文章编号:1000-5404(2005)02-0167-03

论著

慢性乙型肝炎患者 HBV DNA YMDD 变异的检测及意义

李 玲,毛 青,黄燕萍,王宇明 (第三军医大学西南医院全军传染病研究所,重庆 400038)

提 要: 目的 了解慢性乙型肝炎患者 HBV DNA YMDD 变异的存在情况及意义。**方法** 检测 90 例慢性乙型肝炎患者 HBV DNA YMDD 变异,对发生 HBV DNA YMDD 变异的 20 例患者的肝功能、HBeAg、HBV DNA 及 HBV DNA YMDD 变异情况进行分析。**结果** 90 例慢性乙型肝炎患者中检出 HBV DNA YMDD 变异共 20 例(阳性率 12.00%),已服用拉米夫定者 36 例,检出 YMDD 变异 9 例(25.00%),未服用拉米夫定患者 54 例,检出 YMDD 变异 11 例(阳性率 20.37%)。在 20 例 YMDD 变异患者中有 5 例 HBeAg 阴性;20 例 YMDD 变异患者 HBV DNA 在 3.021×10^5 ~ 2.369×10^8 ($5.41\times10^7\pm7.75\times10^7$) copies/ml,ALT 34 ~ 1 216(288.20 ± 338.07)IU/L,TB 8.9 ~ 326.7 (48.74 ± 72. 20) μmol/L。**结论** YMDD 变异株可在拉米夫定治疗过程中出现,也可天然存在,YMDD 变异可与前 C 基因变异同时存在,提示 HBV 的变异常常是多位点的;YMDD 变异株 HBV 复制处于中 ~ 高度水平;YMDD 变异株的致病性轻重不等,肝功能可为正常,也可是轻度 ~ 高度等不同程度异常。

关键词: 慢性乙型肝炎;YMDD 变异;拉米夫定

中图法分类号: R373.21; R394-33; R512.63 **文献标识码**: A

Detection of HBV DNA YMDD mutation in patients with chronic hepatitis B and the significance

LI Ling, MAO Qing, HUANG Yan-ping, WANG Yu-min (Department of Infectious Diseases, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongiqng 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the existence of HBV DNA YMDD mutation in patients with chronic hepatitis B and the related significance. **Methods** HBV DNA YMDD mutation was detected in 90 patients with hepatitis B. The liver function, HbeAg, HBVDNA, and HBV DNA YMDD mutation in patients with HBV DNA YMDD mutation were analyzed. **Results** HBV DNA YMDD mutation was found in 20 out of 90 patients with hepatitis B (positive rate 12.00%). HBV DNA YMDD mutation was found in 9 out of 36 patients receiving lamivuding therapy (positive rate 25.00%), but HBV DNA YMDD mutation was found in 11 out of 54 patients without lamivuding therapy (positive rate 20.37%). In the 20 patients with HBV DNA YMDD mutation, 5 patients were negative in HBeAg. HBV DNA, ALT, and Tb of the 20 patients with HBV DNA YMDD mutation were $3.0221\times10^5-2.369\times10^8$ ($5.41\pm7.75\times10^7$) copies/ml, 34 – 1 216 (288.20 ± 338.07) IU/L, and 8.9 – 326.7 (48.74 ± 72.20) μmol/L, respectively. **Conclusion** HBV DNA YMDD mutation may occur during the process of lamivuding therapy or may exist naturally. YMDD mutation may co-exist with pre-C gene mutation, suggesting that mutation often occurs in many sites in HBV genes. The reproduction level of HBV DNA ranges from the middle to the high levels. The pathogenicity of YMDD mutation species is various. The liver function may be normal and may also be abnormal in various degrees in these patients with HBV DNA YMDD mutation.

