



# Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial

*Ivan Fan-Ngai Hung, Kwok-Cheung Lung, Eugene Yuk-Keung Tso, Raymond Liu, Tom Wai-Hin Chung, Man-Yee Chu, Yuk-Yung Ng, Jenny Lo, Jacky Chan, Anthony Raymond Tam, Hoi-Ping Shum, Veronica Chan, Alan Ka-Lun Wu, Kit-Man Sin, Wai-Shing Leung, Wai-Lam Law, David Christopher Lung, Simon Sin, Pauline Yeung, Cyril Chik-Yan Yip, Ricky Ruiqi Zhang, Agnes Yim-Fong Fung, Erica Yuen-Wing Yan, Kit-Hang Leung, Jonathan Daniel Ip, Allen Wing-Ho Chu, Wan-Mui Chan, Anthony Chin-Ki Ng, Rodney Lee, Kitty Fung, Alwin Yeung, Tak-Chiu Wu, Johnny Wai-Man Chan, Wing-Wah Yan, Wai-Ming Chan, Jasper Fuk-Woo Chan, Albert Kwok-Wai Lie, Owen Tak-Yin Tsang, Vincent Chi-Chung Cheng, Tak-Lun Que, Chak-Sing Lau, Kwok-Hung Chan, Kelvin Kai-Wang To, Kwok-Yung Yuen*

臺北市立聯合醫院教研部  
王培瑋教學主治醫師  
教學主治醫師群  
邱婷芳主任  
璩大成副總院長

Corresponding Author: Kwok-Yung Yuen,  
State Key Laboratory of Emerging  
Infectious Diseases, Carol Yu Centre for  
Infection, The University of Hong Kong,  
Hong Kong SAR, China

Published: May 08, 2020  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31042-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31042-4)

# Triple combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial

- 這是第一個針對COVID-19入院患者，隨機對照比較，**interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin**三合一共同治療與單獨使用**lopinavir–ritonavir**的臨床試驗。
- 大多數患者在**開始三合一共同治療8天後**，可有效抑制所有臨床檢體的病毒量，包括鼻咽拭子、咽喉唾液、後口咽唾液和糞便，**和單獨使用lopinavir–ritonavir的控制組相比時間明顯縮短**。
- 三合一共同治療也在**4天內完全緩解了症狀**，時間明顯短於控制組。
- 三合一共同治療也可降低細胞激素反應，抑制IL-6的數值。
- 臨床和病毒學效力也顯示，**較短的住院時間並促進感染控制**。
- 此治療方案也顯示是**安全的**，僅有輕微和有限的胃腸道不良反應(腹瀉和嘔吐)。
- 肝功能升高並不常見，停藥後就會改善。

Hung, I.F., et al.

Department of Medicine, Queen Mary Hospital, Hong Kong

Published: May 08, 2020

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31042-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31042-4)

# 背景

- 由severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) 引起的coronavirus disease (COVID-19) 大流行，已經影響超過230個國家、300多萬患者和20萬人死亡。
- COVID-19經由人傳人迅速傳播，主要是急性病毒性肺炎導致呼吸衰竭，不過也有細胞激素風暴(cytokine storm)和肺外病變(extrapulmonary involvement)的報告。
- 由於隨機試驗的證據不足，目前沒有特定的抗病毒治療方法可以推薦。
- 已有許多藥物具有對抗SARS-CoV-2的近親，beta-coronaviruses體外活性(in-vitro activity)的效果。

# 背景

- Lopinavir和許多干擾素，尤其是interferon beta對抗SARS-CoV和中東呼吸綜合症後群(MERS)-CoV的體外活性(in-vitro activity) 具有中度的效果，也可以與ribavirin協同使用。
- 在2003年我們曾進行一項開放性試驗研究(Open-label trial)，使用歷史控制(historical controls)的結果顯示，lopinavir–ritonavir 合併 ribavirin，可降低SARS住院病患的死亡率及加護呼吸支持的需要
- 另外在動物模式普通狨（Common marmoset）的研究顯示，lopinavir–ritonavir或interferon beta-1b，可以減少病毒量並改善肺部病變。

# 背景

- SARS和MERS的病毒量在症狀發生後的7-10天達到高峰，而COVID-19的病毒量和流感類似在症狀發生時達到高峰。
- 由流感住院患者的治療經驗顯示，若病毒量在症狀發生時達到高峰，結合多種抗病毒藥比單一藥物使用更有效。
- 因此我們進行這項第二期隨機試驗，以確定三種具有中度對抗SARS-CoV-2活性共同藥物治療，是否可以改善因COVID-19住院成人患者的各種檢體病毒量和臨床參數。

# 方法

- 研究設計和受試者
  - 這是第二期、多中心、開放性的隨機試驗研究。
  - 從2020年2月10日起住進香港的六家醫院年齡至少18歲的成年患者，且已進行COVID-19病毒學確認
  - 這六個主要公立醫院位於香港七個醫療網其中的五個，服務7500萬人口的75%。
  - 香港的公共衛生條例規定所有COVID-19檢測呈陽性的患者都應入院。
- 納入條件
  - 年齡至少18歲
  - national early warning score 2 (NEWS2) 至少1
  - 症狀持續時間不超過14天
- 香港大學醫院管理局的倫理委員會核可這項研究

# 方法

- 隨機分配和盲化
  - 患者被隨機分配到實驗組和對照組
    - 實驗組:三合一療法(lopinavir–ritonavir, ribavirin, and interferon beta-1b)
    - 對照組: 僅有lopinavir–ritonavir
  - 實驗組和對照組比例為2：1的比例
  - 分配是由研究專員經由序號執行
  - 序號是由電腦產生隨機列表並有相對應的抗病毒治療
  - 研究藥物由醫院藥房配發，然後由病房的護理師給予患者。

