

乙肝病毒耐药中西医研究进展

★ 苏红宝¹ 指导:薛博瑜² (1. 南京中医药大学 2007 级硕士研究生 南京 210029; 2. 南京中医药大学 南京 210029)

摘要:乙肝病毒耐药主要与病毒变异密切相关,同时也是乙肝病毒与宿主相互作用的结果,将中医的症候分型与乙肝病毒耐药类型及宿主的免疫应答相联系,可能是以后中西联合治疗慢性乙型肝炎的方向。

关键词:乙型肝炎;病毒变异;耐药;中医证治

中图分类号:R 512.6⁺2 **文献标识码:**A

Progress in antimicrobial resistance of HBV with Integrative Medicine

SU Hong-bao, XUE Bo-yu

Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029

Abstract: The antimicrobial resistance of HBV is mainly related with virus variability and also it is the interaction result between HBV and hosts. It may be the direction of treatment of chronic HBV with integrative medicine in the future through connecting the symptom type of TCM and antimicrobial resistance of HBV category and hosts immune response.

Key words: HBV; Virus variability; Antimicrobial resistance; TCM treatment

1 我国慢性乙型肝炎病毒耐药的现状

乙型肝炎是我国重要的公共卫生问题。由于慢性乙型肝炎目前尚不能完全治愈。最大限度地长期抑制或消除 HBV,减轻肝细胞炎症坏死及肝纤维化,延缓和阻止疾病进展是慢性肝炎治疗的总体目标。核苷(酸)类似物和新型干扰素,在控制慢性乙肝的活动和改善患者的预后方面表现出良好的效果。抗病毒治疗仍然是治疗慢性乙肝的关键。但随着病毒野生株病毒种群向优势株漂移变化,拉米夫定耐药的产生的比例随着治疗时间的延长而显著升高(第 1、2、3、4 年分别为 14%、38%、49% 和 66%)^[1~3],核苷类似物相互间存在交叉耐药,联合不同耐药谱的药物延缓或降低耐药率将是远期治疗的突破口。因此,慢性肝炎抗病毒治疗必须以考虑远期疗效和耐药率作为平衡点。近期研究结果表明,HBV 对 LMV 产生耐药可能涉及病毒、宿主及治疗方案等多因素的相互作用。随着基因组学研究的迅猛发展和不断深入,基因组学和中医学相互融合,从基因微观分子水平研究中医辨证分型,建立证型基因表达谱,便于在诊断中进行基因检测,提高辨证的准确性,在治疗时,又可以根据基因和基因功能表达谱,采取宏观辨证与微观辨证相结合,能更有针对性地个体化治疗。因此,近年来,有关中医证治与基因的相关性研究日益成为中西医联合治疗慢性肝炎

的切入点。现就近年来乙肝病毒对拉米夫定耐药的类型、机制、中西治疗慢性乙肝研究进展概述如下。

2 乙肝病毒耐药的类型

按检测和判断方法不同,HBV 耐药分为 3 种类型:(1)基因耐药(genotypic resistance)。指 HBV 基因组某些位点发生变异而导致耐药。这种变异与耐药性有直接因果关系,通过检测特异性变异位点的核苷酸序列可推断 HBV 耐药性。(2)表型耐药(phe-notypic resistance)。指在体外细胞培养体系中直接测定某种药物对 HBV 的抑制作用,以能抑制 50% HBV 复制的药物浓度(IC50)来评估 HBV 对该药物的敏感性。IC50 值增加在 5 倍以下者仍被认为敏感,5~10 倍者为部分耐药,10 倍以上者为耐药。(3)临床耐药(clinical resistance)。指临床出现病毒复制不能被抑制,或 HBV 复制一度被抑制后又出现 HBVDNA 水平重新升高,可伴有或无 ALT 升高,即临床上抗病毒治疗应答的反弹类型。

3 HBV 对核苷酸(类)耐药的相关因素

(1)HBV 的 DNA 聚合酶是 LMV 等核苷(酸)类似物的作用靶点,其中以拉米夫定为代表的 L-嘧啶类似物主要与 P 基因片段 YMDD 基序上因自然发生变异或在药物的压力下发生变异,引起 DNA 聚合酶空间结构改变,从而引起耐药。(2)HBV 病毒复

