

· 临床论著 ·

慢性乙型肝炎患者长期应用核苷(酸)药物
抗病毒疗效观察

程兆晶 周宝桐 刘晓清

【摘要】 目的 观察恩替卡韦(ETV)与拉米夫定/替比夫定(LAM/LdT)治疗慢性乙型肝炎(CHB)患者的长期疗效及耐药情况。**方法** 回顾性分析本院肝炎门诊所收治的52例CHB患者,最长随访168周,每12周评估1次其ALT水平、HBV DNA和乙型肝炎病毒表面标志物的变化情况。**结果** ETV组患者治疗48周、96周和144周HBV DNA抑制率分别为76.9% (10/13)、100% (5/5)和100% (5/5), ALT复常率分别为80% (12/15)、57.1% (4/7)和60% (3/5)。LAM/LdT组患者治疗48周、96周和144周HBV DNA抑制率分别为72% (18/25)、90% (9/10)和62.5% (5/8), ALT复常率分别为86.4% (19/22)、100.0% (11/11)和88.9% (8/9)。两组患者治疗144周时,e抗原血清学转换率分别为25% (1/4)和66.7% (4/6)。ETV组患者未见病毒学突破者,LAM/LdT组病毒学突破率为25% (7/28)。**结论** 长期经核苷(酸)类药物治疗的CHB患者,能获得较好的病毒学抑制和ALT复常;ETV组患者的耐药性优于LAM/LdT组,但e抗原血清学转换率较LAM/LdT组差。

【关键词】 肝炎, 乙型, 慢性; 恩替卡韦; 拉米夫定; 替比夫定; 疗效

Outcomes of nucleos(t)ide long-term therapy in patients with chronic hepatitis B CHENG Zhao-jing, ZHOU Bao-tong, LIU Xiao-qing. Department of Infectious Diseases, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100730, China.
Corresponding author: LIU Xiao-qing, Email: liuxq_pumch@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To observe the long-term outcomes of nucleos(t)ide therapy in patients with chronic hepatitis B (CHB) and to compare the response and drug-resistance between patients in entecavir (ETV) group and lamivudine/telbivudine (LAM/LdT) group. **Methods** Total of 52 patients with CHB were enrolled, with follow-up of 168 weeks. The viral response and biochemical response were detected every 12 weeks. **Results** At the 48th, 96th and 144th week in treatment, the rates of HBV DNA undetectable were 72% (18/25), 90% (9/10) and 62.5% (5/8) in LAM/LdT group, while 76.9% (10/13), 100% (5/5) and 100% (5/5) in ETV group, respectively. The rates of ALT normalization were 80% (12/15), 57.1% (4/7) and 60% (3/5) in ETV group and 86.4% (19/22), 100.0% (11/11) and 88.9% (8/9) in LAM/LdT group, respectively. At the 144th week, the rates of HBeAg seroconversion in ETV group and LAM/LdT group were 25% (1/4) and 66.7% (4/6), respectively. No virological breakthrough was observed in ETV group. However, seven (7/28, 25%) patients developed virological breakthrough in LAM/LdT group, among whom 4 patients were detected of drug-mutations. **Conclusions** Continuous treatment with nucleos(t)ide over 3 years was associated with high rates of HBV DNA undetectable and ALT normalization in patients with chronic hepatitis B. Less drug-resistant mutations developed in ETV group, while more HBeAg seroconversion was found in LAM/LdT group.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Entecavir; Lamivudine; Telbivudine; Treatment

目前慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)最主要的治疗方法为抗病毒治疗。核苷(酸)类

似物[nucleos(t)ide analogue, NUCs]的问世掀开了抗病毒治疗的新篇章。目前,我国食品药品监督管理局批准使用的NUCs有拉米夫定(lamivudine, LAM),阿德福韦酯(adefovir dipivoxil, ADV),恩替卡韦(entecavir, ETV),替比夫定(telbivudine,

