

乙型肝炎病毒准种的临床应用及其研究进展

陈恩强, 雷秉钧, 唐红

背景资料
乙型肝炎病毒在宿主主体内以准种的形式存在和分布的, 按照变异株数量的多少, 可将准种病毒群分为优势种群和劣势种群, 但这种相对的优势和劣势不是一成不变的, 内外环境的改变可使其发生改变。优势种群的特征代表了准种的特点, 很大程度上决定感染者的临床表现。

陈恩强, 雷秉钧, 唐红, 四川大学华西医院感染疾病中心 生物治疗国家重点实验室(四川大学)感染性疾病研究室 四川省成都市 610041
国家重点基础研究计划资助项目, No. 2007CB512902, No. 2006CB504302
作者贡献分布: 陈恩强对此文撰写作主要贡献; 文章思路由唐红提出并提供基金支持; 雷秉钧, 唐红对文章进行审阅并提出修改意见。
通讯作者: 唐红, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院感染疾病中心. htang6198@hotmail.com
电话: 028-85422647
收稿日期: 2008-01-16 修回日期: 2008-02-22

Clinical application and research progress in hepatitis B virus quasispecies

En-Qiang Chen, Bing-Jun Lei, Hong Tang

En-Qiang Chen, Bing-Jun Lei, Hong Tang, Center of Infectious Diseases, West China Hospital, Sichuan University; Molecular Biology Division of Infectious Diseases, State Key Laboratory of Biotherapy (Sichuan University), Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: the National Basic Research Program of China, No. 2007CB512902, No. 2006CB504302
Correspondence to: Hong Tang, Center of Infectious Diseases, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. htang6198@hotmail.com
Received: 2008-01-16 Revised: 2008-02-22

Abstract

The phenomenon of quasispecies commonly exists in RNA virus. Although hepatitis B virus (HBV) is a kind of DNA virus, it has the same phenomenon. Moreover, every coding area of HBV has the characteristic of quasispecies. HBV exists and distributes in the form of quasispecies in hosts. The variation is closely related to the evolution of quasispecies. The diversity of variation is not only the fundamental reason for the generation of quasispecies, but also the initial factor of unceasing change in quasispecies, and the diversity and complexity of variation indicate those of quasispecies. The evolution of HBV quasispecies determines the patients' clinical manifestation and treatment response to antiviral drugs, and especially there is a close relationship between the composing of quasispecies and the resistance to antiviral drugs. The introduction of quasispecies can help us study HBV from the integral and dynamic

angle and make a more reasonable prevention, diagnosis and treatment of HBV infection.

Key Words: Hepatitis B virus; Quasispecies; Resistance; Prognosis of disease

Chen EQ, Lei BJ, Tang H. Clinical application and research progress in hepatitis B virus quasispecies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(10): 1086-1091

摘要

准种现象普遍存在于RNA病毒中, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)虽属DNA病毒科, 但同样存在准种现象, 且其各编码区均可存在准种的特点。HBV在宿主主体内是以准种的形式存在和分布的。变异与准种变迁密切相关, 变异的多样性是准种产生的根本原因, 是准种不断变迁的始动因素, 变异的多样性和复杂性预示着准种的多样性和复杂性。HBV准种的变迁影响着患者的临床表现及对抗病毒药物的治疗反应, 特别是准种的构成与抗病毒药物的耐药之间存在密切联系。引入准种, 有助于我们从整体、动态的角度认识HBV, 更加合理有效的预防、诊断和治疗HBV感染。

关键词: 乙型肝炎病毒; 准种; 耐药; 疾病转归

陈恩强, 雷秉钧, 唐红. 乙型肝炎病毒准种的临床应用及其研究进展. *世界华人消化杂志* 2008; 16(10): 1086-1091
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/1086.asp>