# 方法：步驟

- 三合一組患者招募時症狀發作後不到7天
  - 口服 lopinavir–ritonavir (lopinavir 400 mg and ritonavir 100 mg) 每12小時給予，持續14天
  - 口服 ribavirin 400 mg 每12小時給予，持續14天
  - 皮下注射 interferon beta-1b 1 MI (8 million international units [IU]): 每隔1天給予1-3劑
    - 症狀發作的第1-2天開始治療，患者接受三劑
    - 症狀發作的第3-4天開始治療，患者接受兩劑
    - 症狀發作的第5-6天開始治療，患者接受一劑
- 三合一組患者症狀發作的第7-14天之間被招募
  - 省略 interferon beta-1b 注射以避免促發炎作用 (proinflammatory effects)。
- 對照組
  - 每12小時口服 lopinavir–ritonavir (lopinavir 400 mg and ritonavir 100 mg) 14天



# 方法：步驟

- 若ECG檢查異常， lopinavir–ritonavir 治療減為每天一次
  - 沒有prolonged QTc syndrome但是Prolonged QTc less than 480 ms 、first-degree heart block or bundle branch block, 、 bradycardia
- Alanine transaminase 指數
  - 超過正常上限的三倍， lopinavir–ritonavir 治療減為每天一次
  - 超過正常上限的六倍，停用lopinavir–ritonavir
- 安慰劑在中國文化通常不被接受，且之前的研究顯示interferon beta-1b 和lopinavir–ritonavir 對SARS-CoV和MERS-CoV有效，所以對照組使用 lopinavir–ritonavir ，而三合一治療使用於症狀發作少於7天的實驗組。

# 方法：步驟

- 介入性治療必須在入院後48小時開始執行
- 標準照護包括氧氣、非侵入性和侵入性呼吸支持、ECMO、透析治療和抗生素治療
- 若有血氧飽和度下降並需要氧氣的患者給予皮質類固醇 (Stress doses)
  - 50 mg hydrocortisone every 8 h intravenously, tapering over 7 days
- 非侵入性和侵入性呼吸支持超過7天由諮商專家慎重處理。

# 方法

- 臨床和實驗室監控
  - 病史、身體檢查以及實驗室和放射學結果都輸入到預先設計的資料庫中。
  - 胸部X線片和心電圖均定期檢查
  - 潛在心臟問題者持續進行心臟監測
  - 高解析度CT (HRCT) 由顧問決定
  - 所有病患在出院後30天內回傳染病門診接受追蹤
- SARS-CoV-2感染
  - 所有招募的患者都必須進行鼻咽拭子RT-PCR檢驗，確認SARS-CoV-2感染
  - 每日進行鼻咽拭子、口咽後唾液、咽拭子、大便或直腸拭子和尿液的病毒量定量和遺傳突變檢測直到出院

# 方法

- 研究終點

- 主要終點(primary endpoint): 鼻咽中 SARS-CoV-2 的 RT-PCR 結果為陰性。
- 次要臨床終點(Secondary clinical endpoints): 症狀緩解的時間
  - NEWS2 為 0 持續 24 小時、每日 NEWS2 和 organ failure assessment (SOFA) score 評分、住院時間、30 天的死亡率。
- 其他病毒學終點
  - 所有檢體的 SARS-CoV-2 RT-PCR 為陰性反應的時間、前 7 天每日病毒量變化、負責編碼 3C 蛋白酶抑制劑(encoding a 3C-like protease)的 nsp5 gene 發生 amino acid mutations
- 安全終點: 不良事件的發生頻率和持續時間