制水平的高低、药物的选择压力、药物耐药的基因屏障、耐药突变株的适应性也是耐药突变产生的主要影响因素。(3)另有文献报道^[4],变异病毒的复制必须有可用的复制空间(replication space),从病毒学角度来说,复制空间是指肝脏被感染新的 cccDNA 分子的潜在能力,在被感染的肝脏中,必须要有未被 HBV 感染的肝细胞存在,当其被 HBV 感染后,才能有新 cccDNA 的合成。增加变异株通过占据原野毒株的位置而获得复制空间的,增加 cccDNA 合成,实现病毒量的扩增。

HBV 变异对于 HBV 感染的全过程以及病人的治疗结果具有相当大的影响,随着抗病毒治疗终点、交叉耐药、病人的依从性等不确定因素,耐药的发生依然严峻,病毒的变异过程是与宿主相互作用发生进化的过程。中医中药虽然在抗病毒方面的作用不及西药显著,但其更重视机体的整体功能状态的综合作用,将不同的环节作为整体的不同侧面,实现其整体的综合调节;副作用少,能有效地延缓慢性纤维化进程,延长生存期,提高生活质量。围绕着抗病毒和调节整体免疫功能为中心的多靶点治疗思想日益得到重视。

4 慢性乙型肝炎病毒变异中西治疗研究状况

4.1 中西药联用减量增效,延缓病毒变异 慢性肝炎病程长,病机复杂,中医认为多由湿热疫毒所致,其中毒邪入侵、正气虚弱、气机郁滞、血液瘀阻常相互影响,使慢性肝炎出现本虚标实、虚实夹杂的复杂病机。徐氏等^[5]报道 LAM 联用益气凉血解毒类中药(生黄芪 30 g、太子参 15 g、赤芍 15 g、生地 10 g、山豆根 6 g、苦参 10 g、乌梅 10 g、五味子 10 g),与单用 LAM、单用中药组相对照。治疗 12 个月后,各组前后在降低 ALT、AST、DNA 方面统计学有明显差异,但各组间在降酶、抗病毒疗效无明显差异。说明中药在治疗慢性乙型肝炎方面具有一定的作用,与常规抗病毒西药区别不大。同时发现 LAM 组有 12 例出现 YMDD 变异,联合组有 5 例出现 YMDD 变异,变异时间全部出现在用药后 12 个月,中药组无一例 YMDD 变异。有显著性差异,表明益气凉血解毒类中药对拉米夫定诱发乙肝病毒 YMDD 变异有很好的干预作用。廖永州等^[6]报道双虎清肝颗粒联合拉米夫定治疗儿童慢性乙型肝炎 68 例,对照组 53 例,只应用拉米夫定,用法、用量同治疗组。治疗结果:两组患儿血清 HBsAg、HBeAg、HBV DNA 转阴率差异均无显著性意义,但治疗组 YMDD 变异株发生率较对照组低,特别是在用药 1 年后,差异有非常显著性意义($P < 0.01$)。说明双虎清肝颗粒联合拉

