

抗乙型肝炎病毒治疗中病毒载量的动力学特点

杨 媛, 成 军, 黄燕萍, 白桂芹, 赵英仁

杨媛, 成军, 黄燕萍, 白桂芹, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心, 全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 北京市 100039
赵英仁, 西安交通大学第一医院传染科 陕西省西安市 710061
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689, 军队“九、五”科技攻关项目, No. 98D063, 军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038, 军队“十、五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138, 军队“十、五”科技攻关面上项目, No. 01MB135
项目负责人: 成军, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所基因治疗研究中心、全军病毒性肝炎防治研究重点实验室 cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-66933391 传真: 010-63801283
收稿日期: 2004-02-14 接受日期: 2004-05-11

摘要

病毒载量动力学的检测被越来越广泛地用来预测抗病毒药物的治疗效果, 先前的免疫学检测受很多因素的影响, 已不能正确反应病毒的复制. 而病毒载量定量检测可使人们能够比较清楚地了解病毒在体内的变化情况, 弥补了免疫学方面的不足. 通过对病毒动力学的研究可以使我们了解病毒在清除过程中的特点, 从而用于指导临床来评估药物疗效, 以及针对不同的患者设计合理的治疗方案.

杨媛, 成军, 黄燕萍, 白桂芹, 赵英仁. 抗乙型肝炎病毒治疗中病毒载量的动力学特点. 世界华人消化杂志 2004;12(7):1688-1691
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1691.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染是一个困扰全球的健康问题, 世界范围内大约有 3.5 亿人感染 HBV, 其中亚洲占了 3/4, 仅中国就有近 1.3 亿人携带 HBV^[1]. HBsAg 携带率达 9.75%, 慢性乙型肝炎患者达 3 000 万人, 其中约 10-20% 发展成为肝硬化, 1-5% 可演变成成为肝癌(HCC). 近来国内外对慢性乙型肝炎治疗已有了很大进展, 主要采用抗病毒、免疫调节、改善肝功能和防止慢性化发展等综合治疗. 近些年来, 肝病学界已达成共识, 认为抗病毒治疗是其中最主要、最根本的治疗措施, 目前用于病毒性肝炎抗病毒治疗的药物主要有二类, 一类是抗病毒药物, 具有直接抑制及杀灭病毒的作用; 另一类是免疫调节剂, 通过调节人体的免疫功能, 从而抑制及清除肝炎病毒. 但是这些药物的效果还不稳定, 治疗费用昂贵, 所以不论是从疗效的角度, 还是从经济角度, 人们都在寻求一种有效的方法来预测药物的效果及进一步指导用药. 先前人们选用免疫学的方法来预测抗病毒药物的疗效, 随着现代分子生物学的快速发展, 又为慢性乙型肝炎抗病毒治疗相关研究提供了新的机遇与挑战, 人们通过监测治疗前、治疗时及治疗后病毒载量的变化可更准确的, 更

量化的预测药物的疗效, 并为治疗措施的制定提供有力的依据.

1 乙型肝炎病毒在细胞内的复制与清除

在 HBV 复制循环过程中, 一个重要的特征是共价闭环(ccc)或超螺旋 DNA 分子的形成, 作为一种病毒的微染色体而存在^[2]. 虽然 HBV 仅在宿主细胞内复制, 病毒本身不能引起肝细胞病变, 但是 HBV 通过细胞内免疫引发的肝损害是慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌的主要原因^[1].

乙型肝炎患者自体每日可清除外周血中大量 HBV. 根据最近对 HBV 在人体内动力学研究, HBV 的半衰期为 26.4 h, 病毒存活期为 36.6 h, 日更新率为 48%, 所以控制人体病毒感染的关键在于清除 HBV cccDNA, 抑制病毒复制^[3-4]. Guidotti et al^[5] 的研究得出在动物模型中, 病毒第一阶段的清除主要通过非细胞病理的作用清除或抑制 cccDNA 的产生, 可能是通过细胞因子的作用. Whalley et al^[6] 在对人急性 HBV 感染的动力学研究中, 得出病毒清除第一阶段半衰期的平均数与动物模型中 cccDNA 半衰期相一致^[7]. 该项研究提示病毒初始阶段的清除机制或许与 cccDNA 的清除相关; 但是该实验不能得出在病毒生活周期的下游阶段可能受到的抑制作用, 这些还需要大量直接的实验加以验证. 于是人们期望着能通过清除 HBV 的复制模板 cccDNA 来降低被感染细胞的产病毒的能力, 由此可导致血清中相关病毒 DNA 的降低.