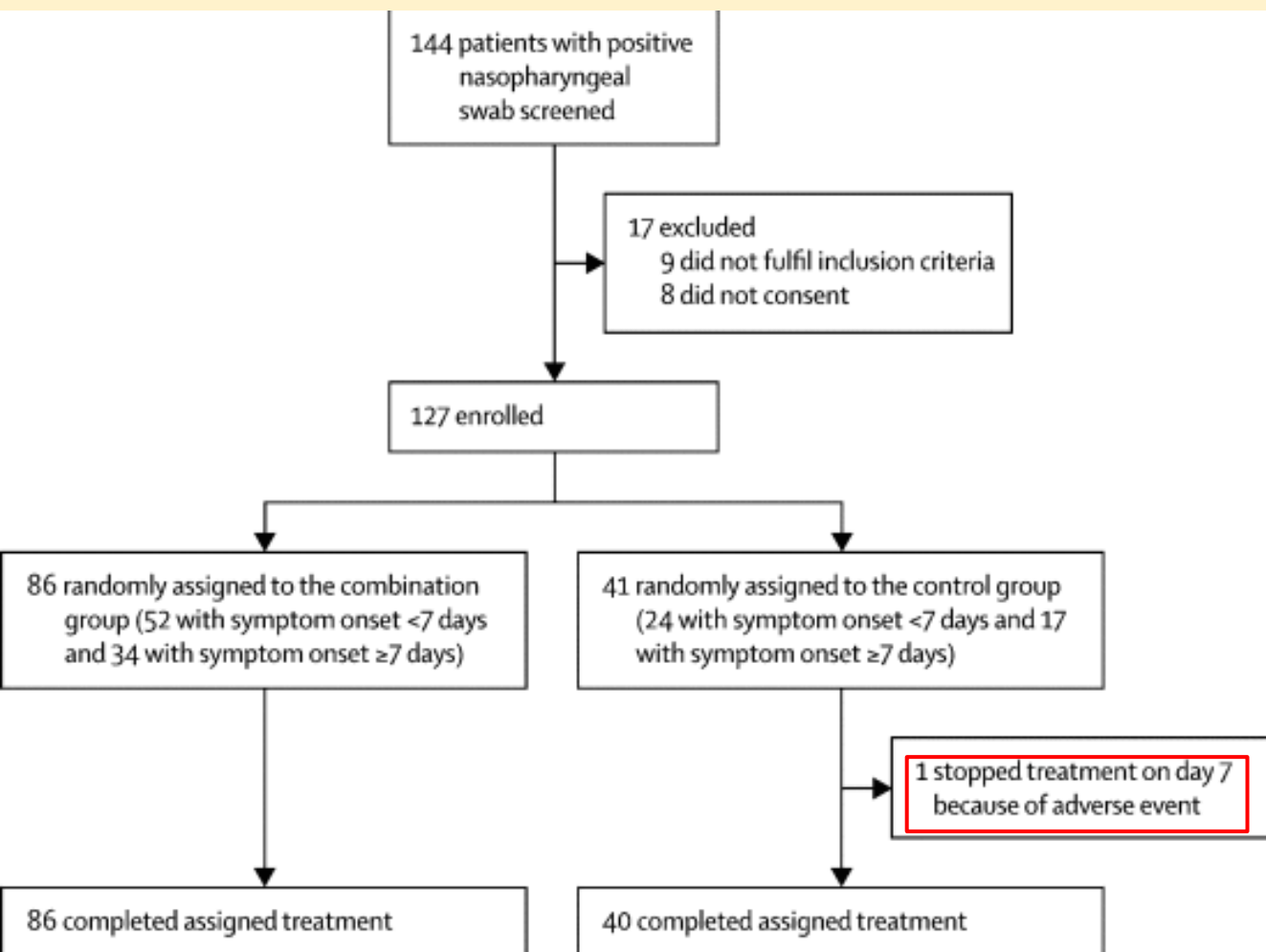
# 方法

- 統計分析
  - 由SARS-CoV-2引起COVID-19是新興疾病，在本實驗設計時(2020年1月中旬)有關死亡率的訊息並不清楚。
  - 演化發生上 (phylogenetic) 很接近2003年SARS-CoV，因此根據我們自己2003年lopinavir–ritonavir治療試驗的發現來計算樣本量。
  - 研究設計是在21天死亡率或急性呼吸窘迫症候群發生率，估計差異為26.4%的基礎上來設計，其中lopinavir–ritonavir (2.4%) versus historical controls without antiviral treatment (28.8%)。
  - $\alpha$  level of 0.05, 80% power的統計差異，所計算出必要的樣本量為每組30位病患。
  - 允許中途退出的比率達到17%，所以建議每組至少招募35名患者。

# 方法

- 統計分析
  - 主要終點：評估所有參加隨機分配後的治療意向（intention-to-treat)受試者
  - 安全評估:接受至少一劑治療藥物的所有患者
  - 類別變量使用 $\chi^2$ 檢驗，連續變量使用Mann-Whitney U test進行比較
  - 病毒量:若病毒量檢測不到時，以1 log10 copies per ml來代替
  - 用Cox proportional hazards model計算 Hazard ratios (HRs)
    - 單變量分析中若有顯著（ $p < 0.10$ ），則放入多變量分析進一步評估治療後7天鼻咽拭子陰性的可能因素
  - P值小於0.05被認為具有統計學意義。

# 結果



從2020年2月10日至3月20日之間，共有144名患者進行篩檢為陽性反應，其中招募了127例患者。9名患者不符合納入標準（4名患者有第二度或第三度心臟心律不整，兩名有嚴重憂鬱症，三名有懷孕），另外有八名患者拒絕此治療方案

對照組中一名患者因為1星期時alanine transaminase超過正常上限的六倍而停用lopinavir–ritonavir。

在127位患者中，有86位被隨機分配到合併治療組，41例分配到對照組。合併治療組中52名患者有症狀到入院少於7天，因此接受lopinavir–ritonavir, ribavirin, and interferon beta-1，給予interferon beta-1b劑量中位數為2劑。34例症狀發作到入院超過7天，僅接受lopinavir–ritonavir和ribavirin。

	Combination group (n=86)	Control group (n=41)
Age	51.0 (31.0–61.3)	52.0 (33.5–62.5)
Sex		
Men	45 (52%)	23 (56%)
Women	41 (48%)	18 (44%)
Time from symptoms onset to start of treatment, days	5 (4–7)	4 (3–8)
Underlying diseases		
Diabetes	11 (13%)	6 (15%)
Hypertension	23 (27%)	13 (32%)
Coronary artery disease	5 (6%)	5 (12%)
Cerebrovascular disease	1 (1%)	1 (2%)
Hyperlipidaemia	18 (21%)	11 (27%)
Thyroid disease	3 (3%)	1 (2%)
Obstructive sleep apnoea	1 (1%)	1 (2%)
Crohn's disease	1 (1%)	0
Epilepsy	1 (1%)	0
Tuberculosis	2 (2%)	0
Chronic hepatitis B	2 (2%)	1 (2%)
Chronic hepatitis C	0	1 (2%)
Malignancy	1 (1%)	1 (2%)
Smoker	6 (7%)	1 (2%)
Symptoms and signs		
Fever	70 (81%)	32 (78%)
Chills	13 (15%)	6 (15%)
Cough	45 (52%)	23 (56%)
Sputum	29 (34%)	13 (32%)
Shortness of breath	7 (8%)	7 (17%)
Sore throat	16 (19%)	10 (24%)
Myalgia	10 (12%)	8 (20%)
Malaise	19 (22%)	5 (12%)
Nausea or vomiting	1 (1%)	0
Diarrhoea	17 (20%)	7 (17%)
Rhinorrhoea	14 (16%)	10 (24%)
Anosmia	4 (5%)	1 (2%)
Headache	3 (3%)	3 (7%)
Chest tightness	2 (2%)	0
Anorexia	1 (1%)	0

(Table 1 continues in next column)