Key words: chronic hepatitis B; YMDD; mutation; lamivudine

拉米夫定是一重要的抗 HBV 药物,它具有起效快、副作用小、服用方便等优点,但随着拉米夫定的广泛应用,逐步发现它同时存在可产生 HBV DNA YMDD 变异的情况。目前对慢性乙型肝炎患者发生 HBV DNA YMDD 变异的状况及意义尚不甚清楚。为了解慢性乙型肝炎患者 YMDD 变异的存在状况及意义,我们对 90 例慢性乙型肝炎患者进行了 HBV DNA YMDD 变异的检测,并对所检出的 20 例 HBV DNA YMDD 变异

作者简介:李 玲(1963 –),女,重庆市人,博士,副主任医师,主要从事乙型肝炎发病机制的研究,发表论文 15 篇。电话:(023)68754000-73068

收稿日期:2004-01-06;修回日期:2004-03-23

患者情况作一初步分析。

1 材料和方法

1.1 一般资料

慢性乙型肝炎患者90例来自2001-2003年本院传染科患者，均符合2000年第3次全国病毒性肝炎会议诊断标准文献。男62例，女28例，年龄17~57岁。

1.2 方法

90例慢性乙型肝炎患者进行了肝功能、HBV DNA、HBeAg和HBV DNA YMDD变异的检测。

1.3 试剂

肝功能检测：ALT(正常范围：0~42 IU/L)、TB(正常范围：5.1~21 μmol/L)，四川迈克公司试剂盒；HBeAg：酶联免疫法，上海科华实业有限公司试剂盒；HBV DNA定量检测：HBV核酸扩增PCR荧光检测法，深圳市匹基生物工程股份有限公司试剂盒；HBV DNA YMDD检测：乙型肝炎病毒YMDD突变型核酸扩增荧光检测法，深圳市匹基生物工程股份有限公司试剂盒。

1.4 统计学方法

计数资料采用百分率表示，计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组之间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 90例慢性乙型肝炎患者YMDD变异检出情况

共检测慢性乙型肝炎患者90例，检出YMDD变异20例，阳性率为12.00%。其中已服用拉米夫定者36例，检出9例，阳性率为25.00%，未服用拉米夫定者54例，检出11例，阳性率为20.37%。

2.2 20例YMDD变异的慢性乙型肝炎患者肝功能、病毒复制及YMDD变异情况

20例YMDD变异慢性乙型肝炎患者HBV DNA水平在3.021×10^5~2.369×10^8 copies/ml，平均为$(5.41\pm7.75)\times10^7$ copies /ml。20例患者中HBV DNA$\leqslant1\times10^6$ copies/ml 1例；1×10^6~1×10^7 copies/ml 11例；$>1\times10^7$ copies /ml 8例。20例YMDD变异患者中肝功能正常2例，肝功能异常18例(89.47%)，ALT水平在34~1 216(288.20±338.07)IU/L、ALT>10 ULN(ULN：正常值上线)4例；5~10 ULN 4例；2~5 ULN 5例；正常<ALT$\leqslant$2 ULN 4例；正常3例。TB水平8.9~326.7 (48.74±72.20) μmol/L，TB>10 ULN 1例；5~10 ULN 1例；2~5 ULN 6例；正常9例。YMDD变异在拉米夫定治疗7~21个月出现，平均(12.44±5.41)个月。在20例YMDD变异患者中，有5例患者HBV DNA阳性，HBeAg阴性，即存在前C基因变异，且这5例患者中有4例未经抗病毒治疗。在20例YMDD变异中YIDD变异为8例(40.00%)，YVDD变异为8例(40.00%)，混合变异4例(20.00%)。

20例YMDD变异患者中，9例发生在拉米夫定治疗过程中，11例出现在未经拉米夫定治疗的患者。已服用拉米夫定(9例)与未治疗(11例)两组在肝功能(ALT、TB)及HBV DNA水平比较无统计学差异($P>0.05$)。

