Petta S, et al. The impact of insulin resistance, serum adipocytokines and visceral obesity on steatosis and fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther*. May 15

2007;25(10):1181-1191.

107. Romero-Gomez M, Castellano-Megias VM, Grande L, et al. Serum leptin levels correlate with hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. May 2003;98(5):1135-1141.
108. Crespo J, Rivero M, Fabrega E, et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis. *Dig Dis Sci*. Jul 2002;47(7):1604-1610.
109. Piche T, Vandebos F, Abakar-Mahamat A, et al. The severity of liver fibrosis is associated with high leptin levels in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. Jan 2004;11(1):91-96.
110. Allison ME, Wreghitt T, Palmer CR, Alexander GJ. Evidence for a link between hepatitis C virus infection and diabetes mellitus in a cirrhotic population. *J Hepatol*. Dec 1994;21(6):1135-1139.
111. Duong FH, Filipowicz M, Tripodi M, La Monica N, Heim MH. Hepatitis C virus inhibits interferon signaling through up-regulation of protein phosphatase 2A. *Gastroenterology*. Jan 2004;126(1):263-277.
112. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med*. Apr 18 2002;346(16):1221-1231.
113. Powell EE, Jonsson JR, Clouston AD. Steatosis: co-factor in other liver diseases. *Hepatology*. Jul 2005;42(1):5-13.
114. Angulo P. NAFLD, obesity, and bariatric surgery. *Gastroenterology*. May 2006;130(6):1848-1852.
115. Day CP. From fat to inflammation. *Gastroenterology*. Jan 2006;130(1):207-210.
116. Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis

to cirrhosis. *Hepatology*. Feb 2006;43(2 Suppl 1):S99-S112.

117. Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol*. Apr 2004;40(4):578-584.
118. Jan CF, Chen CJ, Chiu YH, et al. A population-based study investigating the association between metabolic syndrome and hepatitis B/C infection (Keelung Community-based Integrated Screening study No. 10). *Int J Obes (Lond)*. May 2006;30(5):794-799.
119. Younossi ZM, McCullough AJ, Ong JP, et al. Obesity and non-alcoholic fatty liver disease in chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. Sep 2004;38(8):705-709.
120. Roskams T, Yang SQ, Koteish A, et al. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol*. Oct 2003;163(4):1301-1311.
121. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology*. Mar 2001;33(3):738-750.
122. Lewindon PJ, Pereira TN, Hoskins AC, et al. The role of hepatic stellate cells and transforming growth factor-beta(1) in cystic fibrosis liver disease. *Am J Pathol*. May 2002;160(5):1705-1715.
123. Ezure T, Sakamoto T, Tsuji H, et al. The development and compensation of biliary cirrhosis in interleukin-6-deficient mice. *Am J Pathol*. May 2000;156(5):1627-1639.
124. Clouston AD, Powell EE, Walsh MJ, Richardson MM, Demetris AJ, Jonsson JR. Fibrosis correlates with a ductular reaction in hepatitis C: roles of impaired replication, progenitor cells and steatosis. *Hepatology*.

Apr 2005;41(4):809-818.

125. Hickman IJ, Clouston AD, Macdonald GA, et al. Effect of weight reduction on liver histology and biochemistry in patients with chronic hepatitis C. *Gut*. Jul 2002;51(1):89-94.
126. Hickman IJ, Jonsson JR, Prins JB, et al. Modest weight loss and physical activity in overweight patients with chronic liver disease results in sustained improvements in alanine aminotransferase, fasting insulin, and quality of life. *Gut*. Mar 2004;53(3):413-419.
127. Poynard T, Ratziu V, McHutchison J, et al. Effect of treatment with peginterferon or interferon alfa-2b and ribavirin on steatosis in patients infected with hepatitis C. *Hepatology*. Jul 2003;38(1):75-85.
128. Patton HM, Patel K, Behling C, et al. The impact of steatosis on disease progression and early and sustained treatment response in chronic hepatitis C patients. *J Hepatol*. Mar 2004;40(3):484-490.
129. Lam NP, Pitrak D, Sperlakis R, Lau AH, Wiley TE, Layden TJ. Effect of obesity on pharmacokinetics and biologic effect of interferon-alpha in hepatitis C. *Dig Dis Sci*. Jan 1997;42(1):178-185.
130. Jacobson IM, Brown RS, Jr., McCone J, et al. Impact of weight-based ribavirin with peginterferon alfa-2b in African Americans with hepatitis C virus genotype 1. *Hepatology*. Oct 2007;46(4):982-990.
131. Fried MW, Jensen DM, Rodriguez-Torres M, et al. Improved outcomes in patients with hepatitis C with difficult-to-treat characteristics: randomized study of higher doses of peginterferon alpha-2a and ribavirin. *Hepatology*. Oct 2008;48(4):1033-1043.
132. Shiffman ML, Salvatore J, Hubbard S, et al. Treatment of chronic

hepatitis C virus genotype 1 with peginterferon, ribavirin, and epoetin alpha. *Hepatology*. Aug 2007;46(2):371-379.

133. Chen CL, Yang HI, Yang WS, et al. Metabolic factors and risk of hepatocellular carcinoma by chronic hepatitis B/C infection: a follow-up study in Taiwan. *Gastroenterology*. Jul 2008;135(1):111-121.
134. Caldwell SH, Crespo DM, Kang HS, Al-Osaimi AM. Obesity and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. Nov 2004;127(5 Suppl 1):S97-103.
135. Nair S, Mason A, Eason J, Loss G, Perrillo RP. Is obesity an independent risk factor for hepatocellular carcinoma in cirrhosis? *Hepatology*. Jul 2002;36(1):150-155.
136. El-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. Feb 2004;126(2):460-468.
137. Lai MS, Hsieh MS, Chiu YH, Chen TH. Type 2 diabetes and hepatocellular carcinoma: A cohort study in high prevalence area of hepatitis virus infection. *Hepatology*. Jun 2006;43(6):1295-1302.
138. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, et al. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. Jul 2002;123(1):134-140.
139. Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, et al. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology*. Jun 2002;35(6):1485-1493.
140. Ohata K, Hamasaki K, Toriyama K, et al. Hepatic steatosis is a risk factor for hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C

virus infection. *Cancer*. Jun 2003;97(12):3036-3043.

141. Moriya K, Nakagawa K, Santa T, et al. Oxidative stress in the absence of inflammation in a mouse model for hepatitis C virus-associated hepatocarcinogenesis. *Cancer Res*. Jun 2001;61(11):4365-4370.
142. Lerat H, Honda M, Beard MR, et al. Steatosis and liver cancer in transgenic mice expressing the structural and nonstructural proteins of hepatitis C virus. *Gastroenterology*. Feb 2002;122(2):352-365.
143. Kato T, Miyamoto M, Date T, et al. Repeated hepatocyte injury promotes hepatic tumorigenesis in hepatitis C virus transgenic mice. *Cancer Sci*. Aug 2003;94(8):679-685.
144. Yang S, Koteish A, Lin H, et al. Oval cells compensate for damage and replicative senescence of mature hepatocytes in mice with fatty liver disease. *Hepatology*. Feb 2004;39(2):403-411.
145. Fausto N. Mouse liver tumorigenesis: models, mechanisms, and relevance to human disease. *Semin Liver Dis*. 1999;19(3):243-252.
146. Thomas DL, Thio CL, Martin MP, et al. Genetic variation in IL28B and spontaneous clearance of hepatitis C virus. *Nature*. Oct 2009;461(7265):798-801.
147. Ge D, Fellay J, Thompson AJ, et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. *Nature*. Sep 2009;461(7262):399-401.
148. Suppiah V, Moldovan M, Ahlenstiel G, et al. IL28B is associated with response to chronic hepatitis C interferon-alpha and ribavirin therapy. *Nat Genet*. Oct 2009;41(10):1100-1104.
149. Tanaka Y, Nishida N, Sugiyama M, et al. Genome-wide association of

IL28B with response to pegylated interferon-alpha and ribavirin therapy for chronic hepatitis C. *Nat Genet.* Oct 2009;41(10):1105-1109.

150. Conjeevaram HS, Fried MW, Jeffers LJ, et al. Peginterferon and ribavirin treatment in African American and Caucasian American patients with hepatitis C genotype 1. *Gastroenterology.* Aug 2006;131(2):470-477.
151. Kotenko SV, Gallagher G, Baurin VV, et al. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol.* Jan 2003;4(1):69-77.
152. Sheppard P, Kindsvogel W, Xu W, et al. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol.* Jan 2003;4(1):63-68.
153. Marcello T, Grakoui A, Barba-Spaeth G, et al. Interferons alpha and lambda inhibit hepatitis C virus replication with distinct signal transduction and gene regulation kinetics. *Gastroenterology.* Dec 2006;131(6):1887-1898.
154. Robek MD, Boyd BS, Chisari FV. Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication. *J Virol.* Mar 2005;79(6):3851-3854.
155. Siren J, Pirhonen J, Julkunen I, Matikainen S. IFN-alpha regulates TLR-dependent gene expression of IFN-alpha, IFN-beta, IL-28, and IL-29. *J Immunol.* Feb 2005;174(4):1932-1937.
156. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol.* Jun 1995;22(6):696-699.
157. Ohno O, Mizokami M, Wu RR, et al. New hepatitis C virus (HCV) genotyping system that allows for identification of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5a, and 6a. *J Clin Microbiol.* Jan



- 1997;35(1):201-207.
- 158.** Okamoto K, Akuta N, Kumada H, Kobayashi M, Matsuo Y, Tazawa H. A nucleotide sequence variation detection system for the core region of hepatitis C virus-1b. *J Virol Methods*. Apr 2007;141(1):1-6.
- 159.** Kato N, Yoshida H, Ono-Nita SK, et al. Activation of intracellular signaling by hepatitis B and C viruses: C-viral core is the most potent signal inducer. *Hepatology*. Aug 2000;32(2):405-412.
- 160.** Nowak M, Swietochowska E, Marek B, et al. Changes in lipid metabolism in women with age-related macular degeneration. *Clin Exp Med*. Mar 2005;4(4):183-187.
- 161.** Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. Jul 1985;28(7):412-419.
- 162.** Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology*. Sep 2007;46(3):912-921.
- 163.** Huang KC. Obesity and its related diseases in Taiwan. *Obes Rev*. Mar 2008;9 Suppl 1:32-34.
- 164.** Harrison SA, Rossaro L, Hu KQ, et al. Serum cholesterol and statin use predict virological response to peginterferon and ribavirin therapy. *Hepatology*. Sep;52(3):864-874.
- 165.** Ramcharran D, Wahed AS, Conjeevaram HS, et al. Associations between serum lipids and hepatitis C antiviral treatment efficacy.

*Hepatology*. Sep;52(3):854-863.

166. Jarmay K, Karacsony G, Nagy A, Schaff Z. Changes in lipid metabolism in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol*. Nov 2005;11(41):6422-6428.
167. Corey KE, Kane E, Munroe C, Barlow LL, Zheng H, Chung RT. Hepatitis C virus infection and its clearance alter circulating lipids: implications for long-term follow-up. *Hepatology*. Oct 2009;50(4):1030-1037.
168. Hsu CS, Liu CJ, Lai MY, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. Early viral kinetics during treatment of chronic hepatitis C virus infection with pegylated interferon alpha plus ribavirin in Taiwan. *Intervirol*. 2007;50(4):310-315.
169. Koike K, Moriya K, Matsuura Y. Animal models for hepatitis C and related liver disease. *Hepatol Res*. Jan;40(1):69-82.
170. Scheuer PJ, Ashrafzadeh P, Sherlock S, Brown D, Dusheiko GM. The pathology of hepatitis C. *Hepatology*. Apr 1992;15(4):567-571.
171. Mason AL, Lau JY, Hoang N, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology*. Feb 1999;29(2):328-333.
172. White DL, Ratziu V, El-Serag HB. Hepatitis C infection and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal of hepatology*. Nov 2008;49(5):831-844.
173. Masaki T, Chiba S, Tatsukawa H, et al. Adiponectin protects LPS-induced liver injury through modulation of TNF-alpha in KK-Ay obese mice. *Hepatology*. Jul 2004;40(1):177-184.

- 174.** Liu CJ, Chen PJ, Jeng YM, et al. Serum adiponectin correlates with viral characteristics but not histologic features in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* Aug 2005;43(2):235-242.
- 175.** Jonsson JR, Moschen AR, Hickman IJ, et al. Adiponectin and its receptors in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* Dec 2005;43(6):929-936.
- 176.** Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* Jun 2003;423(6941):762-769.
- 177.** Burgess HA, Daugherty LE, Thatcher TH, et al. PPARgamma agonists inhibit TGF-beta induced pulmonary myofibroblast differentiation and collagen production: implications for therapy of lung fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* Jun 2005;288(6):L1146-1153.
- 178.** Yamaguchi A, Tazuma S, Nishioka T, et al. Hepatitis C virus core protein modulates fatty acid metabolism and thereby causes lipid accumulation in the liver. *Dig Dis Sci.* Jul 2005;50(7):1361-1371.
- 179.** Tsutsumi T, Suzuki T, Shimoike T, et al. Interaction of hepatitis C virus core protein with retinoid X receptor alpha modulates its transcriptional activity. *Hepatology.* Apr 2002;35(4):937-946.
- 180.** Larter CZ, Farrell GC. Insulin resistance, adiponectin, cytokines in NASH: Which is the best target to treat? *J Hepatol.* Feb 2006;44(2):253-261.
- 181.** Lu JY, Chuang LM, Yang WS, et al. Adiponectin levels among patients with chronic hepatitis B and C infections and in response to IFN-alpha therapy. *Liver Int.* Aug 2005;25(4):752-759.

- 182.** Dharancy S, Malapel M, Perlemuter G, et al. Impaired expression of the peroxisome proliferator-activated receptor alpha during hepatitis C virus infection. *Gastroenterology*. Feb 2005;128(2):334-342.
- 183.** Camma C, Bruno S, Di Marco V, et al. Insulin resistance is associated with steatosis in nondiabetic patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology*. Jan 2006;43(1):64-71.
- 184.** Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, Tripodi MF, Utili R, Ruggiero G. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology*. Jun 2001;33(6):1358-1364.
- 185.** Fartoux L, Poujol-Robert A, Guechot J, Wendum D, Poupon R, Serfaty L. Insulin resistance is a cause of steatosis and fibrosis progression in chronic hepatitis C. *Gut*. Jul 2005;54(7):1003-1008.
- 186.** Liu CJ, Jeng YM, Chen PJ, et al. Influence of metabolic syndrome, viral genotype and antiviral therapy on superimposed fatty liver disease in chronic hepatitis C. *Antivir Ther*. 2005;10(3):405-415.
- 187.** Favre D, Muellhaupt B. Potential cellular receptors involved in hepatitis C virus entry into cells. *Lipids Health Dis*. Apr 2005;4(1):9.
- 188.** Ye J. Reliance of host cholesterol metabolic pathways for the life cycle of hepatitis C virus. *PLoS pathogens*. Aug 2007;3(8):e108.
- 189.** von Hahn T, Rice CM. Hepatitis C virus entry. *J Biol Chem*. Feb 2008;283(7):3689-3693.
- 190.** Voisset C, Callens N, Blanchard E, Op De Beeck A, Dubuisson J, Vu-Dac N. High density lipoproteins facilitate hepatitis C virus entry through the scavenger receptor class B type I. *J Biol Chem*. Mar 4

2005;280(9):7793-7799.

- 191.** von Hahn T, Lindenbach BD, Boullier A, et al. Oxidized low-density lipoprotein inhibits hepatitis C virus cell entry in human hepatoma cells. *Hepatology*. May 2006;43(5):932-942.
- 192.** Fanning L, Kenny E, Sheehan M, et al. Viral load and clinicopathological features of chronic hepatitis C (1b) in a homogeneous patient population. *Hepatology*. Mar 1999;29(3):904-907.
- 193.** Gopal K, Johnson TC, Gopal S, et al. Correlation between beta-lipoprotein levels and outcome of hepatitis C treatment. *Hepatology*. Aug 2006;44(2):335-340.
- 194.** Barba G, Harper F, Harada T, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Feb 1997;94(4):1200-1205.
- 195.** Prati D, Shiffman ML, Diago M, et al. Viral and metabolic factors influencing alanine aminotransferase activity in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. Apr 2006;44(4):679-685.
- 196.** Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology*. Apr 2003;37(4):917-923.
- 197.** Bugianesi E, Marchesini G, Gentilcore E, et al. Fibrosis in genotype 3 chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease: Role of insulin resistance and hepatic steatosis. *Hepatology*. Dec 2006;44(6):1648-1655.
- 198.** Rodriguez-Torres M, Govindarajan S, Sola R, et al. Hepatic steatosis in HCV/HIV co-infected patients: Correlates, efficacy and outcomes of

anti-HCV therapy: A paired liver biopsy study. *J Hepatol.* May 2008;48(5):756-764.