2 抗乙型肝炎病毒的治疗

慢性 HBV 感染常常是由于早期暴露于 HBV 的结果, 导致了病毒在缺乏强大抗体与细胞内免疫反应的情况下长期存在^[8]. 如果人体的免疫机制不能及时清除 HBV 在体内的持续存在与活跃复制, 必将导致肝组织损伤的不断进展. 因此, 要想阻止肝脏进行性损害, 必须采取有效药物清除或抑制 HBV 的复制, 也就是说抗病毒治疗是控制慢性乙型肝炎的最主要、最根本的治疗措施.

目前用于抗病毒治疗的药物主要有两类, 一类为细胞因子, 如干扰素, 有 α , β , γ 三种, α , β 干扰素疗效相似, 临床应用较广泛, γ -干扰素疗效较差, 应用受到限制. 他们一方面通过免疫调节发挥作用, 另一方面也可直接抗病毒, 然而 IFN α 的治疗效果是有限的, 长期应用才可抑制 HBV 复制, 获得持久性效应. IFN α 治疗慢性乙型肝炎的治疗效果和疗程有关, 治

疗近期疗效较高, 远期疗效尚低, 如果有针对的选择病例, 可以提高疗效. 因为其不能清除 cccDNA, 停药后可再次复制, 也不能清除已整合入的细胞基因组的病毒基因, 而且长期使用有很多的副作用, 于是出现了另一类可大量直接抗病毒的药, 即核苷类似物, 通过抑制病毒聚合酶来阻止病毒的复制, 如拉米夫定、泛昔洛韦、阿昔洛韦已用于临床, 阿德福韦、恩他卡韦和 BMS-200475 也正在进行临床试验. 其中拉米夫定是最具代表性的一个, 在 HBV 复制循环过程中, 病毒的逆转录酶是合成新的 HBV DNA 的前基因组 mRNA 模板所必需的, 由此拉米夫定可阻止已被病毒感染的细胞生产新病毒^[9]. 另外病毒的聚合酶是病毒进入细胞核之前形成双链环状 DNA 所必需的^[10], 故拉米夫定还可阻止病毒感染新的细胞^[11]. 他与 IFN α 的不同之处是其不影响机体的免疫系统, 最早用于治疗免疫缺陷型病毒, 后来发现其对 HBV 也有明显的抑制作用, 而且作用迅速, 可降低 HBV DNA 低度可达 $10^{6.7}$ 拷贝/L, 已广泛用于临床. 但是其对 HBV 的抑制作用是可逆的, 停用药物后 HBV DNA 又反复出现, 低于或相当于基础水平, 而且也不能完全清除 cccDNA, 更不能清除已与细胞基因组整合的病毒, 使 HBsAg 消失. 只有长期使用, 持续性抑制 HBV 复制直至消耗 cccDNA, 才可获得持久性效应^[12], 但是 YMDD 变异的存在, 对其在临床中的应用提出了挑战, 患者的选择及停药时机的选择都是至关重要的. 近年来有效的抗病毒药物的使用大大促进了人免疫缺陷病毒(HIV)、猴免疫缺陷病毒、HBV、丙型肝炎病毒(HCV)感染的动力学数学分析的发展^[13]. 反过来, 在抗病毒的治疗过程中, 对于这些病毒感染的动力学的深入理解不仅为病毒发生机制提供了动力学图谱, 而且也设计合理的治疗措施提供了有力的依据, 使人们越来越意识到研究病毒动力学的重要性及其临床意义.