年齡中位數是52歲（IQR 32-62）。

男性有68人（54％）女性有59名（46％）。

症狀發作到入院時間的中位數為5天（IQR 3-7）。

有潛在性疾病有51名（40％）

從症狀發生到開始治療的時間中位數，合併治療組為5天（4-7），對照組為4天（3-8）。

合併治療組和對照組的年齡、性別及基本的人口統計數據，都非常類似，發熱和咳嗽是最常見的症狀，腹瀉和嗅覺缺失並不常見。

大多數病人有淋巴細胞減少、C-reactive protein 和 erythrocyte sedimentation Rate降低。

	Combination group (n=86)	Control group (n=41)
(Continued from previous column)		
Baseline laboratory findings (normal range)		
Haemoglobin (11.5–14.8 g/dL)	13.4 (12.7–14.9)	13.5 (12.7–14.8)
White cell count (3.89–9.93 × 10 <sup>9</sup> per L)	4.9 (3.7–6.2)	5.4 (4.6–6.4)
Neutrophils (2.01–7.42 × 10 <sup>9</sup> per L)	3.4 (2.4–4.3)	3.5 (2.9–4.5)
Lymphocytes (1.06–3.61 × 10 <sup>9</sup> per L)	1.0 (0.8–1.5)	1.3 (0.9–1.6)
Platelets (154–371 × 10 <sup>9</sup> per L)	195.0 (171.8–260.0)	192.0 (160.5–244.5)
Alanine aminotransferase (8–45 U/L)	23.0 (15.0–33.3)	26.0 (14.5–43.0)
Alkaline phosphatase (42–110 U/L)	58.0 (48.0–75.0)	65.0 (52.5–75.0)
Lactate dehydrogenase (143–280 U/L)	194.0 (159.8–249.0)	167.5 (142.0–200.0)
Bilirubin (4–23 μmol/L)	7.9 (5.5–9.0)	7.5 (6.0–10.8)
Creatinine (49–82 μmol/L)	75.5 (65.0–92.0)	76.0 (62.5–96.0)
Urea (2.9–8.0 mmol/L)	4.0 (2.9–4.8)	3.7 (2.7–4.6)
Creatine kinase (22–198 U/L)	79.0 (50.0–151.0)	90.5 (54.5–141.5)
C-reactive protein (<0.76 mg/dL)	3.0 (2.0–9.2)	3.0 (1.5–7.2)
Erythrocyte sedimentation rate (<12 mm/h)	19.0 (11.0–48.0)	19.0 (9.8–37.8)
Baseline radiological findings (%)		
Abnormal chest x-ray	64 (74%)	32 (78%)
Right upper zone infiltrate	0	0 (0%)
Right middle zone infiltrate	4 (5%)	6 (15%)
Right lower zone infiltrate	38 (44%)	18 (44%)
Left upper zone infiltrate	1 (1%)	0
Left middle zone infiltrate	7 (8%)	7 (17%)
Left lower zone infiltrate	27 (31%)	10 (24%)
High-resolution CT (performed in 22 patients)	14 (16%)	6 (15%)

Data are n (%) or median (IQR). In the combination group 52 patients were treated with triple combination of interferon beta-1b, lopinavir-ritonavir, and ribavirin and 34 patients were treated with lopinavir-ritonavir and ribavirin; in the control group, 41 patients were treated with lopinavir-ritonavir. U/L=units per L.

**Table 1: Baseline demographics of the study population**



	Combination group (n=86)	Control group (n=41)	p value
<b>NEWS2</b>			
Baseline	2 (1-2)	2 (2-2)	0.52
Day 1	1 (1-2)	2 (2-2)	<0.0001
Day 2	1.0 (0.0-2.0)	2.0 (1.5-3.0)	<0.0001
Day 3	0 (0-1)	2 (1-3)	<0.0001
Day 4	0 (0-1)	2 (1-2)	<0.0001
Day 5	0 (0-1)	2 (1-2)	<0.0001
Day 6	0.0 (0.0-1.0)	1.5 (1.0-2.0)	<0.0001
Day 7	0.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.8-2.0)	0.0010
Time to NEWS2 of 0, days	4 (3-8)	8 (7-9)	<0.0001
<b>SOFA score</b>			
Baseline	0 (0-1)	0 (0-1)	0.38
Day 1	0 (0-1)	0 (1-1)	0.21
Day 2	0 (0-2)	1 (0-2)	0.025
Day 3	0 (0-2)	1 (0-2)	0.010
Day 4	0.0 (0.0-1.3)	1.0 (0.0-2.0)	0.012
Day 5	0 (0-1)	1 (0-2)	0.010
Day 6	0 (0-1)	1 (0-2)	0.035
Day 7	0 (0-1)	1 (0-2)	0.028
Time to SOFA score of 0, days	3.0 (1.0-8.0)	8.0 (6.5-9.0)	0.041
Duration of hospital stay, days	9.0 (7.0-13.0)	14.5 (9.3-16.0)	0.016
30-day mortality	0 (0)	0 (0)	1.00

根據NEWS2和SOFA評分，就診時的疾病嚴重程度算是輕微。

合併治療組和控制組相比，臨床症狀有顯著改善(NEWS2為0定義為症狀完全緩解)，合併治療組達到NEWS2為0的時間較控制組顯著減少，時間分別為4天[IQR 3-8] 與8天[7-9]；HR 3.92 [95%CI 1.66–9.23]， $p < 0.0001$

達到SOFA評分為0的時間，合併治療組和控制組分別為3.0天[1.0-8.0]與8.0天[6.5-9.0]；HR 1.89 [1.03-3.49]， $p = 0.041$   
開始治療後，每天的NEWS2和SOFA也都可觀察到類似的模式（所有 $p < 0.0001$ ）

住院的中位數時間，合併治療組也比對照組減少，時間分別為9.0天[7.0-13.0]與14.5天[9.3-16.0]；HR 2.72 [1.2-6.13]， $p = 0.016$ ）。

