

慢性乙型肝炎YMDD变异后的治疗

邱源旺, 黄利华, 蒋祥虎, 胡泰洪, 丁虹, 蒋跃明, 戴亚新, 周敏

背景资料
拉米夫定(LAM)是我国第一个应用于慢性乙型肝炎抗病毒治疗的核苷类药物,其5年的耐药率高达70%,因此,临床上出现大量的YMDD变异患者急需合理的处理对策。

邱源旺, 黄利华, 蒋祥虎, 胡泰洪, 丁虹, 蒋跃明, 戴亚新, 周敏, 无锡市传染病医院肝病五科 江苏省无锡市 214000
江苏省无锡市卫生系统指令性科研基金资助项目, No. XM0704
作者贡献分布: 邱源旺对此文的贡献较大; 此课题由邱源旺、蒋祥虎、黄利华设计; 研究过程由邱源旺、胡泰洪、丁虹、蒋跃明、戴亚新及周敏操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由蒋跃明与戴亚新提供; 数据分析由邱源旺与黄利华完成; 本论文写作由邱源旺完成。
通讯作者: 邱源旺, 主治医师, 214000, 江苏省无锡市, 无锡市传染病医院肝病五科. qywang839@126.com
电话: 0510-80219555-2522
收稿日期: 2009-08-09 修回日期: 2009-09-24
接受日期: 2009-09-28 在线出版日期: 2009-10-18

Treatment of chronic hepatitis B patients harboring YMDD variants

Yuan-Wang Qiu, Li-Hua Huang, Xiang-Hu Jiang, Tai-Hong Hu, Hong Ding, Yue-Ming Jiang, Ya-Xin Dai, Min Zhou

Yuan-Wang Qiu, Li-Hua Huang, Xiang-Hu Jiang, Tai-Hong Hu, Hong Ding, Yue-Ming Jiang, Ya-Xin Dai, Min Zhou, the 5th Department of Liver Diseases, Wuxi Hospital for Infectious Diseases, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China
Supported by: the Mandatory Scientific Research Foundation of Wuxi Municipal Health Bureau, No. XM0704
Correspondence to: Yuan-Wang Qiu, the 5th Department of Liver Diseases, Wuxi Hospital for Infectious Diseases, Wuxi 214000, Jiangsu Province, China. qywang839@126.com
Received: 2009-08-09 Revised: 2009-09-24
Accepted: 2009-09-28 Published online: 2009-10-18

Abstract

AIM: To evaluate the efficacy and safety of adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine or entecavir in the treatment of chronic hepatitis B (CHB) patients harboring YMDD variants.

METHODS: One hundred and twenty CHB patients with YMDD variants were randomly divided into four groups: patients receiving adefovir dipivoxil alone for 96 weeks (Group A), those receiving adefovir dipivoxil in combination with lamivudine during the first 12 weeks and adefovir dipivoxil alone for the following 84 weeks (Group B), those receiving adefovir dipivoxil in combination with lamivudine for 96 weeks (Group C), and those receiving entecavir alone for 96 weeks (Group D). Before treatment and at weeks 0, 4, 12, 24, 48, 72 and

96 after treatment, liver function, hepatitis B virus (HBV)-DNA level, HBV serological markers, serum phosphorus and renal function were determined in all patients. HBV YMDD mutation was detected in HBV DNA-positive patients. Sequencing of HBV P gene was performed in patients with a non-virological response or virological breakthrough.

RESULTS: After 96 weeks of treatment, no significant differences were noted in serum alanine aminotransferase (ALT) level and hepatitis B e-antigen (HbeAg) seroconversion rate among the four groups (all $P > 0.05$). However, significant differences were observed in ALT normalization rate and the percentage of patients with undetectable HBV DNA between the Group A and Group C ($\chi^2 = 7.500$ and 6.648 , respectively; both $P < 0.05$). The frequencies of drug resistant genotypes in the four groups were 16.7% (5/30), 13.3% (4/30), 0 and 13.3% (4/30), respectively. Severe hepatitis occurred in one patient in the Group A.

CONCLUSION: Adefovir dipivoxil in combination with LAM is safe and effective in the treatment of chronic hepatitis B patients with YMDD variants.