199. Mirandola S, Realdon S, Iqbal J, et al. Liver microsomal triglyceride transfer protein is involved in hepatitis C liver steatosis. *Gastroenterology.* May 2006;130(6):1661-1669.
200. Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, et al. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol.* Sep 2007;9(9):1089-1097.
201. Hsu CS, Liu CJ, Liu CH, et al. High hepatitis C viral load is associated with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int.* Feb 2008;28(2):271-277.
202. Sheikh MY, Choi J, Qadri I, Friedman JE, Sanyal AJ. Hepatitis C virus infection: molecular pathways to metabolic syndrome. *Hepatology.* Jun 2008;47(6):2127-2133.
203. Sterling RK, Contos MJ, Smith PG, et al. Steatohepatitis: Risk factors and impact on disease severity in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus coinfection. *Hepatology.* Apr 2008;47(4):1118-1127.
204. Leandro G, Mangia A, Hui J, et al. Relationship between steatosis, inflammation, and fibrosis in chronic hepatitis C: a meta-analysis of individual patient data. *Gastroenterology.* May 2006;130(6):1636-1642.
205. Mouchari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology.* Feb 2008;134(2):416-423.

206. Schuppan D, Krebs A, Bauer M, Hahn EG. Hepatitis C and liver fibrosis. *Cell Death Differ.* Jan 2003;10 Suppl 1:S59-67.
207. Bataller R, Paik YH, Lindquist JN, Lemasters JJ, Brenner DA. Hepatitis C virus core and nonstructural proteins induce fibrogenic effects in hepatic stellate cells. *Gastroenterology.* Feb 2004;126(2):529-540.
208. Romero-Gomez M, Fernandez-Rodriguez CM, Andrade RJ, et al. Effect of sustained virological response to treatment on the incidence of abnormal glucose values in chronic hepatitis C. *J Hepatol.* May 2008;48(5):721-727.
209. Asselah T, Rubbia-Brandt L, Marcellin P, Negro F. Steatosis in chronic hepatitis C: why does it really matter? *Gut.* Jan 2006;55(1):123-130.
210. Cua IH, Hui JM, Kench JG, George J. Genotype-specific interactions of insulin resistance, steatosis, and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* Sep 2008;48(3):723-731.
211. Sugimoto R, Enjoji M, Kohjima M, et al. High glucose stimulates hepatic stellate cells to proliferate and to produce collagen through free radical production and activation of mitogen-activated protein kinase. *Liver Int.* Oct 2005;25(5):1018-1026.
212. Jonsson JR, Barrie HD, O'Rourke P, Clouston AD, Powell EE. Obesity and steatosis influence serum and hepatic inflammatory markers in chronic hepatitis C. *Hepatology.* Jul 2008;48(1):80-87.
213. Lee SD, Yu ML, Cheng PN, et al. Comparison of a 6-month course peginterferon alpha-2b plus ribavirin and interferon alpha-2b plus ribavirin in treating Chinese patients with chronic hepatitis C in Taiwan. *J Viral Hepat.* May 2005;12(3):283-291.

214. Agnello V, Abel G, Elfahal M, Knight GB, Zhang QX. Hepatitis C virus and other flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Oct 1999;96(22):12766-12771.
215. Andre P, Komurian-Pradel F, Deforges S, et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J Virol*. Jul 2002;76(14):6919-6928.
216. Ludewig B, Jaggi M, Dumrese T, et al. Hypercholesterolemia exacerbates virus-induced immunopathologic liver disease via suppression of antiviral cytotoxic T cell responses. *J Immunol*. Mar 2001;166(5):3369-3376.
217. Myers RP, Patel K, Pianko S, Poynard T, McHutchison JG. The rate of fibrosis progression is an independent predictor of the response to antiviral therapy in chronic hepatitis C. *J Viral Hepat*. Jan 2003;10(1):16-22.
218. Lu SN, Wang JH, Liu SL, et al. Thrombocytopenia as a surrogate for cirrhosis and a marker for the identification of patients at high-risk for hepatocellular carcinoma. *Cancer*. Nov 2006;107(9):2212-2222.
219. Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Predictive factors of early and sustained responses to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b: amino acid substitutions in the core region and low-density lipoprotein cholesterol levels. *J Hepatol*. Mar 2007;46(3):403-410.
220. Poordad F, Reddy KR, Martin P. Rapid virologic response: a new milestone in the management of chronic hepatitis C. *Clin Infect Dis*. Jan 2008;46(1):78-84.



221. Akuta N, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Predictors of viral kinetics to peginterferon plus ribavirin combination therapy in Japanese patients infected with hepatitis C virus genotype 1b. *J Med Virol.* Nov 2007;79(11):1686-1695.
222. Yu ML, Dai CY, Huang JF, et al. A randomised study of peginterferon and ribavirin for 16 versus 24 weeks in patients with genotype 2 chronic hepatitis C. *Gut.* Apr 2007;56(4):553-559.
223. Muir AJ, Shiffman ML, Zaman A, et al. Phase 1b study of pegylated interferon lambda 1 with or without ribavirin in patients with chronic genotype 1 hepatitis C virus infection. *Hepatology.* Sep;52(3):822-832.
224. Perlemuter G, Sabile A, Letteron P, et al. Hepatitis C virus core protein inhibits microsomal triglyceride transfer protein activity and very low density lipoprotein secretion: a model of viral-related steatosis. *Faseb J.* Feb 2002;16(2):185-194.
225. Chang ML, Yeh CT, Chen JC, et al. Altered expression patterns of lipid metabolism genes in an animal model of HCV core-related, nonobese, modest hepatic steatosis. *BMC Genomics.* 2008;9:109.
226. Nakamuta M, Yada R, Fujino T, et al. Changes in the expression of cholesterol metabolism-associated genes in HCV-infected liver: a novel target for therapy? *Int J Mol Med.* Dec 2009;24(6):825-828.
227. Su AI, Pezacki JP, Wodicka L, et al. Genomic analysis of the host response to hepatitis C virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Nov 2002;99(24):15669-15674.
228. Hsu CS, Liu CJ, Liu CH, et al. Metabolic profiles in patients with chronic hepatitis C: a case-control study. *Hepatol Int.* Jun

2008;2(2):250-257.

- 229.** Ye J, Wang C, Sumpter R, Jr., Brown MS, Goldstein JL, Gale M, Jr. Disruption of hepatitis C virus RNA replication through inhibition of host protein geranylgeranylation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Dec 2003;100(26):15865-15870.
- 230.** Kapadia SB, Chisari FV. Hepatitis C virus RNA replication is regulated by host geranylgeranylation and fatty acids. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Feb 2005;102(7):2561-2566.
- 231.** Chen DS, Wang JT, Chen PJ, Wang TH, Sung JL. Hepatitis C virus infection in Taiwan. *Gastroenterol Jpn.* Jul 1991;26 Suppl 3:164-166.
- 232.** Yu ML, Dai CY, Huang JF, et al. Rapid virological response and treatment duration for chronic hepatitis C genotype 1 patients: a randomized trial. *Hepatology.* Jun 2008;47(6):1884-1893.
- 233.** Liu CH, Liu CJ, Lin CL, et al. Pegylated Interferon-alpha-2a plus Ribavirin for Treatment-Naive Asian Patients with Hepatitis C Virus Genotype 1 Infection: A Multicenter, Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis.* Nov 2008;47(10):1260-1269.
- 234.** Zeuzem S. Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? *Ann Intern Med.* Mar 2004;140(5):370-381.
- 235.** Fried MW, Hadziyannis SJ, Shiffman M, Messinger D, Zeuzem S. Rapid viral response is a more important predictor of sustained virological response (SVR) than genotype in patients with chronic hepatitis c virus infection. *J Hepatol.* 2008;48 (Suppl. 2):5A.
- 236.** Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB, et al. Treatment with pegylated

interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology*. Dec 2004;40(6):1260-1265.

237. Yu ML, Dai CY, Huang JF, et al. A randomised study of peginterferon and ribavirin for 16 versus 24 weeks in patients with genotype 2 chronic hepatitis C. *Gut*. Apr 2007;56(4):553-559.
238. Fellay J, Thompson AJ, Ge D, et al. ITPA gene variants protect against anaemia in patients treated for chronic hepatitis C. *Nature*. Mar 2010;464(7287):405-408.
239. Ikeda M, Abe K, Yamada M, Dansako H, Naka K, Kato N. Different anti-HCV profiles of statins and their potential for combination therapy with interferon. *Hepatology*. Jul 2006;44(1):117-125.
240. O'Leary JG, Chan JL, McMahon CM, Chung RT. Atorvastatin does not exhibit antiviral activity against HCV at conventional doses: a pilot clinical trial. *Hepatology*. Apr 2007;45(4):895-898.
241. Amemiya F, Maekawa S, Itakura Y, et al. Targeting lipid metabolism in the treatment of hepatitis C virus infection. *J Infect Dis*. Feb 2008;197(3):361-370.
242. Milazzo L, Caramma I, Mazzali C, et al. Fluvastatin as an adjuvant to pegylated interferon and ribavirin in HIV/hepatitis C virus genotype 1 co-infected patients: an open-label randomized controlled study. *J Antimicrob Chemother*. Apr 2010;65(4):735-740.
243. Sezaki H, Suzuki F, Akuta N, et al. An open pilot study exploring the efficacy of fluvastatin, pegylated interferon and ribavirin in patients with hepatitis C virus genotype 1b in high viral loads. *Intervirology*. 2009;52(1):43-48.

244. Fujita N, Kaito M, Kai M, et al. Effects of bezafibrate in patients with chronic hepatitis C virus infection: combination with interferon and ribavirin. *J Viral Hepat.* Jul 2006;13(7):441-448.
245. Overbeck K, Genne D, Golay A, Negro F. Pioglitazone in chronic hepatitis C not responding to pegylated interferon-alpha and ribavirin. *J Hepatol.* Aug 2008;49(2):295-298.
246. Khattab M, Emad M, Abdelaleem A, et al. Pioglitazone improves virological response to peginterferon alpha-2b/ribavirin combination therapy in hepatitis C genotype 4 patients with insulin resistance. *Liver Int.* Mar 2010;30(3):447-454.
247. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature.* Dec 2006;444(7121):860-867.
248. Mangia A, Schiavone G, Lezzi G, et al. HCV and diabetes mellitus: evidence for a negative association. *Am J Gastroenterol.* Dec 1998;93(12):2363-2367.
249. Caronia S, Taylor K, Pagliaro L, et al. Further evidence for an association between non-insulin-dependent diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology.* Oct 1999;30(4):1059-1063.
250. Knobler H, Schihmanter R, Zifroni A, Fenakel G, Schattner A. Increased risk of type 2 diabetes in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus infection. *Mayo Clin Proc.* Apr 2000;75(4):355-359.
251. Thuluvath PJ, John PR. Association between hepatitis C, diabetes mellitus, and race. a case-control study. *Am J Gastroenterol.* Feb 2003;98(2):438-441.

252. Zein CO, Levy C, Basu A, Zein NN. Chronic hepatitis C and type II diabetes mellitus: a prospective cross-sectional study. *Am J Gastroenterol*. Jan 2005;100(1):48-55.
253. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P, et al. Hepatitis C virus infection: evidence for an association with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. Oct 2005;28(10):2548-2550.
254. Siagris D, Kouraklis-Symeonidis A, Christofidou M, et al. Serum lipid profile and hepatic steatosis of adult beta-thalassaemia patients with chronic HCV infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. Mar 2005;17(3):345-350.
255. Siagris D, Christofidou M, Theocharis GJ, et al. Serum lipid pattern in chronic hepatitis C: histological and virological correlations. *J Viral Hepat*. Jan 2006;13(1):56-61.
256. Behrendt CE, Ruiz RB. Hyperglycemia among persons with hepatitis C: not the classical diabetic phenotype. *Diabetes Res Clin Pract*. Jan 2006;71(1):68-74.
257. Petit JM, Benichou M, Duvillard L, et al. Hepatitis C virus-associated hypobetalipoproteinemia is correlated with plasma viral load, steatosis, and liver fibrosis. *Am J Gastroenterol*. May 2003;98(5):1150-1154.
258. Serfaty L, Andreani T, Giral P, Carbonell N, Chazouilleres O, Poupon R. Hepatitis C virus induced hypobetalipoproteinemia: a possible mechanism for steatosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol*. Mar 2001;34(3):428-434.
259. Fabris C, Federico E, Soardo G, Falletti E, Pirisi M. Blood lipids of patients with chronic hepatitis: differences related to viral etiology. *Clin*

*Chim Acta.* May 1997;261(2):159-165.

- 260.** Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, et al. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes.* Apr 2004;53(4):1150-1157.
- 261.** Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* Mar 2002;13(2):84-89.
- 262.** Taura N, Ichikawa T, Hamasaki K, et al. Association between liver fibrosis and insulin sensitivity in chronic hepatitis C patients. *The American journal of gastroenterology.* Dec 2006;101(12):2752-2759.
- 263.** Muzzi A, Leandro G, Rubbia-Brandt L, et al. Insulin resistance is associated with liver fibrosis in non-diabetic chronic hepatitis C patients. *Journal of hepatology.* Jan 2005;42(1):41-46.
- 264.** Conjeevaram HS, Kleiner DE, Everhart JE, et al. Race, insulin resistance and hepatic steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology.* Jan 2007;45(1):80-87.
- 265.** Duong M, Petit JM, Piroth L, et al. Association between insulin resistance and hepatitis C virus chronic infection in HIV-hepatitis C virus-coinfected patients undergoing antiretroviral therapy. *Journal of acquired immune deficiency syndromes.* Jul 2001;27(3):245-250.
- 266.** Czaja MJ. Liver injury in the setting of steatosis: crosstalk between adipokine and cytokine. *Hepatology.* Jul 2004;40(1):19-22.
- 267.** Kamada Y, Tamura S, Kiso S, et al. Enhanced carbon

tetrachloride-induced liver fibrosis in mice lacking adiponectin. *Gastroenterology*. Dec 2003;125(6):1796-1807.

268. Yokoyama H, Hirose H, Ohgo H, Saito I. Inverse association between serum adiponectin level and transaminase activities in Japanese male workers. *Journal of hepatology*. Jul 2004;41(1):19-24.
269. Kao JH, Chen DS. Transmission of hepatitis C virus in Asia: past and present perspectives. *J Gastroenterol Hepatol*. May 2000;15 Suppl:E91-96.
270. Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management. *Hepatology*. Nov 2002;36(5 Suppl 1):S237-244.
271. Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology*. Jul 2003;38(1):50-56.
272. Aizaki H, Lee KJ, Sung VM, Ishiko H, Lai MM. Characterization of the hepatitis C virus RNA replication complex associated with lipid rafts. *Virology*. Jul 2004;324(2):450-461.
273. Rubbia-Brandt L, Quadri R, Abid K, et al. Hepatocyte steatosis is a cytopathic effect of hepatitis C virus genotype 3. *Journal of hepatology*. Jul 2000;33(1):106-115.
274. Fernandez-Rodriguez CM, Lopez-Serrano P, Alonso S, et al. Long-term reversal of hypocholesterolaemia in patients with chronic hepatitis C is related to sustained viral response and viral genotype. *Aliment Pharmacol Ther*. Aug 2006;24(3):507-512.
275. Poirier P, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and

Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. Feb 2006;113(6):898-918.

- 276.** Reddy KR, Govindarajan S, Marcellin P, et al. Hepatic steatosis in chronic hepatitis C: baseline host and viral characteristics and influence on response to therapy with peginterferon alpha-2a plus ribavirin. *J Viral Hepat*. Feb 2008;15(2):129-136.
- 277.** Ikeda M, Kato N. Life style-related diseases of the digestive system: cell culture system for the screening of anti-hepatitis C virus (HCV) reagents: suppression of HCV replication by statins and synergistic action with interferon. *J Pharmacol Sci*. Oct 2007;105(2):145-150.
- 278.** Taliani G, Gemignani G, Ferrari C, et al. Pegylated interferon alfa-2b plus ribavirin in the retreatment of interferon-ribavirin nonresponder patients. *Gastroenterology*. Apr 2006;130(4):1098-1106.
- 279.** Ryder SD, Irving WL, Jones DA, Neal KR, Underwood JC. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study. *Gut*. Mar 2004;53(3):451-455.
- 280.** Mangia A, Minerva N, Bacca D, et al. Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: A randomized controlled trial. *Hepatology*. Jan 2008;47(1):43-50.
- 281.** Petta S, Camma C, Marco VD, et al. Insulin resistance and diabetes increase fibrosis in the liver of patients with genotype 1 HCV infection. *Am J Gastroenterol*. May 2008;103(5):1136-1144.
- 282.** Sanyal AJ, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with hepatitis C is associated with features of the



- metabolic syndrome. *Am J Gastroenterol*. Sep 2003;98(9):2064-2071.
- 283.** Veldt BJ, Chen W, Heathcote EJ, et al. Increased risk of hepatocellular carcinoma among patients with hepatitis C cirrhosis and diabetes mellitus. *Hepatology*. Jun 2008;47(6):1856-1862.
- 284.** Mallat A, Preaux AM, Blazejewski S, Dhumeaux D, Rosenbaum J, Mavrier P. Effect of simvastatin, an inhibitor of hydroxy-methylglutaryl coenzyme A reductase, on the growth of human Ito cells. *Hepatology*. Dec 1994;20(6):1589-1594.
- 285.** Hsu CS, Liu CJ, Liu CH, et al. Metabolic profiles in patients with chronic hepatitis C: a case-control study. *Hepatol Int*. 2008;2(2):250-257.
- 286.** Bruno S, Crosignani A, Maisonneuve P, Rossi S, Silini E, Mondelli MU. Hepatitis C virus genotype 1b as a major risk factor associated with hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: a seventeen-year prospective cohort study. *Hepatology*. Nov 2007;46(5):1350-1356.
- 287.** Davis GL, Lau JY. Factors predictive of a beneficial response to therapy of hepatitis C. *Hepatology*. Sep 1997;26(3 Suppl 1):122S-127S.
- 288.** Gavier B, Martinez-Gonzalez MA, Riezu-Boj JI, et al. Viremia after one month of interferon therapy predicts treatment outcome in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. Nov 1997;113(5):1647-1653.
- 289.** Shire NJ, Horn PS, Rouster SD, Stanford S, Eyster ME, Sherman KE. HCV kinetics, quasispecies, and clearance in treated HCV-infected and HCV/HIV-1-coinfected patients with hemophilia. *Hepatology*. Nov 2006;44(5):1146-1157.