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)是一种嗜肝DNA病毒, 是引起我国急、慢性肝炎的主要病原体, 全世界约有3.5亿感染者。尽管各种抗病毒药物的出现, 给肝炎治疗带来曙光, 但由于耐药株的不断出现, 远不能达到理想的疗效。通过研究发现, HBV准种的特点同持续感染、感染的慢性化以及药物耐受等临床问题密切相关。本文就近年来有关HBV准种特点研究的临床应用作一综述。

1 HBV准种

1.1 概念 Eigen^[1]在研究RNA分子的复制机制时

同行评议者
阴赓宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染暨急救医学科

提出准种的概念, 而HBV准种这一概念直至20世纪90年代才由Blum^[2]提出, 但一直没引起人们的重视, 直到2002年才得到一些学者的关注, 并相继在循环中分离出PreS/S、X、C及P区准种克隆^[3-5]. 2005年《慢性乙型肝炎防治指南》将HBV感染者体内形成的以一个优势株为主的相关突变株病毒群称为HBV准种(quasispecies)^[6]. 这些相关突变株基因序列在具有高度同源性的同时, 也存在细微的差异, 目前大多数文献将这种差异范围界定在2%-5%^[7]. 因HBV生活史中存有逆转录过程, 逆转录酶功能域不具有3'-5'校正功能, 所以造成HBV高的变异率, 产生很多不同的变异株, 但只有那些适应环境、生存能力强的变异株才能保存下来, 参与HBV准种的组成. 按照变异株数量的多少, 可将准种病毒群分为优势种群和劣势种群, 他们在功能上具有协同效应^[8-10]. 娄国强^[11]报道称逆突变株可通过干扰细胞体液免疫的导向及以数量方式使特异T细胞克隆耗竭, 来使优势株成功建立慢性感染. 但这种相对的优势和劣势不是一成不变的, 在机体免疫压力和抗微生物化疗药物的选择压力下可以发生改变, 那些复制最好的病毒产生的变异株将成为优势种群. 这些优势种群的特征代表了准种的特点, 很大程度上决定感染者的临床表现^[8].

1.2 准种与变异的区别与联系 病毒在内外选择压力的作用下可以发生各种突变, 产生多种变异株^[12]. 变异株描述的是单个病毒, 而准种描述的则是一个由各种变异株构成的病毒群. 病毒变异的多样性是准种产生的根本原因, 是准种不断变迁的始动因素. 但并不是所有的变异株都能参与准种的构成, 只有那些环境适应能力好的变异株才有可能参与准种的构成^[8]. 准种模型的建立揭示了变异的阈值, 超过这个阈值变异株的遗传信息就会丢失, 生物活性就会丧失^[7]. 基因型或亚型的序列差异与准种不同, 他们全基因序列差异 $\geq 8\%$ 或S区基因序列差异 $\geq 4\%$ ^[13-14], 这种差异是由于病毒的突变在长期与生存环境的相互作用过程中不断积累造成的.

2 HBV以准种的形式存在于人体

有关HBV感染者中是否存在HBV准种的分布, 国内外学者对此做了大量研究. Ngui *et al*^[15]利用PCR克隆法和限制稀释操作的方法, 在某些携带HBV感染者中发现至少存在20多个变异株, 且这些变异株的基因序列具有高度同源性但又存在微小的差别. Laskus *et al*^[16]在2个HBV感染患

者的血清和外周血单核细胞中均发现大量的核心启动子和前C基因变异株, 同血清和PBMC中的优势变异株相比, 外周血单核细胞中少量变异株存在3-18位核苷酸的缺失. Ong *et al*^[17]在对马来群岛患者的HBV测序时发现, 某些感染者体内可出现大量的前S/S基因变异株与野生株的共存. Kim *et al*^[18]对同一来源的5个HBV克隆基因进行全长序列测定, 将这5份克隆基因的序列和37份参照序列进行多重对比发现, 他们的序列具有高度一致性, 但对他们的序列进行两两比较后发现, 彼此间又存在微小的差别, 说明HBV准种是确实存在的. 国内一些学者先后用PCR法分别克隆了数例慢性乙型肝炎患者血清中HBV基因的全基因组片段及前C/C基因、P基因(RT)、全S区、X基因, 证实了慢性乙型肝炎患者体内HBV准种特性的存在, 且与HBV功能有关的各基因区均有准种的发生^[19-20].