3 乙型肝炎病毒载量

3.1 与抗原抗体的模式关系 早期人们多采用血清学方法进行乙型肝炎病原学诊断, 预测其传染性、疾病进程及预后. 在病毒复制过程中, 也表达病毒特异蛋白, 这些蛋白可激发机体的免疫系统, 产生相应的抗体, 故可通过检测抗原抗体来间接反应病毒的复制水平. Gerken et al^[14]用 IFN α 治疗慢性活动性肝炎期间, 发现抗-HBcIgM 和病毒载量有很好的相关性; 隋云华 et al^[15]通过对 838 例各型乙型肝炎患者血清 HBV DNA 定量, 得出 HBV DNA 定量与 HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性的符合率为 94.4%, 显示了极好的特异性. 但是免疫学检测存在许多无法克服的问题, 如抗原变异、免疫交叉反应、免疫复合物的形成^[16], 这些都影响着血清学检测方法的灵敏度和准确性的进一步提高, 另外 HBV 的表达和机体的免疫反应的强弱受多种因素的影响, 免疫学指标与临床现象及病毒载量有可能不完全吻合. 随着逆转录酶抑制剂的广泛使用, 病毒变异的广泛存在, 紧

紧依靠免疫学指标已经不能完全解释许多临床现象. 血清学检测不能准确地反应病毒的复制, 故病毒载量的检测被越来越广泛地用于临床诊断. 有学者在分析免疫学检测与病毒载量检测之间的关系时得出, HBsAg, HBcAb 阳性, HBsAg, HBeAb, HBcAb 阳性组, HBV DNA 的阳性率分别为 38.6% 和 27.3%, 显示了 HBV DNA 定量的灵敏性^[21]. 随着一些抗病毒药物的有效应用, 临床中发现某些 HBeAg 阳性的乙型肝炎患者的 HBV DNA 呈阴性结果, 提示血清学标志反映 HBV 复制状态存在局限性. 李文清 et al^[23]调查了 20 例乙型肝炎患者(16 例 HBeAg 阳性和 4 例 HBeAb 阳性)在拉米夫定治疗期间, 经 12 wk 和 24 wk 治疗后, 其 HBV DNA 含量迅速下降, 部分 HBV DNA 含量低于检测范围, 而呈阴性结果, 其阳性率分别仅为 75.0% 和 55.0%, 而血清学标志无 1 例发生变化. 表明在抗病毒治疗期间, 血清学标志的变化滞后于 HBV DNA 含量的变化, HBV DNA 定量检测是反映 HBV 复制和药物疗效的判断最直接、可靠的指标^[17].

既往一般认为, 血清 HBeAg 阴转或抗-HBe 出现预示病毒复制水平降低或病变趋于恢复^[18], 但有报道指出 HBeAg 阳性患者的病毒载量比 HBeAg 阴性患者的高^[19], 在其调查的 116 例患者中有 42 例(36.1%)血清 HBeAg 阴性, 但仍可检出 HBV DNA, 部分病例 HBV DNA 水平还较高, 提示 HBeAg 阴转不能认为 HBV 复制减少或停止. 近年的研究发现, 这些患者中多数伴有 HBV 前-C 区的基因突变, 特别是第 1896 位核苷酸的突变, 致使前-C 区第 28 位密码子(TGG)转变为翻译终止密码子(TAG), 导致 HBeAg 的合成、分泌障碍, 但却不影响 HBV 的复制^[20]. 这种变异的 HBV 比野生型 HBV 更不易被机体清除, 因而更易引起乙型肝炎慢性化、慢性肝炎恶化, 且与重型肝炎和肝癌密切相关^[21]. 因此, 血清 HBeAg 阴性而 HBV DNA 含量高的患者应引起临床上重视, 慢性乙型肝炎(CHB)患者随着肝损害程度的加重, 血清 HBV DNA 含量却逐渐下降, 提示病情可能越重, 病毒复制水平越低. 这可能与 CHB 患者机体的体液和细胞免疫应答在造成肝损害的同时, 也中和和清除血循环中的病毒颗粒有关^[22], 表现为免疫损伤越严重, 肝损害程度也越严重, 血清 HBV DNA 含量越低. 此外, 随着病程的延长, 病情的加重, 部分 HBV DNA 被整合到宿主肝细胞中, 致使血清 HBV DNA 含量降低. 因此, CHB 患者定量检测血清 HBV DNA 含量对临床判断肝损害程度, 指导抗病毒治疗, 估计其预后有重要意义.