米夫定治疗儿童慢性乙型肝炎较单用拉米夫定疗效更确切,大大降低病毒变异发生率。蒋开平^[7]等人对 BCP 双变异阳性的慢性乙型肝炎研究中发现,湿热中阻型及肝郁脾虚型在 BCP 双变异阳性的患者中较高,分别为 54.24% (32/59)、36.36% (24/66),提示湿热蕴结,肝脾不调是慢性肝炎的基本病机。陈泽雄等^[8]对 104 例慢性乙型肝炎患者用拉米夫定治疗半年后,随机分为治疗组和对照组,治疗组联用中药,分为肝胆湿热、肝郁脾虚、肝肾阴虚、脾肾阳虚、血脉瘀阻等 5 型,分别用茵陈蒿汤、逍遥散、一贯煎、肾气丸和隔下逐瘀汤进行辨证加减。对照组则继续用拉米夫定。两组观察至 52 周时将患者血清 YMDD、HBV-DNA 进行比较。结果:治疗组患者 YMDD 检出率为 9.6%,较对照组 25% 低($P < 0.05$)。治疗组 HBV DNA 阴转率为 86.5%,高于对照组的 69.2% ($P < 0.05$),表明中药与拉米夫定联用对提高慢性乙型肝炎的疗效,减少 YMDD 变异的产生有一定作用。黄正昌等^[9]对叶下珠复方(由叶下珠、黄芪、三七等组成)和拉米夫定治疗慢性乙型肝炎的临床疗效作了比较,研究结果显示,合用组肝功能复常率和 HBeAg 阴转率均高于拉米夫定组($P < 0.05$)。彭立生等^[10]报道叶下珠提取物体外不仅对全基因的 HBV 有抑制作用,还可能直接对 X 基因表达有抑制作用。周飞^[11]等人将未经拉米夫定及干扰素治疗的 HBV-DNA 阳性慢性乙型肝炎患者 102 例,分为湿热中阻型、肝郁脾虚型、肝肾阴虚型、脾肾阳虚型和瘀血阻络型,检测 BCPnt 1762A-T 和 nt 1764G-A 联合点突变。结果变异株检出率实证组明显高于虚证组,其中湿热中阻型患者更容易发生联合位点的变异。李瀚旻^[12]等发现,HBV 前 C 区不同位点变异与中医证候存在相关性。相同位点的变异率在不同证候之间不同,1762、1764 位点的变异率,瘀血阻络证较高(92.5%, 90%);1896、1899 位点的变异率,肝郁脾虚证较高(16.78%, 50%);有显著性差异, $P < 0.01$ 。张玮等^[13]对服用拉米夫定半年以上的乙型慢性病毒性肝炎患者采用乙型肝炎病毒突变检测基因芯片,进行 HBV-YMDD 变异检测,结果发现 HBV-YMDD 变异患者中实证变异率(38/48)明显高于虚证(10/48)。认为 HBV-YMDD 变异与虚、实辨证之间具有相关性。池晓玲等^[14]报道用柴芍六君汤治疗慢性乙型肝炎 300 例,18 个月时 YMDD 变异率方面均优于单纯应用拉米夫定的对照组患者,统计学差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),显示疏肝健脾法能够减少 HBV-YMDD 的发生率。朱清静等^[15]探讨 HBV 前 C 区基因突变与慢

性乙型肝炎中医证型的关系,结果湿热中阻患者 HBV 前 C 区突变率为 61.1% (33/54),瘀血阻络型为 57.6% (19/33),肝郁脾虚型为 29.8% (14/47),肝肾阴虚型为 38.1% (8/21),脾肾阳虚型为 14.3% (1/7),结论提示 HBV 前 C 区突变与慢性乙型肝炎中医证型密切相关,湿热中阻型和瘀血阻络型突变率明显高于肝郁脾虚型和脾肾阳虚型。

4.2 中西药联用调节免疫,打破免疫耐受 大量研究表明,中药不仅能直接对抗病毒,而且可以通过调整机体内部细胞免疫和体液免疫,间接起到综合调整的作用,使紊乱的机体状态逐渐趋于正常。刘亚梅等^[16]报道对 54 例肝郁脾肾两虚的慢性病毒性乙型肝炎的观察,随机分为 3 组,中药组、在此基础上加用阿德福韦酯组、阿德福韦酯组,10mg/d,口服,6 个月为 1 疗程,运用阿德福韦酯联合疏肝健脾补肾方(柴胡、白芍、枳实、甘草、茯苓、菟丝子、鸡骨草等)治疗后,联合组可显著提高 NK 细胞活性和 IL-2 分泌,与治疗前比较,差异有非常显著性意义($P < 0.01$);同时还发现中药组治疗前后 CD_4^+ 百分比的增加与 HBV—DNA 载量减少呈显著正相关。研究显示中西医结合用药通过对慢性病毒性乙肝患者免疫功能的调节,进而清除 HBV 和抑制 HBV 复制,具有抗病毒、免疫调节的双重功能。张玮等^[17]观察 60 例分别属湿热中阻、肝肾阴虚、瘀血阻络型的慢性乙型肝炎患者分成 3 组。其中,治疗组 30 例,男 24 例,女 6 例;以芪黄冲剂治疗,对照组 30 例,男 20 例,女 10 例;对照组以乙肝清热解毒冲剂合乙肝养阴活血冲剂治疗,3 个月为 1 疗程。发现芪黄冲剂(黄芪、大黄、苦参、炙鳖甲、枸杞子、鸡骨草)不仅具有良好的免疫细胞调节作用,而且对体液免疫功能有显著的调节作用,能升高 CD_4 、NK 细胞,提高 CD_4/CD_8 比值及 IL-2 水平,降低 CD_8 ,尤其对 CD_4 、 CD_4/CD_8 、NK 细胞及 IL-2 的调节作用优于对照组($P < 0.05$),同时还能降低 IgM、IgG、IgA,其中对 IgA 的降低作用明显优于对照组($P < 0.01$)。陈锦芳^[18]等观察 90 例慢性乙型肝炎湿热蕴脾证患者,随机分为 3 组(观察对照组、连朴饮对照组、常规治疗组),分别在治疗前及治疗 1 个月后观察各组免疫功能的状况。发现茵芍散能明显降低血清免疫球蛋白含量、升高补体水平、降低 IFN- γ 含量、升高 IL-4 水平,与中药对照组连朴饮、常规治疗组比较差异有显著性($P < 0.05$)。结论:茵芍散能改善患者的体液免疫状态和调节 Th1/Th2 细胞因子失衡作用,提示治疗慢性乙型肝炎湿热蕴脾证在清热祛湿、健脾理气的同时应重视活血化瘀。李文凡等^[19]研究

