

ADV初治耐药与LAM耐药者再耐药时HBV-RT区的变异特征

邵幼林, 张锁才, 柳龙根, 赵卫峰

邵幼林, 张锁才, 柳龙根, 常州市第三人民医院肝病科 江苏省常州市 213001

赵卫峰, 苏州大学附属第一医院感染科 江苏省苏州市 215006

邵幼林, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎临床与基础研究。

作者贡献分布: 课题设计和实施由柳龙根与邵幼林完成; 张锁才负责数据的管理及统计分析; 赵卫峰参与资料收集; 写作由邵幼林与柳龙根完成。

通讯作者: 柳龙根, 主任医师, 副教授, 213001, 江苏省常州市兰陵北路300号, 常州市第三人民医院肝病科. ssewllg@163.com
电话: 0519-83016002

收稿日期: 2012-04-09 修回日期: 2012-05-08

接受日期: 2012-06-01 在线出版日期: 2012-07-18

Analysis of mutations in the reverse transcriptase domain of HBV polymerase in adefovir-resistant HBV patients

You-Lin Shao, Suo-Cai Zhang, Long-Gen Liu, Wei-Feng Zhao

You-Lin Shao, Suo-Cai Zhang, Long-Gen Liu, Department of Hepatology, the Third People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213001, Jiangsu Province, China

Wei-Feng Zhao, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Long-Gen Liu, Chief Physician, Associate Professor, Department of Hepatology, the Third People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213001, Jiangsu Province, China. ssewllg@163.com

Received: 2012-04-09 Revised: 2012-05-08

Accepted: 2012-06-01 Published online: 2012-07-18

Abstract

AIM: To study the characteristics of the B domain of the HBV polymerase gene in adefovir-resistant HBV patients.

METHODS: One hundred and seven patients with chronic hepatitis B treated with adefovir (ADV) (including 73 ADV-naïve patients and 34 LAM-resistant patients) at our hospital were selected. The B-C regions of the RT and S genes were amplified by PCR using specific primers flanking these regions. The PCR products were directly analyzed by sequencing. The differences in nucleotide and amino acid sequences and mutation patterns of the RT region were classi-

fied using Chromas2.0 software. HBV genotypes were analyzed using Clustalx1.81.msw.

RESULTS: Of the 107 patients, 36 had rtA181V mutation, 43 had rtA181T, 47 had rtN236T, 20 had rtM204I/V ± rtL180M, and 12 had other ADV-related mutations. In ADV-naïve patients, 27 (36.99%) had rtA181V/T, 14 (19.18%) had rtN236T, 28 (38.36%) had rtA181V/T + rtN236T, and 4 (5.48%) had other mutations. In LAM-resistant patients, 21 (61.76%) had rtA181V/T, 2 (5.88%) had rtN236T, 3 (8.82%) had rtA181V/T + rtN236T, and 8 (23.53%) had other mutations. rtA181T/V and rtN236T mutations were not detected in 12 patients, but they had rtA181S/C (2 cases), rtV214I/A (3 cases), rtQ215H (1 case), or rtH/N238S/T/R/A/K (6 cases), which are ADV resistance-related mutations.

CONCLUSION: The major ADV resistance-related mutations are rtA181T/V and rtN236T in ADV-naïve patients, and rtA181V/T in LAM-resistant patients.

Key Words: Chronic hepatitis B; Hepatitis B virus; Adefovir; Resistance mutation

Shao YL, Zhang SC, Liu LG, Zhao WF. Analysis of mutations in the reverse transcriptase domain of HBV polymerase in adefovir-resistant HBV patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(20): 1879-1883

摘要

目的: 研究阿德福韦酯(adeфовir, ADV)初治耐药和ADV用于挽救治疗拉米夫定(lamivudine, LAM)耐药者再耐药时HBV毒株RT区变异特征的差异性。

方法: 我院就诊的ADV初治耐药者73例, ADV用于挽救治疗LAM耐药者后再耐药者34例, 共计107例, 在HBV DNA突破时采用PCR方法扩增HBV-RT区基因, 对PCR产物直接测序, 用Chromas2.0软件分析HBV-RT区基因的核苷酸和氨基酸差异、变异模式, 同时使用Clustalx1.81.msw进行基因型分析。