3.2 病毒动力学 病毒的动力学研究主要通过假设的数学模型, 结合抗病毒药物作用下病毒载量的动态变化数据求解得到的病毒感染动力学特征的基本参数. 了解病毒感染动力学过程, 可以更清楚的理解病毒感染发生、发展、转归以及药物治疗效果. 最初的病毒动力学原理的研究是源于对 HIV 感染动力学分析, 并促进了

病毒动力学的发展. 在慢性病毒感染的患者中, 病毒的水平通常被认为达到一个稳定或恒定水平, 然后保持这一状态很多年. 为了保持这一恒定的水平, 机体必须以同样的速率清除和生产病毒. 如果不保持清除与产出平衡的话, 那么病毒的数量就会慢慢地增加. 一旦恒定点建立, 测量病毒载量将不能证实病毒的生产是减慢了, 还是加速了. 因此为了获得病毒生产与清除率的信息, 不得不用抗病毒药物打乱该系统. 例如, 如果病毒生产能够完全被阻止, 那么病毒载量将会下降, 他下降的速率是清除的速率. 如果病毒的生产不能完全被阻止, 那么病毒载量下降的速率将不仅仅依赖于病毒清除的速率, 而且也依赖于生产病毒的细胞的死亡率和抗病毒药物的效果^[23].

目前 HBV 动力学研究也有报道, 获得了一些重要参数^[24], 该参数包括病毒感染, 细胞的死亡及抗病毒药物的疗效. 其中基本的动力学模型可用于研究 HBV 的感染, 计算慢性感染过程中平衡病毒学载量, 也适于研究抗逆转录病毒的抗病毒治疗. Whalley et al^[6]通过检测急性 HBV 感染者病毒潜伏后期和临床期血清病毒载量的动态变化, 研究了 HBV 感染动力学过程. HBV 复制很快, 在 $2.2-5.8(3.7 \pm 1.5 \text{ d})$, 经过一个峰值后, 血清中病毒载量达到约 10^{13} 拷贝/L. HBV DNA 的清除经过 2-3 阶段下降, 第一阶段为快速下降期, 半衰期为 $3.7 \pm 1.2 \text{ d}$, 接近于在其他嗜肝病毒中所观察到的 cccDNA 通过非细胞病理机制清除时的半衰期. 最后的病毒清除阶段半衰期范围很广泛, 在 $4.8-284 \text{ d}$ 之间, 这可能与感染肝细胞的清除率有关. 游离病毒的半衰期大多数为 $1.2 \pm 0.6 \text{ d}$. 他们估计在病毒复制高峰每天至少产生 10^{13} 个病毒, 平均一个感染肝细胞每天最多能产生 200-1 000 个病毒. Nowak et al^[25]通过假设拉米夫定完全阻断了病毒对细胞的感染, 使感染细胞数量维持恒定, 从而建立了一个数学模型, 提出了病毒清除表现为双期过程的理论. Tsiang et al^[26]对 Nowak 数学模型作了修正, 他们假设感染的细胞并不维持恒定, 引入了病毒抑制效率参数. 应用修正后的模型评价了阿德福韦对病毒的抑制效率参数, 得出 30 mg/d 阿德福韦对病毒的抑制效率为 0.993 ± 0.008 , 即治疗期间每天仍有 0.7% 的病毒产生. Lowin et al^[27]提出病毒的下降模式可能存在更复杂的多阶段模式 - 阶梯式. 通过对病毒动力学研究了解病毒在清除过程中的特点, 从而可指导临床评估药物疗效, 以及针对不同的患者设计合理的治疗方案.

