

HBV 感染及耐药性的研究

【作者】 王宇萍 赵立勋

中国医学科学院医药生物技术研究所 (北京 100050)

【摘要】 HBV 感染已成为全球严重的公共卫生问题,严重危害着人类的健康,每年约有 60 万人死于与 HBV 感染相关的疾病。HBV 感染的预防、乙型肝炎的治疗、治疗方案的选择和耐药性问题是人们普遍关心的问题。

【关键词】 HBV 感染; 耐药性; 联合用药; 核苷(酸)类药物; 免疫调节药物

【文章编号】 1672-3384(2011)-02-0041-05

【中图分类号】 R512.62

【文献标识码】 A

1 HBV 感染的流行趋势

慢性乙型病毒性肝炎(chronic viral hepatitis B, CHB)以下简称乙肝,是一种常见的由乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染引起的传染性疾病,是引起肝细胞肝癌、肝硬化等肝脏疾病的主要因素^[1-2]。HBV 感染已成为全球严重的公共卫生问题,严重危害着人类的健康。全球约有 20 亿 HBV 感染者,其中约有 4 亿将发展为乙肝,全球每年约有 60 万人死于与 HBV 感染相关的疾病^[3-4]。

中国是 HBV 感染的高流行区,HBV 携带者约占中国总人口的 10%,约有 1.3 亿人口为 HBV 携带者,每年约 13 万人死于 HBV 相关肝脏疾病如肝硬化、肝癌等,占全球 HBV 相关肝病死亡人数的 40%~50%。尽管婴幼儿注射乙肝疫苗免疫计划已普遍推广执行,但是 HBV 感染率仍旧呈增长趋势^[5-6]。而目前,我国尚缺乏有效根治乙肝的药物,并且伴随着长期用药,病毒不断变异,临床耐药问题日益严重,HBV 变异导致耐药成为肝炎治疗所面临的棘手问题。

2 HBV 的预防

1981 年,乙肝疫苗首先在美国获得批准,随着各国在这方面的研制和开发,迅速在世界范围内得到推广和应用。实践证明,疫苗接种可以使 >95% 的受试者免受 HBV 感染的困扰。随着乙肝疫苗的普及应用,HBV 的感染以及 HBV 感染所引起的肝

脏并发症发生率明显降低^[7],新生儿免疫接种使母婴传播导致的 HBV 感染比例明显下降。乙肝疫苗是预防 HBV 感染的最有效方法,但对于部分人群及已经感染 HBV 的患者则无能为力。

在免疫预防方面,能够使用的另外一种制剂是高浓度人类乙肝免疫球蛋白(HBIG),HBIG 的制备过程与普通的免疫球蛋白类似,从含有高滴度抗原抗体的血浆中提取。但是,由于 HBIG 价格昂贵,作用时间短,用药时机不易掌握,因此不宜作为未接触 HBV 者的预防用药,亦不宜在发展中国家推广。

3 HBV 感染的治疗

3.1 HBV 感染治疗的目标及难点

乙肝治疗主要包括抗病毒、免疫调节、抗炎保肝、抗纤维化和对症治疗等,其中抗病毒是主要的治疗手段。治疗的总体目标是:最大限度地长期抑制或消除患者血液中的 HBV DNA,减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化,进而延缓或阻止肝脏失代偿、肝硬化、肝癌等并发症的发生,从而改善生活质量和延长生存时间。在治疗过程中最主要的是能够有效预防及应对病毒变异而诱发的耐药问题。

HBV 复制具有特殊性,即 HBV 感染细胞后,首先要合成共价闭合环状 DNA(cccDNA),然后以此为模板进行复制。而目前所应用的抗乙肝药物都无法清除病毒 cccDNA,因此一旦停药,病毒复制

就重新开始,导致病毒无法根除;另外,HBV 逆转录过程中逆转录酶缺乏校正功能,导致 HBV 具有高变异性,变异可能导致 HBV 出现免疫逃逸,致病性发生改变以及对药物产生耐药性,从而给临床诊断和治疗造成困难。

因此,对于乙肝的治疗,不仅要最大限度地控制 HBV DNA 的复制,而且还要采取合理的治疗方案,降低耐药株的出现以及针对变异耐药株采取合理的治疗措施。

3.2 抗 HBV 药物

目前,对于急性期乙型肝炎的治疗主要是对症治疗;用于治疗慢性乙型肝炎(患者血清中 HBsAg 持续存在 >6 个月)的药物分为 2 类:免疫调节药和核苷(酸)类抗病毒制剂。

