

IL-12和IL-4水平对观察和预测拉米夫定治疗乙肝病毒感染中发生YMDD变异的意义

俞富军, 何生松, 张淑玲, 李淑利, 陈永平

俞富军, 陈永平, 温州医学院附属第一医院感染内科

浙江省温州市 325000

何生松, 张淑玲, 李淑利, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染内科 湖北省武汉市 430030

通讯作者: 俞富军, 浙江省温州市府学巷5号, 温州医学院附属第一医院感染内科. tjyufujun@hotmail.com

收稿日期: 2005-03-09 接受日期: 2005-03-22

摘要

目的: 探讨在拉米夫定治疗乙型肝炎病毒感染中发生YMDD变异与治疗期间血清IL-12和IL-4水平变化的关系。

方法: 慢性乙型病毒性肝炎患者给予口服拉米夫定治疗1 a时发生YMDD变异和未发生YMDD变异各选择40例, 测定拉米夫定治疗后3、6、12 mo血清IL-12、IL-4水平、乙肝两对半、肝功能和HBV DNA。

结果: 在无YMDD变异组患者中, 血清IL-12和IL-4水平在治疗后各个时间点较治疗前均有统计学差异(IL-12治疗后3, 6, 12 mo vs 治疗前, $t = 2.691, 2.351, 2.158$, $P = 0.02, 0.03, 0.04$; IL-4治疗后3, 6, 12 mo vs 治疗前, $t = 2.653, 2.107, 2.234$, $P = 0.02, 0.04, 0.03$), 表现为IL-12水平升高, IL-4水平降低; 在YMDD变异组患者中, 血清IL-12和IL-4水平仅治疗后3 mo和治疗前相比有统计学差异($t = 2.104, 2.142$, $P = 0.04, 0.04$), 表现为IL-12水平升高, IL-4水平降低。YMDD变异组治疗后3 mo和无变异组治疗后同一时间相比, 其变化幅度小, 且有统计学差异(IL-12: $t = 2.029$, $P = 0.04$; IL-4: $t = 2.028$, $P = 0.04$)。

结论: 发生YMDD变异与治疗期间血清IL-12和IL-4水平变化有关, 治疗期间其水平变化小而短暂者有更大的机会发生YMDD变异, 动态检测血清IL-12和IL-4水平可以作为拉米夫定治疗乙型肝炎病毒发生YMDD变异的预测指标之一。

俞富军, 何生松, 张淑玲, 李淑利, 陈永平. IL-12和IL-4水平对观察和预测拉米夫定治疗乙肝病毒感染中发生YMDD变异的意义. 世界华人消化杂志 2005;13(12):1460-1462

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1460.asp>

0 引言

拉米夫定是一种对乙型肝炎病毒复制有很强抑制作用的核苷类似物^[1]。目前已被广泛应用于临床, 但长期应用会使HBV DNA聚合酶活性区发生YMDD变异^[2-4]。国内报道拉米夫定治疗1 a后YMDD变异发生率为12.1%, 2 a后变异发生率高达49.7%^[5]。目前认为拉米夫定治疗前HBV DNA含量和转氨酶水平可以预测YMDD变异发生率, 但临床意义有限。我

们选择拉米夫定治疗1 a时发生YMDD变异和未发生YMDD变异各40例, 检测拉米夫定治疗期间血清IL-12、IL-4水平的变化, 研究血清IL-12、IL-4水平与拉米夫定治疗乙肝病毒发生YMDD的关系, 以探讨检测血清IL-12、IL-4水平作为预测拉米夫定治疗乙肝病毒发生YMDD变异的可能性。

1 材料和方法

1.1 材料 慢性乙型病毒性肝炎患者给予口服拉米夫定治疗1 a时发生YMDD变异和未发生YMDD变异各选择40例, 这80例患者在治疗前HBeAg和HBV DNA均阳性。YMDD变异组指治疗1 a时发生YMDD变异, 但治疗前和治疗期间未发生变异; 未发生YMDD变异组指治疗前、治疗期间和治疗1 a时均未发生YMDD变异, 治疗1 a时检测HBV DNA阴性, 伴或不伴有HBeAg血清转换。所有病例均为华中科技大学同济医学院附属协和医院感染内科2000-2003年门诊治疗患者, 其中男54例, 女26例, 年龄19-43岁, 平均 32.4 ± 10.2 岁, 病程3-10 a, 平均 6.5 ± 3.4 a, 其ALT均在正常范围上限2倍以上, 平均 242.2 ± 965.2 nkat/L, 胆红素均在正常范围以内, 80例病例均非母婴传播。诊断符合2000年在西安召开的全国第10届病毒性肝炎会议所修订的《病毒性肝炎防治方案》的标准。受检者治疗之前均未行抗病毒治疗和免疫调节治疗, 并排除药物、酒精、中毒等引起肝损伤。所有受检者血象、血清肌酐、磷酸肌酸激酶、淀粉酶均正常, 抗-HAV、抗-HCV、抗-HDV、抗-HEV、抗-HIV均阴性。