3 HBV准种特点研究的临床应用

3.1 HBV准种的特点与持续感染及感染的慢性化有关 HBV准种中的免疫逃逸突变株成为优势种群是HBV持续感染及感染慢性化的重要原因. HBV最重要的免疫逃逸突变有S区的“a”抗原决定簇突变、C区的CTL识别位点突变及前C区的终止密码突变等^[21]. 病毒因突变而改变了其对T细胞和B细胞的识别位点, 使CTL或抗病毒中和抗体对HBV及其抗原不能进行有效的识别和应答, 从而逃逸机体的免疫监视^[22-24]. “a”抗原决定簇为外壳蛋白最重要的中和部位^[25], Ren *et al*^[26]发现S基因a决定簇单个氨基酸置换(T126I), 可影响HBsAg的抗原性, 逃避抗体中和, 引起持续感染. Francois *et al*^[27]在慢性HBV感染者体内发现大量前S2变异株, 因机体对这种变异株的清除能力弱且不影响其对肝细胞的黏附和穿透, 故认为前S2变异株的大量出现是引发某些HBV的慢性感染重要原因. Günther *et al*^[28]通过观察干扰素治疗慢性乙肝后HBV基因的变异, 证实干扰素治疗可引起HBV C基因的变异且增加准种的复杂性, 认为HBV清除的难易程度取决于准株的多寡. Tsai *et al*^[29]研究发现HBeAg发生C抗原内部缺失突变后, 其T细胞识别位点将发生改变, 可以逃避免疫监视, 认为该类优势变异株的出现亦是乙型肝炎慢性化的一个重要原因.

3.2 HBV准种的特点与疾病的严重程度 Mathet *et al*^[30]采用单链构象多态性和DNA序列分析法

研发前沿
机体的免疫压力以及抗病毒药物的选择压力在HBV准种形成过程中的地位和作用, 以及HBV准种的形成与急性HBV感染的慢性化、慢性HBV感染的临床转归之间的相互关系的研究, 将为探索抗HBV感染的治疗方法提供重要线索.

创新盘点
本文从准种的角度解释了临床常见的问题,如乙肝病毒的持续感染、疾病的严重程度和抗病毒药物的耐药等。

检测了HBV准种的发生概率,发现不同疾病期的准种发生率存在显著差异性,认为HBV基因准种的复杂性随疾病病情而增加,其增加程度还与HBeAg阴性及基因型相关。刘映霞 *et al*^[31]通过对慢性乙型肝炎不同病型患者S区准种复杂性的差异进行分析后亦得出同样结论。感染同一基因型的HBV,体内HBV准种越多临床表现越严重, Wen *et al*^[32]利用溶解曲线方法分析了32份无症状携带者和28名严重肝病患者血清中的准种,结果提示慢性肝病患者中准种数量要比慢性无症状携带者要多。Kojima *et al*^[33]通过对20例慢性乙型肝炎患者活检组织标本进行HBV DNA分析发现,慢性乙型肝炎患者病情越严重,HBV基因前C/C区准种的发生率越高。Ohishi *et al*^[34]用PCR-肽核酸钳法检测了慢性乙型肝炎患者使用拉米夫定治疗前后的HBV准株,发现治疗前患者体内HBV准株数高于治疗后,但优势准株数却较治疗后低。长期使用拉米夫定,当耐药突变株成为准种的优势株,在引起耐药的同时,可增加不良事件发生的概率, Liaw *et al*^[35]报道了拉米夫定耐药患者有40.6%的患者会出现肝炎急性发作, Lok *et al*^[36]通过回顾性分析一项长期拉米夫定耐药的安全性3期临床实验数据后发现,相比于没有拉米夫定耐药的患者,耐药者有更高的肝炎复发比率。