■背景资料

随着抗病毒时间延长, 耐药成为核苷类似物治疗慢性乙型肝炎(CHB)的主要问题, 导致临床耐药的基因变异形式多种多样, 如何根据耐药模式选择合理的挽救治疗成为关注的热点。

■同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科

■相关报道

Lee等研究显示存在rtL180M变异的LAM耐药患者ADV治疗2年耐药率为37%,而无rtL180M变异患者为3%;存在rtL80V/I变异的YMDD变异患者对ADV治疗反应更差,提示抗病毒治疗疗效与耐药模式存在直接的关系。

结果: 在107例患者中,存在rtA181V变异36例,rtA181T变异43例,rtN236T变异47例,rtM204I/V±rtL180M变异20例,其他相关变异如rtA181S/C、rtH/N238S/T/R/A/K、rtV214I/A、rtQ215H共12例。ADV初治组检测到rtA181V/T变异27例(36.99%)、rtN236T变异14例(19.18%)、rtA181V/T+rtN236T变异28例(38.36%),rtA181T/V和rtN236T以外的变异4例(5.48%)。其中发生rtA181V和rtA181T变异患者分别有33.3%、64.5%合并rtN236T变异($P=0.0091$);ADV挽救治疗LAM耐药者再耐药,检测到rtA181V/T变异21例(61.76%)、rtN236T变异2例(5.88%)、rtA181V/T+rtN236T变异3例(8.82%),rtA181T/V和rtN236T以外的变异8例(23.53%)。其中发生rtA181V患者25%合并rtN236T变异,而rtA181T变异患者未检测到rtN236T变异($P=0.2311$)。20例(58.83%)患者合并rtM204I/V变异,这20例患者中12例(35.29%)合并rtA181V/T和/或rtN236T变异的多重耐药变异。有12例未检测到rtA181T/V和rtN236T变异,但检查到rtA181S/C(2例)、rtV214I/A(3例)、rtQ215H(1例)、rtH/N238S/T/R/A/K(6例)等ADV耐药相关变异,其中ADV挽救治疗LAM耐药患者8例,ADV初治患者4例,两组间存在统计学差异($P=0.0169$)。

结论: ADV初治耐药主要发生rtA181V/T和rtN236T变异,ADV挽救治疗LAM耐药再耐药主要发生rtA181V/T变异,且后者耐药模式更复杂。

关键词: 慢性乙型肝炎; 乙型肝炎病毒; 阿德福韦酯; 耐药变异

邵幼林, 张锁才, 柳龙根, 赵卫峰. ADV初治耐药与LAM耐药者再耐药时HBV-RT区的变异特征. 世界华人消化杂志 2012; 20(20): 1879-1883
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/1879.asp>

0 引言

由于阿德福韦酯(adeфовир, ADV)对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的野生株^[1]和拉米夫定(lamivudine, LAM)耐药株^[2]均有抑制作用,因而被广泛用于慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者初始治疗和LAM耐药者挽救治疗。无论ADV初治或用于LAM耐药者的挽救治疗,随着治疗时间延长均会出现HBV对抗病毒药物的耐药变异,尤其是用于LAM耐药者挽救治疗时出现再耐药,HBV可能会发生多位点耐药变异,这将给后续抗病毒药物的选择带来困难。本

文通过直接测序分析,以了解ADV初治耐药和ADV用于挽救治疗LAM耐药者后再耐药时HBV毒株RT区变异特征的差异性。

1 材料和方法

1.1 材料 2006-04/2011-10在我院接受ADV治疗且发生耐药的CHB患者107例,所有患者符合中国慢性乙型肝炎指南诊断标准^[3]。ADV初治患者73例,男65例,女8例,平均43.74岁±10.37岁,其中基因C型和基因B型分别为56例和17例;ADV用于挽救治疗LAM耐药者34例,男31例,女3例,平均45.56岁±9.62岁,其中基因C型和基因B型分别为27例和7例;在ADV治疗过程中发生病毒学突破时留取血清标本,保存于-70℃待测。两组患者一般特征无统计学差异。