3.3 动态学检测与抗病毒治疗 病毒载量一般指每毫升血清中病毒拷贝数, 也表示肝脏病毒含量. 血清中, 病毒 DNA 水平与病毒含量一致, 病毒载量和病毒 DNA 水平意义相同; 但肝脏中的病毒 DNA 水平包括已包装和待包装的病毒 DNA, 因此病毒载量和病毒 DNA 水平不完全等同. 感染细胞和血清中的病毒半衰期均很短, 因此血清病毒水平反应了病毒的复制水平, 但病毒载量并不完全反映病毒的复制水平, 其反映的是检测前感染

细胞释放的病毒与被清除体外的病毒的累积差值. 数值大小不直接与感染细胞生成速度(复制水平)有关, 而是与感染细胞的破坏速度和机体清除游离病毒的速度有关. 病毒载量可以通过测定病毒基因组来确定^[28]. 病毒载量在不同患者、不同发病阶段和不同发病类型中, 相同大小的病毒载量可能表示不同的临床意义. 以前, 病毒载量的检测仅用于基础研究, 现在被广泛用于常规的病毒学诊断, 并且检测试剂已大量商品化. 在临床病毒学中, 病毒载量的测试主要用于四个目的: 即病毒学诊断; 评估患者的预后; 作为检测抗病毒治疗效果的标志; 评估患者的传染性, 即传播的危险性.

病毒载量定量检测使人们能够比较清楚地了解病毒在体内的致病作用, 弥补了免疫学方面的不足. Nowak et al^[3]对使用拉米夫定治疗的患者进行了随访观察, 监测其病毒载量的变化, 利用数学模型分析病毒载量下降的特点、治疗的效果. 结果发现, 在治疗的第 2-4 wk, 血清中病毒 DNA 降低分两阶段进行. 第一阶段主要是游离病毒的清除, 第二阶段主要是生产病毒的被感染细胞的清除. 当患者停止使用拉米夫定, 病毒水平将会迅速增加至初始的稳定阶段. Zeuzem et al^[29]和 Tsiang et al^[26]也观测到了病毒载量分两阶段下降这一特征. 从这些研究中, 按每天 50% 的反复率可估计游离 HBV 的半衰期约为 24 h, 游离病毒的生产率约每天 10^{12} , 被感染细胞的半衰期为 10-100 d. Lowin et al^[27]指出病毒的下降模式在一些患者中可能更加复杂, 患者采用拉米夫定联合泛昔洛韦, 或联合其他的核酸类似物, 采用实时 PCR 法监测病毒的下降模式. 结果发现对部分患者而言, 病毒水平不是按照前面所描述的典型的两阶段模型下降, 其下降模式更像阶梯式, 提示 HBV 病毒动力学或许比先前提及的更为复杂, 另外有两例患者血清中的 HBV DNA 更加快速的被清除, 提示先前估计的游离病毒的半衰期为 24 h 并不是普遍存在的. Tsiang et al^[26] 在近来的阿德福韦 期临床研究过程中, 有 15 例慢性 HBV 患者接受了每天使用 30 mg 阿德福韦, 持续了 12 wk, 结果血浆中 HBV 水平下降了 $10^{4.1}$. 虽然病毒清除的第一阶段及第二阶段的初始阶段与先前的两阶段模式相符合, 但是病毒载量实际上处于不稳定状态, 在第二阶段中病毒 DNA 以更低的速率持续下降, 病毒载量的变化甚微, 在治疗 30 d Nowak et al^[25] 的模型不再适用. 血浆中病毒水平迅速和持续的降低依赖于病毒生产有效的抑制, 因为这些都是由抗病毒治疗的剂量与效力所决定的. 病毒生产完全抑制的缺乏, 病毒彻底清除与肝纤维化危险性的降低及肝细胞癌的发展将主要依靠被感染细胞降低的有效率^[30-31]. 显然还需要大量的研究来证实这些有意义的发现.