	Combination group (n=86)	Control group (n=41)	p value
Time to negative viral load, days			
Nasopharyngeal swab	7 (5-11)	12 (8-15)	0.0010
Posterior oropharyngeal saliva	6.0 (3.0-8.0)	8.0 (5.3-10.8)	0.044
Throat swab	4.5 (1.3-6.8)	7.0 (3.0-12.0)	0.039
Stool	5 (2-5)	7 (4-8)	0.030
All specimens	8 (6-12)	13 (8-15)	0.0010
Virological findings (RT-PCR), log <sub>10</sub> copies per mL			
Nasopharyngeal swab (baseline)	6.4 (4.5-8.0)	6.4 (3.9-7.7)	0.70
Posterior oropharyngeal saliva (baseline)*	5.2 (3.8-7.0)	5.3 (4.3-7.1)	0.54
Throat swab (baseline)	4.6 (2.9-6.1)	4.5 (3.7-5.7)	0.85
Stool (baseline)	3.3 (2.7-5.3)	3.8 (2.6-7.3)	0.53
Cytokine concentration, log <sub>10</sub> pg/mL			
IL-6 (baseline)	1.4 (1.0-1.4)	1.4 (1.0-1.6)	0.43
TNFα (baseline)	1 (1-1)	1 (1-1)	1.00
Concomitant treatments			
Oxygen therapy	12 (14%)	5 (12%)	0.72
Non-invasive ventilator support	3 (3%)	2 (5%)	0.75
Ventilator support	0	1 (2%)	0.15
Antibiotics	44 (51%)	25 (61%)	0.33
Amoxicillin-clavulanate	29 (34%)	21 (51%)	0.080
Azithromycin	7 (8%)	4 (10%)	0.76
Ceftriaxone	12 (14%)	8 (20%)	0.42
Doxycycline	13 (15%)	8 (20%)	0.53
Levofloxacin	11 (13%)	3 (7%)	0.36
Piperacillin-tazobactam	5 (6%)	0	0.12
Corticosteroid (stress dose)*	6 (7%)	2 (5%)	0.65

Data are median (IQR) or n (%). NEWS2=national early warning score 2. SOFA=sequential organ failure assessment.  
 \*Stress-dose steroid was hydrocortisone 50 mg every 8 h intravenously, tapered over 5-7 days.

主要終點(primary endpoint)的結果顯示，鼻咽拭子為陰性反應的中位數時間，組合組比對照組明顯縮短，時間分別為7天[IQR 5-11]與12天[8-15]；HR 4.37 [95%CI 1.86-10.24]，p = 0.0010)。

其他的病毒學方面，組合組也較控制組有明顯改善。

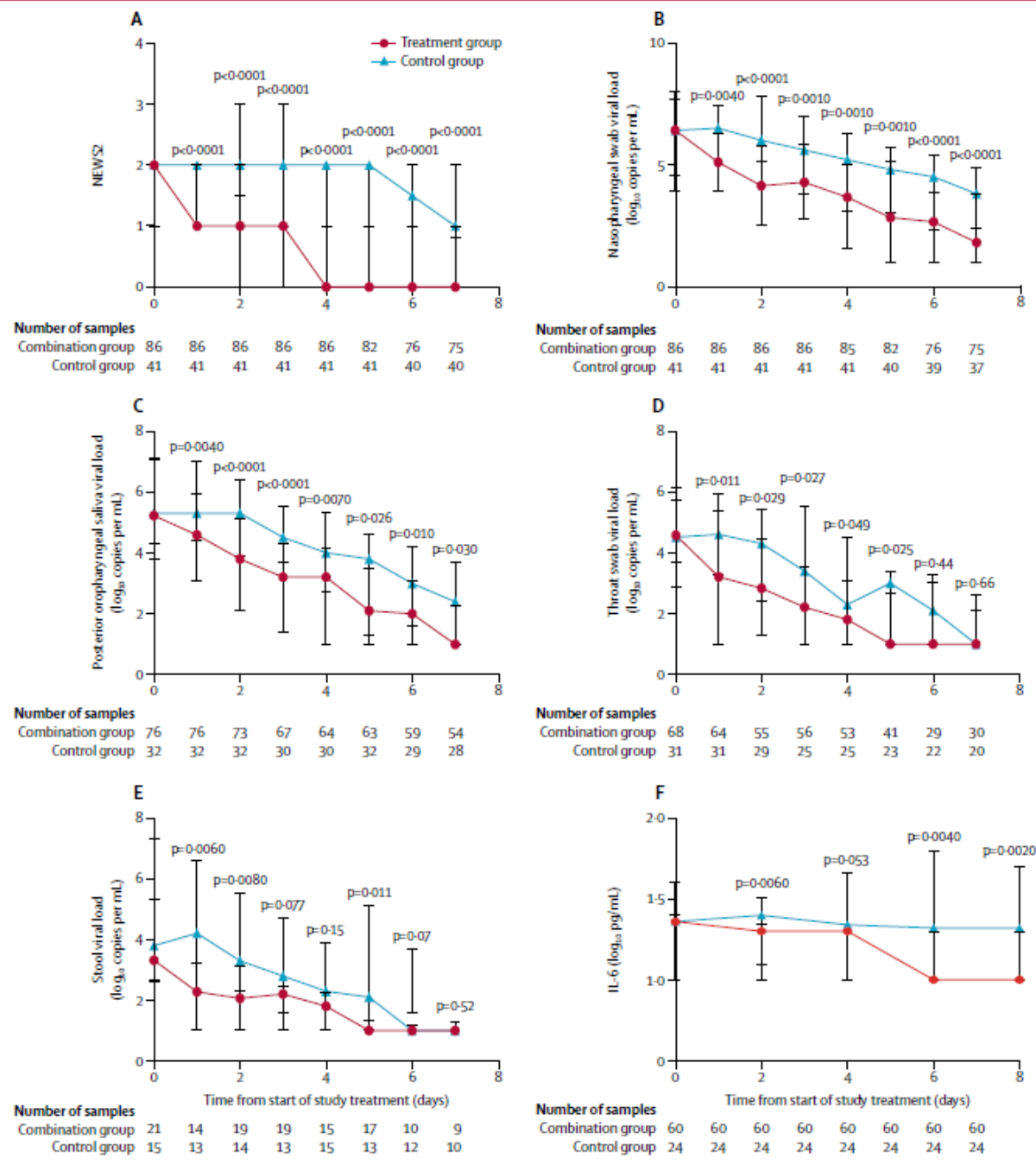
所有標本的病毒量（鼻咽拭子、口咽後唾液、喉嚨拭子和糞便樣本）以及所有合併樣本為陰性反應的中位數時間，組合組比對照組均明顯縮短。