3.3 HBV准种特点与抗病毒药物的耐药 HBV对某一抗病毒药物表现耐受其实是一个逐渐发展的过程^[37]。在未接受过核苷类药物治疗的患者中,HBV野生株占HBV准种的绝大多数,耐药变异株在患者用药前就可能存在,也可能在用药过程中产生。患者用药后,对药物敏感的野生型病毒株受到抑制,含有耐药突变的准株得以有更多空间进行复制。当对某一药物有耐药性的准株成为准种中的优势病毒株时,药物就失去疗效。耐药株的复制能力和适应能力虽然较野生株弱,但在药物选择压力持续存在的情况下,产生许多代偿性突变株,使其复制能力增强,辅助耐药株成为准种的优势株^[38-39]。可见HBV耐药株的产生过程其实就是耐药株从劣势种群向优势种群变迁的过程。HBV YMDD基序位点突变株在使用拉米夫定使用前就存在,不过只是劣势种群,不易检测到,当抗病毒治疗一段时间后,药物敏感野生株逐渐减少变为劣势种群,而YMDD变异耐药株逐渐成为优势种群,因而容易检测到^[40-41]。因此,与其说拉米夫定引起HBV

基因的YMDD变异,不如说是优势种群的漂变过程。可见拉米夫定治疗获得的临床益处随着耐药准株从劣势种群向优势种群的转变而逐渐丧失^[42]。拉米夫定耐药者体内HBV准种最常见的优势种群由rtM204V、rtM204I、rtV173L和rtL180M变异株所构成,其中rtM204V/I准株成为优势种群可直接导致拉米夫定的强耐药性,而rtV173L和rtL180M是辅助变异,他们的存在可以增强rtM204V及rtM204I变异株的复制能力,辅助他们成为准种中的优势种群,进而表现出对拉米夫定的耐药^[10,43-44]。替比夫定分子结构与拉米夫定十分相似,其引起的耐药突变同拉米夫定耐药引起的突变基本相同^[45]。Dai *et al*^[46]对29名拉米夫定耐药的慢性乙型肝炎患者给与阿德福韦治疗52 wk后,对比治疗前后HBV准种构成,发现治疗前准种中只存在HBV野生株和YMDD变异株,而治疗后YMDD变异株消失,出现rtN236T, rtA181V/T及rtI233V等新的变异株。这些新的变异株在阿德福韦的长期选择作用下,很容易发展为耐种的优势种群,最终导致阿德福韦治疗的失败^[47]。拉米夫定耐药后,单用阿德福韦治疗,第4年和第5年其耐药率可达18%和29%^[48],而联合阿德福韦治疗后则很少出现耐药^[49]。拉米夫定YMDD变异D区域的A181V置换,虽可以增加阿德福韦耐药的发生率,但阿德福韦联合拉米夫定治疗时,拉米夫定可以协同抑制准种中非耐药株的复制,通过降低病毒总DNA水平,达到降低了阿德福韦耐药株发生率^[50]。目前临床很少有关于恩替卡韦耐药方面的报道。因为恩替卡韦耐药株存在3个位点的突变^[51],生存能力弱,且其耐药还需要有拉米夫定耐药置换存在为前提^[52-53],所以这样的变异株很难发展成耐种的优势株,引起临床耐药的几率很低。我国学者兰林 *et al*^[54]用构象敏感凝胶电泳(CSGE)对20例(完全应答者和无应答者各10例)已接受IFN- α 治疗的慢性乙型肝炎患者治疗前血清中HBV准种的异质性进行检测后发现,HBV DNA含量在IFN- α 应答患者和IFN- α 无应答患者之间无差异,但无应答患者HBV准种的复杂性及遗传差异显著高于应答患者,认为HBV准种的异质性对IFN- α 的应答性有影响,是导致IFN- α 临床疗效不理想的因素之一。韩永年 *et al*^[55]对慢性乙型肝炎患者血清HBV准种池中A¹⁸⁹⁶和T¹⁷⁶²-A¹⁷⁶⁴突变株的比例与IFN- α 应答之间的关系进行研究后发现,HBV准种分析可以更