290. Ebeling F, Lappalainen M, Vuoristo M, et al. Factors predicting interferon treatment response in patients with chronic hepatitis c: late viral clearance does not preclude a sustained response. *Am J Gastroenterol*. Apr 2001;96(4):1237-1242.
291. Backus LI, Boothroyd DB, Phillips BR, Mole LA. Predictors of response of US veterans to treatment for the hepatitis C virus. *Hepatology*. Jul 2007;46(1):37-47.
292. Layden-Almer JE, Ribeiro RM, Wiley T, Perelson AS, Layden TJ. Viral dynamics and response differences in HCV-infected African American and white patients treated with IFN and ribavirin. *Hepatology*. Jun 2003;37(6):1343-1350.
293. Ballesteros AL, Franco S, Fuster D, et al. Early HCV dynamics on Peg-interferon and ribavirin in HIV/HCV co-infection: indications for the investigation of new treatment approaches. *AIDS*. Jan 2004;18(1):59-66.
294. Ramcharran D, Wahed AS, Conjeevaram HS, et al. Associations between serum lipids and hepatitis C antiviral treatment efficacy. *Hepatology*. Sep 2010;52(3):854-863.
295. Kumar D, Farrell GC, Fung C, George J. Hepatitis C virus genotype 3 is cytopathic to hepatocytes: Reversal of hepatic steatosis after sustained therapeutic response. *Hepatology*. Nov 2002;36(5):1266-1272.
296. Koike K, Tsutsumi T, Yotsuyanagi H, Moriya K. Lipid metabolism and liver disease in hepatitis C viral infection. *Oncology*. Jul;78 Suppl 1:24-30.

- 297.** Waris G, Felmlee DJ, Negro F, Siddiqui A. Hepatitis C virus induces proteolytic cleavage of sterol regulatory element binding proteins and stimulates their phosphorylation via oxidative stress. *J Virol.* Aug 2007;81(15):8122-8130.
- 298.** Ryan MC, Desmond PV, Slavin JL, Congiu M. Expression of genes involved in lipogenesis is not increased in patients with HCV genotype 3 in human liver. *J Viral Hepat.* Feb 2010.
- 299.** Hsu CS, Liu CH, Liu CJ, et al. Association of lipid profiles with hepatitis C viral load in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *Am J Gastroenterol.* Mar 2009;104(3):598-604.
- 300.** McPherson S, Jonsson JR, Barrie HD, O'Rourke P, Clouston AD, Powell EE. Investigation of the role of SREBP-1c in the pathogenesis of HCV-related steatosis. *J Hepatol.* Dec 2008;49(6):1046-1054.

表 1. 慢性 C 型肝炎治療的建議

基因型	療 程	長效型干擾素劑量 (週) (每週一次皮下注射)	雷巴威林劑量
基因型 1	48	180 µg PEG-IFN α-2a	1000 mg (<75 kg)
基因型 4-6			1200 mg (>75 kg)
		1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b	800 mg (<65 kg)
			1000 mg (65-85 kg)
			1200 mg (>85 kg)
基因型 2/3	24	180 µg PEG-IFN α-2a	800 mg (all)
		1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b	800 mg (<65 kg)
			1000 mg (65-85 kg)
			1200 mg (>85 kg)



表 2. C 肝患者治療時的病毒反應

<p>持續病毒學反應 (SVR)</p>	<p>在治療結束後 24 週時，用極敏感的檢驗方式，仍然無法從血清中檢驗出 C 肝病毒核糖核酸時，就可以判定患者已經達到<b>持續病毒學反應</b>，也就是病毒學上的治癒。</p>
<p>快速病毒學反應 (RVR)</p>	<p>在治療的 4 週後檢測不到 C 肝病毒的核糖核酸時，就可以說病人已經達到<b>快速病毒學反應</b>。</p>
<p>早期病毒學反應 (EVR)</p>	<p>在治療 12 週後對病人進行 C 肝核糖核酸的定量檢驗時，發現病毒量已經變為原病毒量的百分之一或是根本檢測不到 C 肝病毒核糖核酸時，就可以說病人已經達到<b>早期病毒學反應</b>。治療無法達到早期病毒學反應的患者，通常無法達到持續病毒學反應，可以考慮中止治療。</p>
<p>治療終止時反應 (ETVR)</p>	<p>在治療結束時無法檢測到 C 肝病毒的核糖核酸。</p>

表 3. C 型肝炎病毒特定標靶治療

HCV life cycle inhibitor (病毒生活週期抑制劑)	
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Viral entry inhibitors (病毒進入抑制劑)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>–Hepatitis C immunoglobulin (HcIg)</li> <li>–HCV-Ab 68 and HCV 65 (monoclonal Ab)</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•HCV replication inhibitors (HCV 複製抑制劑)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>NS5B polymerase inhibitors (聚合酶抑制劑)                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>–MK-0608</li> <li>–HCV-796</li> <li>–R1626</li> <li>–NM-283</li> <li>–XTL 2125</li> </ul> </li> <li>Cyclophilin B inhibitors                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>–DEBIO-025</li> <li>–NIM 811</li> </ul> </li> <li>NS5A inhibitors                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>–A-831, A-689</li> </ul> </li> <li>Helicase inhibitors (螺旋酶抑制劑)                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>–QU663</li> <li>–Recombinant Ab fragments</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>•HCV RNA translation inhibitors (HCV RNA 轉譯抑制劑)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>–AVI-4065 (antisense)</li> <li>–VGX-410C (small molecular IRES inhibitor)</li> <li>–TT 033 (siRNA)</li> </ul> </li> </ul>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Post translational processing inhibitors (後轉譯處理抑制劑)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>NS3-4A serine protease inhibitors (絲胺酸蛋白酶抑制劑)                                     <ul style="list-style-type: none"> <li>–BILN 2061</li> <li>–ITMN 191</li> <li>–VX-950</li> <li>–SCH 503034</li> </ul> </li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Viral assembly and release inhibitors (病毒組合及釋放抑制劑)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>–Celgosivir (glucosidase inhibitor)</li> </ul> </li> </ul>

表 4. 慢性 C 肝患者與健康對照組在臨床特徵上的比較

臨床特徵	慢性 C 肝患者 (N=500 人)	非 C 肝對照組 (N=536 人)	<i>P</i> value
Age, year	52.77±0.56	52.61±0.56	0.84
Male (%)	279 (55.8)	312(58.2)	0.43
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	25.91±0.95	25.18±0.17	0.43
Fasting blood glucose, mg/dL	102.05±1.46	100.45±1.41	0.43
ALT, U/L	103.75±5.42	29.54±1.42	<0.01
Triglyceride, mg/dL	112.53±2.87	138.92±5.53	<0.01
Total cholesterol, mg/dL	184.20±1.87	195.45±1.49	<0.01
LDL, mg/dL	116.87±1.89	124.54±1.48	<0.01
HDL, mg/dL	47.99±0.68	46.20±0.53	0.04

**說明：**

所有數值以算數平均值(mean)±標準誤(standard error)來表示。

英文縮寫：ALT, alanine aminotransferase; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL, high-density lipoprotein-cholesterol.

表 5. 有完整血小板數據之慢性 C 肝患者的臨床資料

臨床特徵	人數(N) (%)	mean±se.	95%CI
PLT, K/uL	461	171.3±2.7	166.0- 176.5
Albumin, g/dL	401	4.2±0.0	4.2-4.2
T-bilirubin, mg/dL	417	0.9±0.0	0.8-1.0
D-bilirubin, mg/dL	394	0.2±0.0	0.2-0.3
AST, U/L	456	87.6±3.4	81.0-94.2
APRI	459	1.5±1.1	1.4-1.7
APRI ≤ 0.5	97(21.1)		
0.5 < APRI ≤ 1	128(27.9)		
1.0 < APRI ≤ 1.5	93(20.3)		
1.5 < APRI ≤ 2	39(8.5)		
APRI > 2	102(22.2)		

**說明：**

所有數值以算數平均值(mean)±標準誤(standard error)來表示(mean±se.)。人數(N)代表每個臨床特徵有完整血小板資料的人數。括號內數值代表每個臨床特徵有血小板資料的人數佔所有該指標人數的比例。

**英文縮寫：** AST, aspartate aminotransferase; PLT, platelet count; T-bilirubin, total bilirubin; D-bilirubin, direct bilirubin; APRI, Aspartate Aminotransferase-to-Platelet Ratio Index.



表 6. 比較臨床代謝特徵與 C 肝病毒感染的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Fasting blood glucose, mg/dL <sup>#</sup>			
<80	Reference		
80~120	-0.09	0.08	0.25
120~200	-0.04	0.09	0.70
>200	-0.06	0.14	0.65
ALT,U/L*			
<20	Reference		
20~40	0.07	0.03	0.03
40~80	0.45	0.04	<0.01
80~160	0.73	0.04	<0.01
160~400	0.83	0.05	<0.01
>400	0.75	0.13	<0.01
Triglyceride, mg/dL <sup>©</sup>			
<150	Reference		
150~300	-0.07	0.04	0.07
>300	-0.24	0.08	<0.01
Total cholesterol, mg/dL**			
<220	Reference		
≥220	-0.09	0.04	0.02

**說明：**

多變項回歸分析以C肝病毒感染為依變項(dependent variable)，年齡、性別、BMI以及各個臨床代謝特徵為獨立變項(independent variables)。

# 空腹血糖值(Fasting blood glucose) <80 mg/dL 為比較基準。

\* 以 ALT <40 U/L 為比較基準。

◎ 以血清中三酸甘油酯(serum triglyceride) <150 mg/dL 為比較基準。

※ 以血清中總膽固醇濃度(serum total cholesterol) <220 mg/dL 為比較基準。



表 7. 依照 ALT 正常值上限分組，比較臨床特徵與 C 肝病毒感染的關連性

	ALT ≤ ULN <sup>©</sup> (N=417)		ALT > ULN(N=532)	
	Adjusted OR	95% CI	Adjusted OR	95% CI
Age, year	0.96*	0.94-0.99	1.01	0.99-1.02
Sex, (male vs. female)	0.13*	0.07-0.27	1.08	0.71-1.64
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	1.08 <sup>#</sup>	0.99-1.18	1.00	0.99-1.01
Total cholesterol, mg/dL	1.01*	1.00-1.02	0.99*	0.98-0.99
Fasting blood glucose, mg/dL	1.00	0.99-1.01	1.01	1.00-1.01
Triglyceride, mg/dL	1.00	1.00-1.00	0.99*	0.99-0.99

說明：

英文縮寫：OR, odds ratio; CI, confidence interval.

多變項邏輯斯迴歸模型分析以 C 肝病毒感染為依變項 (dependent variable)，年齡、性別、BMI、脂締素、空腹血糖值、血清中三酸甘油酯、以及血清中總膽固醇濃度為獨立變項 (independent variables)。

<sup>©</sup>ALT 正常值上限 (ULN) 為男性血清 ALT 值為 30 IU/L，女性為 20 IU/L。

\* P < 0.05; <sup>#</sup> P < 0.1

表 8. 在有脂締素數據的668位收入研究案中，比較臨床代謝特徵與C肝病毒感染之關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Age, years	-0.00	0.00	0.10
Sex, (male vs. female)	-0.20	0.04	<0.01
Body mass index, kg/m <sup>2</sup>	0.01	0.00	0.06
Adiponectin, ug/mL <sup>#</sup>			
<4	Reference		
4~8	0.09	0.04	0.04
>8	0.09	0.05	0.04

說明：

多變項線性迴歸模型分析以C肝病毒感染為依變項(dependent variable)，年齡、性別、BMI、以及脂締素濃度為獨立變項(independent variables)。

<sup>#</sup> 以血清中脂締素濃度(serum adiponectin) <4 ug/mL 為比較基準。

表9. 比較有胰島素抗性與無胰島素抗性C肝患者在臨床特徵的差異性

	<b>HOMA-IR &gt; 2.4 HOMA-IR ≤ 2.4</b>		<b>P value</b>
	<b>(n=91)</b>	<b>(n=71)</b>	
Age, year	51.15±1.19	47.77±1.48	0.074
Male, %	68.5	57.7	0.130
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	25.57±0.32	22.93±0.32	0.000
Fasting blood glucose, mg/dL	106.56±3.06	91.55±1.50	0.000
HCV RNA Log <sub>10</sub>	5.67±0.11	5.08±0.15	0.002
ALT, U/L	139.88±9.77	107.00±9.08	0.017
Triglyceride, mg/dL	117.68±5.33	90.10±5.33	0.000
Total cholesterol, mg/dL	172.73±3.45	171.18±4.47	0.782
Adiponectin, ug/mL	4.61±0.51	6.70±0.87	0.031

**說明：**

所有數值以算數平均值(mean)±標準誤(standard error)來表示(mean±se.)。

將胰島素抗性指標(HOMA-IR) > 2.4 定義為有胰島素抗性。

\*  $P < 0.05$

#  $0.1 < P < 0.05$

英文縮寫：ALT: alanine aminotransferase

表 10. 比較 162 位慢性 C 肝患者的臨床特徵與胰島素抗性 HOMA-IR 指標的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Age	0.005	0.003	0.080
Sex	0.045	0.072	0.521
Triglyceride, mg/dL	0.002	0.001	0.027
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	0.049	0.011	0.000
ALT,U/L	0.001	0.000	0.032
Adiponectin, ug/mL	-0.015	0.006	0.009
HCV RNA Log <sub>10</sub> <sup>#</sup>			
4~6	0.217	0.102	0.035
≥6	0.318	0.105	0.003

說明：

多變項線性迴歸模型分析以胰島素抗性為依變項(dependent variable)，年齡、性別、BMI、ALT值、脂締素、血清中三酸甘油酯、以及血清中C肝病毒量為獨立變項(independent variables)。

\*將胰島素抗性指標(HOMA-IR) >2.4定義為有胰島素抗性。

# 以血清中 Log<sub>10</sub>HCV RNA <4 為比較基準。

英文縮寫：ALT: alanine aminotransferase

表 11. 比較慢性 C 肝基因型第一型病毒與非基因型第一型病毒感染患者臨床特徵的差異性

	Genotype 1 (n=89)	Genotype non-1 (n=73)	P value
Age, year	50.53±1.26	48.63±1.40	0.315
Male, %	59.55	69.86	0.173
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	24.84±0.34	23.89±0.36	0.057
Fasting blood glucose, mg/dL	102.66±2.87	96.71±2.42	0.125
HCV RNA Log <sub>10</sub>	5.49±0.13	5.31±0.14	0.334
Log <sub>10</sub> HOMA-IR	0.50±0.03	0.38±0.04	0.015
ALT, U/L	118.85±6.62	133.53±12.97	0.290
Triglyceride, mg/dL	110.22±5.19	99.95±6.00	0.195
Total cholesterol, mg/dL	176.31±4.07	166.85±3.47	0.086
Adiponectin, ug/mL	4.75±0.55	6.47±0.82	0.077

說明：

所有數值以算數平均值(mean)±標準誤(standard error)來表示(mean±se.)。

將胰島素抗性指標(HOMA-IR)>2.4定義為有胰島素抗性。

\*  $P < 0.05$

#  $0.1 < P < 0.05$

英文縮寫：ALT: alanine aminotransferase

表 12. 比較 162 位慢性 C 肝患者中病毒基因型第一型與臨床特徵的關連性

	<b>Adjusted OR</b> (95% CI)
HCV RNA Log <sub>10</sub>	1.11(0.83-1.49)
Age, year	1.01(0.98-1.04)
Sex	
Female	Reference
Male	0.56(0.27-1.15)
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	1.04(0.93-1.17)
Total cholesterol, mg/dL	1.01(1.00-1.02)
ALT, U/L	1.00(0.99-1.00) <sup>#</sup>
Log <sub>10</sub> HOMA-IR	3.09(0.84-11.33) <sup>#</sup>
Adiponectin, ug/mL	0.94(0.88-1.00)*