1.2 方法

1.2.1 设计方案 采用治疗前后对照试验, 所有受选者给予拉米夫定(Haptodin, 英国Glaxo-Willian公司提供), 1次/d, 100 mg/次, 疗程1 a。治疗前和治疗后3、6、12 mo分别检测IL-12、IL-4、YMDD变异、乙肝两对半、肝功能、HBV DNA。

1.2.2 标本的采集 抽取空腹静脉血5 mL, 待血块凝固收缩后以2 000 r/min, 取血于-20℃冰箱保存。

1.2.3 检测方法 人IL-4、IL-12采用双抗体夹心ABC-ELISA法, 购于上海森雄科技实业有限公司, 严格按说明书操作, 依标准品绘标准曲线, 再计算待测样品中细胞因子含量。YMDD是用PCR-ELISA法检测, 试剂由上海浩源生物制品有限公司生产。

统计学处理 实验资料用SAS统计软件进行分析, 采用 t 检验。

表1 变异组和无变异组拉米夫定治疗前后 IL-12(nq/L)水平

组别	n	治疗前	治疗后		
			3 mo	6 mo	12 mo
无变异组	40	34.21 ± 8.38	69.21 ± 18.10 ^a	63.15 ± 17.44 ^a	59.64 ± 14.30 ^a
变异组	40	35.71 ± 10.18	53.27 ± 14.54 ^{ac}	38.58 ± 12.62	39.35 ± 10.91

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 无变异组治疗后同时间.

表2 变异组和无变异组拉米夫定治疗前后 IL-4(nq/L)水平

组别	n	治疗前	治疗后		
			3 mo	6 mo	12 mo
无变异组	40	83.41 ± 19.58	50.96 ± 18.74 ^a	55.29 ± 18.87 ^a	53.82 ± 13.65 ^a
变异组	40	81.24 ± 17.67	66.25 ± 12.17 ^{ac}	79.81 ± 14.76	76.69 ± 16.31

^a $P < 0.05$ vs 治疗前; ^c $P < 0.05$ vs 无变异组治疗后同时间.

2 结果

拉米夫定治疗 1 a 时未发生 YMDD 变异组 40 例患者中, HBV DNA 检测均阴性, ALT 均复常, 其中 7 例出现 HBeAg 血清转换, 15 例 HBeAg 阴转但未出现抗-HBe, 18 例 HBeAg 仍然阳性. 在治疗后各个时间点可检测到血清 IL-12 水平升高, IL-4 水平降低, 和治疗前相比均有统计学意义 (IL-12 治疗后 3 mo、6 mo、12 mo 和治疗前相比其 t 值分别是 2.691、2.351、2.158, 其对应的 P 值分别是 0.02、0.03、0.04, 所有 $P < 0.05$; IL-4 治疗后 3 mo、6 mo、12 mo 和治疗前相比其 t 值分别是 2.653、2.107、2.234, 其对应的 P 值分别是 0.02、0.04、0.03, 所有 $P < 0.05$) (表 1). 拉米夫定治疗 1 a 时发生 YMDD 变异组 40 例患者中, 治疗期间曾出现 HBV DNA 阴性但治疗 1 a 时均阳性, 治疗 1 a 时 32 例患者 HBeAg 仍然阳性, 8 例患者 HBeAg 阴转但未出现抗-HBe. 治疗后可检测到血清 IL-12 水平升高, IL-4 水平降低, 但仅治疗后第 3 mo 和治疗前相比有统计学意义 (IL-12 和 IL-4 治疗后 3 mo 和治疗前相比其 t 值分别是 2.104、2.142, 其对应的 P 值分别是 0.04、0.04, 所有 $P < 0.05$). YMDD 变异组治疗后 3 mo 和无变异组治疗后同一时间相比其变化幅度小, 有统计学意义 (IL-12 和 IL-4 在 YMDD 变异组治疗后 3 mo 和无变异组治疗后 3 mo 相比其 t 值分别是 2.029、2.028, 其对应的 P 值分别是 0.04、0.04, 所有 $P < 0.05$) (表 2).