所有標本的基線病毒量，組合組和對照組之間相似。

所有尿液樣本的病毒量檢測均為陰性。

127位患者中的17位（13%）有血氧飽和度下降需要氧氣治療，6位（5%）患者被送入加護病房，其中五位需要非侵襲性呼吸支持；一名被分到對照組的96歲女性患者，有冠狀動脈病史，需要插管和呼吸器支持，10天後成功拔管。

69（54%）患者有使用抗生素，8位（6%）患者在症狀發作第二周，給予stress doses of corticosteroids。



**Figure 2: Outcomes over time**  
 (A) National early warning score 2; (B) nasopharyngeal swab viral load; (C) posterior oropharyngeal saliva viral load; (D) throat swab viral load; (E) stool viral load; and (F) serum IL-6 cytokine concentration (first 60 recruited patients). Data points are medians and error bars are IQRs.

開始治療後每天的NEWS2，都可觀察到合併治療組較控制組為低。  
 （所有 $p < 0.0001$ ；圖A）

所有標本的基線病毒量，合併治療組和對照組之間沒有差異。  
 治療後第1天至第7天病毒量，合併治療組均明顯低於對照組。  
 （圖B:nasopharyngeal swab、圖C: posterior oropharyngeal saliva、圖D:throat swab、圖E:stool specimen）

84例患者有分析血清cytokine概況，IL-6濃度於第2、6和8天時，合併治療組濃度明顯低於對照組（圖F）。

TNF $\alpha$ 和IL-10濃度則沒有顯著差異，在連續鼻咽拭子中也沒有發現的nsp5突變。

	Started treatment <7 days from symptom onset			Started treatment ≥7 days from symptom onset		
	Combination group (with interferon beta-1b; n=52)	Control group (n=24)	p value	Combination group (without interferon beta-1b; n=34)	Control group (n=17)	p value
NEWS2						
Baseline	2 (1-2)	2 (2-2)	0.11	2 (1-2)	2 (1-2)	0.49
Day 1	1 (1-1)	2 (2-2)	<0.0001	2 (1-2)	2 (1-2)	0.71
Day 2	1.0 (0.0-1.0)	2.0 (1.5-3.0)	<0.0001	1.5 (1.0-2.0)	2.0 (1.0-2.8)	0.41
Day 3	0.0 (0.0-1.0)	2.0 (1.0-3.0)	<0.0001	1.0 (1.0-2.0)	2.0 (0.3-2.8)	0.16
Day 4	0.0 (0.0-0.0)	2.0 (1.0-2.5)	<0.0001	1.0 (1.0-2.0)	2.0 (0.3-2.0)	0.37
Day 5	0 (0-0.5)	2 (1-2)	<0.0001	1 (0-1)	2 (0-2)	0.040
Day 6	0 (0-0.3)	1 (1-2)	<0.0001	1 (0-1)	1 (0-2)	0.14
Day 7	0 (0-0)	1 (0-2)	<0.0001	1 (0-1)	1 (0-1)	0.68
Time to NEWS2 of 0, days	4.0 (3.0-5.0)	8.0 (6.5-9.0)	<0.0001	6.0 (5.0-10.8)	8.0 (5.5-8.0)	0.90
SOFA score						
Baseline	0 (0-1)	0 (0-1)	0.99	1 (0-1)	0 (0-1)	0.17
Day 1	0.0 (0.0-1.0)	1.0 (0.0-1.0)	0.030	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-1.5)	0.67
Day 2	0 (0-1)	1 (0-2)	0.0060	1 (0-2)	1 (0-2)	0.72
Day 3	0 (0-1)	1 (0-2)	0.0050	1 (0-2)	1 (0-3)	0.49
Day 4	0 (0-1)	1 (0-2)	0.0060	1 (0-2)	1 (0-3)	0.48
Day 5	0.0 (0.0-0.8)	1.0 (0.0-2.0)	0.0030	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-3.0)	0.55
Day 6	0.0 (0.0-0.0)	0.5 (0.0-2.0)	0.0010	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)	0.88
Day 7	0.0 (0.0-0.0)	0.5 (0.0-2.0)	<0.0001	1.0 (0.0-2.0)	1.0 (0.0-2.0)	0.88
Time to SOFA score of 0, days	3 (1-5)	7 (1-9)	0.0010	8 (1-8)	8 (1-9)	0.23
Duration of hospital stay, days	8 (6-12.5)	15 (9-16)	0.0030	13 (8-15)	13.5 (12.3-21.8)	0.090
30-day mortality	0 (0)	0 (0)	1.00	0 (0)	0 (0)	1.00
Time to negative viral load, days						
Nasopharyngeal swab	6.5 (4.0-8.0)	12.5 (8.0-14.8)	<0.0001	10.5 (8.0-12.3)	12.0 (8.0-17.0)	0.10
Posterior oropharyngeal saliva	6.0 (2.0-7.0)	8.5 (5.3-11.8)	<0.0001	8.0 (6.0-9.0)	8.0 (5.3-9.0)	0.79
Throat swab	4.0 (1.0-6.0)	8.0 (3.3-12.8)	0.0010	5.0 (1.5-8.0)	4.5 (2.0-9.0)	0.52
Stool	4.5 (2.0-5.0)	6.0 (3.0-7.0)	0.070	5.0 (2.0-10.0)	7.0 (5.5-8.5)	0.14
All specimens	7.0 (4.0-9.0)	13.0 (8.0-14.0)	<0.0001	12.0 (7.8-14.0)	12.0 (12.0-19.0)	0.080
Virological findings (RT-PCR), log <sub>10</sub> copies per mL						
Nasopharyngeal swab (baseline)	7 (5.2-8.4)	6.1 (4.3-7.7)	0.29	5.5 (3.8-7.3)	6.6 (3.8-8)	0.65
Posterior oropharyngeal saliva (baseline)	5.4 (3.9-7.3)	5.3 (3.9-7.5)	0.86	4.8 (3.8-6.2)	5.4 (4.9-6.8)	0.30
Throat swab (baseline)	4.8 (3.2-6.9)	4.4 (3.5-6.1)	0.81	4.5 (1.0-5.6)	5.0 (4.0-5.5)	0.52
Stool (baseline)	3.2 (1.9-6.2)	3.2 (2.9-5.6)	0.85	3.3 (2.8-3.9)	5.6 (1.9-7.4)	0.48
Cytokine concentration, log <sub>10</sub> pg/mL						
IL-6 (baseline)	1.4 (1-1.5)	1.4 (1.4-1.6)	0.13	1.4 (1-1.4)	1 (1-1.6)	0.45
TNFα (baseline)	1 (1-1)	1 (1-1)	0.87	1 (1-1)	1 (1-1)	0.82
Data are median (IQR). NEWS2=national early warning score 2. SOFA=sequential organ failure assessment.						