**說明：**

將胰島素抗性指標(HOMA-IR) >2.4定義為有胰島素抗性。

\*  $P < 0.05$

<sup>#</sup>  $0.1 < P < 0.05$



表 13. 比較 94 位慢性 C 肝患者中肝臟組織學與胰島素抗性指標的關連性

	Insulin resistance		Non-insulin resistance		P	
	Case No	%	Case No	%		
Periportal fibrosis	0	12	(24.0)	14	(31.8)	0.829
	1	17	(34.0)	11	(25.0)	
	2	5	(10.0)	6	(13.6)	
	3	15	(30.0)	12	(27.3)	
	4	1	(2.0)	1	(2.3)	
Portal activity	0	0	(0.0)	2	(4.5)	0.470
	1	12	(24.0)	12	(27.3)	
	2	9	(18.0)	9	(20.5)	
	3	19	(38.0)	16	(36.4)	
	4	10	(20.0)	5	(11.4)	
Periportal activity	0	22	(44.0)	15	(34.1)	0.615
	1	23	(46.0)	26	(59.1)	
	2	1	(2.0)	1	(2.3)	
	3	4	(8.0)	2	(4.5)	
Intralobular activity	0	8	(16.0)	4	(9.1)	0.239
	1	26	(52.0)	20	(45.5)	
	2	2	(4.0)	5	(11.4)	
	3	10	(20.0)	14	(31.8)	
	4	4	(8.0)	1	(2.3)	
Centrilobular fibrosis	0	34	(68.0)	30	(68.2)	0.072
	1	16	(32.0)	10	(22.7)	
	2	0	(0.0)	4	(9.1)	
Steatosis	18	(36.0)	32	(72.7)	0.002	
0%~1%	22	(44.0)	6	(13.6)		
1%~16%	8	(16.0)	5	(11.4)		
17%~33%	2	(4.0)	0	(0.0)		
≥34%	0	(0.0)	1	(2.3)		

說明：

將胰島素抗性指標(HOMA-IR) >2.4定義為有胰島素抗性。

表 14. 比較慢性 C 肝患者中胰島素抗性與肝臟脂肪變性的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Age	0.007	0.004	0.133
Sex	-0.053	0.099	0.591
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	0.042	0.017	0.015
Triglyceride, mg/dL	0.001	0.001	0.517
ALT,U/L	0.001	0.000	0.127
Total cholesterol, mg/dL	-0.001	0.001	0.449
Adiponectin, ug/mL	-0.116	0.038	0.003
Steatosis grade 1 or more	0.227	0.099	0.025

說明：

多變項線性迴歸模型分析以胰島素抗性為依變項(dependent variable)，年齡、性別、BMI、ALT值、脂締素、血清中三酸甘油酯濃度、血清中總膽固醇濃度、以及肝臟脂肪變性為獨立變項(independent variables)。

將胰島素抗性指標(HOMA-IR) >2.4定義為有胰島素抗性。

\*  $P < 0.05$

#  $0.1 < P < 0.05$

表 15. 比較 94 位慢性 C 肝患者中臨床特徵與肝臟脂肪變性的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Age	0.001	0.005	0.824
Sex	0.025	0.112	0.823
Triglyceride, mg/dL	0.002	0.001	0.101
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	0.032	0.018	0.090
ALT,U/L	0.000	0.001	0.942
Total cholesterol, mg/dL	-0.001	0.001	0.260
Fibrosis	0.111	0.044	0.014

說明：

多變項線性迴歸模型分析以肝臟脂肪變性為依變項(dependent variable)，年齡、性別、BMI、ALT值、脂締素、血清中三酸甘油酯濃度、血清中總膽固醇濃度、以及肝臟纖維化為獨立變項(independent variables)。

表 16. 探討慢性 C 肝患者血清中病毒量與血清脂肪特徵關係研究中收案患者的臨床特徵

Characteristics	Mean ± S.D. (%)
Age, year	54.0 ± 11.6
Male, n (%)	291 (54.8)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )*	25.6 ± 3.6
Fasting blood glucose, mg/dL	103.8 ± 35.6
Triglyceride, mg/dL	100.6 ± 50.9
Total cholesterol, mg/dL	171.6 ± 33.0
LDL, mg/dL <sup>#</sup>	105.0 ± 31.7
HDL, mg/dL	45.5 ± 11.7
HCV RNA Log <sub>10</sub> (IU/mL)	5.6 ± 0.8
Albumin, g/dL <sup>§</sup>	4.2 ± 0.3
AST, IU/L <sup>#</sup>	90.6 ± 64.1
ALT, IU/L <sup>#</sup>	132.0 ± 99.9
GGT, IU/L*	57.2 ± 64.6
PLT, K/ul	171.0 ± 55.8
HOMA-IR <sup>†</sup>	5.0 ± 7.3
Genotype, n(%)	
1	328(61.8)
2	200(37.7)
Mixed 1 and 2	3(0.6)
METAVIR activity, n (%)	
A0	10 (1.9)
A1	230 (43.3)
A2	214 (40.3)
A3	77 (14.5)
METAVIR fibrosis, n (%)	
F0	4 (0.8)
F1	110 (20.7)
F2	215 (40.5)
F3	105 (19.8)
F4	97 (18.3)
Steatosis, n (%)	
G0	294 (55.4)
G1	181 (34.1)
G2	44(8.29)
G3	12 (2.3)

**說明：**

1. 所有數值以算數平均值(mean) ±標準誤(standard error)來表示(mean±se.)。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

# 有一位缺乏該項目資料，\* 有二位缺乏該項目資料，<sup>S</sup> 有三位缺乏該項目資料。 † 只有510位該有HOMA-IR資料。

**英文縮寫：** BMI: body mass index; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; GGT: gamma-glutaryl transpeptidase; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL, high-density lipoprotein-cholesterol; PLT: platelet count; IR: insulin resistance.



表17. 比較慢性C肝患者中臨床特徵與血清中C肝病毒量的關連性

	Coefficients	Std. Err.	P value
Age, year	-0.0028	0.0029	0.353
Male sex	-0.0945	0.0690	0.171
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.0124	0.0095	0.191
Fasting blood glucose, mg/dL	-0.0321	0.3225	0.921
Triglyceride, mg/dL	0.3547	0.1815	0.051
Total cholesterol, mg/dL	0.7600	0.4117	0.065
LDL, mg/dL	0.4917	0.2576	0.057
HDL, mg/dL	-0.2058	0.3249	0.527
Albumin, g/dL	-0.0976	0.1076	0.364
AST, U/L	0.0005	0.0005	0.315
ALT, U/L	0.0003	0.0003	0.319
GGT, U/L	0.0003	0.0005	0.576
PLT, K/ul	-0.0442	0.2249	0.844
HOMA-IR	0.0119	0.0048	0.013

說明：

1. 以單變項線性迴歸方式分析，以Log<sub>10</sub>(HCV RNA)為依變項。
2. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

英文縮寫：BMI: body mass index; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; GGT: gamma-glutaryl transpeptidase; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL, high-density lipoprotein-cholesterol; PLT: platelet count; IR: insulin resistance.

表18. 比較508位慢性C肝患者中臨床特徵與血清中C肝病毒量的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Sex, (M vs. F)	-0.1287	0.0688	0.062
Age, year	-0.0030	0.0031	0.349
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.0091	0.0100	0.361
Genotype, (2 vs.1)	-0.4008	0.0694	<0.001
HOMA-IR	0.0102	0.0048	0.033
Log <sub>10</sub> (PLT), K/ul	-0.1573	0.2652	0.553
Metavir Activity	0.1000	0.0493	0.043
Metavir Fibrosis	-0.0953	0.0412	0.021
Steatosis	-0.0735	0.0485	0.130
Log <sub>10</sub> (Triglyceride), mg/dL	0.5049	0.1883	0.008
Constant	5.5422	0.7803	<0.001

**說明：**

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

表 19. 比較 350 位 BMI  $\leq$  27 kg/m<sup>2</sup> 慢性 C 肝患者中臨床特徵與血清中 C 肝病毒量的關連性

	Parameter Estimate	Standard Error	P value
Sex, (M vs. F)	-0.0139	0.0806	0.863
Age, year	-0.0001	0.0035	0.969
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.0342	0.0191	0.074
Genotype, (2 vs. 1)	-0.3605	0.0804	<0.001
HOMA-IR	0.0112	0.0056	0.045
Steatosis	-0.0933	0.0603	0.123
Log <sub>10</sub> (Total cholesterol), mg/dL	1.3025	0.5367	0.016
Log <sub>10</sub> (HDL), mg/dL	-0.8352	0.4397	0.058
Constant	3.7793	1.2035	0.001

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。



表 20. 比較病毒基因型對慢性 C 肝患者臨床代謝特徵與 C 肝病毒量關連的影響性

	病毒基因型第一型 (n=316)				病毒基因型第二型 (n=192)		
	Parameter Estimate	Standard Error	P value		Parameter Estimate	Standard Error	P value
Age, years	-0.0010	0.0038	0.796	Age, years	-0.0070	0.0048	0.151
Sex, (M vs. F)	-0.1720	0.0833	0.040	Sex, (M vs. F)	-0.1341	0.1220	0.273
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.0212	0.0122	0.083	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0.0077	0.0155	0.620
HOMA-IR	0.0066	0.0069	0.343	HOMA-IR	0.0147	0.0067	0.029
Steatosis	-0.1600	0.0569	0.005	Log <sub>10</sub> (Total cholesterol), mg/dL	1.7550	0.7412	0.019
METAVIR Activity	0.1326	0.0598	0.027	GGT, U/L	0.0030	0.0013	0.020
Metavir Fibrosis	-0.0987	0.0443	0.027				
Log <sub>10</sub> (Triglyceride), mg/dL	0.4023	0.2408	0.096				
Constant	4.6175	0.5456	<0.001	Constant	1.8379	1.7067	0.283

**說明：**

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。



表 21. 比較慢性 C 肝患者的 SVR 與臨床特徵的關連性

	SVR (n=110)	No SVR (n=35)	P value
Age, year	53.3±1.2	55.9±1.8	0.272
Male, %	72(65.5)	18(51.4)	0.136
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.5±0.4	26.9±0.7	0.061
Albumin, g/dL	4.2±0.0	4.1±0.1	0.145
Fasting blood glucose, mg/dL	101.9±2.7	112.0±6.7	0.097
Triglyceride, mg/dL	103.7±4.8	120.1±11.8	0.130
Total cholesterol, mg/dL	169.4±3.5	168.4±6.1	0.887
LDL, mg/dL	103.6±3.3	101.8±7.1	0.780
HDL, mg/dL	47.9±1.3	48.8±3.6	0.747
HCV RNA Log <sub>10</sub> , IU/mL	5.3±0.1	5.9±0.1	0.003*
ALT, U/L	146.7±9.6	138.7±17.0	0.683
WBC, K/ul	5.0±0.2	4.6±0.4	0.341
Hb, g/dL	14.6±0.1	14.1±0.3	0.151
PLT, K/ul	176.0±4.9	160.3±10.1	0.130
AFP, ng/mL	12.6±2.7	15.6±3.7	0.557
Ferritin, µg/L	336.6±49.9	223.4±36.2	0.224
Genotype 2, %	54(49.1)	7(20.0)	0.003*
Peg-IFN ≤24wk vs. >24wk	87/23	23/12	0.107
RBV, mg/kg	13.7±0.3	13.6±0.5	0.879
METAVIR Activity (A0-1/A2-3)	17/92	8/26	0.288
METAVIR Fibrosis(F0-2/F3-4)	62/47	14/21	0.082
Steatosis (<0%/≥0%)	58/39	14/16	0.205

**說明：**

1. 所有數值以算數平均值(mean) $\pm$ 標準誤(standard error)(mean $\pm$ se.)或是人數(所佔比例)來表示。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. SVR定義為治療結束24週時檢測不到病毒量，並以34 IU/mL為C肝病毒量檢測不到的最低標準。

\*  $P < 0.05$

**英文縮寫：** BMI: body mass index; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; GGT: gamma-glutaryl transpeptidase; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL, high-density lipoprotein-cholesterol; WBC: blood white cell count; Hb: hemoglobin; PLT: platelet count; PLT: platelet count; Peg-IFN: pegylated interferon; RBV: ribavirin.

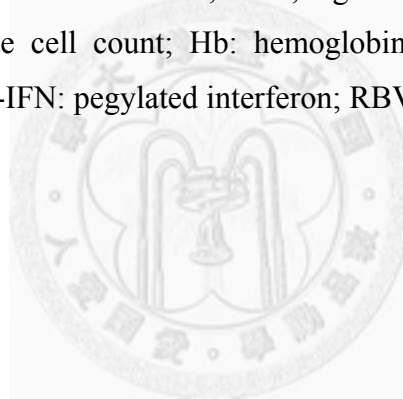


表 22. 慢性 C 肝患者的早期病毒下降量與 SVR 的關連性

早期病毒下降量	SVR (n=110)	No SVR (n=35)	P value
*D0.5, HCV RNA Log <sub>10</sub>	5.5±0.1	6.3±0.2	<0.001
D1, HCV RNA Log <sub>10</sub>	4.6±0.1	5.5±0.2	<0.001
D2, HCV RNA Log <sub>10</sub>	4.0±0.1	5.1±0.2	<0.001
D3, HCV RNA Log <sub>10</sub>	3.8±0.2	4.9±0.3	0.001
D28, HCV RNA Log <sub>10</sub>	1.8±0.1	3.3±0.2	<0.001
Wk12, HCV RNA Log <sub>10</sub>	1.6±0.0	2.0±0.2	<0.001
病毒學反應	SVR (n=110)	No SVR (n=35)	P value
RVR, n (%)	100(90.9)	11(31.4)	<0.001
Undetectable HCV RNA, Wk 12, n (%)	109(99.1)	26(74.3)	<0.001
c-EVR, n	9	18	
p-EVR, n	0	1	
Non-EVR, n	1	2	

說明：

1. 所有數值以算數平均值(mean)±標準誤(standard error)(mean±se.)或是人數(所佔比例)來表示。

2. SVR定義為治療結束24週時檢測不到病毒量；RVR定義為治療第4週時檢測不到病毒量；c-EVR定義為無RVR者在治療第12週時檢測不到病毒量；p-EVR定義為無RVR者在治療第12週時病毒量下降100倍者。並以34 IU/mL為C肝病毒量檢測不到的最低標準。

\* D0.5: 治療第0.5天，D1: 治療第1天，D2: 治療第2天，D3: 治療第3天，D28: 治療第28天，Wk 12: 治療第12週。

英文縮寫：RVR: rapid virological response; EVR: early virological response; c- EVR: complete early virological response; p-EVR: partial early virological response; SVR: sustained virological response.

表 23. 臨床因子與慢性C肝患者的早期病毒下降量的關連性

	Odds ratio 95 % (C.I.)	
	治療 2 天後*	治療第 2 至第 28 天†
Age, year	1.02(0.98-1.06)	1.00(0.93-1.06)
Sex, Female vs. Male	1.79(0.65-4.89)	0.88(0.20-3.87)
BMI, (kg/m <sup>2</sup> )	0.83(0.72-0.96)‡	0.86(0.72-1.02)
Log <sub>10</sub> (HCV RNA levels), IU/mL	1.12(0.62-2.03)	2.78(1.04-7.48)‡
Genotype, 2 vs. 1	0.25(0.09-0.71)‡	1.48(0.35-6.25)
ALT, U/L	1.00(0.99-1.01)	1.00(0.99-1.01)
Metavir fibrosis	1.55(0.86-2.78)	1.37(0.58-3.23)
GGT, U/L	1.01(1.00-1.02)	
HDL, mg/dL		0.95(0.91-0.99)‡

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。

\* 有125人有完整資料。

† 有112人有完整資料。

‡  $P < 0.05$

表 24. 臨床因子與慢性 C 肝患者的 RVR 及 SVR 的關連性

	Odds ratio 95% (C.I.)	
	RVR	SVR
Age, year	0.97(0.91-1.03)	0.98(0.93-1.03)
Sex, Female vs. Male	2.36(0.80-6.98)	1.57(0.61-4.04)
BMI, (kg/m <sup>2</sup> )	0.83(0.71-0.97)*	0.90(0.80-1.02)
HCV RNA levels, Log <sub>10</sub> , IU/mL	0.41(0.17-0.98)*	0.52(0.26-1.03)
Genotype 2 vs. 1	0.07(0.01-0.30)*	0.27(0.09-0.84)*
Metavir fibrosis	0.96(0.45-2.02)	0.51(0.28-0.93)*
ALT, U/L	1.01(1.00-1.02)*	1.00(1.00-1.01)
Platelet, K/ $\mu$ L	1.01(1.00-1.02) <sup>†</sup>	

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 有127人有完整RVR資料，有129人有完整SVR資料。

\*  $P < 0.05$

<sup>†</sup>  $P = 0.052$

表 25. 臨床因子與慢性 C 肝患者第 12 週時檢測不到病毒量的關連性

	Odds ratio	95% (C.I.)	P value
Age, year	0.87	0.73-1.04	0.122
Sex, Female vs. Male	0.89	0.06-13.44	0.934
BMI, (kg/m <sup>2</sup> )	0.85	0.61-1.17	0.318
Log <sub>10</sub> (HCV RNA levels), IU/mL	1.32	0.29-6.00	0.716
Genotype 2 vs. 1	0.51	0.03-7.61	0.625
ALT, U/L	1.01	0.99-1.04	0.368
Metavir fibrosis	0.96	0.21-4.44	0.953