准确地反映突变与CHB患者对IFN- α 应答之间的关系, T¹⁷⁶²-A¹⁷⁶⁴突变株在准种池中的比例愈高者对IFN应答率愈良好, 而A¹⁸⁹⁶突变株情况似乎正相反。

4 结论

HBV在慢性乙型肝炎患者体内是以准种的形式存在的, 变异贯穿HBV基因各编码区。HBV准种与HBV感染的慢性化、疾病转归及药物治疗耐受等可能密切相关。但目前关于HBV准种的研究还只是初步的, HBV准种中的优势耐药株能否做为传染源在不同的感染者之间进行传播以及越来越多的耐药株的出现会不会对现有的疫苗产生威胁将是我们以后研究的重点。随着抗病毒药物的广泛使用, 耐药性问题日趋严重, 进行合理有效的抗病毒治疗是当务之急。我们必须将乙肝病毒优势种群与抗病毒药物敏感性问题联系起来, 根据肝炎病毒种群检测结果来指导抗病毒药物的选择和评价抗病毒的疗效应答。目前国外很多文献报道在耐药株出现之初, 还没有成为优势准种前, 若能检测出来的话, 将有利于最优个体化治疗^[56-57]。虽然目前的技术条件还很不成熟, 但这是一个重要的发展趋势。

5 参考文献

- Eigen M. Selforganization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften* 1971; 58: 465-523
- Blum HE. Hepatitis B virus: significance of naturally occurring mutants. *Intervirology* 1993; 35: 40-50
- 董菁, 成军, 王勤环, 施双双, 洪源, 皇甫竞坤, 王刚, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒逆转录酶区基因序列准种与变异特点. *病毒学报* 2001; 17: 270-272
- 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒前C/C基因准种与变异特点的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2002; 22: 27-27
- 董菁, 施双双, 皇甫竞坤, 成军, 王勤环, 李莉, 斯崇文. 乙型肝炎病毒X基因准种特点的研究. *中国病毒学* 2002; 17: 22-26
- 中华医学会肝病学会、感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. *中华肝病杂志* 2005; 13: 881-891
- Eigen M. Viral quasispecies. *Sci Am* 1993; 269: 42-49
- Vignuzzi M, Stone JK, Arnold JJ, Cameron CE, Andino R. Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 2006; 439: 344-348
- Warner N, Locarnini S, Kuiper M, Bartholomeusz A, Ayres A, Yuen L, Shaw T. The L80I substitution in the reverse transcriptase domain of the hepatitis B virus polymerase is associated with lamivudine resistance and enhanced viral replication in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2285-2292
- Delaney WE 4th, Yang H, Westland CE, Das K, Arnold E, Gibbs CS, Miller MD, Xiong S. The hepatitis B virus polymerase mutation rtV173L is selected during lamivudine therapy and enhances viral replication in vitro. *J Virol* 2003; 77: 11833-11841
- 娄国强. HBV准种单位-超感染模式的探索与研究. *医学研究杂志* 2006; 35: 6-8
- Biebricher CK, Eigen M. The error threshold. *Virus Res* 2005; 107: 117-127
- Norder H, Couroucé AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198: 489-503
- Norder H, Couroucé AM, Coursaget P, Echevarria JM, Lee SD, Mushahwar IK, Robertson BH, Locarnini S, Magnius LO. Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology* 2004; 47: 289-309
- Ngui SL, Teo CG. Hepatitis B virus genomic heterogeneity: variation between quasispecies may confound molecular epidemiological analyses of transmission incidents. *J Viral Hepat* 1997; 4: 309-315
- Laskus T, Wang LF, Radkowski M, Vargas H, Cianciara J, Poutous A, Rakela J. Comparison of hepatitis B virus core promoter sequences in peripheral blood mononuclear cells and serum from patients with hepatitis B. *J Gen Virol* 1997; 78 (Pt 3): 649-653
- Ong HT, Duraisamy G, Kee Peng N, Wen Siang T, Seow HF. Genotyping of hepatitis B virus in Malaysia based on the nucleotide sequence of preS and S genes. *Microbes Infect* 2005; 7: 494-500
- Kim H, Jee YM, Song BC, Hyun JW, Mun HS, Kim HJ, Oh EJ, Yoon JH, Kim YJ, Lee HS, Hwang ES, Cha CY, Kook YH, Kim BJ. Analysis of hepatitis B virus quasispecies distribution in a Korean chronic patient based on the full genome sequences. *J Med Virol* 2007; 79: 212-219
- 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚. 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1238-1240
- 董菁, 成军, 王勤环, 皇甫竞坤, 施双双, 张国庆, 洪源, 李莉, 斯崇文. 慢性乙型肝炎患者体内乙型肝炎病毒DNA序列异质性及准种特点的研究. *中华医学杂志* 2002; 82: 81-85
- Pawlotsky JM. The concept of hepatitis B virus mutant escape. *J Clin Virol* 2005; 34 Suppl 1: S125-S129
- Zuckerman JN. Protective efficacy, immunotherapeutic potential, and safety of hepatitis B vaccines. *J Med Virol* 2006; 78: 169-177
- Goncalves L, Albarran B, Salmen S, Borges L, Fields H, Montes H, Soyano A, Diaz Y, Berrueta L. The nonresponse to hepatitis B vaccination is associated with impaired lymphocyte activation. *Virology* 2004; 326: 20-28
- Jarrosso L, Kolopp-Sarda MN, Aguilar P, Béné MC, Lepori ML, Vignaud MC, Faure GC, Kohler C. Most humoral non-responders to hepatitis B vaccines develop HBV-specific cellular immune responses. *Vaccine* 2004; 22: 3789-3796
- Howard CR. The structure of hepatitis B envelope and molecular variants of hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1995; 2: 165-170
- Ren F, Tsubota A, Hirokawa T, Kumada H, Yang Z, Tanaka H. A unique amino acid substitution, T126I, in human genotype C of hepatitis B virus S gene