3 讨论

抗病毒治疗是乙型肝炎的一个主要治疗原则，拉米夫定(贺普丁)是近年新上市的一种抗乙肝病毒新药，作为一重要的抗HBV药物在我国临床应用已4年，其临床应用的经验正在逐步积累。拉米夫定的化学本质是核苷类似物，通过抑制乙型肝炎病毒逆转录酶的活性来抑制HBV的复制。YMDD是酪氨酸-蛋氨酸-天门冬氨酸-天门冬氨酸这4个氨基酸的缩写，该4个氨基酸位于乙肝病毒DNA聚合酶上，是拉米夫定的主要作用位点。如果该位点发生突变，就称为YMDD变异。最常见的变异是M(蛋氨酸)被V(缬氨酸)或I(异亮氨酸)取代，分别称为YVDD或YIDD变异。一旦发生了YMDD变异，拉米夫定对HBV DNA的抑制作用明显下降，病毒就会重新出现复制。部分资料表明[1~7]，长期(一般在6个月以上)应用拉米夫定治疗后，HBV DNA多聚酶基因区可出现YMDD变异，治疗1年后YMDD变异率为14%~32%，变异的病毒(变异株)与未发生YMDD变异的病毒(野生株)相比较，变异株的病毒复制活性较低，毒力较弱，HBV DNA滴度一般低于治疗前。但也有个别YMDD变异后病毒复制水平较高，毒力较强致使病情加重的报道[8,9]。另外大部分YMDD变异出现在拉米夫定治疗过程中，但也有未经拉米夫定治疗YMDD变异天然存在的报道[10]，目前关于拉米夫定应用后发生HBV DNA YMDD变异的存在情况、意义及出现这种变异后应当如何处理，存在争议，尚无定论。发生HBV DNA YMDD变异导致对该药的耐受及病情反复是当前拉米夫定临床应用面临的一大难题[1~9]。弄清慢性乙型肝炎患者YMDD变异的存在状况及发生变异时其肝功能、病毒复制水平有利于解决这一难题。

本研究检测慢性乙型肝炎患者90例，共检出YMDD变异20例，阳性率为12.00%，其中已服用拉米夫定者36例，检出9例，阳性率为25.00%。9例YMDD变异在贺普丁治疗7~21个月出现，平均(12.44±5.41)个月。在20例YMDD变异患者中，有5例患者HBeAg阴性，且这5例患者中有4例皆未经抗病毒治疗。表明YMDD变异可与前C基因变异同时存在，提示HBV的变异常常是多位点的。这20例患者HBV DNA水平在3.021×10^5~2.369×10^8[$(5.70\pm8.13)\times10^7$] copies/ml，显示YMDD变异株HBV复制是处于中~高度水平，与有关报道变异后复制水平较低不同[2,6,7]。在20例YMDD变异中YIDD变异为8例

(40.00%)，YVDD 变异为 8 例(40.00%)，混合变异 4 例(20.00%)。20 例 YMDD 变异患者肝功能正常 2 例，肝功能异常 18 例(89.47%)，ALT 水平在 34～1 216 (288.20±338.07) IU/L，TB 水平 8.9～326.7 (48.74±72.20) μmol/L。显示 YMDD 变异株的致病性轻重不等，ALT、TB 可为正常，也可是轻～高度等不同程度增高。其中未服用拉米夫定者 54 例，YMDD 变异检出 11 例，阳性率为 20.37%，YMDD 变异未用拉米夫定时即存在，而且为数不少，提示 HBV DNA YMDD 变异可天然存在，可能是一种自发性的病毒基因组变异，拉米夫定治疗后选择出了这种变异株。由于 YMDD 变异可天然存在，我们提倡在临床应用拉米夫定之前应先查 YMDD 变异，这样可避免对已存在 YMDD 变异的患者盲目应用拉米夫定。有关 HBV DNA YMDD 变异的状况及其意义值得进一步深入研究。

参考文献：

[1] Lai C L, Liaw Y F, Leung N W, *et al*. Genoyypic resustance to lamivudine in a prospective, placebo-controlled multicentre study in Asia of lamivudine therapy for chronic hepatitis B infection: incidence, kinetics of emergence, and correlation with disease parameters[J]. Hepatology, 1997, 26 (4): 259.

[2] Chayama K, Suzuki Y, Kobayashi M, *et al*. Emergence and takeover of YMDD motif mutant hepatitis B virus during longterm lamivudine therapy and re-takeover by wild type after cessation of therapy[J]. Hepatology, 1998, 27(6): 1711－1716.

[3] 姚光弼，杨敏燕，计焱焱，等．拉米夫定治疗乙型肝炎时其病毒发生 YMDD 变异的临床影响及处理[J]．肝脏，1999，4(4)：194－196.

[4] Papatheodoridis G V, Dimou E, Laras A, *et al*. Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV liver disease[J]. Hepatology, 2002, 36(1): 219－226.

[5] Lim S G, Wai C T, Rajnakova A, *et al*. Fatal hepatitis B reactivation following discontinuation of nucleoside analogues for chronic hepatitis B[J]. Gut, 2002, 51(4): 597－599.