血清 HBV DNA 检测对监测病毒载量的变化起到重要的作用, 但是肝组织中的 HBV DNA 的检测可更准确地反映病毒的复制情况. 张光曙 et al^[32]通过肝活检, 检测肝组织 HBV DNA, 结果发现在急慢性 HBV 感染中可

提高确诊率,尤其是慢性感染。研究观察证实血清内的HBV DNA检出率和HBV DNA含量均明显低于肝细胞,提示肝细胞内HBV DNA阴转可能晚于血液,因而提示在抗病毒治疗时,血内HBV DNA阴转并不能说明肝细胞内亦已阴转,在血液内HBV DNA阴转不应随即停止治疗,应结合临床表现及肝组织中HBV DNA是否阴转来判定。故除了监测血清中病毒载量的变化外,应该进一步检测肝组织中的病毒DNA,因为其能更准确地反映病毒的复制状况,但是由于取材较复杂,故临床的应用受到限制。

病毒载量及其动态变化与临床现象的关系比较复杂,需准确观察低复制病毒的微量变化;逆转录酶抑制剂的应用提高了乙型肝炎的治疗效果,但这类药物可引起HBV耐药毒株的出现,从而引发停药后反弹,是目前在乙型肝炎治疗中比较棘手的一个问题^[33-35]。故应针对不同患者具体的发病阶段和治疗措施,适时、动态的测定多个时间段的病毒载量,在治疗期间预测耐药毒株,及时调整治疗方案,这些都对HBV的治疗有重要意义。