Table 3: Subgroup analysis of clinical, viral load, and cytokine profile

76名在症狀發生後不到7天，開始治療患者的事後分組比較（Post-hoc subgroup comparison），合併治療組（52例）相對於控制組（24例），有更好的臨床和病毒學結果，除了糞便檢體外其他均有明顯的差異。

51位症狀發生後7天或更長時間，才接受治療的患者，合併治療組（34例）相對於控制組（17例），則沒有明顯的差異。

多變量分析顯示基線 CXR 正常，和第7天鼻咽檢驗陰性，為獨立的相關因子。  
合併治療組則是最重要的獨立因子（HR 4.27 [95%CI 1.82-10.02]，p = 0.0010）。

	Combination group (n=86)	Control group (n=41)	p value
總共127位			
Adverse events			
Nausea	30 (35%)	13 (32%)	0.87
Diarrhoea	34 (40%)	18 (44%)	0.54
Increased alanine aminotransferase	11 (13%)	7 (17%)	0.32
Hyperbilirubinaemia	4 (5%)	3 (7%)	0.54
Sinus bradycardia	3 (4%)	1 (2%)	0.77
Fever	32 (37%)	16 (39%)	0.73
Serious adverse events	0	1 (2%)	0.15
Duration of nausea, days	2 (1-2)	2 (1-2)	0.80
Duration of diarrhoea, days	3 (3-3)	3 (3-3)	0.88

**Table 4: Adverse events in the study population**

最常見的不良事件（adverse event）是腹瀉（52位[41%]）、發燒（48 [38%]）、噁心（43 [34%]）和 alanine transaminase 升高（18 [14%]）。

這些副作用多數在用藥後3天內就緩解。

Sinus bradycardia 有四名（3%）。噁心或腹瀉的發生率和持續時間，合併治療組和對照組沒有差異。合併治療組中無嚴重不良事件報告，對照組有一名病人有嚴重的不良反應，因為肝功能升高需要中斷治療。研究期間沒有任何患者死亡。

# 討論

- 在這項有關COVID-19，多中心、隨機分配、開放性的第2期試驗結果顯示，注射interferon (interferon beta-1b), 口服protease inhibitor (lopinavir–ritonavir)以及口服nucleoside analogue (ribavirin)的三合一合併療法，在症狀發作後7天內給予，相較單獨給予lopinavir–ritonavir，可有效抑制SARS-CoV-2 shedding，所有臨床標本均顯示如此，而不僅是鼻咽拭子。
- RT-PCR陽性反應持續時間和病毒量的顯著減少，也與臨床進步有相關性，包括NEWS2和住院時間均顯著降低。
- 大多數接受三合一合併療法病人，到第8天所有標本的RT-PCR均為陰性，副作用也相當溫和且有限。



# 討論

- 面對任何新興傳染病，我們需要特定的高活性抗病毒藥物，因為開發新的抗病毒藥物，需要數年的時間才能批准於臨床使用，因此測試現有的廣效性抗病毒藥物，是大流行時最可行方法。
- 已有許多藥物證明，可以抑制betacoronaviruses於體外的活性
  - 包括remdesivir, favipiravir, nitazoxanide, camostat mesilate, interferons, lopinavir–ritonavir, ribavirin, chloroquine, hydroxychloroquine和含有中和抗體的恢復期血漿。
  - 有研究顯示，單獨使用lopinavir–ritonavir於症狀發生後13天(中位數)，結果與安慰劑具有相似的作用
- 迄今為止，僅有兩項開放性、非隨機分配試驗的報告。
  - 一項有關口服hydroxychloroquine和azithromycin的報告，在20例COVID-19患者中，可能在治療6天後顯著減少病毒量，但16個對照組是在另一家醫院，此研究並非事先設計好的研究。
  - 另一項小型回顧性分析顯示，arbidol及lopinavir–ritonavir 合併治療（16例患者）後第7天，75%的患者病毒量為陰性反應，單獨使用lopinavir–ritonavir alone (17例患者)，有35%的患者病毒量為陰性。