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.02.003

作者单位: 100730 北京市,中国医学科学院北京协和医学院;北京协和医院感染内科

通讯作者: 刘晓清, Email: liuxq_pumch@yahoo.com.cn

LdT)。NUCs可快速抑制病毒逆转录酶的活性,中止乙型肝炎病毒脱氧核糖核酸(HBV DNA)合成,改善肝组织的炎性坏死,且口服耐受性较好。但也存在耐药风险、无固定疗程、血清学转换率低等不足。2012年亚太肝病年会慢性乙型肝炎诊疗共识推荐:NUCs用于抗病毒治疗时,应优先选择ETV和替诺福韦酯^[1]。国内外对CHB患者抗病毒治疗做了大量研究,但多来源于III期临床试验结果,国内尚需进一步丰富ETV、LAM及LdT在临床中抗病毒治疗效果的长期随访资料,本文对北京协和医院肝炎门诊收治的52例CHB患者长期NUCs抗病毒治疗效果进行回顾性分析,为进一步开展大样本前瞻性队列研究提供参考。

资料与方法

一、研究对象

收集2008年6月至2011年12月于北京协和医院肝炎门诊就诊的慢性乙型肝炎患者共52例。纳入标准:①符合《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》中慢性乙型肝炎的诊断标准^[2];②既往6个月内未接受抗病毒治疗者;③自服抗病毒药起随访超过24周。排除标准:合并人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)、甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)、戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)感染者。病毒学突破定义为治疗过程中,相隔1个月的连续两次检查,血清HBV DNA载量较获得应答后的最低值的上升均 $> 1 \log_{10}$ 拷贝/ml。病毒反弹定义为患者治疗后获得病毒学应答,虽继续治疗,HBV DNA升高 $\geq 20\,000$ IU/ml或高于治疗前水平^[2]。

二、方法

1. 治疗药物:核苷(酸)类药物包括:拉米夫定,100 mg/d, 1次/d;阿德福韦酯,10 mg/d, 1次/d。恩替卡韦,0.5 mg/d, 1次/d;替比夫定,600 mg/d, 1次/d。

2. 实验室检查:乙型肝炎病毒表面标志物采用电化学发光法检测,采用美国雅培公司试剂盒,仪器为Abbott i2000。HBeAg/HBeAb检测下限参考值为HBeAg < 1.0 S/O, HBeAb > 1.0 S/O。肝功能指标检测采用全自动化生化分析仪Olympus AU5400,丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)正常值为0~40 U/L。HBV DNA载量的检

测采用PCR定量分析仪Light Circular 480,检测下限为 10^3 拷贝/ml。HBV DNA耐药检测采用Roche Taqman 48和ABI 3100分析仪,试剂购自上海申友生物技术有限公司。

分别于治疗后24周、48周、72周、96周、120周、144周和168周评价患者的生物化学以及病毒学指标。

三、统计学处理

采用SPSS 12.0软件进行统计学分析,正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布计量资料,用中位数和极差表示。计数资料采用 χ^2 检验,计量资料用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、入组患者基线特征

共收集到符合纳入标准的慢性乙型肝炎患者52例,最长随访时间为168周,中位随访时间为96周(48~168周)。其中,初始应用ETV患者22例(42.3%),应用LAM者20例(38.5%),LdT者8例(15.4%),初始联合应用LAM + ADV者2例(3.8%),无初始ADV单药治疗病例。其中2例ETV治疗患者,因经济条件因素在治疗16周时改为LdT治疗。将初始ETV治疗组(20例)与LAM/LdT治疗组(28例)进行疗效比较。2例初始联合用药患者及2例16周更改药物患者不予入组比较。两组患者基线资料中,所有指标差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表1。

二、病毒学应答

治疗48周、96周和144周两组患者HBV DNA降至检测下限的比率分别为:ETV组:10/13(76.9%),5/5(100%)和5/5(100%);LAM/LdT治疗组:18/25(72.0%)、9/10(90%)和5/8(62.5%)。两组差异无统计学意义(P 分别为1.0、1.0、0.231),见图1。