3.2.1 干扰素 α 干扰素(IFN- α)是被美国食品药品监督管理局(FDA)最早批准的用于治疗乙肝的药物,迄今在临床上已经使用了 20 多年,已用于大量患者的治疗,具有免疫调节和抗病毒的双重作用,但其只对 30%~40% 的患者有效,且只能皮下注射给药,并且不良反应很多。大剂量应用于干扰素能引起发热、疲劳、白细胞和血小板计数减少等不良反应,长期应用还可造成皮肤的不良反应,如瘙痒、脱发、银屑病等^[8],这些问题限制了它的临床应用。目前,干扰素已经从普通干扰素发展到聚乙二醇干扰素(又称 PEG 干扰素),在中国上市的有聚乙二醇干扰素 α -2b 和聚乙二醇干扰素 α -2a 两种。聚乙二醇干扰素又称长效干扰素,由于半衰期延长,1w 只须给药 1 次,克服了普通干扰素隔天注射 1 次的缺点,大大方便了患者,在疗效及不良反应方面也优于普通干扰素。

3.2.2 核苷(酸)类药物 核苷(酸)类药物已成为继 IFN- α 之后的又一类用于抗 HBV 的药物。自 1998 年拉米夫定(lamivudine, LAM, 3TC)在全球上市以来,迄今已有拉米夫定、阿德福韦酯(adeфовir dipivoxil, ADV)、恩替卡韦(entecavir, ETV)和替比夫定(telbivudine, LdT)共 4 种核苷(酸)类药物获我国食品药品监督管理局批准用于抗 HBV 治疗。另外,替诺福韦酯(tenofovир disoproxil fumarate,

TDF)已在欧美被批准;克里夫定(clevudine, L2FMAU)已在韩国被批准;特鲁瓦达(truvada, 替诺福韦酯与恩曲他滨复合剂)已被批准用于抗 HIV 治疗。

相对于干扰素,口服核苷(酸)类药物治疗具有方便有效的优点,且抑制病毒较快,不良反应少,应用范围较广。但该类药物只有长期应用治疗才有望实现持久应答,这使得 HBV 产生耐药性的风险大大增加。

目前临床上治疗乙肝的一线药物仍为核苷(酸)类药物,这些药物通过竞争性地抑制 HBV DNA 聚合酶而发挥抗病毒作用,疗效已经得到肯定,其能很快降低 HBV DNA 水平^[9],在体内外能有效抑制 HBV 复制,促进患者 HBeAg/抗 HBe 血清转换,改善肝组织学病变和肝功能,其安全性和耐受性较好^[10-11]。由于其不能根除病毒感染细胞核内的 cccDNA,停药后易反跳,因此须长期用药,疗程一般 >1 年,但伴随药物长期应用,作用靶位处 YMDD 突变出现的频率逐渐增多,耐药性问题越来越严重^[12-13]。

尽管不同的核苷(酸)类药物对 HBV 复制的抑制能力不同,但均不能清除病毒,任何一种核苷(酸)类药物长期单独使用,由于仅针对病毒的单一靶位,均有出现耐药的可能,只是出现的时间有差异。

3.2.3 免疫调节药 免疫调节药,如 α_1 胸腺肽(thymosin- α_1 , T α_1)^[14]、胸腺因子、左旋咪唑涂布剂、免疫核糖核酸、HBV 特异性转移因子等,可以提高人体的免疫功能,尤其是对 HBV 的特异性免疫,还可以识别和破坏 HBV 感染的靶细胞,达到清除 HBV 的目的,但由于其缺乏针对性,疗效不确切,一般作为辅助或与其他抗 HBV 药物联合治疗。特异性免疫调节药,如树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗、HBV 的 S 和前 S2 治疗性疫苗、CTL 多肽疫苗、DNA 疫苗等有望成为人类战胜感染性疾病的有力武器。

此外,反义 RNA、小干扰 RNA、乙肝疫苗及各种抗病毒细胞因子正在研究中,可望成为克服免疫耐受的抗病毒策略^[15-17]。

4 乙肝治疗的难题

4.1 乙肝治疗耐药问题

长久以来,乙肝一直是危及人类健康的常见传染病之一。目前由于可供选择的抗乙肝药物单一、有限,而且伴随着某种药物的长期单一应用,耐药病毒株不断出现,造成 HBV 感染的治疗面临着相当的困境。控制和清除 HBV 的感染,降低肝癌的发生率,防止耐药的产生已成为当今医学领域的一个重大课题。在乙肝治疗过程中,病毒变异诱发的耐药问题一直是根除乙肝的绊脚石,是临床医生所面对的棘手问题。因此,有效地预防和解决乙肝的耐药问题是治疗乙肝的关键。