Key Words: Chronic hepatitis B; Therapy; YMDD mutation; Lamivudine; Adefovir dipivoxil; Entecavir

Qiu YW, Huang LH, Jiang XH, Hu TH, Ding H, Jiang YM, Dai YX, Zhou M. Treatment of chronic hepatitis B patients harboring YMDD variants. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(29): 3034-3037

摘要

目的: 评价阿德福韦酯(ADV)和恩替卡韦(ETV)治疗慢性乙型肝炎YMDD变异患者2年的疗效和安全性。

方法: 2005-06/2007-06我院门诊和住院经拉米夫定治疗后出现YMDD变异的乙型肝炎患者120例, 随机分为4组。A组单用ADV 10 mg/d, 治疗96 wk; B组采用ADV 10 mg/d、拉米夫定100 mg/d, 联合治疗12 wk, 后单用ADV 10 mg/d, 治疗84 wk; C组采用ADV 10 mg/d、拉米夫定100 mg/d, 联合治疗96 wk; D组接受ETV 1 mg/d, 治疗96 wk。患者在治疗前和12、24、48、72、

同行评议者
吴君, 主任医师, 贵州省贵阳市贵阳医学院附属医院感染科

96 wk检测肝功能、HBV DNA、HBV标志物、电解质(血磷)、肾功能, 对HBV DNA阳性患者检测YMDD变异株, 病毒学无应答或反弹的患者进行HBV P区测序.

结果: 治疗96 wk时4组患者间ALT水平、HBeAg阳性患者血清转换率比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$). C组患者ALT复常率、HBV DNA达到检测水平以下的百分率与A组患者比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 7.500$, 6.648 , $P<0.05$); 4组患者96 wk的基因型耐药率分别为16.7%(5/30)、13.3%(4/30)、0及13.3%(4/30). A组1例患者出现重型肝炎.

结论: YMDD变异后采用ADV与拉米夫定联合治疗更安全有效.

关键词: 慢性乙型肝炎; 治疗; YMDD变异; 拉米夫定; 阿德福韦酯; 恩替卡韦

邱源旺, 黄利华, 蒋祥虎, 胡泰洪, 丁虹, 蒋跃明, 戴亚新, 周敏. 慢性乙型肝炎YMDD变异后的治疗. 世界华人消化杂志 2009; 17(29): 3034-3037
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3034.asp>

0 引言

拉米夫定(lamivudine, LAM)长期应用导致的耐药性是困扰临床治疗的难题, 急需处理对策. 我们前期研究认为1年内LAM联合阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil, ADV)或恩替卡韦(entecavir, ETV)治疗YMDD变异的慢性乙型肝炎患者均安全有效^[1], 但对其远期疗效仍有待进一步研究观察. 本研究旨在观察经LAM治疗后出现YMDD变异的慢性乙型肝炎患者采用ADV单药或与LAM联合、ETV治疗的疗效及不良事件发生率, 进一步探讨慢性乙型肝炎YMDD变异后的治疗策略.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-06/2007-06我院门诊和住院的经拉米夫定治疗后出现YMDD变异的慢性乙型肝炎患者120例, 男90例, 女30例, 年龄21-52(平均 39.6 ± 8.2)岁. e抗原阳性68例, e抗原阴性52例. C基因型67例, B基因型53例, rtM204V+rtL180M变异78例, rtM204V+rtL180M+rtV173L变异10例, rtM204I+rtL180M变异12例, rtM204I变异20例. 符合2000年西安会议修订的病毒性肝炎防治方案^[2]的诊断标准, 排除同时感染人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)或感染甲、丙、丁、戊型肝炎病毒及合并酒精

性、自身免疫性或胆汁淤积性肝病、慢性乙型肝炎失代偿或伴有恶性肿瘤、严重心脏病、糖尿病等的患者, 排除孕妇及哺乳期妇女. 患者均被告知长期服药、病毒耐药可能出现的不良反应及病情变化, 并签署知情同意书.

1.2 方法

1.2.1 分组与治疗: 采用区组随机化法分组, 将120例患者随机分为A-D 4组, 每组各30例, 4组e抗原阳性病例分别为19、18、15、16例; C基因型分别为18、15、16、18例. 4组年龄、变异类型、e抗原阳性病例数、B、C基因型例数, 差异均无统计学意义. A组患者单用ADV 10 mg/d, 治疗96 wk; B组患者采用ADV 10 mg/d、LAM 100 mg/d联合治疗12 wk, 后单用ADV治疗84 wk; C组患者采用ADV 10 mg/d、LAM 100 mg/d联合治疗96 wk; D组患者接受ETV 1 mg/d, 治疗96 wk. 拉米夫定片剂, 每片100 mg, 阿德福韦酯片剂, 每片10 mg, 均由葛兰素史克有限公司生产. 恩替卡韦片剂, 每片0.5 mg, 由中美上海施贵宝制药有限公司生产.