的中药大黄的复方制剂清肝力具有很好的免疫调节作用,在对 86 例慢性乙肝患者的治疗观察中,发现该药可不同程度的提高 NK 细胞活性,可调节 T 淋巴细胞亚群,不同程度的提高了外周血 CD_3^+ 、 CD_4^+ 和 CD_4^+/CD_8^+ 的比值,降低 CD_8^+ 的活性。王灵台等^[20]对 26 例慢性乙型肝炎肝肾不足型患者采用补肾颗粒治疗,疗程为 6 个月。以 20 例正常人为对照,观察患者治疗前后 TNF- α 、IL-2、INF- γ 、IL-6、IL-10 等细胞因子的变化情况。结果慢性乙肝组(慢肝组)治疗前的细胞因子水平明显高于正常对照组($P < 0.05$),而治疗后的细胞因子水平低于治疗前($P < 0.05$);HBV-DNA 阴转者 9 例,治疗前其 IL-10 水平明显低于 19 例未阴转者($P < 0.05$)。结论补肾颗粒可能通过减轻 TNF 的细胞毒作用及提高补体调理素水平,减少内毒素产生,从而发挥减轻肝细胞损伤的作用。

5 展望

抗病毒治疗是慢性乙型肝炎治疗的关键,长期治疗必将增加耐药的发生率,即使是适当的联合治疗可以降低耐药率,但其本身又能引起更难处理的多药耐药。必须建立在疗效和耐药的现价比的基础上,根据不同患者具体病情作出选择。减少核苷酸类似物耐药必须:(1)、选择具有高耐药基因屏障的抗病毒药物,快速持续抑制病毒载量至不可测水平。(2)、提高患者的依从性,早期应答不理想及时换药及避免单药序贯治疗等,有助于预防耐药的发生,用药期间做好耐药检测工作,定期复查 HBV-DNA 载量,优化治疗方案,延缓病毒耐药的出现。(3)、规范中医临床辨证分型客观收集、分析、评价、证候资料,同时选择多个相关基因进行大样本研究,以切实提高对中医基础医学和临床的指导性。中医药单独使用,针对不同地域的不同基因型分布特点而采用相应的治疗方法。(4)、病毒变异和患者的免疫状态可能是相互作用的,并可能在肝病的慢性化机制中发生作用。因此同时监测 HBV 变异情况及机体免疫状况,对乙型肝炎相关肝病的诊断、治疗和预后判断具有重要的意义。

参考文献

- [1] Lok AS, Lai CL, Leung N, et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* [J]. 2003, 125: 1714 - 1722.
- [2] 姚光弼, 王宝恩, 崔振宇, 等. 拉米夫定治疗慢性乙型肝炎三年疗效观察[J]. 中华内科杂志, 2003, 32: 382 - 387.
- [3] 姚光弼, 崔振宇, 姚集鲁, 等. 国产拉米夫定治疗 2200 例慢性乙型肝炎的 IV 期临床试验[J]. 中华肝病杂志, 2003, 11: 103 - 108.