4.2 乙肝分期

在治疗乙肝时,首先应合理诊断患者的 HBV 感染期。慢性 HBV 感染的自然史可分为 4 期(表 1)^[18],对于不同感染期的患者,采取相应的治疗措施,候选者的抗病毒治疗指标是 ALT 和 HBV DNA 水平升高。如慢性 HBV 感染者处于免疫耐受期或为非活动携带者,则不是治疗的候选者,对Ⅱ和Ⅳ期慢性 HBV 感染患者应考虑予以治疗。

表 1 慢性 HBV 感染分期

分期	HBV 感染期	表现
I 期	免疫耐受期	HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎
Ⅱ期	免疫清除期	
Ⅲ期	非活动携带状态期	正常、轻度慢性肝炎或无活动性肝硬化, HBeAg 转阴、HBV DNA 低水平或无法检测出,ALT 正常,为抗病毒治疗的终点
Ⅳ期	再活动期	中、重度慢性肝炎或肝硬化,病程反复,抗-HBe 阳性、HBV DNA 高水平,ALT 升高

4.3 乙肝治疗应注意的问题

在乙肝患者治疗过程中,可参照慢性乙肝防治指南对患者进行规范的治疗^[19]。一般来讲,HBV DNA 水平较高,ALT 升高,抗病毒治疗有效,为治疗的最佳时期,需及时进行抗病毒治疗,根据每个患者的具体情况,采取恰当的治疗方案。

HBV 在复制过程中具有高度变异性,病毒耐药与多种因素相关^[20-21],如核苷(酸)类药物的应用,治疗前 HBV DNA 载量水平,患者个体水平的

差异等。有研究报道,在治疗过程中,不同的变异会先后出现,且联合变异可使病毒的复制能力明显增强^[22]。所以,对乙肝长期抗病毒治疗过程中,应定期观察血清学应答、生物化学应答及组织学应答等情况,尤其要重视血清 HBV DNA 水平(保持有 $<10^3$ 拷贝 mL^{-1})的动态变化。如在治疗和随访过程中发现 HBV DNA 逐渐回升,或检测到耐药变异株,应立即改变用药种类或方式。更深入地对 HBV P 基因区突变分析对抗病毒药物的选择及疾病预后的判断有着重要作用,有利于临床用药及疗效的监测。

另外,对于患者初始治疗选择的药物非常关键,快速有效降低 HBV 可以减少病毒发生耐药变异的概率^[1,23]。因此,在初始治疗时就应该选择既强效又低耐药性的抗病毒药物,以保证乙肝的治疗长期有效,可有效控制乙肝的进展,避免不必要的治疗,同时做好用药监测,可通过监测短期治疗后病毒载量降低的情况预测疗效,及时判断患者是否适合继续用该药物进行抗病毒治疗。

5 今后研究方向

HBV cccDNA 作为 HBV 复制的原始模板,不易降解,并且半衰期很长,与感染的肝细胞共存亡,不易清除,而现有的各种抗 HBV 药物的作用靶位均在 cccDNA 水平以下,没有有效抑制 cccDNA 的抗病毒药物,因此一旦停药,HBV cccDNA 可以重新进行复制及表达。尽管目前干扰素和核苷(酸)类药物是临床治疗乙肝的药物,但不能根治乙肝,因此开发新型的抗乙肝药物是必要的,如:研制能抑制和降解 HBV cccDNA 的抗 HBV 药物和疗法。

联合用药为今后的研究方向,理论上联合治疗可增加抗病毒活性,减少耐药性的发生^[24]。最新研究显示阿德福韦酯和拉米夫定联合治疗对拉米夫定耐药的乙肝患者有效^[25],选择作用机制不同的抗乙肝药物,尽可能的抑制病毒的复制,有研究在体外酶水平、细胞水平、DHBV 动物模型体内、慢性活动性肝炎患者体内均证实了磷甲酸钠与拉米夫定联合进行抗 HBV 治疗,疗效有协同作用^[26]。