3 讨论

近年来, 众多临床研究者致力于探寻发生 YMDD 变异的预测因素, 但远未达成共识. 所谓预测因素是指与 YMDD 变异有关的治疗前或治疗中的因素. 一旦明确哪些因素与 YMDD 变异有关, 临床医师在治疗指征和治疗时机的选择上将有所可循, 从而可减少或延缓 YMDD 变异的出现, 提高拉米

夫定的疗效.

多篇报道认为, YMDD 变异的发生与基线高 HBV 病毒血症、HBeAg 阳性、男性和高体重指数等有关^[6-9], 而 ALT 水平与 YMDD 变异尚有不同的报道结果^[10]. 我们试图从细胞因子的角度来探讨 IL-12 和 IL-4 水平作为预测拉米夫定治疗乙肝病毒发生 YMDD 变异的可能性.

人类 CD4⁺ 辅助性 T 细胞是机体免疫应答和免疫调节的中心环节, Th 细胞分为 Th₁/Th₂ 两大亚群, Th₁ 主要促进细胞免疫应答, Th₂ 主要促进体液免疫应答. 目前认为 IL-12、IL-4 是诱导前体细胞向 Th₁、Th₂ 分化的直接刺激因子, 故 IL-12、IL-4 分别是 Th₁、Th₂ 应答强度的重要衡量指标^[10-13].

在拉米夫定治疗 1 a 时未发生 YMDD 变异组患者中, 治疗后各个时间点可检测到血清 IL-12 水平升高, IL-4 水平降低, 提示拉米夫定治疗可以纠正 Th₁/Th₂ 细胞因子失衡, 恢复机体的细胞免疫, 增强机体抗 HBV 免疫, 与国内外报道一致^[14-15]. 而在拉米夫定治疗 1 a 时发生 YMDD 变异组患者中, 仅治疗后第 3 mo 血清 IL-12 水平升高, IL-4 降低, 且变化幅度较无变异组低, 故机体增强的细胞免疫反应短暂和微弱. 因此在抗病毒治疗之后机体恢复的细胞免疫并且这种细胞免疫的持久性是拉米夫定治疗乙肝病毒不发生 YMDD 变异的关键. 血清 IL-12 和 IL-4 水平在拉米夫定治疗过程中的变化提示他们可以作为拉米夫定用药及疗效预测指标, 在治疗后的各个时间点通过检测血清 IL-12 和 IL-4 水平来评价机体 Th₁ 反应的程度, 间接反映机体抗 HBV 免疫功能恢复情况. 在常规指标外增加合适的免疫学指标, 无疑将丰富对慢性乙型肝炎的认识, 更好的评价患者拉米夫定治疗的反应性.