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 有129人有完整資料。



表 26. 臨床因子與慢性 C 肝患者 SVR 的關連性

	Odds ratio	95% (C.I.)	P value
Age, year	0.99	0.93-1.04	0.623
Sex, Female vs. Male	1.47	0.51-4.19	0.472
BMI, (kg/m <sup>2</sup> )	0.98	0.85-1.13	0.781
HCV RNA levels, Log <sub>10</sub> , IU/mL	0.38	0.17-0.83	0.015
Genotype 2 vs. 1	0.27	0.08-0.92	0.037
Metavir fibrosis	0.66	0.35-1.27	0.217
ALT, U/L	1.00	1.00-1.01	0.253
*D28d, HCV RNA, Log <sub>10</sub> , IU/mL	2.32	1.41-3.80	0.001

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 有126人有完整資料。

\* D28d: 治療第28天時的病毒下降量。

表 27. 比較不同 C 肝病毒基因型感染與臨床特徵的關連性

Characteristics	基因型第一型	基因型第二型	P value
	(n=328)	(N=200)	
	Mean ± S.D. or n (%)		
Age, year	54.6 ± 11.0	53.0 ± 12.4	0.12
Male, n (%)	174 (53.1)	114 (57.0)	0.38
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.7 ± 3.5	25.5 ± 3.8†	0.51
Fasting blood glucose, mg/dL	102.7 ± 31.2	106.0 ± 41.8	0.31
Triglyceride, mg/dL	98.3 ± 45.6	104.6 ± 58.8	0.17
Total cholesterol, mg/dL	171.4 ± 33.3	171.9 ± 32.6	0.89
LDL, mg/dL	104.8 ± 30.3	105.0 ± 34.2*	0.95
HDL, mg/dL	45.5 ± 11.7	45.5 ± 11.9	0.99
HCV RNA Log <sub>10</sub> (IU/mL)	5.7 ± 0.7	5.4 ± 0.8	<0.001
ALT, IU/L	124.8 ± 94.6*	143.7 ± 107.8	0.04
PLT, K/ul	168.8 ± 58.6	174.8 ± 51.1	0.23
HOMA-IR index§	5.1 ± 6.1	4.8 ± 8.9	0.65
METAVIR activity, n (%)			0.35
A0	4 (1.2)	6 (3.0)	
A1	146 (44.5)	83 (41.5)	
A2	126 (38.4)	86 (43.0)	
A3/4	52 (15.9)	25 (12.5)	
METAVIR fibrosis, n (%)			0.11
F0	2 (0.6)	2 (1.0)	
F1	67 (20.4)	43 (21.5)	
F2	133 (40.6)	80 (40.0)	
F3	56 (17.1)	48 (24.0)	
F4	70 (21.3)	27 (13.5)	
Steatosis, n (%)			0.45
G0	186 (56.7)	106 (53.0)	
G1	110 (33.5)	71 (35.5)	
G2	23(7.0)	20(10.0)	
G3	9 (2.7)	3 (1.5)	

**說明：**

1. 所有數值以算數平均值(mean) $\pm$ 標準誤(standard error)(mean $\pm$ se.)或是人數(所佔比例)來表示。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. SVR定義為治療結束24週時檢測不到病毒量，並以34 IU/mL為C肝病毒量檢測不到的最低標準。
4. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

\* 有一位缺乏該項目資料，†有兩位缺乏該項目資料，‡有三位缺乏該項目資料。§ 有316位C肝病毒基因型第一型患者，192基因型第二型患者有胰島素抗性資料。

**英文縮寫：** BMI: body mass index; ALT, alanine aminotransferase; AST, aspartate transaminase; GGT: gamma-glutamyl transpeptidase; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; HDL, high-density lipoprotein-cholesterol; PLT: platelet count; IR: insulin resistance.

表 28. 比較 C 肝患者臨床特徵與肝臟組織學的相關性

	Metavir activity	Metavir fibrosis
Fasting blood glucose, mg/dL		
$\geq 126$ vs. $<126$	1.34(0.93-1.92)	1.54(1.18-2.02)*
Obesity		
BMI $>24$ vs. BMI $\leq 24$	1.12(0.88-1.42)	1.26(1.06-1.51)*
Triglyceride, mg/dL		
$\geq 150$ vs. $<150$	0.94(0.67-1.33)	1.05(0.82-1.34)
Total cholesterol, mg/dL		
$\geq 200$ vs. $<200$	1.01(0.69-1.46)	0.88(0.67-1.16)
LDL, mg/dL		
$\geq 130$ vs. $<130$	0.91(0.67-1.23)	0.72(0.58-0.91)*
HDL, mg/dL		
$\geq 40$ vs. $<40$	1.04(0.81-1.33)	0.96(0.80-1.15)
HOMA-IR index		
$>2.4$ vs. $\leq 2.4$	1.22(0.96-1.55)	1.27(1.07-1.51)*
HCV RNA Log <sub>10</sub> (IU/mL)		
$>400,000$ vs. $\leq 400,000$	1.09(0.87-1.38)	0.90(0.76-1.06)
ALT, IU/L		
$>80$ vs. $\leq 80$	2.59(1.95-3.44)*	1.55(1.29-1.88)*

\* P value  $<0.05$ ;

表 29. C 肝患者臨床代謝特徵與嚴重肝臟纖維化(advanced hepatic fibrosis)的相關性

	<b>Model 1</b> <b>N=510</b>	<b>Model 2</b> <b>N=527</b>
Age, yr	1.05(1.03-1.07)*	1.05(1.03-1.07)*
Sex, Male=1	0.73(0.49-1.09)	0.72(0.48-1.08)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	1.07(1.00-1.13)*	1.07(1.01-1.13)*
HCV RNA, IU/mL	0.77(0.59-1.00)*	0.81(0.63-1.04)†
HOMA-IR index	1.23(0.78-1.95)	
Fasting blood glucose, mg/dL	--	13.72(2.15-87.7)*
Total cholesterol, mg/dL	0.04(0.00-0.48)*	0.03(0.00-0.32)*
Metavir inflammatory activity	2.87(2.15-3.84)*	2.70(2.04-3.58)*
Hepatic steatosis	1.27(0.97-1.68)†	1.22(0.93-1.60)

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 嚴重肝臟纖維化(advanced hepatic fibrosis)定義為Metavir fibrosis stage  $\geq 3$ 。
4. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

\* P value <0.05; † P= 0.087 in Model 1, and P=0.091 in Model 2.

表 30. C 肝病毒基因型對患者臨床代謝特徵及嚴重肝臟纖維化相關性的影響

	基因型第一型 (n=328)	基因型第二型 (n=200)
Fasting blood glucose, mg/dL		
$\geq 126$ vs. $<126$	1.41(1.00-1.98)*	1.85(1.18-2.90)*
Obesity		
BMI $>24$ vs. BMI $\leq 24$	1.15(0.92-1.43)	1.49(1.10-2.02)*
Triglyceride, mg/dL		
$\geq 150$ vs. $<150$	1.05(0.76-1.43)	1.06(0.70-1.59)
Total cholesterol, mg/dL		
$\geq 200$ vs. $<200$	0.88(0.67-1.16)	0.80(0.55-1.16)
LDL, mg/dL		
$\geq 130$ vs. $<130$	0.67(0.50-0.90)*	0.83(0.58-1.20)
HDL, mg/dL		
$\geq 40$ vs. $<40$	0.95(0.76-1.18)	0.98(0.73-1.32)
HOMO-IR index		
$>2.4$ vs. $\leq 2.4$	1.39(1.12-1.74)*	1.06(0.80-1.41)
HCV RNA Log <sub>10</sub> (IU/mL)		
$>400,000$ vs. $\leq 400,000$	0.92(0.74-1.15)	0.80(0.60-1.06)
ALT, IU/L		
$>80$ vs. $\leq 80$	1.62(1.28-2.04)*	1.47(1.06-2.02)*

\* P value  $<0.05$ ;

表 31. 多變項分析下 C 肝病毒基因型對患者臨床代謝特徵及嚴重肝臟纖維化相關性的影響

	基因型第一型 (n=328)	基因型第二型(n=199)
Age, yr	1.04(1.02-1.07)*	1.05(1.02-1.09)*
Sex, Male=1	0.61(0.36-1.04)	0.88(0.45-1.72)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	1.01(0.94-1.09)	1.16(1.05-1.28)*
Fasting blood glucose, mg/dL	31.18(2.31-421.4)*	5.08(0.32-81.09)
Total cholesterol, mg/dL	0.03(0.00-0.80)*	0.01(0.00-0.45)*
Metavir inflammatory activity	2.99(2.09-4.28)*	2.47(1.50-4.04)*
Hepatic steatosis	1.23(0.87-1.74)	1.14(0.72-1.79)

說明：

1. 以逐步多變項線性迴歸方式分析。
2. 肝臟組織學以METAVIR記分系統為評估標準，肝臟脂肪變性以Brunt's分類為評估標準。
3. 嚴重肝臟纖維化(advanced hepatic fibrosis)定義為Metavir fibrosis stage  $\geq 3$ 。
4. 胰島素抗性以HOMA-IR指標為評估標準。

\* P value <0.05;

表 32. 實驗中膽固醇與三酸甘油酯合成途徑上相關基因的引子序列

基因名稱	序列
P3Flag-F1(sense)	AATGTCGTAATAACCCCGCCCCGTTGCGC
P3Flag-R1(antisense)	TATTAGGACAAGGCTGGTGGGCAC
GAPDH (sense)	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC
GAPDH (antisense)	GAAGATGGTGATGGGATTTTC
ACSS2 (sense)	GAGGAGCTCAAGAAGCAGATTAG
ACSS2 (antisense)	GCAATCTTCCGAAGCACTCGCCTC
ACLT (sense)	CAAGCCTGCCATGCCACAAGATTCAG
ACLT (antisense)	CTCGTCTCGGGAGCAGACATAGTC
SREBP1c (sense) <sup>297</sup>	GCCATGGATTGCACTTT
SREBP1c (antisense)	CAAGAGAGGAGCTCAATG
SREBP2 (sense)	CTTTGATATAACCAGAATGCAG
SREBP2 (antisense)	CAGGCTTTGGACTTGAGGCTG
HMGCR (sense)	CCTCAGTTCCAACCTCACAGGATGAAG
HMGCR (antisense)	GCTGACGTACCCCTGACATGGTACC
FASN (sense)	CTTCTACTACAAGCTGCGTGCCGCTG
FASN (antisense)	GTCACCCTCGATGACGTGGACGGATAC
HMGCS (sense)	CACACAAGATGCTACACCGGGGTCTGC
HMGCS (antisense)	CATCCACCCTAACTAAGTACCACGTTC

英文縮寫：GAPDH, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; SREBP, Sterol Regulatory Element Binding Proteins; ACSS2, Acyl-CoA synthetase short-chain family member 2; ACLT, ATP citrate lyase; HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A; HMGCR, HMG-CoA reductase; HMGCS: HMG-CoA synthase; FASN: Fatty acid synthase.



圖 1. C 肝自然病史

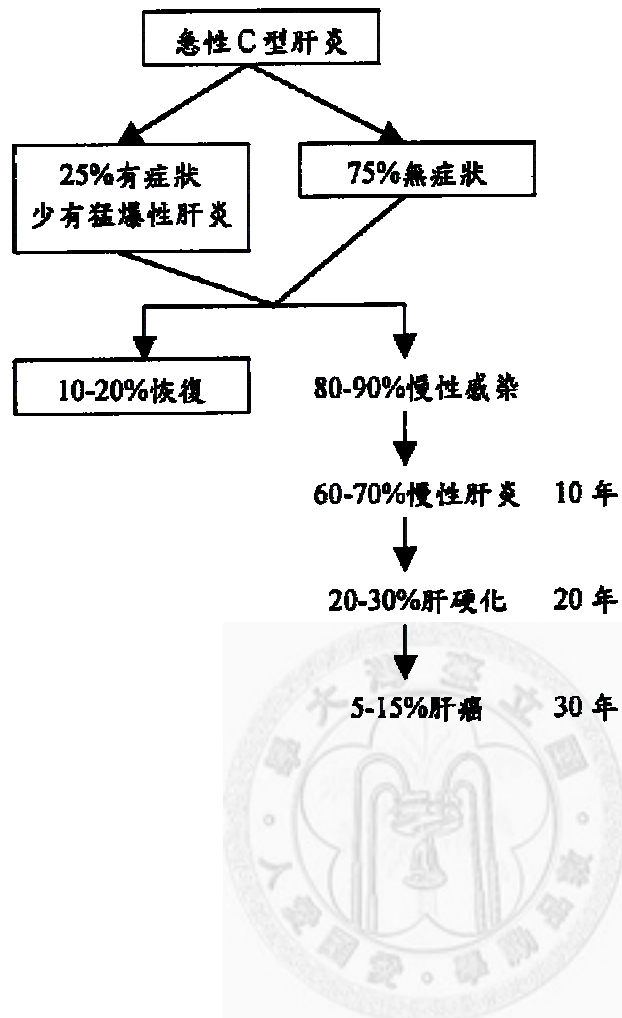


圖 2. 治療反應評估

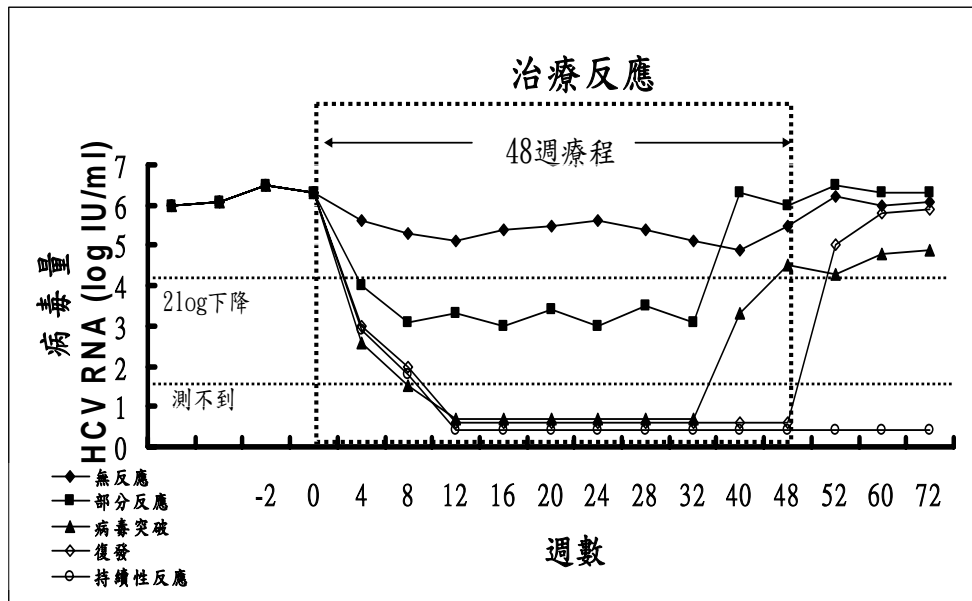


圖 3.干擾素治療之病毒動力學

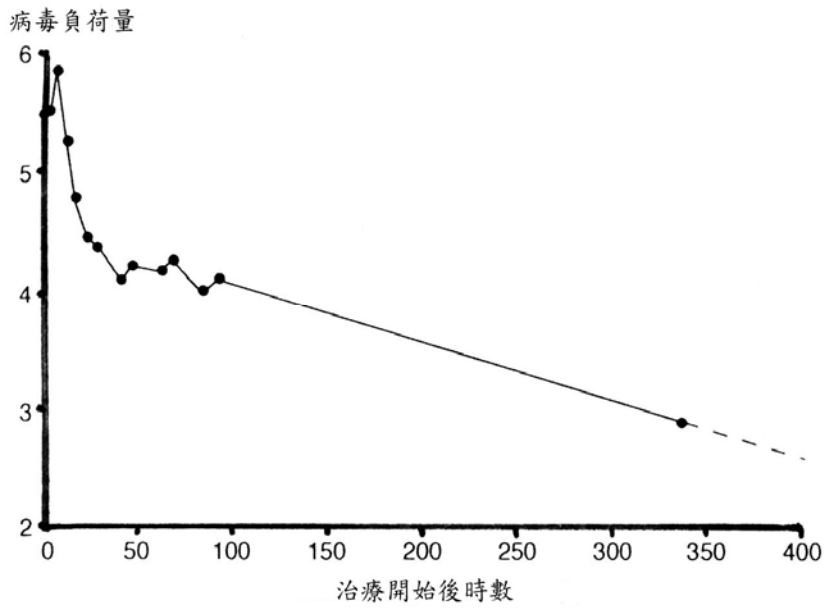
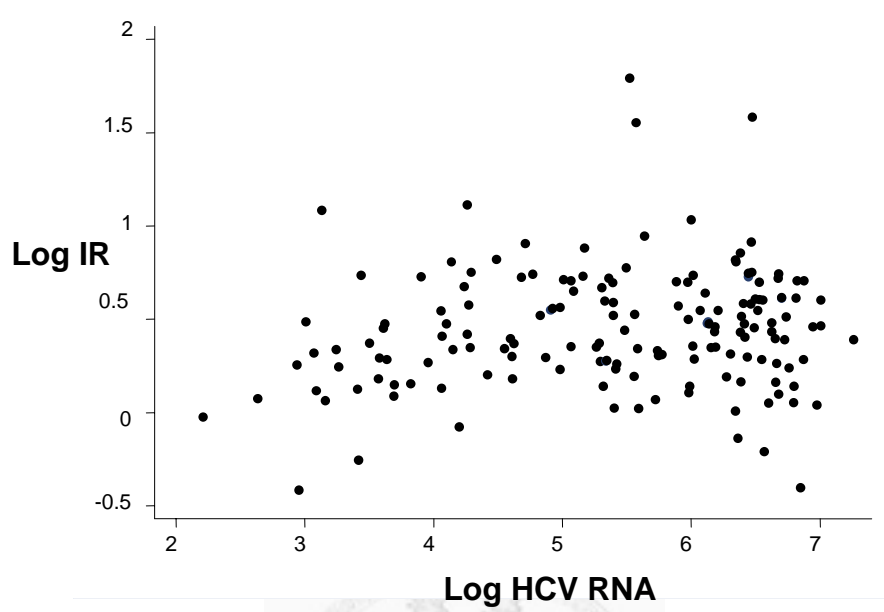