4 参考文献

- Lee WM. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 1997;337:1733-1745
- Newbold JE, Xin H, Tencza M, Sherman G, Dean J, Bowden S, Locarnini S. The covalently closed duplex form of the hepadnavirus genome exists in situ as a heterogeneous population of viral minichromosomes. *J Virol* 1995;69:3350-3357
- Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:4398-4402
- Payne RJ, Nowak MA, Blumberg BS. The dynamics of hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6542-6546
- Guidotti LG, Rochford R, Chung RF, Purcell MSR, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 1999;284:825-829
- Whalley SA, Murray JM, Brown D, Webster GJ, Emery VC, Dusheiko GM, Perelson AS. Kinetics of acute hepatitis B virus infection in humans. *J Exp Med* 2001;193:847-854
- Delzney WE 4th, Miller TG, Isom HC. Use of the hepatitis B virus recombinant baculovirus-HepG2 system to study the effects of(-)-beta-2', 3'-dideoxy- 3'-thiacytidine on replication of hepatitis B virus and accumulation of covalently closed circular DNA. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:2017-2026
- Penna FC, Bertoletti A, Valli A, Antoni A, Giuberti AD, Cavalli T, Petit A, Fiaccadori MAF. Cellular immune response to hepatitis B virus-encoded antigens in acute and chronic hepatitis B virus infection. *J Immunol* 1990;145:3442-3449
- Tiollais P, Buendia MA. Hepatitis B virus. *Sci Am* 1991;264:116-123
- Ganem D, Pollack GD, Tavis JR. Hepatitis B virus reverse transcriptase and its many roles in hepadnaviral genomic replication. *Infect Agents Dis* 1994;3:85-93
- Severini A, Liu XY, Wilson JS, Tyrrell DL. Mechanism of inhibition of duck hepatitis B virus polymerase by (-)-beta-L-2', 3'-dideoxy-3'-thiacytidine. *J Antimicrob Agents Chemother* 1995;39:1430-1435
- 骆抗先. 慢性乙型肝炎抗病毒治疗的选择:干扰素还是拉米夫定. *肝脏* 2001;6(增刊):1-2
- Bongoeffer S, Coffin JM, Nowak MA. Human immunodeficiency virus drug therapy and virus load. *J Virol* 1997;71:3275-3278
- Gerken G, Gomes J, Lampertico P, Colombo M, Rothaar T, Trippler M, Colucci G. Clinical evaluation and applications of the Amplicor HBV Monitor test, a quantitative HBV DNA PCR assay. *J Virol Methods* 1998;74:155-165
- 隋云华, 杨志国, 许家璋, 何长伦. HBV DNA 定量与乙型肝炎临床及病理关系的探讨. *现代诊断与治疗* 2002;13:266-268
- Chung RT, Kim AY, Polsky B. HIV/Hepatitis B and C coinfection: pathogenic interactions, natural history and therapy. *Antivir Chem Chemother* 2001;12(Suppl 1):73-91
- 李文清, 陈玉丽, 林经安, 刘豫瑞. 乙型肝炎病毒血清DNA定量检测的临床意义. *临床荟萃* 2003;18:1025-1027
- 陈瑞烈, 方婵英, 张惠娟, 方少鹏. 慢性乙型肝炎血清HBV DNA定量检测及其临床意义. *中国基层医药* 2001;8:317-318
- Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, Kawakami Y, Yamashiro T, Maeshiro T, Kinjo F, Saito A. Correlation between serum transaminase activity and virus load among patients with chronic liver disease type B. *Hepatol Res* 2001;21:159-168
- 成军, 扬守纯. 现代肝炎病毒分子生物学. 北京: 人民军医出版社, 1997:30-70
- Lindh M, Furuta Y, Vahlne A, Norkrans G, Horal P. Emergence of precore TAG mutation during hepatitis B e seroconversion and its dependence on pregenomic base pairing between nucleotides 1858 of 1896. *J Infect Dis* 1995;172:1343-1347
- 蔡卫平, 唐小平, 陈劲峰. 慢性乙型肝炎HBV DNA定量检测与病原学标志和肝损害程度的关系. *中国实用内科杂志* 1998;18:149-150
- Llaiden TJ, Laden JE, Ribeiro RM, Perelson AS. Mathematical modeling of viral kinetics: a tool to understand and optimize therapy. *Clin Liver Dis* 2003;7:163-78
- Payne RJ, Nowak MA, Blumberg BS. The dynamics of hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:6542-6546
- Nowak MA, Bonhoeffer S, Hill AM, Boehme R, Thomas HC, McDade H. Viral dynamics in hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:4398-4402
- Tsiang M, Rooney JF, Toole JJ, Gibbs CS. Biphasic clearance kinetics of hepatitis B virus from patients during adefovir diiovoxil therapy. *Hepatology* 1999;29:1863-1869
- Lowin SR, Ribeiro RM, Walters T, Lau GK, Bowden S, Locarnini S, Perelson AS. Analysis of hepatitis B viral load decline under potent therapy: complex decay profiles observed. *Hepatology* 2001;34:1012-1020
- 洪卫国, 王福生, 陈菊梅. 病毒载量动态检测在乙型肝炎治疗和研究中的意义. *中华肝病杂志* 2003;11:54-56
- Zeuzem S, de Man RA, Honkoop P, Roth WK, Schalm SW, Schmidt JM. Dynamics of hepatitis B virus infection in vivo. *J Hepatol* 1997;27:431-436
- Mason WS. The problem of antiviral therapy for chronic hepadnavirus infections. *J Hepatol* 1993;17:S137-S142
- Mason WS, Cullen J, Saputelli J, Wu TT, Liu C, London WT, Lustbader E, Schaffer P, O'Connell AP, Fourel I. Characterization of the antiviral effects of 2' carbodeoxy-guanosine in ducks chronically infected with duck hepatitis B virus. *Hepatology* 1994;19:398-411
- 张光曙, 卓海龙, 徐传镇, 丁明权, 于建国, 甘天福. 肝组织HBVDNA定量检查的临床意义. *临床肝胆病杂志* 2003;19:100-101
- Delaney WE, Locamini S, Shaw T. Resistance of hepatitis B virus to antiviral drugs: current aspects and directions for future investigation. *Antivir Chem Chemother* 2001;12:1-35
- Liu CJ, Chen PJ, Lai MY, Kao JH, Chen DS. Hepatitis B virus variants in patients receiving lamivudine treatment with breakthrough hepatitis evaluated by serial viral loads and full length viral sequences. *Hepatology* 2001;34:583-589
- Da Silva LC, Pinho JR, Sitnik R, Da Fonseca LE, Carrilho FJ. Efficacy and tolerability of long-term therapy using high lamivudine dose for the treatment of chronic hepatitis B. *J Gastroenterol* 2001;36:476-485