

• 经验交流 •

慢性乙型肝炎患者拉米夫定治疗后出现 YMDD 变异的相关因素分析

何洁静, 曾兰兰, 杨永泉, 石玉玲
(广州军区广州总医院检验科, 广州 510010)

摘要:目的 探讨慢性乙型肝炎(CHB)患者在服用拉米夫定治疗后发生 YMDD 变异的相关因素。方法 选择应用拉米夫定治疗后产生 YMDD 变异和未产生 YMDD 变异的 CHB 患者各 50 例,分析两组治疗前血清病毒载量水平、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、HBeAg 状态与发生 YMDD 变异的关系。结果 YMDD 变异组治疗前 HBV DNA 水平高于未变异组($t=2.245, P<0.05$),而 ALT、HBeAg 状态两组间没有统计学差异。结论 高滴度 HBV DNA 是发生 YMDD 变异的相关因素,血清病毒载量可作为应用拉米夫定治疗后 YMDD 变异产生的早期预测指标。

关键词:肝炎病毒,乙型; DNA,病毒; 拉米夫定; YMDD 变异
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.015 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2011)13-1434-02

核苷(酸)类似物拉米夫定作用于乙型肝炎病毒(HBV)多聚酶活性部位 YMDD 基序(酪氨酸-蛋氨酸-天冬氨酸-天冬氨酸),抑制 HBV DNA 复制,抗病毒效果显著^[1-3]。但临床上部分患者可表现为无应答或随着用药时间的延长,HBV 会发生突变并导致对拉米夫定耐药,影响拉米夫定的疗效。本研究选择应用拉米夫定治疗并产生 YMDD 变异的慢性乙型肝炎(CHB)患者 50 例,分析治疗前血清病毒载量水平、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、HBeAg 状态与 YMDD 变异的关系。同时选择具有可比性的应用拉米夫定治疗但未产生 YMDD 变异的 CHB 患者 50 例进行对比分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院收治的应用拉米夫定治疗(100 mg/d,口服)后产生 YMDD 变异的 CHB 患者 50 例,其中男 35 例、女 15 例,年龄 18~52 岁,平均 34 岁。另按 1:1 配对原则选择在年龄、性别、肝脏损害及随访时间等方面具有可比性的应用拉米夫定治疗但未产生 YMDD 变异的 CHB 患者 50 例进行对比分析。诊断均依照 2000 年 9 月第十次全国病毒性肝炎与肝病学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》^[4],且甲、丙、丁、戊、庚型肝炎病毒血清免疫学标志物均为阴性,并排除乙醇性、药物性、自身免疫性等肝病。

1.2 检测方法 (1)血清 HBV DNA 定量检测:采用 FQ-PCR 法^[5],试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司,Light CyclerTM 480 全自动 FQ-PCR 系统为 Roche 公司产品,具体操作步骤严格按说明书进行。(2)HBV YMDD 变异检测:采用 FQ-PCR 法^[6],所有患者治疗后自第 6 个月开始每月进行 1 次 YMDD 变异检测,HBV YVDD/YIDD 变异检测试剂盒为杭州

艾康生物技术有限公司产品,具体操作步骤严格按说明书进行。(3)ALT、HBeAg 检测:ALT 检测采用日立 7600 全自动生化分析仪及配套试剂,HBeAg 采用深圳月亮湾公司酶标试剂盒检测。

1.3 统计学处理 血清 HBV DNA 定量结果取其对数值,统计学处理采用 t 检验或 χ^2 检验,所有统计检验均采用双侧检验法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前病毒载量与 YMDD 变异的关系 YMDD 变异组治疗前病毒载量水平高于 YMDD 未变异组($t=2.245, P=0.027$),见表 1。

表 1 治疗前病毒载量与 YMDD 变异的关系		
组别	<i>n</i>	HBV DNA($\bar{x}\pm s$, copy/mL)
YMDD 变异组	50	6.09±1.68
YMDD 未变异组	50	5.33±1.70*

*: $P<0.05$,与 YMDD 变异组比较。

2.2 YMDD 变异与拉米夫定治疗前 ALT 水平的关系 把 ALT 按小于正常上限(ULN)2 倍(2ULN)、ULN 2~5 倍(2~5ULN)和大于 ULN 5 倍(5ULN)分成 3 组。ALT 在小于 2ULN 水平和大于 5ULN 水平两组间比较差异无统计学意义(t 值分别为 1.055、0.483, P 值分别为 0.295、0.638),ALT 在 2~5ULN 水平两组比较差异有统计学意义($t=3.513, P=0.005$),见表 2。

表 2 YMDD 变异与不同水平 ALT 的关系

组别	<2ULN		2~5ULN		>5ULN	
	<i>n</i>	ALT($\bar{x}\pm s$)	<i>n</i>	ALT($\bar{x}\pm s$)	<i>n</i>	ALT($\bar{x}\pm s$)
YMDD 变异组	38	33.24±15.77	5	92.00±17.00*	7	398.14±235.33
YMDD 未变异组	35	29.37±15.49	8	132.25±21.67	7	454.14±197.22

*: $P<0.05$,与 YMDD 未变异组比较。

2.3 YMDD 变异与拉米夫定治疗前 HBeAg 状态的关系

YMDD 变异组治疗前 HBeAg 状态与 YMDD 未变异组差异无

统计学意义($\chi^2=1.44, P=0.23$), 见表 3。

表 3 治疗前 HBeAg 与 YMDD 变异的关系(n)