三、生化学应答

治疗48周、96周和144周后两组患者ALT复常率分别为:ETV组:12/15(80%)、4/7(57.1%)和3/5(60%);LAM/LdT组:19/22(86.4%)、11/11(100%)和8/9(88.9%)。治疗96周时,两组差异有统计学意义($P = 0.043$),而治疗48周、144周时,两组差异无统计学意义(P 分别为0.670, 0.505),见图1。

表1 两组患者的基线特征

组别	例数	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别 (男/女, 例)	家族史 (+/-, 例)	HBeAg (+/-, 例)
ETV组	20	39.7 \pm 11.7	17/3	4/16	11/9
LAM/LdT组	28	44.8 \pm 14.6	20/8	7/21	21/7
统计量		$t = 1.254$	$\chi^2 = 0.569$	$\chi^2 = 0.003$	$\chi^2 = 1.296$
P		0.216	0.450	0.954	0.255

组别	例数	HBV DNA (\log_{10} 拷贝/ml, $\bar{x} \pm s$)	ALT (U/L)	肝硬化 (例)	肝癌 (例)	既往治疗史 (例)
ETV组	20	6.32 \pm 1.06	131.5 (20~1375)	3	2	4
LAM/LdT组	28	6.19 \pm 1.44	77.0 (37~1584)	6	1	4
统计量		$t = 0.100$	$t = 0.336$	$\chi^2 = 0.035$	$\chi^2 = 0.762$	$\chi^2 = 0.017$
P		0.738	0.447	0.851	0.091	0.896

表2 发生病毒学突破的患者临床特征

患者编号	年龄 (岁)	性别	HBeAg	基线HBV DNA (\log_{10} 拷贝/ml)	既往治疗史	初始治疗药物	病毒学突破时间 (周)	最高HBV DNA (\log_{10} 拷贝/ml)	HBV耐药位点
1	31	男	(+)	7.73	有	LdT	72	7.73	L801+/rtm204I+/
2	45	男	(+)	4.90	无	LdT	72	5.79	rtm204I+
3	24	男	(+)	8.04	无	LAM	72	8.04	未测
4	57	男	(+)	4.95	无	LAM	48	7.45	未测
5	27	男	(+)	3.97	无	LAM	120	5.80	rtI180M+ /rtm204I+/
6	20	男	(+)	6.60	无	LAM	24	7.83	未测
7	50	女	(-)	5.96	无	LAM	48	6.54	未测
8	38	男	(+)	5.85	无	ETV ^a	120	8.48	rtI180M+/rtm204I/V/S+