应用要点
HBV准种的引入有助于从整体、动态的角度认识HBV, 更加合理有效的预防、诊断和治疗HBV感染。

名词解释

准种: 是由一组遗传学上高度相关而个体间又存在微小差别的病毒株所构成的病毒群, 而这些病毒株亦称为准株。准种的演变是从一个原始的特定病毒序列开始的, 该病毒的每一轮复制均导致微小变异株出现。当环境发生改变时, 原准种中已存在的各种变异株, 以及复制过程中新生成的变异株中, 将被选择出最适应新环境的变异株。尔后, 被选择出的变异株又面临新环境的变化。为了其子代能继续复制, 将再次被选择出适应新环境的变异株。如此周而复始, 不断形成新的准种。

- and its possible influence on antigenic structural change. *Gene* 2006; 383: 43-51
- 27 François G, Kew M, Van Damme P, Mphahlele MJ, Meheus A. Mutant hepatitis B viruses: a matter of academic interest only or a problem with far-reaching implications? *Vaccine* 2001; 19: 3799-3815
 - 28 Günther S, Paulij W, Meisel H, Will H. Analysis of hepatitis B virus populations in an interferon-alpha-treated patient reveals predominant mutations in the C-gene and changing e-antigenicity. *Virology* 1998; 244: 146-160
 - 29 Tsai SL, Chen MH, Yeh CT, Chu CM, Lin AN, Chiou FH, Chang TH, Liaw YF. Purification and characterization of a naturally processed hepatitis B virus peptide recognized by CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *J Clin Invest* 1996; 97: 577-584
 - 30 Mathet VL, Feld M, Espínola L, Sánchez DO, Ruiz V, Mandó O, Carballal G, Quarleri JF, D'Mello F, Howard CR, Oubiña JR. Hepatitis B virus S gene mutants in a patient with chronic active hepatitis with circulating Anti-HBs antibodies. *J Med Virol* 2003; 69: 18-26
 - 31 刘映霞, 胡国龄, 谭德明. 乙型肝炎病毒S区准种与疾病活动性的关系. *中华传染病杂志* 2002; 20: 282-286
 - 32 Wen ZL, Tan DM, Peng SF, Hou ZH, Cheng J. Study on quasispecies of hepatitis B virus and the clinical manifestation of their infection by melt curve analysis. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2006; 14: 19-22
 - 33 Kojima N, Horiike N, Michitaka K, Onji M. In situ detection of mutated hepatitis B virus in microdissected, formalin-fixed liver tissues from patients with chronic hepatitis B. *J Hepatol* 1999; 30: 359-365
 - 34 Ohishi W, Shirakawa H, Kawakami Y, Kimura S, Kamiyasu M, Tazuma S, Nakanishi T, Chayama K. Identification of rare polymerase variants of hepatitis B virus using a two-stage PCR with peptide nucleic acid clamping. *J Med Virol* 2004; 72: 558-565
 - 35 Liaw YF, Chien RN, Yeh CT, Tsai SL, Chu CM. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy. *Hepatology* 1999; 30: 567-572
 - 36 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
 - 37 Richman DD. The impact of drug resistance on the effectiveness of chemotherapy for chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000; 32(4 Pt 1): 866-867
 - 38 Das K, Xiong X, Yang H, Westland CE, Gibbs CS, Sarafianos SG, Arnold E. Molecular modeling and biochemical characterization reveal the mechanism of hepatitis B virus polymerase resistance to lamivudine (3TC) and emtricitabine (FTC). *J Virol* 2001; 75: 4771-4779
 - 39 Locarnini S. 慢性乙型肝炎抗病毒耐药及其处理. *肝脏* 2007; 12: 161-163
 - 40 成军. 乙型肝炎病毒基因异质性及准种特点研究的临床意义. *解放军医学杂志* 2002; 27: 112-115