组别	n	HBeAg(+)	HBeAg(-)
YMDD 变异组	50	21*	29*
YMDD 未变异组	50	27	23

*: $P>0.05$, 与 YMDD 未变异组比较。

3 讨 论

拉米夫定是目前广泛用于抗 HBV 的药物, 但长期应用使 HBV 对拉米夫定产生耐药突变已成为突出问题。YMDD 变异是 HBV 对拉米夫定耐药的主要原因, 研究其相关因素对病情监测、药物疗效评价及进一步治疗方案的确定具有重要的临床价值。

目前, YMDD 变异与拉米夫定治疗前 HBV DNA 水平的相关性研究, 国内外已有报道, 但结论却不一致。早期可能与病例选择缺乏严格的对照有关, 有学者报道认为病毒载量与 YMDD 变异的产生无关, 但更多的学者提出病毒载量与 YMDD 变异的产生显著相关, HBV DNA 水平越高, YMDD 变异的产生率越高^[7-8]。本研究结果亦显示, YMDD 变异组治疗前病毒载量水平高于 YMDD 未变异组, 两者间差异有统计学意义($t=2.245, P<0.05$), 高滴度的 HBV DNA 水平可能是导致 YMDD 变异的相关因素。

本研究通过对 YMDD 变异与拉米夫定治疗前 ALT 水平和 HBeAg 状态的关系研究发现, 服用拉米夫定前 ALT 水平较低者($ALT<2ULN$)发生 YMDD 变异的比例相对较高, 而治疗前 ALT 较高时($ALT>5ULN$)发生变异的比例相对较低, 但两者在统计学上尚无差异, 可能和本组病例数较少有关。虽然 HBeAg 是病毒复制的指标, 但亦未发现 YMDD 变异与

HBeAg 有关, 与谢琴秀等^[9]的报道相似。

参考文献

[1] Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease[J]. N Engl J Med, 2004, 351(10): 1521-1531.

[2] DiMarco V, Marzano A, Lampertico P, et al. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine[J]. Hepatology, 2004, 40(5): 883-891.

[3] 张照华, 孟红. 乙型肝炎病毒 YMDD 变异研究进展[J]. 中华实验和临床感染病杂志, 2008, 2(1): 64-66.

[4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(3): 324-329.

[5] 商庆华, 徐传镇, 卓海龙, 等. 脑组织乙型肝炎病毒感染与病毒载量的关系[J]. 中华传染病杂志, 2004, 22(1): 55-57.

[6] 刘传苗, 张欣欣, 张东华, 等. 实时荧光聚合酶链反应检测乙型肝炎病毒聚合酶基因变异[J]. 中华检验医学杂志, 2003, 26(1): 37-39.

[7] Suzuki F, Tsubota A, Arase Y, et al. Efficacy of lamivudine therapy and factors associated with emergence of resistance in chronic hepatitis B virus infection in Japan[J]. Intervirology, 2003, 46(2): 182-189.

[8] Yuen MF, Sablon E, Hui CK, et al. Factors associated with hepatitis B virus DNA breakthrough in patients receiving prolonged lamivudine therapy[J]. Hepatology, 2001, 34(8): 785-791.

[9] 谢琴秀, 许家璋, 郜玉峰, 等. 拉米夫定治疗后发生 YMDD 变异的相关因素分析[J]. 中华传染病杂志, 2005, 23(3): 314-317.

(收稿日期: 2011-04-13)

(上接第 1426 页)

验提供了方便、快捷的检验模式, 可以作为 UTI 初筛检查。由于影响因素较多, 不能成为单一的诊断标准, 但结合仪器白细胞检测结果, 与培养法的符合率可达 94.4%。临床可根据 UF1000i 分析仪细菌和细胞计数、尿干化学检查结果和患者临床表现, 进行快速综合判断, 尽管不能完全代替传统细菌培养, 但可尽量避免误判、漏判; 对尿细菌培养为阴性而疑为 UTI 的患者, 可通过 UF-1000i 分析仪多个参数联合判断, 做出正确的诊断。UF-1000i 分析仪尿液检测结果也可疗效的动态观察。

参考文献

[1] 陆再英, 钟南山. 内科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008, 528-532.

[2] 李光辉. 尿路感染的诊断与治疗[J]. 中国抗感染化疗杂志, 2001, 1(1): 58-60.

[3] Okata H, Horie S, Kawashima Y. The basic performance of bacteria counting for diagnosis of urinary tract infection using the fully automated urine particle analyzer UF-1000i[J]. Sysmex J, 2007,

17(2): 95-103.

[4] 赖利华, 邓济, 彭楷, 等. Sysmex UF-1000i 尿液有形成分分析仪的性能评价[J]. 重庆医学, 2009, 38(19): 2404-2408.

[5] 齐杰, 潘健, 韩江, 等. 尿流式有形成分及干化学分析在尿路感染诊断中的应用评价[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(6): 630-634.

[6] 吴向军, 梁红春, 郭春玲. 尿路感染患者中细菌 L 型培养的意义[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(6): 601-602.

[7] Anderson M, Bollinger D, Hagler A, et al. Viable but nonculturable bacteria are present in mouse and human urine specimens[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(5): 753-758.

[8] 范云蓉, 甘超, 漆涌, 等. UF-1000i 全自动尿有形成分分析仪对尿路感染的诊断价值[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(6): 635-638.

[9] 管娜, 丁洁. 白细胞尿与非泌尿系感染性肾脏疾病[J]. 临床儿科杂志, 2008, 26(12): 1084-1086.

[10] 孙占芹. 亚硝酸盐阳性在尿液分析中的意义[J]. 中国实用医药, 2009, 4(11): 79-80.

(收稿日期: 2011-04-13)