注：^a：8号患者16周后换LdT治疗

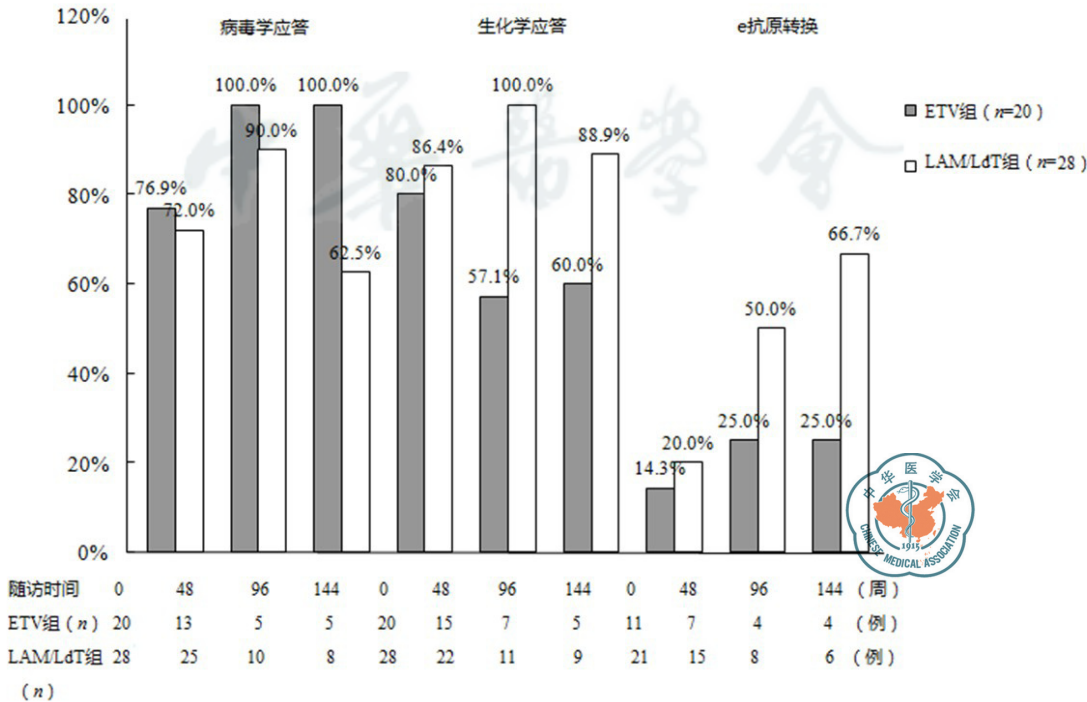


图1 两组药物治疗的总应答情况

四、e抗原血清学转换

ETV组中HBeAg阳性患者11例, LAM/LdT组中HBeAg阳性患者21例, 治疗48周、96周、144周后, ETV组患者e抗原血清学转换率分别为1/7 (14.3%)、1/4 (25%) 和1/4 (25%), LAM/LdT组分别为3/15 (20%)、4/8 (50%) 和4/6 (66.7%)。两组差异无统计学意义 (P 分别为1.0、0.576、0.524), 见图1。其中1例LAM患者在24周时发生了HBeAb阳转, 随后在48周时发生了HBeAg阴转, 实现了血清学转换。

另外, 未入组比较的4例慢性乙型肝炎患者中2例在16周由ETV改为LdT治疗的患者均为HBeAg阳性, 其中1例治疗至96周实现病毒学抑制, 144周时发生了e抗原血清学转换。另外2例初始LAM联合ADV治疗的患者, 其中1例HBeAg阳性, 治疗24周时达到持续的病毒学抑制和ALT复常, 96周时发生e抗原血清学转换; 另1例HBeAg阴性患者于24周取得病毒学抑制和ALT复常。

52例患者均未发生HBsAg阴转或血清学转换。

五、病毒学突破和耐药

ETV组未见病毒学突破者, LAM/LdT组累积病毒学突破率为25% (7/28), 如表2所示编号第1~7号患者。其中LAM治疗者5例, 耐药率为25% (5/20), LdT治疗者2例, 耐药率为25% (2/8)。1号患者LdT治疗至72周发生病毒学突破, 该患者2年前有6个月的LdT治疗史。2号LdT治疗患者, 72周发生病毒学突破, 并检测到LAM、LdT和ETV均耐药, 改用LdT + ADV联合治疗后, 96周时发生病毒学抑制, 但120周时病毒再次反弹。3号LAM治疗患者72周发生病毒学突破, 改用LAM + ADV联合治疗后, 至144周仍未实现病毒学抑制。4号患者合并肝硬化, LAM治疗至24周出现病毒学抑制, 48周发生了病毒学突破。5号患者给予LAM治疗至96周实现病毒学抑制, 但120周即出现反弹, 改为LdT治疗半年, 仍未实现病毒学抑制, 且检测到LAM和LdT耐药。该患者服药初1年内有间断服药现象。6号患者, 应用LAM至12周实现病毒学抑制, 但24周即反弹至 6.7×10^7 拷贝/ml。7号LAM患者, 至72周实现病毒学抑制, 但96周时发生病毒学反弹。