1.2.2 观察指标与检测: 患者在治疗前、12、24、48、72、96 wk检测肝功能、HBV DNA、HBV标志物、电解质(血磷)、肾功能, 对HBV DNA阳性患者检测YMDD变异株, 病毒学无应答或反弹的患者进行HBV P区测序. 观察血清学、生物化学、病毒学应答, YMDD变异株消失时间、肾功能(尿素氮, 血清肌酐)、血磷改变以及各组患者的病情变化和不良事件的发生率. HBV DNA及YMDD变异由lightcycle基因荧光定量分析仪(瑞士, 罗氏公司)检测, HBV DNA试剂盒购自深圳市匹基工程股份有限公司, 检测灵敏度为500 copy/mL; YMDD变异检测试剂盒由杭州博赛基因诊断技术有限公司提供, HBV标志物应用1235时间分辨荧光免疫分析仪(芬兰, Perlin Elmer Life Sciences公司)检测; 试剂由苏州新波生物技术有限公司提供, 肝功能、肾功能采用日立7600全自动生化分析仪(日本, 株式会社日立高新技术公司)及配套试剂检测; HBV聚合酶区基因序列分析由CEQ-8000基因测序仪(美国, 贝克曼库尔特公司)检测(引物由上海生工生物工程公司合成).

统计学处理 结果分析采用意向性治疗原则(ITT)方法, 应用SPSS11.5软件进行统计分析, 计量资料以mean \pm SD或中位数 \pm 四分位数间距(M \pm QR)表示, 4组ALT水平的动态变化采用重复测量的方差分析, HBV DNA的变化采用 q 检验, 组间率的比较用R \times C表的 χ^2 检验; 以 $P<0.05$ 有统计学意义.

研发前沿
经LAM治疗出现YMDD变异的临床对策仍然是目前研究热点问题, 对于YMDD变异后长期换用ADV或联合ADV以及服用ETV的疗效、耐药性、安全性、药物成本-效果分析方面等均亟待深入研究.

应用要点
研究结果可直接应用于临床, 避免盲目治疗, 以减少患者医药费用, 有良好的社会效益和经济效益.

名词解释

YMDD变异:是指HBV聚合酶的逆转录酶区的C亚区YMDD(酪氨酸-蛋氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸)基序发生改变,其中的M(蛋氨酸)被I(异亮氨酸)或V(缬氨酸)替代。

表 1 4组患者治疗前、后ALT检测 (mean \pm SD, U/L)

分组	治疗前	治疗后(wk)				
		12	24	48	72	96
A组	149.1 \pm 56.3	96.3 \pm 48.6	81.2 \pm 47.9	51.1 \pm 23.2 ^b	49.2 \pm 21.3	53.1 \pm 19.1 ^b
B组	146.7 \pm 73.2	79.3 \pm 27.6	69.3 \pm 32.7	52.2 \pm 21.9 ^b	46.1 \pm 16.2	49.5 \pm 17.5 ^b
C组	141.1 \pm 58.2	79.0 \pm 24.1	67.7 \pm 28.5	41.2 \pm 17.8 ^b	40.1 \pm 18.1	40.4 \pm 20.4 ^b
D组	145.7 \pm 61.9	81.4 \pm 25.6	65.7 \pm 27.5	42.9 \pm 25.3 ^b	47.1 \pm 20.2	52.6 \pm 25.3 ^b

^b $P < 0.01$ vs 同组治疗前。

表 2 患者治疗前后HBV DNA 检测 (M \pm QR, log₁₀ copy/mL)

分组	治疗前	治疗后(wk)				
		12	24	48	72	96
A组	7.68 \pm 2.53	5.80 \pm 2.62	5.27 \pm 2.40	4.34 \pm 1.56	4.04 \pm 1.02	4.11 \pm 1.16
B组	7.84 \pm 2.40	4.70 \pm 2.82	4.80 \pm 2.15	4.20 \pm 1.72	4.12 \pm 1.26	4.09 \pm 1.56
C组	7.79 \pm 2.62	4.62 \pm 2.61	4.25 \pm 2.51	4.10 \pm 1.80	3.64 \pm 0.86	3.52 \pm 0.94
D组	7.82 \pm 2.32	4.32 \pm 2.61	4.35 \pm 2.51	4.04 \pm 1.76	3.81 \pm 0.98	3.41 \pm 0.91
H值	0.343	1.820	2.252	1.680	1.725	1.805
P值	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 3 患者治疗后ALT复常率、HBV DNA达到检测水平以下百分率、e抗原阳性患者血清转换比较 $n(\%)$