4 参考文献

- 1 Khokhar N, Gill ML, Alam AY. Treatment of chronic hepatitis

- B with lamivudine. *J Coll Physicians Surg Pak* 2005;15:78-80
- 2 Natsuizaka M, Hige S, Ono Y, Ogawa K, Nakanishi M, Chuma M, Yoshida S, Asaka M. Long-term follow-up of chronic hepatitis B after the emergence of mutations in the hepatitis B virus polymerase region. *J Viral Hepat* 2005;12:154-159
- 3 Huang ZM, Huang QW, Qin YQ, He YZ, Qin HJ, Zhou YN, Xu X, Huang MJ. YMDD mutations in patients with chronic hepatitis B untreated with antiviral medicines. *World J Gastroenterol* 2005;11:867-870
- 4 Bai YJ, Zhao JR, Lv GT, Zhang WH, Wang Y, Yan XJ. Rapid and high throughput detection of HBV YMDD mutants with fluorescence polarization. *World J Gastroenterol* 2003;9:2344-2347
- 5 Yao GB, Cui ZY, Wang BE, Yao JL, Zeng MD. A 3-year clinical trial of lamivudine in treatment of patients with chronic hepatitis B. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004;3:188-193
- 6 Tsubota A, Arase Y, Suzuki F, Kobayashi M, Matsuda M, Sato J, Suzuki Y, Akuta N, Sezaki H, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kumada H. Severe acute exacerbation of liver disease may reduce or delay emergence of YMDD motif mutants in long-term lamivudine therapy for hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2004;73:7-12
- 7 Suzuki F, Tsubota A, Arase Y, Suzuki Y, Akuta N, Hosaka T, Someya T, Kobayashi M, Saitoh S, Ikeda K, Kobayashi M, Matsuda M, Satoh J, Takagi K, Kumada H. Efficacy of lamivudine therapy and factors associated with emergence of resistance in chronic hepatitis B virus infection in Japan. *Intervirology* 2003;46:182-189
- 8 Wolters LM, Niesters HG, Hansen BE, van der Ende ME, Kroon FP, Richter C, Brinkman K, Meenhof PL, de Man RA. Development of hepatitis B virus resistance for lamivudine in chronic hepatitis B patients co-infected with the human immunodeficiency virus in a Dutch cohort. *J Clin Virol* 2002;24:173-181
- 9 Lok AS, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff ER, Dienstag JL, Heathcote EJ, Little NR, Griffiths DA, Gardner SD, Castiglia M. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2003;125:1714-1722
- 10 Smeltz RB, Chen J, Shevach EM. Transforming growth factor-beta1 enhances the interferon-gamma-dependent, interleukin-12-independent pathway of T helper 1 cell differentiation. *Immunology* 2005;114:484-492
- 11 Rodriguez-Galan MC, Bream JH, Farr A, Young HA. Synergistic effect of IL-2, IL-12, and IL-18 on thymocyte apoptosis and Th1/Th2 cytokine expression. *J Immunol* 2005;174:2796-2804
- 12 Sehra S, Patel D, Kusam S, Wang ZY, Chang CH, Dent AL. A role for caspases in controlling IL-4 expression in T cells. *J Immunol* 2005;174:3440-3446
- 13 Liu Z, Liu Q, Hamed H, Anthony RM, Foster A, Finkelman FD, Urban JF Jr, Gause WC. IL-2 and autocrine IL-4 drive the in vivo development of antigen-specific Th2 T cells elicited by nematode parasites. *J Immunol* 2005;174:2242-2249
- 14 Boni C, Penna A, Ogg GS, Bertolotti A, Pilli M, Cavallo C, Cavalli A, Urbani S, Boehme R, Panebianco R, Fiaccadori F, Ferrari C. Lamivudine treatment can overcome cytotoxic T-cell hyporesponsiveness in chronic hepatitis B: new perspectives for immune therapy. *Hepatology* 2001;33:963-971
- 15 俞富军, 何生松, 张淑玲, 李淑利, 陈永平. 拉米夫定对慢性乙型肝炎患者 TNF- α 影响的初步探讨. *胃肠病学和肝病杂志* 2005;14:90-91

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

重症急性胰腺炎并发急性肾功能衰竭 44 例

张鸿彦, 夏庆

张鸿彦, 夏庆, 四川大学华西医院中西医结合科 四川省成都市 610041
四川省中医药管理局重点专项基金, No. 2003A31

通讯作者: 夏庆, 610041, 四川省成都市外南国学巷 37 号, 四川大学华西医院中西医结合科. xiaqing@medmail.com

电话: 028-85422557

收稿日期: 2005-03-22 接受日期: 2005-04-13

摘要

目的: 探讨重症急性胰腺炎(SAP)并发急性肾功能衰竭(ARF)的发病因素和防治措施。

方法: 回顾分析我院2003年180例SAP病例中44例并发ARF和同期未发生肾功能衰竭的136例患者的临床资料。

结果: ARF多发生在起病10 d内, 90.27%在3 d内发生;肾衰组48 h体液隔绝量大于6 L的发生率、高脂血症发生率

及血小板减少发生率高于非肾衰竭组(分别为40.9% vs 22.8%; 40.9% vs 19.9%; 65.9% vs 39.7% $P = 0.03 < 0.05$), 三酰甘油和乳酸脱氢酶的水平高于非肾衰竭组(7.1 ± 6.2 mmol/L vs 3.9 ± 4.6 mmol/L; 221.2 ± 1304.4 IU/L vs 611.9 ± 496.5 IU/L $P < 0.05$); 肾衰组CT评分、APACHE II评分也高于非肾衰竭组(14.7 ± 5.2 vs 9.8 ± 3.8 ; 7.5 ± 2.5 vs 6.4 ± 2.2 $P = 0.01 < 0.05$); 前者并发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、休克、脑病、感染者多于后者(分别为81.8% vs 63.2%; 47.7% vs 25%; 36.4 vs 12.5% $P = 0.02 < 0.05$), 死亡率明显高于后者(45.5% vs 8.8% $P = 0.000 < 0.05$)。

结论: SAP合并ARF是多因素作用的结果, 与血流动力学紊乱、胰酶释放、炎症递质、细胞因子以及SAP伴发的其他脏器的功能损伤有密切关系。早期诊治SAP是预防其并发ARF的关键。