1.2 方法 HBV DNA抽提采用QIAGEN GmbH公司试剂盒,操作按说明书进行。在HBV P基因的保守区设计上游引物PS1: 5'CCTGCTGGTGGC TCCAGTTCAGGAACAG3'(nt56-83),下游引物PAS1: 5'AAGCCCCAACCAGTGGGGGTTGCG TCA3'(nt1188-1214)。引物由上海生物工程公司合成,反应体系和条件参考文献^[4]。

统计学处理 采用Chromas2.0软件分析HBV-RT区基因的核苷酸和氨基酸差异、变异类型,同时使用Clustalx1.81.msw进行基因型分析。采用SAS8.1统计软件分析,两样本均数比较采用 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验或Fisher exact检验。

2 结果

2.1 HBV-RT区变异检测 在107例患者中,存在rtA181V/T和/或rtN236T变异95例,rtM204I/V和/或rtL180M变异20例,其他变异如rtA181S/C、rtV214I/A、rtH/N238S/T/R/A/K、rtQ215H共12例,两组HBV-RT区变异类型详见表1。

ADV初治耐药HBV变异特征: ADV初治耐药模式有7种,含有rtA181V、rtA181T和rtN236T变异分别为24例、31例和42例,rtA181V和rtA181T变异者分别有8/24(33.33%)、20/31(64.53%)合并rtN236T变异,二者存在统计学差异($P=0.0091$);ADV挽救治疗LAM耐药者再耐药时HBV变异特征: ADV用于挽救治疗LAM耐药者再耐药时的耐药模式有12种,含有rtA181V、rtA181T和rtN236T变异分别为12例、12例和5例,rtA181V和rtA181T变异者分别有3/12(25%)、0/12合并rtN236T变异,两者间无统计学差异($P=0.2311$)。

■创新盘点

本研究从ADV开始治疗时机着手, 分析不同起始治疗时机导致ADV耐药模式的差异。

表 1 两组耐药患者RT区变异模式 $n(\%)$

	ADV初治组	LAM耐药组
rtA181V	16(21.92)	5(14.71)
rtA181T	11(15.07)	7(20.58)
rtN236T	14(19.18)	0(0)
rtA181V+rtN236T	8(10.96)	2(5.88)
rtA181T+rtN236T	20(27.39)	0(0)
rtA181V+rtN236T+rtM204V	0(0)	1(2.94)
rtA181V+rtM204I ± tL180M	0(0)	3(8.82)
rtA181V+rtM204V+tL180M	0(0)	1(2.94)
rtA181T+rtM204I ± tL180M	0(0)	5(14.71)
rtN236T+rtM204I	0(0)	2(5.88)
rtA181S/C+rtM204I/V ± tL180M	0(0)	2(5.88)
rtV214I/A+rtM204I	2(2.74)	1(2.94)
rtQ215H+rtM204V+tL180M	0(0)	1(2.94)
rtH/N238S/T/R/A/K+rtM204I/V ± tL180M	2(2.74)	4(11.76)

表 2 两组患者ADV耐药变异

	ADV初治组 $n(\%)$	LAM耐药组 $n(\%)$	P 值
rtA181T/V	27(36.99%)	21(61.76%)	
rtN236T	14(19.18%)	2(5.88%)	
rtA181T/V+rtN236T	28(38.36%)	3(8.82%)	¹ 0.0026
无rtA181T/V和rtN236T的其他变异	4(5.48%)	8(23.53%)	² 0.0004

¹ $P < 0.01$ vs rtA181TN, rtN236T; ² $P < 0.01$ vs rtA181TN, rtN236T, rtA181TN+rtN236T.