 - 41 区映研, 卫建均, 曾文铤, 朱科伦, 马佩球. 未经拉米夫定治疗的YMDD变异与HBV基因准种存在的关系. *中国医师进修杂志* 2006; 29: 32-33
 - 42 Ayres A, Bartholomeusz A, Lau G, Lam KC, Lee JY, Locarnini S. Lamivudine and Famciclovir resistant hepatitis B virus associated with fatal hepatic failure. *J Clin Virol* 2003; 27: 111-116
 - 43 Cane PA, Mutimer D, Ratcliffe D, Cook P, Beards G, Elias E, Pillay D. Analysis of hepatitis B virus quasispecies changes during emergence and reversion of lamivudine resistance in liver transplantation. *Antivir Ther* 1999; 4: 7-14
 - 44 Lai CL, Dienstag J, Schiff E, Leung NW, Atkins M, Hunt C, Brown N, Woessner M, Boehme R, Condreay L. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 687-696
 - 45 Lai CL, Leung N, Teo EK, Tong M, Wong F, Hann HW, Han S, Poynard T, Myers M, Chao G, Lloyd D, Brown NA. A 1-year trial of telbivudine, lamivudine, and the combination in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2005; 129: 528-536
 - 46 Dai CY, Chuang WL, Hsieh MY, Lee LP, Huang JF, Hou NJ, Lin ZY, Chen SC, Hsieh MY, Wang LY, Tsai JF, Chang WY, Yu ML. Adefovir dipivoxil treatment of lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Antiviral Res* 2007; 75: 146-151
 - 47 Schildgen O, Sirma H, Funk A, Olotu C, Wend UC, Hartmann H, Helm M, Rockstroh JK, Willems WR, Will H, Gerlich WH. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med* 2006; 354: 1807-1812
 - 48 Yang H, Westland CE, Delaney WE 4th, Heathcote EJ, Ho V, Fry J, Brosgart C, Gibbs CS, Miller MD, Xiong S. Resistance surveillance in chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil for up to 60 weeks. *Hepatology* 2002; 36: 464-473
 - 49 Peters MG, Hann HW, Martin P, Heathcote EJ, Buggisch P, Rubin R, Bourliere M, Kowdley K, Trepo C, Gray DF, Sullivan M, Kleber K, Ebrahimi R, Xiong S, Brosgart CL. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2004; 126: 91-101
 - 50 Yim HJ, Hussain M, Liu Y, Wong SN, Fung SK, Lok AS. Evolution of multi-drug resistant hepatitis B virus during sequential therapy. *Hepatology* 2006; 44: 703-712
 - 51 Colonno RJ, Rose R, Baldick CJ, Levine S, Pokornowski K, Yu CF, Walsh A, Fang J, Hsu M, Mazzucco C, Eggers B, Zhang S, Plym M, Kleszczewski K, Tenney DJ. Entecavir resistance is rare in nucleoside naïve patients with hepatitis B. *Hepatology* 2006; 44: 1656-1665
 - 52 Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, Levine SM, Pokornowski KA, Walsh AW, Fang J, Yu CF, Zhang S, Mazzucco CE, Eggers B, Hsu M, Plym MJ, Poundstone P, Yang J, Colonno RJ. Two-year assessment of entecavir resistance in lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 902-911
 - 53 Tenney DJ, Levine SM, Rose RE, Walsh AW, Weinheimer SP, Discotto L, Plym M, Pokornowski K, Yu CF, Angus P, Ayres A, Bartholomeusz A, Sievert W, Thompson G, Warner N, Locarnini S, Colonno RJ. Clinical emergence of entecavir-resistant hepatitis B virus requires additional substitutions in virus already resistant to

- Lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3498-3507
- 54 兰林, 王宇明. 乙型肝炎病毒准种异质性对干扰素应答性的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 169-172
- 55 韩永年, 张欣欣, 陆志檬, 罗振辉, 高健, 张东华. 乙型肝炎病毒基因组变异对干扰素治疗的影响. *肝脏* 2000; 5: 136-138
- 56 Pallier C, Castéra L, Soulier A, Hézode C,

- Nordmann P, Dhumeaux D, Pawlotsky JM. Dynamics of hepatitis B virus resistance to lamivudine. *J Virol* 2006; 80: 643-653
- 57 Durantel D, Carrouée-Durantel S, Werle-Lapostolle B, Brunelle MN, Pichoud C, Trépo C, Zoulim F. A new strategy for studying in vitro the drug susceptibility of clinical isolates of human hepatitis B virus. *Hepatology* 2004; 40: 855-864

同行评价
本文参考国内外最新文献, 较为系统介绍乙肝病毒准种的概念、研究及其临床应用最新进展, 具有重要的参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志计量单位标准

本刊讯 本刊计量单位采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如30 kD改为 M_r 30 000或30 kDa(M 大写斜体, r 小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即 A_r (A 大写斜体, r 小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是 u (小写正体). 计量单位在+、-、 \pm 及-后列出. 如 $37.6 \pm 1.2^\circ\text{C}$, 45.6 ± 24 岁, 56.4 ± 0.5 d. 3.56 ± 0.27 pg/ml应为 3.56 ± 0.27 ng/L, 131.6 ± 0.4 mmol/L, $t = 28.4 \pm 0.2^\circ\text{C}$. BP用kPa(mmHg), RBC数用 $\times 10^{12}/\text{L}$, WBC数用 $\times 10^9/\text{L}$, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. M_r 明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或 $\mu\text{mol/L}$ 表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm \times 6 cm \times 4 cm. 生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、 CO_2 结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把 1×10^{-3} g与 5×10^{-7} g之类改成1 mg与0.5 μg , hr改成h, 重量 γ 改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg \cdot d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO_2 , 50 mL/L CO_2 ; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6} ; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示. (常务副总编辑: 张海宁 2008-04-08)