另外, ETV治疗16周改为LdT的8号患者, 随访至120周发生病毒学突破, 检测到对LAM、LdT和ETV均耐药。

本研究中两组患者药物不良反应少见, 其中1例LdT治疗患者随访至48周, 因肌酸激酶升高至

1760 U/L而改用LAM治疗, 并实现持续病毒学抑制。

讨 论

我国进行的一项研究显示, 仅19%的CHB患者接受了抗病毒治疗, 73%的内科医生对CHB患者仅采用中药或保肝药物治疗, 38%的患者相信虚假药品广告^[3]。抗病毒药物治疗的宣传教育还任重道远。ALT反复升高和持续的高病毒载量 (HBV DNA $> 10^4$ 拷贝/ml), 是发生肝硬化和肝细胞癌等并发症独立的危险因素^[4-6]。ALT复常及抑制HBV DNA复制是抗病毒治疗的重要目标。

对于e抗原阳性CHB患者, 抗病毒治疗后必须实现持久的e抗原血清学转换才能达到满意治疗终点^[7]。国内外随机对照临床试验结果显示, HBeAg血清学转换率随治疗时间延长而提高, LAM治疗1年的e抗原转换率为16%~21%, 治疗3年可达到47%, LdT治疗1年、2年和4年的e抗原转换率分别为22%、30%和42%^[8-9]。本研究中, LAM/LdT组治疗48周、96周和144周后e抗原血清学转换率为20%、50%和66.7%, 与文献报道一致。近期日本学者对474例CHB初治患者的长期随访发现, ETV治疗4年HBV DNA低于检测下限的比率为96%, ALT复常率为93%, e抗原血清学转换为38%, 耐药率为0.4%^[10]。另一项针对亚洲人群的研究发现, e抗原阳性的初治CHB患者, ETV治疗5年HBV DNA低于检测下限的比率为95%, ALT复常率为76%, e抗原血清学转换为16%, 未发现病毒耐药^[11]。本研究中患者共随访3年, ETV组患者HBV DNA低于检测下限的比率较LAM/LdT组高, 但ETV组生化应答低于LAM/LdT组, 在96周时, 两组药物差异有统计学意义。e抗原血清学转换率亦低于LAM/LdT组, 但两组差异无统计学意义。

抗病毒治疗的理想目标是发生HBsAg的血清学转换。既往研究发现, LAM、LdT和ADV治疗的CHB患者HBsAg的年清除率与天然存在的HBV差别不大 (0.5%~1%)。而用ETV、TDF长期治疗后的HBeAg (+) 患者, 发生HBsAg血清学转换增加, ETV治疗2年HBsAg阴转率为5%, TDF治疗4年的HBsAg阴转率达到8%^[12-14], 与聚乙二醇化干扰素长期治疗 (4年) 的效果接近。但与干扰素不同的是, 对HBeAg (-) 患者中, 延长NUCs药物治疗的时间并不能增加HBsAg阴转率^[14]。本研究52例随访患者中无1例发生HBsAg阴转。

在耐药方面, 国外数据显示LdT 治疗1年和2年耐药发生率在e抗原阳性的患者为4.4%和21.6%, e抗原阴性患者为2.7%和8.6%^[15]。LAM耐药风险较高, 5年耐药风险累积达65%~70%。ETV耐药风险极低, 6年累积发生率为1.2%^[16]。本次研究发现, LAM/LdT组累积病毒学突破率为25%, ETV组未见病毒学突破, ETV组耐药率低于LAM/LdT组。耐药位点检测可看出, 最常见的耐药位点为rt M204I + (4/8), 其次为rt L180M + (2/8), 提示对LAM和LdT均耐药。既往研究表明, 在rt M204V + rt L180M变异的基础上, 联合rt T184, rtS202 或rtM250中至少1个位点变异, 会导致ETV耐药^[17]。rtM204I 位点的变异, 无论是否联合rt L180M, 会使ETV治疗的敏感性降低3~21倍^[18]。因此, 在发生LAM或LdT耐药后, 应联合ADV或换用TDF继续抗病毒治疗。另外, 患者特征分析可以看出, 3、5、6号患者年龄为20~27岁, 较为年轻, 用药后病毒反弹较快, 突破后病毒载量高。推测此类患者可能处于免疫耐受期, 即使肝功能异常, 亦应先排除其他引起肝功能异常的原因再用药, 否则引起耐药的可能性大, 也应在临床上引起警惕。另外, 既往不规律用药史, 间断服药及合并肝硬化, 也可能是病毒学应答不佳的原因。