抗病毒药物与免疫调节剂联合应用,免疫调节药可促进人体的免疫功能,尤其是特异性细胞免疫如细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 免疫功能,特异性破坏 HBV 感染的细胞,使残留于肝细胞内的 HBV cccDNA 降解,达到彻底根治 HBV 感染的目的。此外,抗 HBV 药物应长期治疗或多疗程抗复发治疗。不断抑制 HBV 复制及清除 HBV,使在人体内的 HBV cccDNA 库得不到补充而逐渐减少,达到最终清除 HBV 的目的。此外,更应开发作用于不同靶点的药物,并研究提高宿主对 HBV 免疫应答的药物,期望能够彻底清除病毒。

总之,各种抗病毒药物中,单独治疗乙肝的药物的疗效都十分有限,且在用核苷(酸)类药物治疗乙肝的过程中,耐药相关性变异是很难避免的。今后,联合治疗乙肝是方向,开发多靶位点抗病毒药物,联合不同靶位点药物是抗击 HBV 耐药的重要策略。理想的抗病毒方案应针对病毒不同靶位,使病毒的复制完全抑制,以显著减少耐药株的出现。另外,治疗方案应该考虑到患者的免疫反应,定期检测病毒的复制情况以及耐药性的发生。

【参考文献】

- [1] Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level[J]. JAMA, 2006, 295: 65-73.
- [2] Illoeje UH, Yang HI, Su J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load[J]. Gastroenterology, 2006, 130: 678-686.
- [3] WHO, 2008. Hepatitis B. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/index.html> (revised August 2008).
- [4] Shepard CW, Simard EP, Finelli L, et al. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination[J]. Epidemiol, Rev, 2006, 28: 112-125.
- [5] Cui FQ, Wang XJ, Liang XF. Epidemiological analysis on reported hepatitis B under 15 years in China: the report from Chinese Center for Disease Control and Prevention[J]. Chin, J, Vaccines Immunization 2006, 12: 206-208.
- [6] Cui FQ, Wang XJ, Cao L, et al. Progress in hepatitis B prevention through universal infant vaccination - China 1997 - 2006[J]. Morbidity Mortality Weekly Rep, 2001, 56: 441-445.
- [7] Chang MH, You SL, Chen CJ, et al. Decreased incidence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B vaccinees: a 20 - year follow - up study[J]. J Natl Cancer Inst, 2009, 101: 1348-1355.
- [8] Seckin D, Durusoy C, et al. Concomitant vitiligo and psoriasis in a patient treated with interferon alfa - 2a for chronic hepatitis B infection[J]. Pediatr Dermatol, 2004, 21: 577-579.
- [9] Schmilovitz - Weiss H, Ben - Ari Z, Sikuler E, et al. Lamivudine treatment for acute severe hepatitis B: a pilot study[J]. Liver Int, 2004, 24: 547-551.
- [10] Dienstag JL, Schiff ER, Mitchell M, et al. Extended lamivudine re-treatment for chronic hepatitis B: maintenance of viral suppression after discontinuation of therapy[J]. Hepatology, 1999, 30: 1082-1087.
- [11] Dienstag JL, Schiff ER, Wight TL, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States[J]. N Engl J Med, 1999, 341: 1256-1263.
- [12] Buti M, Sanchez F, Cotrina M, et al. Quantitative hepatitis B virus DNA testing for the early prediction of the maintenance of response during lamivudine therapy in patients with chronic hepatitis B[J]. J Infect Dis, 2001, 183: 1277-1280.
- [13] Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, et al. Viral hepatitis B[J]. Lancet 2003, 362: 2089-2094.
- [14] Liaw YF. Thymalfasin (thymosin - alpha 1) therapy in patients with chronic hepatitis B [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2004, 19: S73- S75.
- [15] Arbuthnot P, Carmona S, Ely A. Exploiting the RNA interference pathway to counter hepatitis B virus replication [J]. Liver Int, 2005, 25: 9-15.
- [16] Grimm D, Kay MA. Therapeutic short hairpin RNA expression in the liver: viral targets and vectors[J]. Gene Ther, 2006, 13: 563-575.
- [17] Fan Y, Jiang WZ, Wen JJ, et al. B7 - DC - silenced dendritic cells induce stronger anti - HBV immunity in transgenic mice[J]. Arch Virol, 2009, 15: 1813-1821.
- [18] Yim HJ, Lok AS. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005 [J]. Hepatology, 2006, 43: S173- S181.
- [19] 中华医学会肝病分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南 [J]. 中华传染病杂志, 2005, 23: 421-431.
- [20] Lok AS, Zoulim F, Locarnini S, et al. Antiviral drug-resistant HBV: standardization of nomenclature and assays and recommendations for management [J]. Hepatology, 2007, 46: 254-265.
- [21] Keffe EB, Dieterich DT, Pawlatsky JM, et al. Chronic hepatitis B: preventing, detecting, and managing viral resistance [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2008, 6: 268-274.