分组	ALT复常	DNA达到检测水平以下	e抗原阳性	e抗原血清转换
A组	15(50.0)	17(56.7)	19(63.3)	1(5.3)
B组	19(63.3)	18(60.0)	18(60.0)	2(11.1)
C组	25(83.3)	26(86.7)	15(50.0)	3(20.0)
D组	23(76.7)	22(73.3)	16(53.3)	3(18.8)
χ^2 值	9.089	7.932		2.144
P值	0.028	0.047		0.543

2 结果

2.1 患者治疗96 wk后ALT、HBV DNA水平 4组患者96 wk与治疗前比较ALT水平下降均显著,但4组之间ALT下降水平比较,差异均无统计学意义(4组间比较 $F = 2.040$, $P > 0.05$; 不同时间比较 $F = 130.012$, $P < 0.01$; 不同时间与组间交互作用 $F = 0.486$, $P > 0.05$)。治疗96 wk HBV DNA中位数水平较基线值分别下降3.57、3.75、4.27和4.41 log₁₀ copy/mL(表1-2)。

2.2 患者治疗后ALT复常率、HBV DNA检测水平、e抗原阳性患者血清转换率比较 治疗96 wk时, C组患者ALT复常率、HBV DNA达到检测水平以下(<500 copy/mL)的百分率与A组患者比较, 差异有统计学意义($\chi^2 = 7.500$, 6.648, 均 $P < 0.05$), 4组e抗原阳性患者血清转换率比较, 差异均无统计学意义(表3)。

2.3 患者病毒学反弹发生率和基因型耐药率 4组患者治疗96 wk时, 病毒学反弹发生率和基因型耐药率均分别为16.7%(5/30)、13.3%(4/30)、0.0%和13.3%(4/30)。A组rtN236T变异3例和rtA181V+rtN236T变异2例, B组rtN236T变异和rtA181V+rtN236T变异各2例, D组rtV173L+rtL180M+rtM204V+rtM250V变异和rtL180M+rtM204V+rtM250V+ rtA184G变异各2例。

2.4 不良反应发生情况 A组1例患者出现重型肝炎, 其余组未见严重不良事件发生; A、B、C组患者在使用ADV治疗过程中, 监测肾功能和血磷均在正常范围内。

3 讨论

临床上经LAM治疗的慢性乙型肝炎患者出现YMDD变异的比例逐年增加, 发生YMDD变异后

不仅肝功能及HBV血清标志物出现反跳, 部分患者出现病情加重, 少数甚至发生肝功能失代偿或死亡, 因此急需探索有效的处理对策. 有资料表明, ADV和ETV对LAM治疗后出现的YMDD变异株有较好疗效^[3-6], 但对于LAM治疗出现YMDD变异耐药患者, 是在维持LAM治疗同时增加ADV, 还是ADV取代LAM治疗存在争议^[7]. 近期国外一些随机对照试验资料表明, 当出现临床LAM耐药时, 应增加ADV治疗, 以避免其发生肝炎病情反跳和降低发生肝失代偿的危险性, 但有中等证据表明^[8-9], ADV与LAM联合治疗将导致不必要的复杂性, 并增加治疗费用, 不适用于临床稳定的患者; 而我国05年《慢性乙型肝炎防治指南》建议YMDD变异患者加用其他已批准的能治疗耐药变异的核苷(酸)类似物并重叠1-3 mo或根据HBV DNA检测阴性后撤换拉米夫定^[10]. 本课题前期研究已报道慢性乙型肝炎患者出现乙型肝炎病毒YMDD变异后单用ADV治疗存在肝炎病情反跳及发生肝失代偿的危险性; 采用LAM与ADV 12 wk短期联用或长期联合、ETV(1 mg)治疗YMDD变异的慢性乙型肝炎患者, 可以减少ALT水平和HBV DNA水平进一步反弹, 从而避免肝脏炎症的波动和病情的反跳; 治疗48 wk的结果显示, LAM与ADV联合治疗、ETV(1 mg)治疗YMDD变异的慢性乙型肝炎患者安全有效^[1]. 治疗96 wk结果显示, LAM与ADV联合治疗组患者ALT复常率、HBV DNA达到检测水平以下的百分率与单用ADV组患者比较, 差异有统计学意义; 单用ADV治疗基因型耐药率高达16.7%(5/30), 因此, 我们认为经LAM治疗出现YMDD变异患者采用LAM与ADV联合治疗优于换用ADV单药治疗.