2.2 ADV初治耐药和ADV用于挽救治疗LAM耐药者后再耐药时ADV耐药变异的差异 对两组患者RT区变异模式采用双向无序 χ^2 检验, P 值为2.32E-09, 提示两组间RT区变异模式差别存在统计学差异. ADV初治组检测到rtA181V/T变异27例(36.99%)、rtN236T变异14例(19.18%)、rtA181V/T+rtN236T变异28例(38.36%)、rtA181T/V和rtN236T以外的变异4例(5.48%). ADV用于LAM耐药者挽救治疗再耐药, HBV耐药变异表现得较复杂, 检测到rtA181V/T变异21例(61.76%)、rtN236T变异2例(5.88%)、rtA181V/T+rtN236T变异3例(8.82%)、rtA181T/V和rtN236T以外的变异8例(23.53%). 20例(58.83%)患者合并rtM204I/V变异, 其中12例(35.29%)合并rtA181V/T和/或rtN236T变异的多重耐药变异, 另外8例(23.53%)分别合并rtA181S/C、rtH/N238S/T/R/A/K、rtV214I/A、rtQ215H变异. 对存在rtA181V/T和/或rtN236T变异的95例患者耐药变异模式分析, 发现ADV挽救治疗LAM耐药再耐药患者更易出现rtA181T/V变异, 而ADV初治患者更多发生rtN236T±rtA181T/V

变异, $P = 0.0026$. 纳入无rtA181T/V和rtN236T的其他变异12例患者后, 得出同样的结论, 且提示LAM耐药后采用ADV挽救治疗再耐药后, HBV耐药模式变得更加复杂, $P = 0.0004$ (表2).

2.3 rtA181T/V和rtN236T以外的变异 此107患者中, 有12例未检测到rtA181T/V和rtN236T变异, 但检查到rtA181S/C(2例)、rtV214I/A(3例)、rtQ215H(1例)、rtH/N238S/T/R/A/K(6例)等ADV耐药相关变异, 其中ADV挽救治疗LAM耐药患者8例, ADV初治患者4例, 两组间存在统计学差异($P = 0.0169$), 提示LAM耐药患者除了诱导rtA181V/T变异外还诱导其他变异, 导致ADV临床耐药, 使病情更加复杂.

3 讨论

我国最近的数据显示ADV5年耐药率为14.6%^[5], 到目前为止, 大量的研究报道ADV耐药主要是rtN236T和rtA181V/T变异所致^[1,2]. 然而, 鲜见ADV挽救治疗LAM耐药后再耐药的报道^[6], 对于在此基础发生ADV耐药变异与ADV初治患者耐药变异之间的差异更未见报道. 为此, 我们对

■应用要点

本研究显示LAM耐药后经ADV挽救治疗再耐药患者耐药模式较ADV初治耐药患者更具有多样性和复杂性,为后续治疗增加了困难。因此,临床医师在初始治疗的时候应优选抗病毒药物。

73例ADV初治耐药和34例ADV用于挽救治疗LAM耐药者后再耐药患者HBV毒株RT区进行测序,分析二者的变异特征及他们之间的差异。

本研究也发现ADV初治患者耐药主要发生rtN236T和rtA181V/T变异,其中57.53%的患者存在rtN236T变异,75.34%的患者存在rtA181V/T变异,发生rtA181V和rtA181T变异分别为24例和31例,且rtA181T变异较rtA181V变异更易发生rtN236T变异($P = 0.0091$)。ADV挽救治疗LAM耐药后再耐药主要发生rtA181V/T变异,其中17.65%的患者存在rtN236T变异,70.59%的患者存在rtA181V/T变异,发生rtA181V和rtA181T变异各为12例,但二者在是否合并rtN236T变异上无统计学差异($P = 0.2311$)。这之间出现的差异是否由于LAM诱导的rtM204V/I等变异导致HBV RT区各催化中心的构象及范德华力变化引起有待进一步研究。