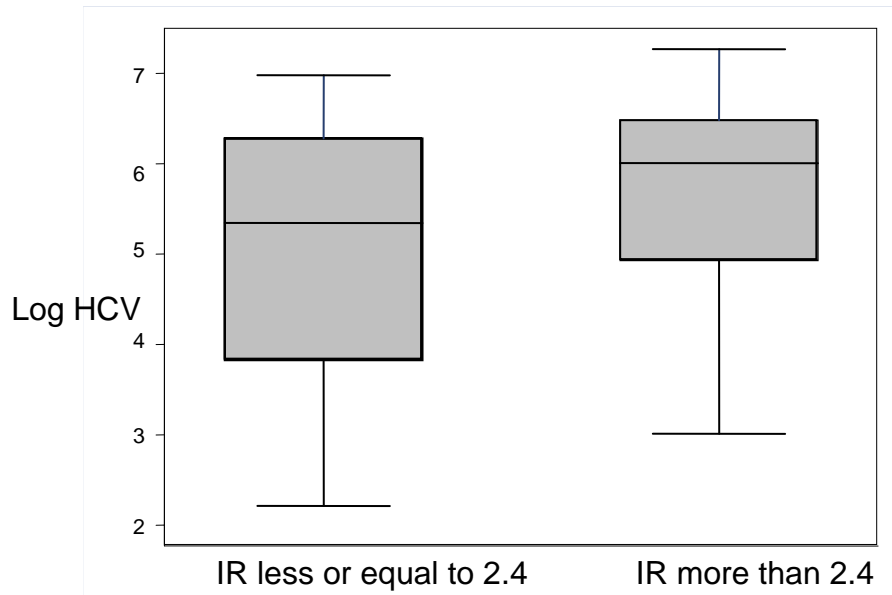
圖 4. 治療前胰島素抗性與血清中 C 肝病毒量關係的二維分布圖



治療前 $\text{Log}_{10}$  HOMA-IR與 $\text{Log}_{10}$  HCV RNA數值的相關係數 $r = 0.1494$ ;  $P = 0.0577$

英文縮寫：HCV: Hepatitis C virus; IR: insulin resistance.

圖 5. 胰島素抗性與 C 肝病毒量的關係

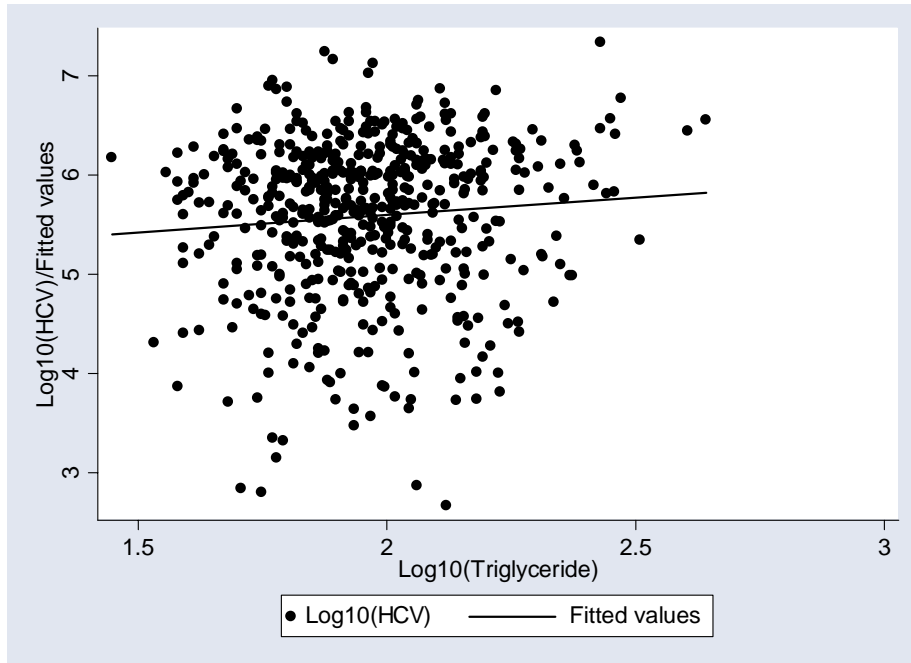


胰島素抗性定義為 HOMA-IR>2.4。

Y 軸代表  $\text{Log}_{10}$  HCV RNA; HOMA-IR  $\leq$  2.4 vs. HOMA-IR > 2.4, 5.08 (2.22~6.98) vs. 5.67 (3.01~7.27) [mean (range);  $P = 0.0017$ ]

英文縮寫：HCV: Hepatitis C virus; IR: insulin resistance.

圖6. 血清中C肝病毒量與三酸甘油酯濃度的關係



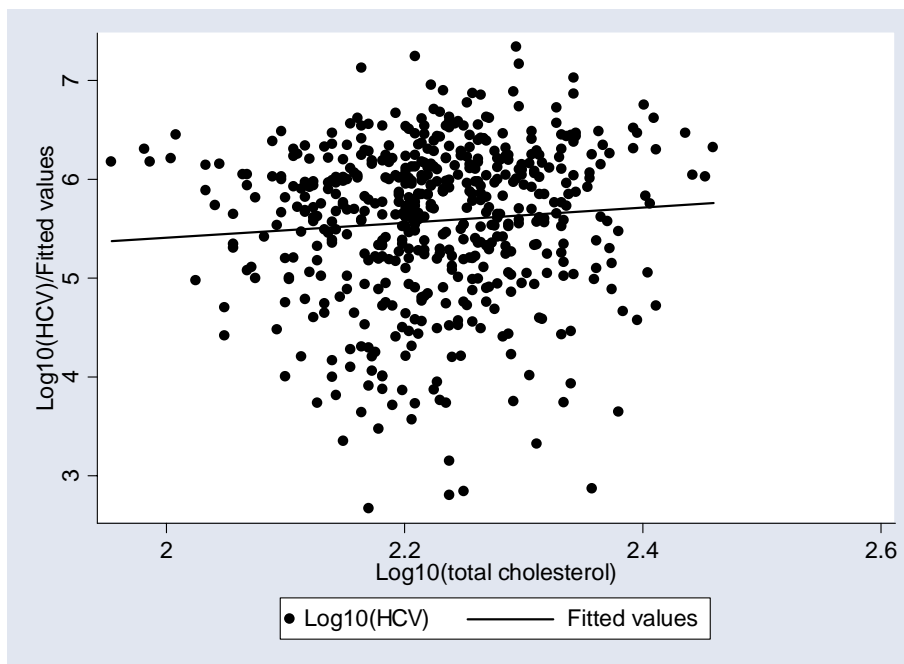
The regression equation:

$$\text{Log}_{10}(\text{HCV RNA}) = 4.887563 + 0.3547481 \times \text{Log}_{10}(\text{Triglyceride})$$

$$\text{R-square value} = 0.0072, \quad \text{P} = 0.051$$

英文縮寫：HCV: Hepatitis C virus

圖7. 血清中C肝病毒量與總膽固醇濃度的關係



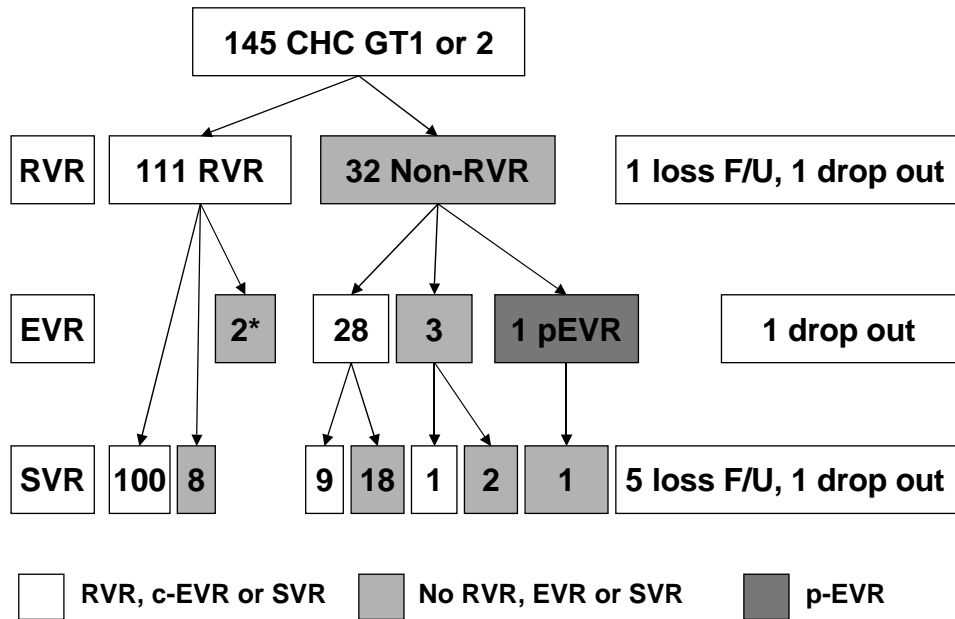
The regression equation:

$$\text{Log}_{10}(\text{HCV RNA}) = 3.890243 + 0.759983 \times \text{Log}_{10}(\text{Total cholesterol})$$

R-square value = 0.0064, P=0.065

英文縮寫：HCV: Hepatitis C virus

圖 8. 本研究中 C 肝患者的病毒學反應 RVR、EVR 以及 SVR



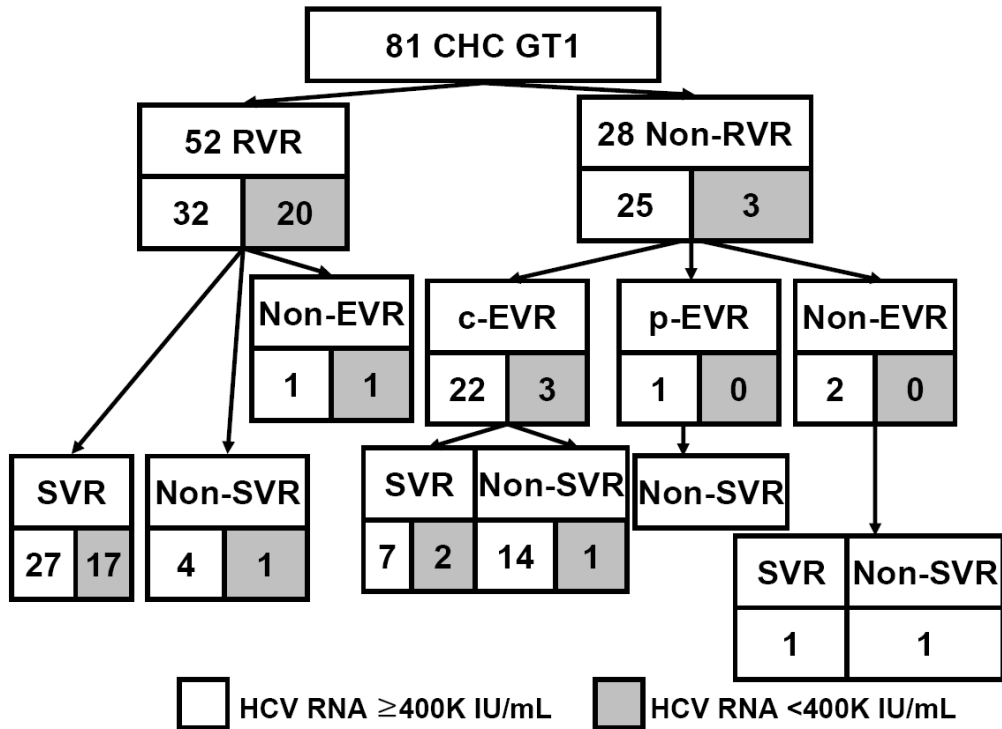
在145位接受治療的慢性C肝患者中，110位接受24週的療程，35位患者(全是遭C肝病毒基因型第一型所感染者)則接受48週的療程。111位患者在接受治療時達到RVR，138位患者達到EVR，最後總共有110位患者達到SVR。

灰色代表沒有達到病毒學反應，深灰色代表達到 p-EVR 者。

英文縮寫：RVR: rapid virological response; EVR: early virological response; c- EVR: complete early virological response; p-EVR: partial early virological response; SVR: sustained virological response.



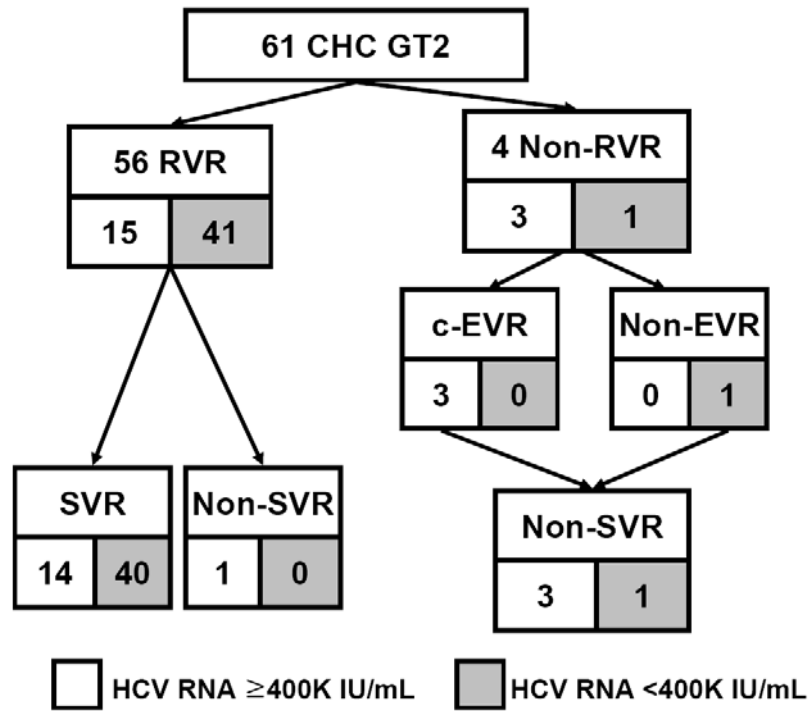
圖9. C肝病毒基因型第一型感染者的RVR以及SVR



按照病毒基因型與治療前病毒量分組時，當C肝病毒基因型第一型感染患者有較低治療前病毒量以及RVR時，94% (17/18)可以達到SVR。當C肝病毒基因型第一型感染患者為高治療前病毒量以及無RVR時，只有33% (8/24)可以達到SVR。以C肝高病毒量定義為serum HCV RNA level  $\geq$  400K IU/mL。

英文縮寫：RVR: rapid virological response; EVR: early virological response; c- EVR: complete early virological response; p-EVR: partial early virological response; SVR: sustained virological response.

圖10. C肝病毒基因型第二型感染者的RVR以及SVR



按照病毒基因型與治療前病毒量分組時，當C肝病毒基因型第二型感染患者有較低治療前病毒量以及RVR時，100% (40/40)可以達到SVR。當C肝病毒基因型第二型感染患者無RVR時，無人可以達到SVR。以C肝高病毒量定義為serum HCV RNA level  $\geq 400K$  IU/mL。

英文縮寫：RVR: rapid virological response; EVR: early virological response; c- EVR: complete early virological response; p-EVR: partial early virological response; SVR: sustained virological response.