NUCs药物总体的安全性和耐受性较好, 严重不良反应罕见。随访患者中, 仅有1例LdT治疗患者出现了肌酸激酶的升高, 伴随肌无力、肌痛症状, 后改为LAM治疗后症状好转。综上所述, 本研究对慢性乙型肝炎患者长期NUCs药物抗病毒治疗疗效进行分析, 随访至3年余, 多数慢性乙型肝炎患者可达到病毒学抑制和ALT复常, 部分患者发生e抗原血清学转换, ETV组未出现耐药, LAM/LdT组耐药率较高。本研究为回顾性研究, 研究者对医生与患者均未进行干预, 尚存在患者例数较少, 随访资料不完整等局限性, 还需进行大样本的前瞻性队列研究。

参 考 文 献

- Liao YF, Kao JH, Piravithu T, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2012 update. *Hepatol Int*, 2012, 6(3):531-561.
- 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年更新版. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2011, 5(1):79-100.
- Lu FM, Zhuang H. Management of hepatitis B in China. *Chin Med J (Engl)*, 2009, 122(1):3-4.
- Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*, 2006, 295(1):65-73.
- Iloeje UH, Yang HI, Su J, et al. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*, 2006, 130(3):678-686.
- Yuen MF, Tanaka Y, Fong DY, et al. Independent risk factors and predictive score for the development of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B. *J Hepatol*, 2009, 50 (1):80-88.
- European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol*, 2012, 57(1):167-185.
- Dienstag JL, Schiff ER, Wright TL, et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B in the United States. *N Engl J Med*, 1999, 341(17):1256-1263.
- Lai CL, Gane E, Liaw YF, et al. Telbivudine versus lamivudine in patients with chronic hepatitis B. *N Engl J Med*, 2007, 357(25):2576-2588.
- Ono A, Suzuki F, Kawamura Y, et al. Long-term continuous entecavir therapy in nucleos(t)ide-naïve chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*, 2012, 57(3):508-514.
- Pan CQ, Tong M, Kowdley KV, et al. High rates of viral suppression after long-term entecavir treatment of Asian patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2012, 10(9):1047-1050.
- Wursthorn K, Junf M, Riva A, et al. Kinetics of hepatitis B antigen during 3 years of telbivudine treatment in hepatitis B e antigen positive patients. *Hepatology*, 2010, 52(5):1611-1620.
- Gish RG, Chang TT, Lai CL, et al. Loss of HBsAg antigen during treatment with entecavir or lamivudine in nucleoside-naïve HBeAg-positive patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hep*, 2010, 17(1):16-22.
- Heathcote EJ, Marcellin P, Buti M, et al. Three-year efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate treatment for chronic hepatitis B. *Gastroenterology*, 2011, 140(1):132-143.
- Sonneveld MJ, Janssen HL. Chronic hepatitis B: peginterferon or nucleos(t)ide analogues? *Liver Int*, 2011, 31(Suppl 1):78-84.
- Tenney DJ, Pokornowsky KA, Rose RE, et al. Entecavir maintains a high genetic barrier to HBV resistance through 6 years in naive patients. *J Hepatol*, 2009, 50(Suppl 1):S10.
- Locarnini S. Primary resistance, multidrug resistance, and cross-

resistance pathways in HBV a consequence of treatment failure. Hepatol Int,2008,2(2):147-151.

resistance and patient virologic response. J Hepatol,2008,48(6):895-902.

- 18 Baldick CJ, Egger BJ, Fang J, et al. Hepatitis B virus quasispecies susceptibility to entecavir confirms the relationship between genotypic

(收稿日期: 2012-12-07)

(本文编辑: 孙荣华)

程兆晶, 周宝桐, 刘晓清. 慢性乙型肝炎患者长期应用核苷(酸)药物抗病毒疗效[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(2): 181-186.



中华医学会