本研究发现ADV挽救治疗LAM耐药再耐药患者更易出现rtA181T/V变异,而ADV初治患者主要发生rtN236T±rtA181T/V变异($P = 0.0026$)。LAM耐药主要表现为rtM204V/I伴或不伴rtL180M变异,Yatsuji等^[7]研究显示部分LAM初治患者可发生LAM诱导的rtA181T/V变异,导致HBV对LAM敏感性降低6-10倍。尽管通过测序在LAM耐药患者血清中检测出rtA181变异并不多见,但通过更科学的方法可以在更多LAM耐药患者血清中检测到这些微量存在的变异准种^[8]。由于LAM耐药患者有可能已经存在rtA181V/T变异准种,在使用ADV挽救治疗过程中rtA181V/T变异株更早被选择出来成为优势株而发生临床耐药,本研究的20例rtM204I/V变异尚未消失的患者中11例合并rtA181V/T/C/S变异,只有1例合并rtN236T变异,1例合并这2个位点变异,从临床上证实了上述推测。本研究显示ADV挽救治疗LAM耐药再耐药时58.83%的患者仍然存在rtM204I/V变异,提示ADV挽救治疗LAM耐药难以使业已存在的rtM204I/V变异准种消失,临床表现为多重耐药患者,从而导致后续抗病毒药物更难选择。

Lee等^[9]研究显示rtL180M变异与ADV耐药密切相关,存在rtL180M变异的LAM耐药患者ADV治疗2年耐药率为37%,而无rtL180M变异患者为3%。他们另一篇报道显示存在rtL80V/I变异的YMDD变异患者对ADV治疗反应更差^[10]。上述2项研究进一步提示ADV用于LAM耐药患者挽救治疗,其疗效与LAM耐药模式存在直接

关系。这可能与rtL180M变异和rtL80V/I变异作为补偿变异导致HBV复制能力增强有关^[11]。且由于rtA181V/T变异导致HBV对LAM和ADV的敏感性均下降^[12],因此我们应该根据耐药模式选择抗病毒药物,对rtN236T变异患者可加用LAM,发生rtA181V/T变异的LAM或ADV治疗患者是否选择恩替卡韦(entecavir, ETV)联合ADV治疗将取得更好的临床疗效,避免耐药发生有待于进一步观察。最近两项研究显示ETV联合ADV较LAM联合ADV治疗LAM耐药^[13]和ETV耐药^[14]患者疗效更好,该2项研究一定程度上佐证了上述推断,但需要更深入研究。

RT区rtH/N238S/T/R/A/K、rtV214I/A、rtQ215H、rtP237H等变异将导致HBV聚合酶催化中心发生几何构象改变,导致对ADV亲和力下降而耐药^[15],但也存在相反的报道^[16]。本研究对我院在107例ADV耐药患者经过测序分析发现,存在rtA181V/T变异和rtN236T变异以外的其他ADV相关变异如rtA181S/C、rtH/N238S/T/R/A/K、rtV214I/A、rtQ215H共12例,其中ADV挽救治疗LAM耐药患者较ADV初治患者更容易出现这些变异。此外,我们还发现一些新的RT区氨基酸变异,包括rtV191I、rtH197Q、rtF/Y/L/H221、rtT222A、rtS223A/T、rtS256C等氨基酸替代,虽然未见这些变异导致核苷类似物耐药报道,但提示抗病毒治疗发生耐药后HBV生物学性状更加复杂,临床意义有待更深入研究。

4 参考文献

- 1 Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Sievert W, Tong M, Arterburn S, Borroto-Esoda K, Frederick D, Rousseau F. Long-term efficacy and safety of adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Hepatology* 2008; 48: 750-758
- 2 Yeon JE, Yoo W, Hong SP, Chang YJ, Yu SK, Kim JH, Seo YS, Chung HJ, Moon MS, Kim SO, Byun KS, Lee CH. Resistance to adefovir dipivoxil in lamivudine resistant chronic hepatitis B patients treated with adefovir dipivoxil. *Gut* 2006; 55: 1488-1495
- 3 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(2010年版). 临床肝胆病杂志 2011; 27: I-XVI
- 4 赵卫峰, 邵幼林, 陈良云, 朱义玲, 甘建和. 阿德福韦酯治疗慢性乙型肝炎的疗效和耐药率. 中华传染病杂志 2008; 26: 550-554
- 5 Minde Z, Yimin M, Guangbi Y, JinLin H, Hao W, Hong R, Yuming W, Xiaqiu Z, Daozhen X, Yagang C, Junqi N, Youming C, Yaozong W, Dixon J, Barker K. Five years of treatment with adefovir dipivoxil in Chinese patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Liver Int* 2012; 32: 137-146
- 6 邵幼林, 张锁才, 陈良云, 吴金华, 赵卫峰. LAM耐药后ADV序贯治疗再耐药HBV变异株的动态变化. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1895-1901
- 7 Yatsuji H, Noguchi C, Hiraga N, Mori N, Tsuge