圖 11. 肝臟纖維化嚴重程度與血清中 LDL 濃度的關係。

肝臟纖維化越嚴重時血清中 LDL 濃度越低(\* p<0.05)。

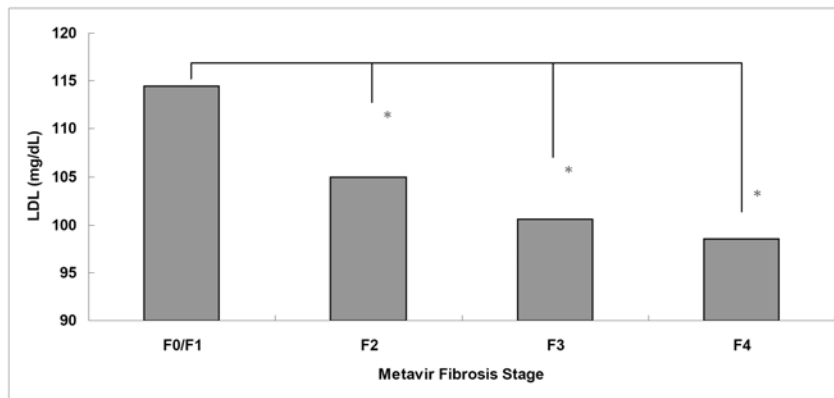


圖 12. 肝臟纖維化嚴重程度與空腹血糖的關係。

肝臟纖維化越嚴重時空腹血糖值越高 ( $p < 0.05$ )。

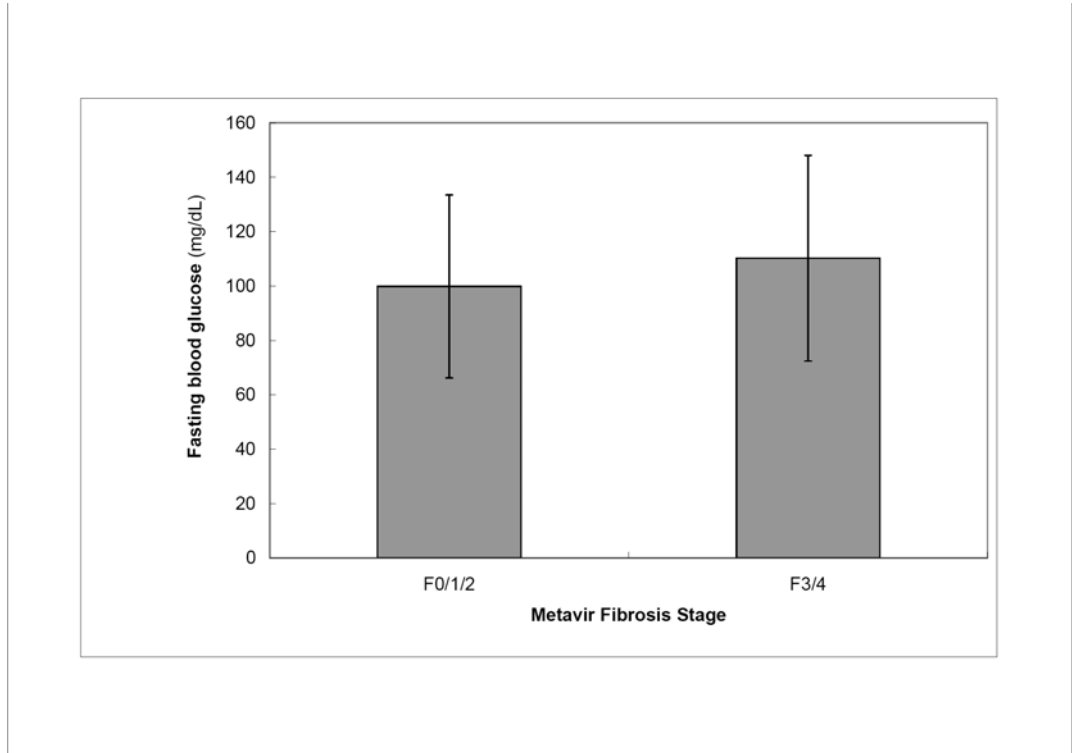
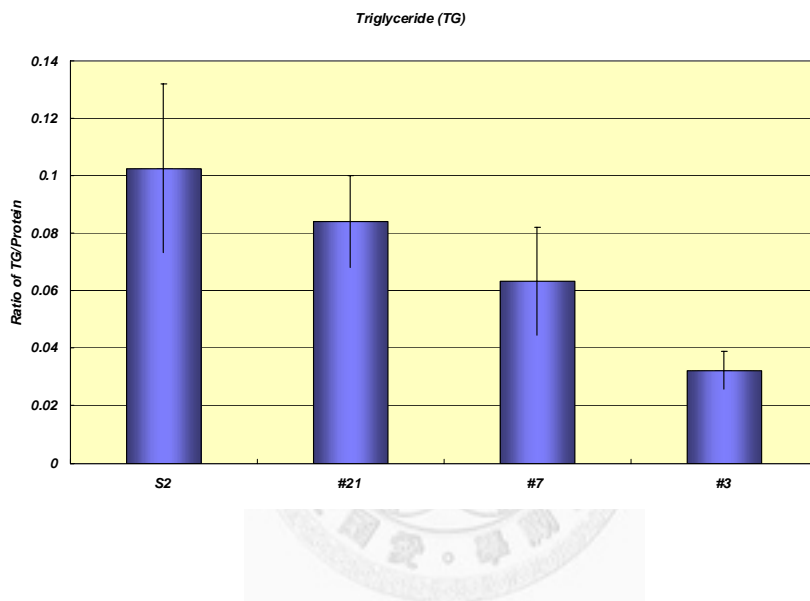


圖13. 比較不同C肝基因型第一型病毒核心蛋白量對Huh-7細胞三酸甘油酯以及膽固醇合成的影響

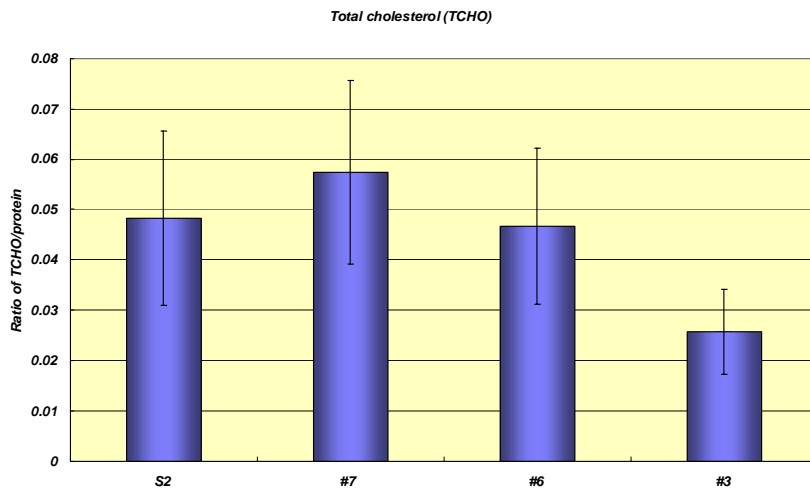
a. 細胞三酸甘油酯濃度也會隨著核心蛋白量的增加而減少(P=0.001, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

b. 細胞膽固醇濃度也會隨著核心蛋白量的增加而減少(P=0.016, #7 vs. control, Mann-Whitney test; P=0.02, Nonparametric test for trend)。

### 13a.



### 13b.



**圖 14. 比較不同 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白量對 Huh-7 細胞內三酸甘油酯以及膽固醇合成途徑上各基因的影響**

C191/S2 #3, #6, #7, #21 為帶有 C 肝基因型第一型病毒核心蛋白複製子的 Huh-7 細胞，可以表現出不同程度的核心蛋白量(由低致高為#6 < #7 < #21 < #3)，S2 為帶有載體的控制組細胞。各基因的 mRNA 表現量將以 36B4 基因的表現量作調整。

a. SREBP1c 的 mRNA 表現量在#6 細胞被調升，但是 mRNA 的表現量隨著 C 肝核心蛋白量的增加而減少 (P=0.04, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

b. SREBP2 的 mRNA 表現量在核心蛋白表現時都被調升，但是其 mRNA 的表現量也會隨著核心蛋白量的增加而減少 (P=0.039, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

c. HMGCR 的 mRNA 表現量會隨著核心蛋白量的增加而減少 (P<0.01, ANOVA; P=0.01, Nonparametric test for trend)。

d. HMGCS1 的 mRNA 表現量會隨著核心蛋白量的增加而減少 (P=0.015, ANOVA; P=0.01, Nonparametric test for trend)。

e. FDFT1 的 mRNA 表現量在核心蛋白表現時都被調升，但是其 mRNA 的表現量也會隨著核心蛋白量的增加而增加 (P<0.01, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

f. ACLT 的 mRNA 表現量在核心蛋白表現時都被調升，但是其 mRNA 的表現量也會隨著核心蛋白量的增加而增加 (P=0.027, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

g-i. ACSS2 的 mRNA 表現量會隨著核心蛋白量的增加而減少 (P=0.0085, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。FASN 以及 ACC1 的 mRNA 表現量在較低濃度的 C 肝核心蛋白量表現時被調升，但是其 mRNA 的表現量隨著 C 肝核心蛋白量的增加而減少 (P=0.085, ANOVA; P=0.01, Nonparametric test for trend for FASN; P<0.05, ANOVA; P=0.10 for ACC1)。

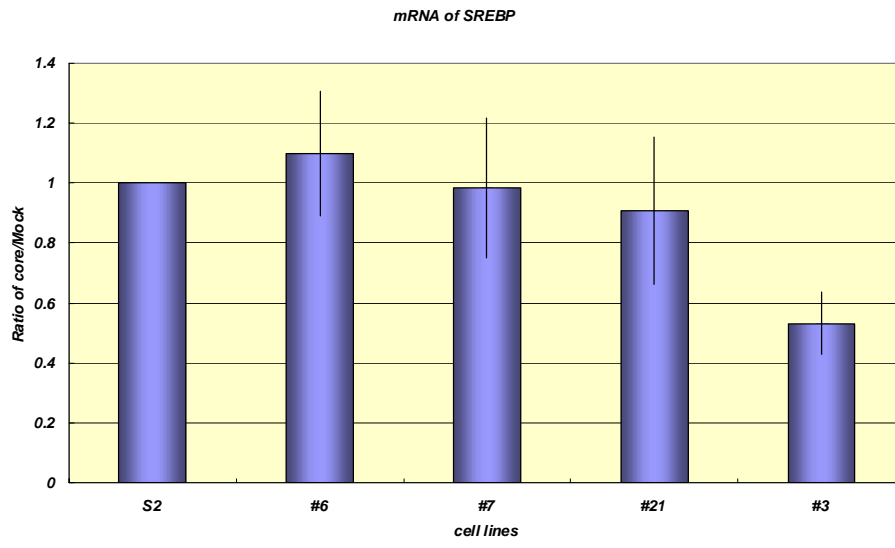
j. MTP 的 mRNA 表現量在核心蛋白表現時都被調降，並且其 mRNA 的表現量會隨著核心蛋白量的增加而減少 (P=0.0028, ANOVA; P<0.01, Nonparametric test for trend)。

**英文縮寫：** GAPDH, Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; SREBP,

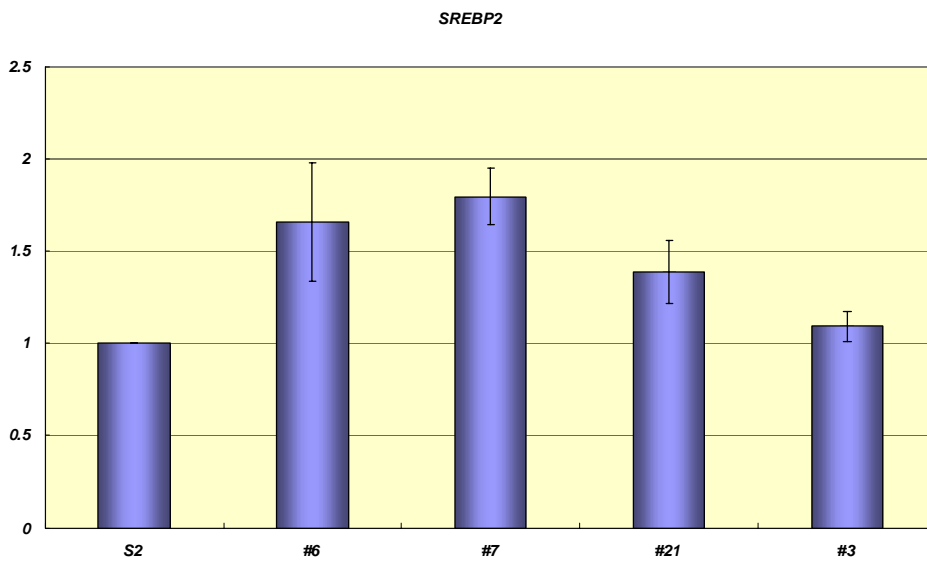
Sterol Regulatory Element Binding Proteins; ACSS, Acyl-CoA synthetase short-chain family member 2; ACLT, ATP citrate lyase; HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A; HMGCR, HMG-CoA reductase; HMGCS1, HMG-CoA synthase; MTP, microsomal triglyceride transfer protein; FDFT1, farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1; FASN, Fatty acid synthase; ACC1, Acetyl-CoA carboxylase.



14a.

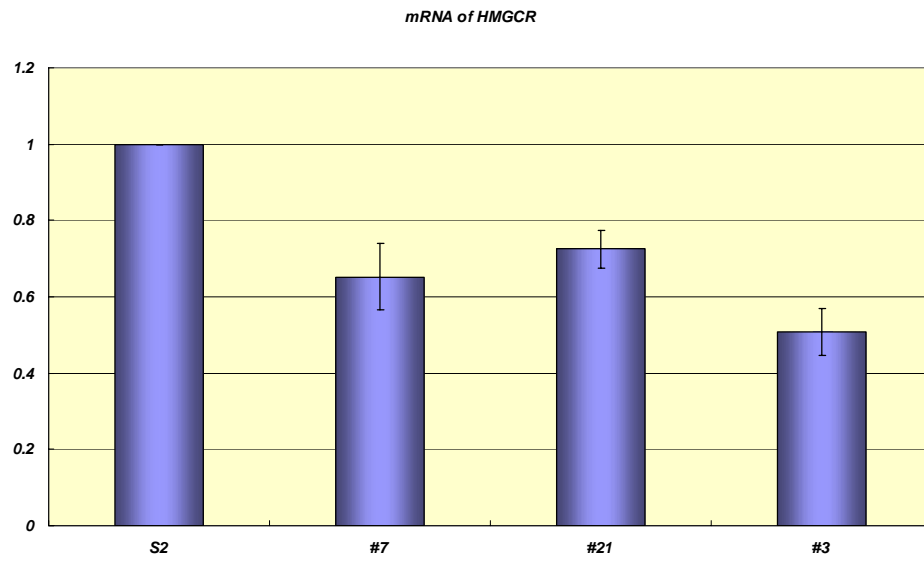


14b.

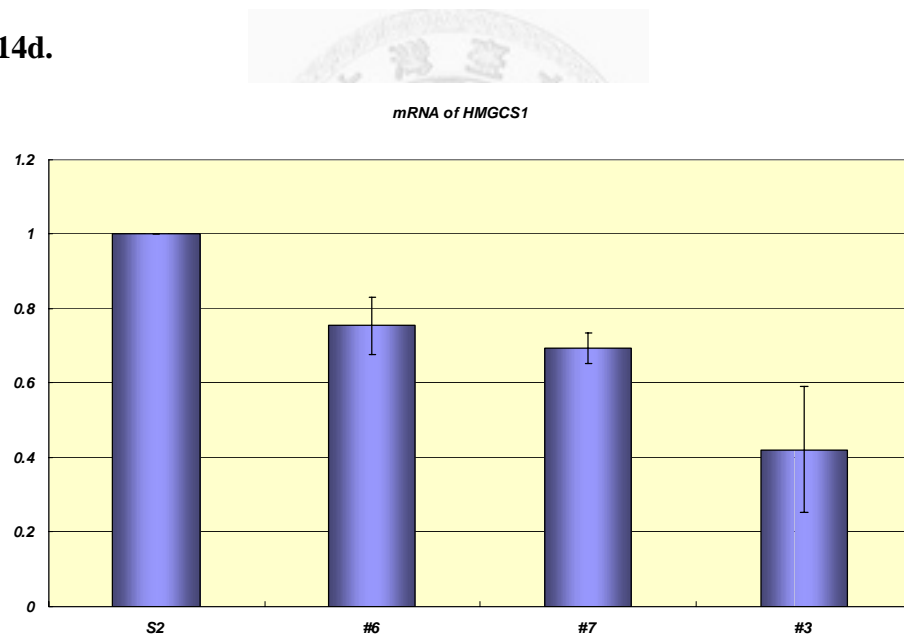




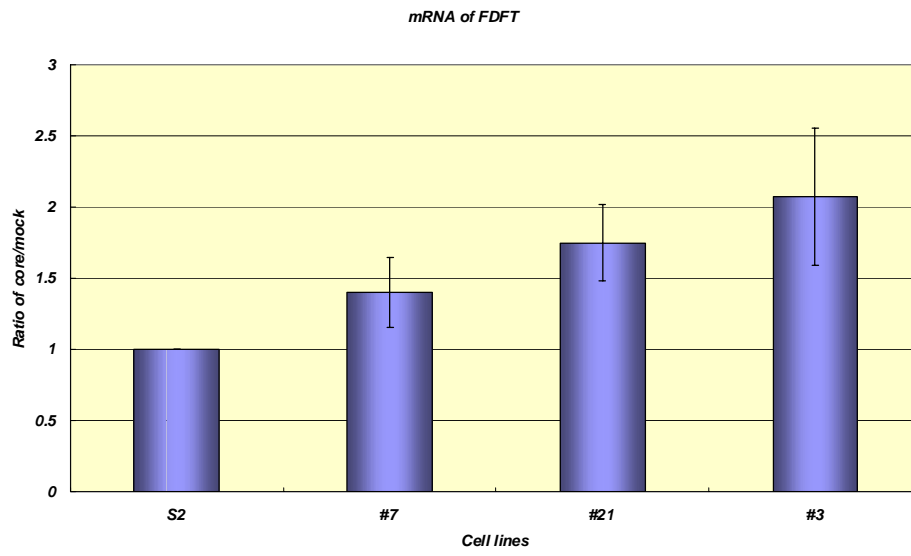
14c.