卵巢型子宫内膜异位囊肿药物治疗现状

★ 张宗敏¹ 时燕萍² (1. 南京中医药大学 南京 210029; 2. 江苏省中医院 南京 210005)

摘要:卵巢型子宫内膜异位囊肿是一种难治性疾病,本文就目前中西药物对其治疗进行回顾性整理探讨。西医药物治疗临床疗效肯定,但毒副作用较大,停药易反弹;而活血化瘀类中药在改善患者的临床症状、局部体征方面疗效肯定,且无明显的不不良反应,值得进一步探讨。

关键词:卵巢型子宫内膜异位囊肿;药物治疗;复发;综述

中图分类号:R 711.71 **文献标识码:**A

Discussion the Medicine Treatment of Present Situation on Ovary Type of Endometriosis Cyst

ZHANG Zong-min¹, SHI Yan-ping²

1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029;

2. Jiangsu Province of Traditional Chinese Medicine Hospital, Nanjing 210005

Abstract: Ovary Type of Endometriosis Cyst is one disease to be cured difficulty. This article discusses the treatment on Ovary type of Endometriosis cyst with western medicine and traditional Chinese medicine at present. It's affirmed that the treatment of western medicine in clinic, but the side effects is large. While the treatment of activating blood circulation of TCM is affirmed in improving the patients clinical symptoms and local signs, and the adverse reactions is not obvious. So it is worth to study further.

Key words: Ovary Type of Endometriosis Cyst; Medicine Treatment; Recurrence; Review

[4] Zhang YY, Summer J. Lowdynamic state of viral competition in a chronic avian hepadnavirus infection [J]. J Virol, 2007, 74 (11): 5257 - 5265.

[5] 徐春军. 益气凉血解毒类中药对拉米夫定诱发乙肝病毒 YMDD 变异的干预作用[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23 (12): 1079 - 1080.

[6] 廖永州, 古学文. 双虎清肝颗粒联合拉米夫定治疗儿童慢性乙型肝炎 68 例[J]. 中西医结合肝病杂志, 2005, 15 (5): 296 - 297.

[7] 蒋开平, 王虹, 陶银, 等. 乙型肝炎病毒 C 基因启动子双变异患者中医证型特点研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006, 16 (5): 259 - 261.

[8] 陈泽雄, 张诗军, 胡洪涛. 中药预防慢性乙型肝炎 YMDD 变异的临床观察[J]. 中西医结合肝病杂志, 2005, 15 (3): 168 - 170.

[9] 黄正昌, 朱辨弦, 郑其进, 等. 叶下珠复方和拉米夫定治疗慢性乙型肝炎的临床疗效比较[J]. 广州中医药大学学报, 2004, 21 (3): 161 - 163.

[10] 彭立生, 贺劲松, 等. 叶下珠提取物抗乙肝病毒及乙肝病毒 X 基因的研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2006 年, 16 (6): 340 - 343.

[11] 周飞, 王灵台, 陈建杰, 等. 乙型肝炎病毒 BCP 联合点突变与中医证型的关系[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25 (9): 777 - 779.

[12] 李瀚旻, 赵映前, 向楠, 等. HBV 前 C 区基因变异与中医证候的

相关性研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2006, 22 (2): 84 - 85.

[13] 张玮, 王奕, 贺德昌, 等. HBV-YMDD 变异患者与中医虚实辨证关系初探[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31 (9): 731 - 732.

[14] 池晓玲, 萧焕明, 吴黎明, 等. 中医辨证治疗对减少乙型肝炎病毒 YMDD 变异的疗效观察[J]. 世界中医药, 2007, 2 (2): 79 - 80.

[15] 朱清静, 杨玲, 盛国光, 等. 慢性乙型肝炎病毒前 C 区基因突变与中医证型的关系[J]. 中国中西医结合脾胃杂志, 1999, (2): 87 - 88.

[16] 刘亚梅, 郭兴伯. 阿德福韦酯联合疏肝健脾补肾方抗乙肝病毒和调节免疫作用的临床研究[J]. 新中医, 2008, 40 (4): 19 - 21.

[17] 张玮, 王育群, 秦志丰, 等. 芪黄冲剂对慢性乙型肝炎患者免疫功能的影响[J]. 中西医结合肝病杂志, 2000, 10 (5): 1 - 2.

[18] 陈锦芳, 谢蓉, 马卫, 等. 茵苣散对慢性乙型肝炎湿热蕴脾证患者免疫功能的影响[J]. 中国医药学报, 2004, 19 (6): 352 - 353.

[19] 李文凡, 张永红, 周一鸣, 等. 清肝力对慢性乙肝免疫调节作用的初步研究[J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1997, 9 (1): 55 - 58.

[20] 王灵台, 高月求, 等. 补肾颗粒对慢性乙型肝炎患者 TNF- α IL-6 等细胞因子的影响[J]. 上海中医药杂志, 2006, 40 (11): 4 - 5.

(收稿日期: 2009-06-11)