48、96 wk的结果均显示C组、D组间ALT复常率、HBV DNA达到检测水平以下(即<500 copy/mL)的百分率、e抗原阳性患者的转换率比较均无统计学意义, 而且治疗96 wk的结果显示ETV治疗组的基因耐药率达13.3%(4/30), LAM与ADV联合治疗组未见基因耐药病例. 另外, 两者的成本-效果分析报道提示LAM与ADV联合治疗优于ETV方案^[11], 因此, 我们认为采用ADV与LAM联合治疗是YMDD变异患者的较佳选择. LAM抗乙型肝炎病毒治疗出现YMDD变异耐药后加用ADV, 在2008年APASL发布的新版慢性乙型肝炎指南、2009年我国的乙型肝炎病毒耐药专家共识、2009年EASL新版乙肝防治指南及均已达成共识^[12-14], 本研究结果也得到了验证. 有资料显示, 慢性乙型

肝炎患者长期口服ADV可出现肾功能损害^[15]. 本研究组90例口服ADV治疗96 wk过程中, 未出现肾功能损害、血磷升高及相关不良事件发生.

4 参考文献

- 1 邱源旺, 蒋祥虎, 黄利华, 胡泰洪, 丁虹, 蒋跃明, 戴亚新, 周敏. 乙型肝炎病毒YMDD变异的治疗对策. 中华肝脏病杂志 2009; 17: 171-174
- 2 中华医学会传染病与寄生虫学分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329
- 3 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
- 4 Sherman M, Yurdaydin C, Sollano J, Silva M, Liaw YF, Cianciara J, Boron-Kaczmarek A, Martin P, Goodman Z, Colonno R, Cross A, Denisky G, Kreter B, Hindes R. Entecavir for treatment of lamivudine-refractory, HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2006; 130: 2039-2049
- 5 王宇明, 陈耀凯, 张大志, 雷秉钧, 陆志檬, 尹有宽, 俞云松. 阿德福韦酯治疗拉米夫定耐药慢性乙型肝炎的临床研究. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 803-805
- 6 王志毅, 张大志, 石小枫, 周智, 任红. 恩替卡韦治疗拉米夫定失效的慢性乙型肝炎患者3年临床研究. 中华肝脏病杂志 2007; 15: 13-15
- 7 Perrillo RP, Gish RG, Peters M, Keeffe EB, Alberti A, Buti M, Cooksley WG, Fried MW, Hadziyannis SJ, Liaw YF, Naoumov NV, Schiff ER, Thio CL, Tsai N, Schalm S. Chronic hepatitis B: a critical appraisal of current approaches to therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 233-248
- 8 Liaw YF, Lee CM, Chien RN, Yeh CT. Switching to adefovir monotherapy after emergence of lamivudine-resistant mutations in patients with liver cirrhosis. *J Viral Hepat* 2006; 13: 250-255
- 9 Kim KM, Choi WB, Lim YS, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Suh DJ. Adefovir dipivoxil alone or in combination with ongoing lamivudine in patients with decompensated liver disease and lamivudine-resistant hepatitis B virus. *J Korean Med Sci* 2005; 20: 821-828
- 10 中华医学会肝病学分会、中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2005; 13: 881-891
- 11 邱源旺, 蒋祥虎, 黄利华, 胡泰洪, 丁虹. 3种方案治疗慢性乙型肝炎YMDD变异的成本-效果分析. 中国药房 2009; 20: 324-326
- 12 Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283
- 13 杨松, 温少芳, 闫杰. 乙型肝炎病毒耐药专家共识: 2009年更新. 中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2009; 3: 72-79
- 14 European Association For The Study Of The Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: management of chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2009; 50: 227-242
- 15 Izzedine H, Hulot JS, Launay-Vacher V, Marcellini P, Hadziyannis SJ, Currie G, Brosgart CL, Westland C, Arterbrun S, Deray G. Renal safety of adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B: two double-blind, randomized, placebo-controlled studies. *Kidney Int* 2004; 66: 1153-1158

同行评价
本研究设计合理,
结论具有很好的
临床应用价值.