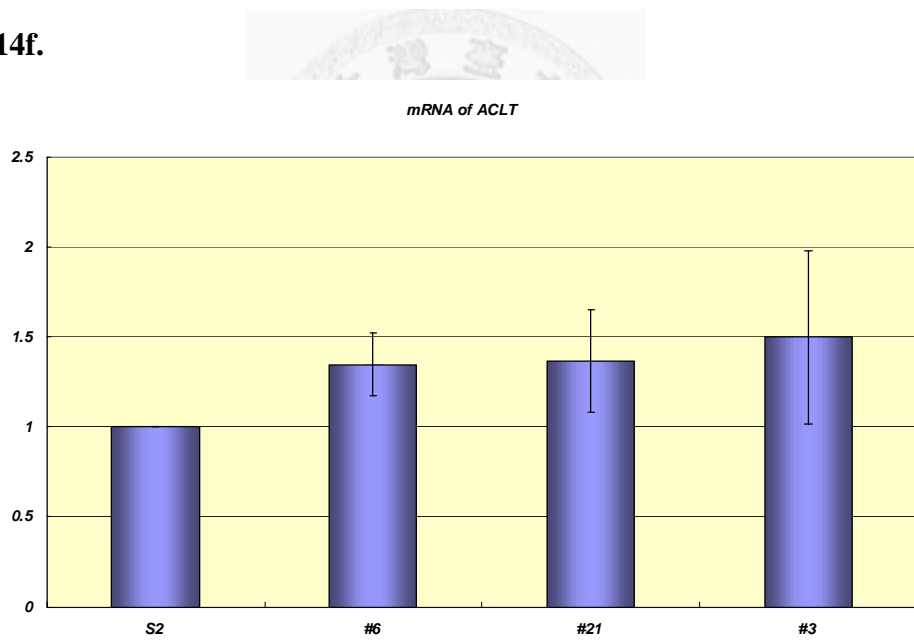
14d.



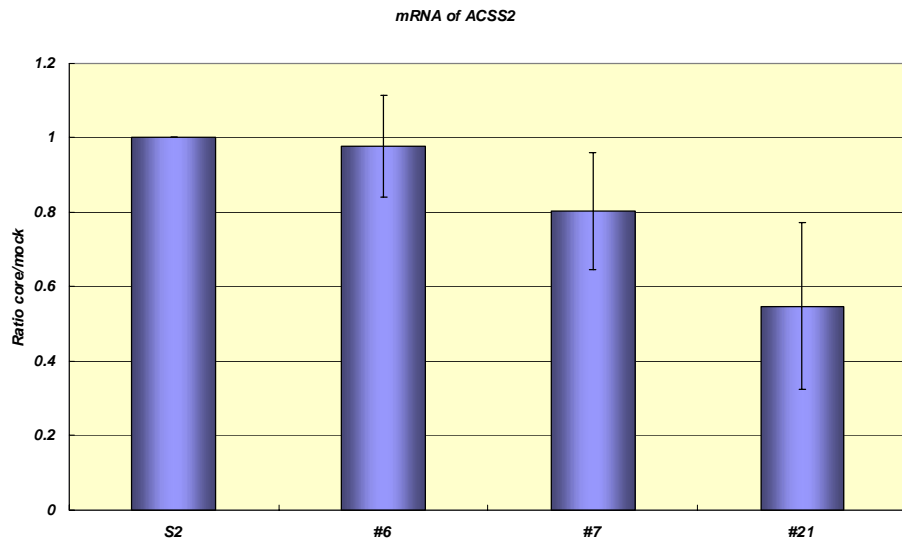
14e.



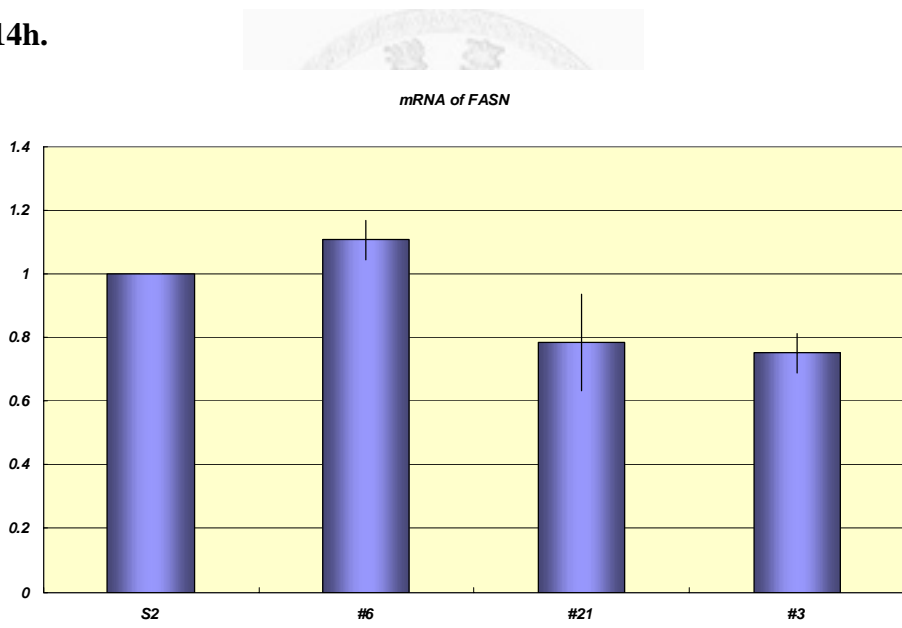
14f.



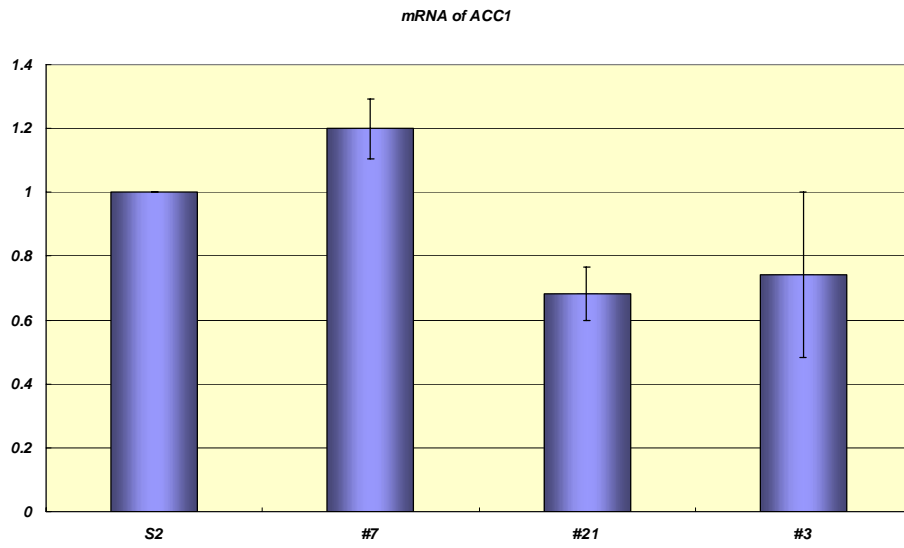
14g.



14h.



14i.



14j.

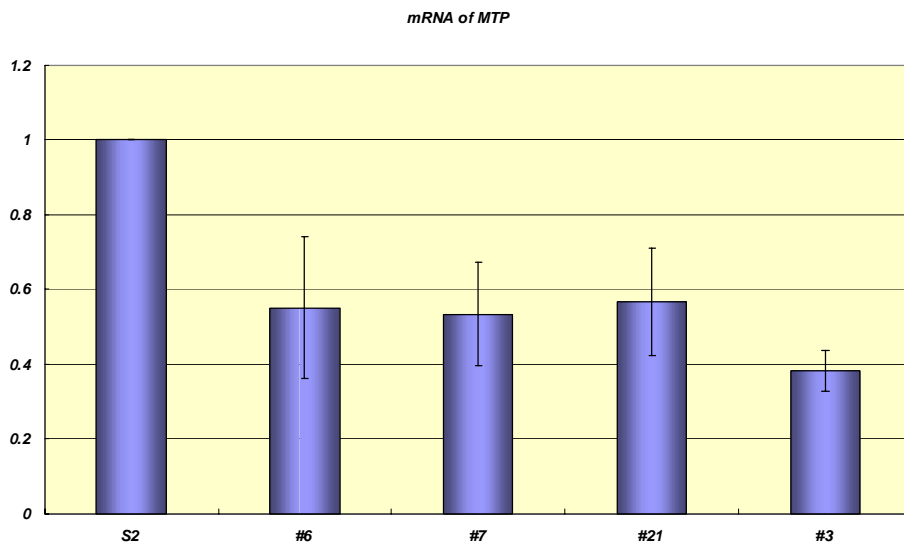
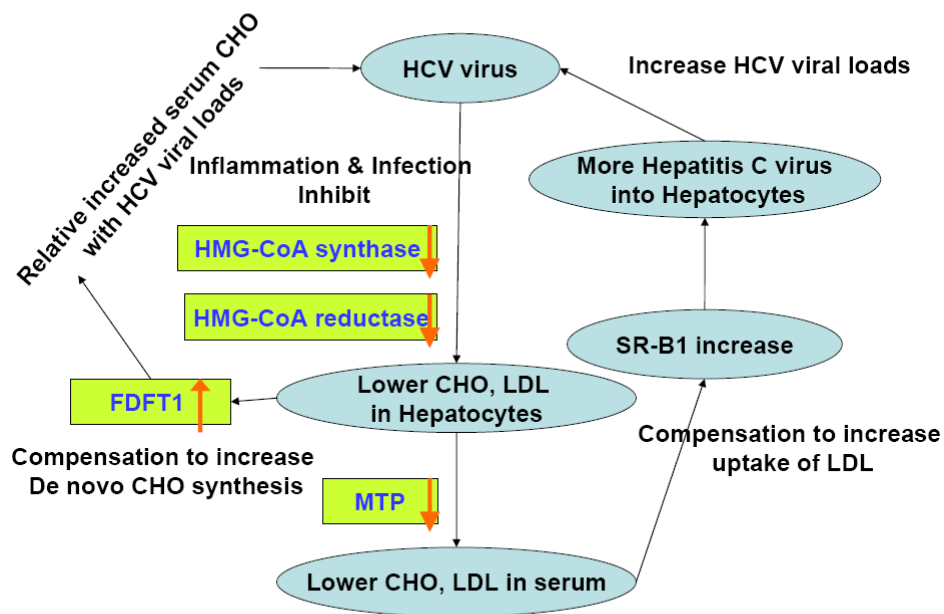


圖 15. C 肝病毒影響宿主三酸甘油酯及膽固醇合成的可能作用機轉

C 肝病毒蛋白可以抑制三酸甘油酯及膽固醇合成途徑的相關基因造成血清中三酸甘油酯及膽固醇濃度降低，較低的 LDL 濃度將有助於 C 肝病毒感染肝臟細胞。然而太低的膽固醇濃度將影響到 C 肝病毒本身的複製，因此 C 肝病毒會選擇性的保留(或刺激)病毒複製時所需的膽固醇合成部份途徑。

英文縮寫：CHO, Total cholesterol level; LDL, low-density lipoprotein-cholesterol; TG, Triglyceride level; HMG-CoA, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A; MTP, microsomal triglyceride transfer protein; FDFT1, farnesyl-diphosphate farnesyltransferase 1.



附錄：博士班修業期間所發表之相關論文清冊

一、 與博士論文相關之論文

1. **Hsu CS**, Liu CH, Liu CJ, Hsu SJ, Chen CL, Hwang JJ, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Association of metabolic profiles with hepatic fibrosis in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010 May;25(5):970-7. (SCI)
2. **Hsu CS**, Kao JH. HCV Infection and Metabolic Syndrome. *J Formos Med Assoc*. 2010; 109(6):403-407. (SCI)
3. **Hsu CS**, Kao JH. Use of statins and gallstone risk. *JAMA*. 2010 Mar 24;303(12):1146. (SCI)
4. **Hsu CS**, Liu CH, Liu CJ, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Factors affecting early viral load decline of Asian chronic hepatitis C patients receiving pegylated interferon plus ribavirin therapy. *Antiviral Therapy* 2009; 14:45-54. (SCI)
5. **Hsu CS**, Liu CH, Liu CJ, Wang CC, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Association of lipid profiles with hepatitis C viral load in chronic hepatitis C patients with genotype 1 or 2 infection. *Am J Gastroenterol* 2009; 104:598-604. (SCI)
6. **Hsu CS**, Liu CJ, Liu CH, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Metabolic Profiles in Patients with Chronic Hepatitis C: A Case-Control Study. *Hepatology International* 2008;2:250-257. (SCI)
7. **Hsu CS**, Liu CJ, Liu CH, Wang CC, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. High hepatitis C viral load is associated with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C. *Liver Int*. 2008 Feb; 28(2):271-7. (SCI)

## 二、與博士論文無關之論文

1. **Hsu CS**, Wang CC, Wang PC, Lin HH, Tseng TC, Chen CH, Su WC, Liu CJ, Chen CL, Lai MY, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Increased Incidence of Gastroesophageal Reflux Disease in Patients with Chronic Hepatitis B Virus Infection. *Hepatology International* 2010 Jul 1;4(3):585-93. (SCI).
2. Su TH, **Hsu CS**, Chen CL, Liu CH, Huang YW, Tseng TC, Liu CJ, Chen PJ, Lai MY, Chen DS, Kao JH. Serum Hepatitis B Surface Antigen Concentration Correlates with HBV-DNA Level in Patients with Chronic Hepatitis B. *Antiviral Therapy* 2010;15(8):1133-9. (SCI).
3. Huang ZS, Huang TS, Wu TH, Chen MF, **Hsu CS**, Kao JH. Asymptomatic Chronic hepatitis B virus infection does not increase the risk of diabetes mellitus --- A ten-year observation. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010 Aug;25(8):1420-5. (SCI)
4. **Hsu CS**, Kao JH. Outcomes of HCV treatment: Who does well and who does not?. *J Gastroenterol Hepatol.* 2010;25:846-8. (SCI)
5. **Hsu CS**, Kao JH. Role of viral factors in modifying weight-related effects on disease progression of chronic hepatitis C patients. *Gastroenterology.* 2010 Feb;138(2):788-9. (SCI)
6. **Hsu CS**, Kao JH. Peginterferon alfa-2b or alfa-2a with ribavirin for hepatitis C. *N Engl J Med.* 2009 Oct 29;361(18):1808-9. (SCI)
7. **Hsu CS**, Kao JH. Capsule endoscopy versus Colonoscopy. *N Engl J Med.* 2009 Oct 15;361(16):1609.(SCI)
8. **Hsu CS**, Chen DS, Kao JH. Both insulin resistance and alanine

- aminotransferase level increase the risks of cardiovascular disease in fatty liver disease. HEPATOLOGY 2009 Jun 19;50(3):989. (SCI)
9. Wang CC, Lin SK, Tseng YF, **Hsu CS**, Tseng TC, Lin HH, Wang LY, Kao JH. Elevation of serum aminotransferase activity increases risk of carotid atherosclerosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. J Gastroenterol Hepatol. 2009 Aug;24(8):1411-6. (SCI)
  10. **Hsu CS**, Kao JH. Esomeprazole for Asthma. N Engl J Med. 2009 Jul 9;361(2):206; author reply 207-8. (SCI)
  11. Liu CH, Liu CJ, Lin CL, Liang CC, Hsu SJ, Yang SS, **Hsu CS**, Tseng TC, Wang CC, Lai MY, Chen JH, Chen PJ, Chen DS, Kao JH. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for treatment-naïve Asian patients with hepatitis C virus genotype 1 infection: a multicenter, randomized controlled trial. Clin Infect Dis 2008; 47:1260–9. (SCI)
  12. Wang CC, Wu WW, **Hsu CS**, Wang PC, Lin HH, Kao JH. Association of insulin resistance with alanine aminotransferase activity in patients with non-alcoholic fatty liver disease. Tzu Chi Med J 2008;20(4):275–279.
  13. Wang CC, **Hsu CS**, Liu CJ, Kao JH, Chen DS. Association of chronic hepatitis B virus infection with insulin resistance and hepatic steatosis. J Gastroenterol Hepatol 2008;23:779-82. (SCI)
  14. **Hsu CS**, Kao JH. Insulin resistance, adipocytokines and HCV infection: a missing link? HEPATOLOGY 2008; 47(2):760-761. (SCI)
  15. **Hsu CS**, Kao JH. Viral Hepatitis and Metabolic Syndrome. Formosan J Med. 2007; 11(5):518-529.
  16. **Hsu CS**, Liu CJ, Lai MY, Chen PJ, Kao JH, Chen DS. Early viral



kinetics during treatment of chronic hepatitis C virus infection with pegylated interferon alpha plus ribavirin in Taiwan. *Intervirology*. 2007;50:310–315. (SCI)

17. 許景盛，高嘉宏。C 型肝炎與肝臟脂肪變性：致病機轉與治療之新進展。當代醫學 95 年 10 月。 *Medicine Today Monthly*. 2006; 33(10):781-794.
18. 許景盛，高嘉宏。C 型肝炎研究新進展－病毒基因體細胞培養模式系統及研究平台之建立。當代醫學 95 年 3 月。 *Medicine Today Monthly*. 2006; 33(3):190-195.