- M, Imamura M, Takahashi S, Iwao E, Fujimoto Y, Ochi H, Abe H, Maekawa T, Tateno C, Yoshizato K, Suzuki F, Kumada H, Chayama K. Emergence of a novel lamivudine-resistant hepatitis B virus variant with a substitution outside the YMDD motif. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 3867-3874
- 8 Zhao WF, Shao YL, Chen LY, Wu JH, Zhu YL, Gan JH, Xiong H. Establishment of a new quantitative detection approach to adefovir-resistant HBV and its clinical application. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1267-1273
- 9 Lee YS, Chung YH, Kim JA, Jin YJ, Park WH, Kim SE, Lee D, Shim JH, Kim KM, Lim YS, Lee HC, Lee YS, Suh DJ. rtL180M mutation of hepatitis B virus is closely associated with frequent virological resistance to adefovir dipivoxil therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 300-305
- 10 Lee YS, Chung YH, Kim JA, Kim SE, Shin JW, Kim KM, Lim YS, Park NH, Lee HC, Lee YS, Suh DJ. Hepatitis B virus with the rtL80V/I mutation is associated with a poor response to adefovir dipivoxil therapy. *Liver Int* 2009; 29: 552-556
- 11 阎丽, 肖蕾, 魏君锋, 孙剑, 王战会, 侯金林. 乙型肝炎病毒Y(I/V)DD变异模式与基因型关系的分析. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 423-426
- 12 Inoue J, Ueno Y, Wakui Y, Niitsuma H, Fukushima K, Yamagiwa Y, Shiina M, Kondo Y, Kakazu E, Tamai K, Obara N, Iwasaki T, Shimosegawa T. Four-year study of lamivudine and adefovir combination therapy in lamivudine-resistant hepatitis B patients: influence of hepatitis B virus genotype and resistance mutation pattern. *J Viral Hepat* 2011; 18: 206-215
- 13 Lim YS, Lee JY, Lee D, Shim JH, Lee HC, Lee YS, Suh DJ. Randomized trial of entecavir plus adefovir in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B who show suboptimal response to lamivudine plus adefovir. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 2941-2947
- 14 Kim SS, Cheong JY, Lee D, Lee MH, Hong SP, Kim SO, Cho SW. Adefovir-based combination therapy with entecavir or lamivudine for patients with entecavir-refractory chronic hepatitis B. *J Med Virol* 2012; 84: 18-25
- 15 Shaw T, Bartholomeusz A, Locarnini S. HBV drug resistance: mechanisms, detection and interpretation. *J Hepatol* 2006; 44: 593-606
- 16 Borroto-Esoda K, Miller MD, Arterburn S. Pooled analysis of amino acid changes in the HBV polymerase in patients from four major adefovir dipivoxil clinical trials. *J Hepatol* 2007; 47: 492-498

■同行评价

本研究的内容较新, 研究结果对临床用药有指导意义。

编辑 张姗姗 电编 闫晋利

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选《中国学术期刊评价研究报告—RCCSE 权威、核心期刊排行榜与指南》

本刊讯 《中国学术期刊评价研究报告-RCCSE权威、核心期刊排行榜与指南》由中国科学评价研究中心、武汉大学图书馆和信息管理学院联合研发, 采用定量评价和定性分析相结合的方法, 对我国万种期刊大致浏览、反复比较和分析研究, 得出了65个学术期刊排行榜, 其中《世界华人消化杂志》位居396种临床医学类期刊第45位。(编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)