HER-2 和 Top-Ⅱ α 可作为乳腺癌化疗疗效的预测因子

【作者】 王佳玉 徐兵河

中国医学科学院协和医学院肿瘤医院肿瘤研究所内科 (北京 100021)

【摘要】 一般认为, HER-2 过表达或基因扩增的乳腺癌患者预后差。近期的 8 个大型随机临床试验和基于这些临床研究的荟萃分析均证实:与不含蒽环类药物方案相比, HER-2 阳性乳腺癌患者更易从含蒽环类药物方案中获益。另有研究发现, Top-Ⅱ α 基因缺失提示预后不良, Top-Ⅱ α 扩增提示患者对蒽环类药物的高缓解率。因此, HER-2 与蒽环类药的相关性可能与 Her-2 基因和 Top-Ⅱ α (拓扑异构酶Ⅱ α) 基因同在 17 号染色体的相邻位置有关。有关 Her-2 阳性对高剂量蒽环类或紫杉类药物化疗敏感的观点,仍有待于更多的临床试验证实。本文结合已发表的乳腺癌辅助化疗临床试验结果,分析了 Her-2 和 Top-Ⅱ α 基因对化疗敏感性的预测作用。

【关键词】 乳腺癌化疗; 预测因子; HER-2; Top-Ⅱ α ; 蒽环类药物; 紫杉类药物

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1672-3384(2011)-02-0045-05

根据原发肿瘤术后病理的诸多因素,可将乳腺癌患者定义为不同复发风险等级,这些因素包括:腋窝淋巴结转移数目、肿瘤 TNM 分期、原发肿瘤的分化程度、雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)状态、有无脉管瘤栓等^[1-2]。

Her-2 基因编码 185kd 的跨膜糖蛋白——HER-2 蛋白,该蛋白是可以激活酪氨酸激酶的生长因子受体家族成员。Her-2 基因的扩增及其蛋白的过表达见于 20%~30% 的乳腺癌患者,HER-2 阳性往往伴随着其他不良预后因素,如:高的 TNM 分期、腋窝淋巴结有转移、ER 和(或)PR 的阴性,原发肿瘤生长迅速、分化差等^[3-4]。HER-2 阳性(亦称为 Her-2 基因扩增或 HER-2 蛋白的过表达)被认为

为是独立的预后因素。近 10 年来的大量研究证实,HER-2 阳性可能对他莫昔芬(TAM)及 CMF 方案(环磷酰胺+氨甲蝶呤+氟尿嘧啶)耐药,相对于非蒽环类药物,HER-2 阳性对含蒽环类药物的治疗敏感^[5-7]。但 Her-2 基因与蒽环类药物相互作用的机制目前尚不明确,有关 HER-2 预测作用及其相邻基因 Top-Ⅱ α 的研究相继开展,并且关于 HER-2 在高剂量化疗或含紫杉类药物化疗中的作用也逐渐引起人们的重视。

1 含或不含蒽环类药物方案

至少 10 个临床试验验证了 HER-2 与含蒽环类方案疗效的关系^[8-20],其中 7 个临床试验的结果显示,HER-2 状态与治疗亚组的预后无关^[9,11-16,20]。

[22] Li MW, Hou W, Wo JE, et al. Character of HBV (hepatitis B virus) polymerase gene rtM204V/I and rtL180M mutation in patients with lamivudine resistance[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2005, 6: 664-667.

[23] Illoeje UH, Yang HI, Su J, et al. Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver Disease/Cancer - In HBV (the REVEAL - HBV) Study Group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load[J]. Gastroenterology, 2006, 130: 678-686.

[24] Kieffer TL, Sarrazin C, Miller JS, et al. Telaprevir and pegylated in-

terferon - alpha - 2a inhibit wild type and resistant genotype 1 hepatitis C virus replication in patients[J]. Hepatology, 2007, 46: 631-639.

[25] En - Qiang Chen, Li - Chun Wang, Jun Lei, et al. Meta - analysis: Adefovir dipivoxil in combination with lamivudine in patients with lamivudine - resistant hepatitis B virus[J]. Virology Journal, 2009, 6: 163.

[26] Han YX, Xue R, Zhao W, et al. Antiviral therapeutic efficacy of foscarnet in hepatitis B virus infection[J]. Antiviral Res, 2005, 68: 147-153.