# 討論

- 香港特別行政區的《公共衛生條例》規定，所有COVID-19患者都必須住院，直到連續2天的鼻咽拭子病毒量為陰性，因此大多數患者在症狀開始後7天之內入院，因而在COVID-19的早期臨床症狀階段，就可以招募受試者進入臨床試驗。
- 因為2003年SARS大流行的記憶，大多數香港的COVID-19患者願意接受抗病毒治療，也因此這篇研究有很高的招募比率。
- 這個研究的案例，人口學特徵以及underlying diseases的比例，和其他中國報告的cohorts相似。
- 香港的粗死亡率很低（1041例中僅有四例死亡[0.4%]），可能是因為高警惕的感染控制措施、有效的接觸史追蹤和儘早入院治療。



# 討論

- COVID-19早期使用三合一共同療法是相當合適，因為SARS-CoV-2的病毒量在症狀發作期附近達到高峰，這與與流感相似，和SARS及MERS不同。
  - 已有很多報告顯示，很多流感病毒的抗藥性類種（quasispecies），可出現於單獨使用amantadine、baloxavir marboxil及oseltamivir治療流感病毒，尤其在嚴重流感或H5N1，H7N9或其他免疫抑制的宿主身上。
  - 因此抗病毒藥物的組合使用，被認為是改善嚴重流感預後的明智選擇。
  - 我們以前也曾報告naproxen 和clarithromycin單獨使用時，在體外具有微弱的抗流感病毒活性，但與oseltamivir合併使用時，可以改善influenza A/H3N2肺炎患者的罹病率和死亡率，並縮短住院時間。
  - 2003年SARS爆發時，我們也已報告lopinavir–ritonavir and ribavirin組合使用，可顯著降低死亡率和呼吸衰竭。
- 因此我們假設，三合一共同療法可能會迅速抑制高初始病毒量、改善臨床參數、減少這些接受治療患者virus shedding的時間和數量、也因而降低醫護人員的患病風險。

# 討論

- 基於細胞培養檢測方法中，進行的一項體外研究顯示，lopinavir對抗SARS-CoV的50% effective concentration (EC50) 約為17 $\mu$ M，對抗MERS-CoV約為8 $\mu$ M，而口服lopinavir 400毫克及ritonavir 100 mg後的血清高峰值約為15 $\mu$ M，半衰期為7.4-10.8小時。
- interferon beta-1b對抗SARS-CoV的EC50為0.12 IU / mL，對抗MERS-CoV為17.6 IU / mL，而單一皮下注射劑量800萬IU後，血清高峰值約為20 IU / mL，半衰期為2–5 小時。
  - 值得注意的是若暴露細胞的抗病毒狀態已被誘導，則維持interferon beta-1b的高血清濃度並非必要。
- Ribavirin對抗SARS-CoV-2的EC50為109 $\mu$ M，大大超過通常口服劑量的血清濃度。
- 干擾素與低劑量 ribavirin的協同作用，已於之前的分析檢測證實(checkerboard assays)，但是ribavirin 和interferons (alfa-2a, alfa-2b, and beta-1a)的合併使用，並未改善MERS重症患者的預後，因此利用此三種藥物(lopinavir–ritonavir, interferon beta-1b, 和ribavirin)合併治療目前新型大流行病毒，應該是合理的治療方法。

# 討論

- 與2003年SARS-CoV比較，SARS-CoV-2並未明顯誘導體外人類肺部感染組織中的types I, II, or III interferons，所以使用interferon beta-1b來快速啟動或改善患者的抗病毒反應，會是合乎邏輯方法。
- 小鼠動物模型實驗顯示，interferon beta-1b可降低病毒誘發的肺纖維化，因此也可能改善COVID-19併發急性呼吸窘迫症候群的預後。
- 儘管有人擔心三種藥物合用會產生嚴重的副作用，在我們的127名患者中，不同治療組之間不良事件發生率並無明顯差異
- 因為擔心interferon beta-1b的proinflammatory副作用，在症狀發作後7天或更長時間才開始治療，我們就沒有使用三種藥物合用，不過大部分的病患還是使用了最多的三個劑量。
- 14%的病患患有肝功能障礙，不過都是輕微和有限的，僅有一位對照組患者較嚴重需要停用lopinavir–ritonavir。

# 討論

- 研究限制包括：這項研究是開放性的、沒有安慰劑組、在實驗組中有因為症狀發生時間，而省略了interferon beta-1b治療的次群組。
- 隨後的第3期試驗，interferon beta-1b應該是骨幹治療，且應考慮安慰劑對照組，因為次群組比較顯示，interferon beta-1b似乎是我們共同治療的關鍵因素。
- 我們的研究沒有重症患者，所以不允許研究結果推論於嚴重病例。
- interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin三合一治療，使用在輕度至中度COVID-19的患者是安全的，且在縮短virus shedding、減輕症狀和促進出院，比單獨使用lopinavir–ritonavir更為優越。

# 重點

- 這是第一個針對COVID-19入院患者，隨機對照比較，**interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin 三合一共同治療與單獨使用lopinavir–ritonavir**的臨床試驗。
- 大多數患者在**開始三合一共同治療8天後**，可**有效抑制所有臨床檢體的病毒量**，包括鼻咽拭子、咽喉唾液、後口咽唾液和糞便，**和單獨使用lopinavir–ritonavir的控制組相比時間明顯縮短**。
- 三合一共同治療也在**4天內完全緩解了症狀**，時間明顯短於控制組。
- 三合一共同治療也可降低細胞激素反應，抑制IL-6的數值。
- 臨床和病毒學效力也顯示，**較短的住院時間並促進感染控制**。
- 此治療方案也顯示是**安全的**，僅有輕微和有限的胃腸道不良反應(腹瀉和嘔吐)。
- 肝功能升高並不常見，停藥後就會改善。