[6] 朱　枚，姚光弼，钱又宏．慢性乙型肝炎患者出现 YMDD 变异后继续长期应用拉米夫定的疗效[J]．肝脏，2002，7(2)：82－83，86.

[7] Liaw Y F. Management of YMDD mutations during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B[J]. J Gastroenterol Hepatol 2002, 17 Suppl 3: S333－S337.

[8] Yuen M F, Kato T, Mizokami M, *et al*. Clinical outcome and virologic profiles of severe hepatitis B exacerbation due to YMDD mutations[J]. J Hepatol, 2003, 39(5): 850－855.

[9] Liaw Y F, Chien R N, Yeh C T, *et al*. Acute exacerbation and hepatitis B virus clearance after emergence of YMDD motif mutation during lamivudine therapy[J]. Hepatology, 1999, 30(2): 567－572.

[10] Yang D H, Liang W F, Zhao N F, *et al*. Natural infection of HBV DNA YMDD variant strains in a chronic hepatitis B patient before treatment with lamivudine[J]. Hepatobiliary Pancreat Dis Int, 2002, 1(4): 539－540.

（编辑　陈聪连）

（上接 166 页）

3　讨论

快速进入高原大群由于缺少高原习服过程，当突然暴露于高原缺氧环境后，机体在低氧刺激下，出现肺动脉高压，血氧饱和度下降，钠水潴留以及机体的免疫能力下降等一系列的改变，最终引起细胞代谢及功能障碍，从而导致 AHAD 的发生，这严重影响着快速进入高原大群的生存能力及部队的战斗力。所以，大批人员快速进入高原 AHAD 的预防就显的尤为重要。在过去 AHAD 的预防方面虽已取得了一些进展[1]，但真正行之有效的大部队急进高原 AHAD 的预防方法目前仍在探索之中。我院研制的原康胶囊其主要成分有氨茶碱，地塞米松磷酸钠及地西泮等，其中茶碱的主要药理作用是松弛平滑肌，兴奋心肌，兴奋中枢，能通过增加心输出量而增加肾血流量，有利于利尿，防止钠、水潴留；地西泮则镇静安神，降低缺氧引起的中枢神经系统的兴奋性，降低机体的基础代谢，减少耗氧量；地塞米松能增强机体抵抗力，促使糖原异生，保证细胞的能量供应。另外，动物实验还证实高原康胶囊具有明显升高快速进入高原大鼠动脉血氧饱和度(SaO_2)的作用[2]。高原康胶囊的以上作用，能减轻机体因缺氧而造成的组织细胞损害，减轻缺氧引起的细胞代谢及功能障碍，从而达到预防或减少快速进入高原者发生 AHAD 的目的。

试验组 7 d 内的 AHAD 发病率显著低于对照组($P<0.01$)，两组中 AHAD 患者的临床症状相比较实验组显著轻于对照组($P<0.05$)。这说明高原康胶囊不仅对大部队的急进高原 AHAD 的发生有着积极的预防作用，同时，对于 AHAD 患者病情也有着积极的治疗作用，能显著提高急进高原部队的高原适应能力，生存能力和战斗力。所以，我们认为高原康胶囊可用于大部队急进高原 AHAD 的预防。

关键词：高原康胶囊；急性高原病；预防

中图法分类号：R594.301　　文献标识码：B

参考文献：

[1] Hacket P H, Oelz O. Lake Louise consensus on definition and quantification of altitude illness. Vl. In: Sutton J R, Coates G, Huston C S, *et al*, ed. Hypoxia and mountain medicine. M]. Burlington Vermont: Queen City Printers, 1992. 327－330.

[2] 周其全，杨景文，谢新民，等．高海拔区暴露下脑微循环障碍与急性高原脑水肿[J]．中国微循环，2001，5(2)：159－163.

[3] 张西洲，杨海军，哈振德，等．6 种药物对部队进入海拔 5 200 m 急性高原反应预防效果的对比观察[J]．西北国防医学杂志，2003，24(5)：341－343.

[4] 何艳梅．高原康胶囊对急进高原大鼠血气及酸碱平衡的影响[J]．西南国防医药，2002，12(4)：306－308.

（编辑　张　宁）