

• 综 述 •

中医药对拉米夫定所致乙型肝炎病毒变异的影响评述

王 健 冯全生* 范昕建 王恩成 张 磊 莘蒙蒙 张 凤

(成都中医药大学, 四川省成都市金牛区十二桥路 37 号, 610075)

基金项目:“十二五”国家科技重大专项资助项目(2012ZX10005001);

国家自然科学基金资助项目(81072718);四川省科技支撑计划资助项目(2010SZ0047)

* 通讯作者: fengqs118@163.com, 13688120528

[摘 要] 拉米夫定在治疗慢性乙型肝炎方面疗效确切,但长期使用可引起乙型肝炎病毒(HBV)变异,出现耐药,从而影响抗病毒疗效,是目前临床急需解决的重要问题。从证型、虚实状态及体质等与 HBV 变异的研究进行归纳分析;从中医药调节机体免疫力、增强拉米夫定抗病毒作用等方面探讨了中医药影响拉米夫定所致 HBV 变异的机制。明确了中医药联合拉米夫定确能增强疗效,但其拮抗 HBV 变异机理还需进一步研究。

[关键词] 乙型肝炎病毒;拉米夫定;病毒变异

目前临床上用于抗乙型肝炎病毒(HBV)的药物主要有核苷类药物及干扰素两类,其中拉米夫定作为第一种用于治疗慢性乙型肝炎的核苷(酸)类似物,上市早,是抗 HBV 药物中的首选药物,疗效确切,可以显著抑制病毒复制,减轻肝脏炎症,改善临床生化指标,但长期使用可引起 HBV 变异,导致病毒耐药。

根据已公布的拉米夫定治疗慢性乙型肝炎(CHB)初治患者的关键性临床试验数据计算,1~5 年累积耐药发生率分别为 24%、38%、49%、67%与 70%^[1]。我国研究显示,该药在治疗 6 个月以后,1 年时耐药发生率为 14%~32%,4 年时可达 72%,且部分患者易出现病情反复,甚至明显加重^[2]。中医药干预拉米夫定耐药发生有明显的优势,能减少耐药的发生并能抑制病毒复制、防止病情继续恶化,有很广阔的应用前景^[3],但其作用机制尚待进一步研究阐明。

1 中医学对变异的认识

拉米夫定所致的 HBV 变异由多种因素决定。兰青^[4]认为,主要与病毒基因型、服用时间、准种变异、宿主免疫状态、病毒复制等有关;徐杰等^[5]通过对 310 例 CHB 患者进行研究,得出基线血清丙氨酸氨基转移酶(ALT) < 5 U/L、血清 HBV-DNA 载量 $\geq 10^7$ copies/ml 的 CHB 患者及治疗前合并肝硬化失代偿期者 YMDD 变异发生率明显增高。这与中医学疾病的发生发展过程中正邪斗争相似,正气、邪气的强盛与病毒变异有一定的联系,且不同的病理状态对应不一样的中医证型,如邢练军等^[6]通过

大样本的临床回顾性调查发现,各证型与病毒复制之间的关系为肝郁脾虚 > 肝胆湿热 > 瘀血阻络 > 肝肾阴虚 > 脾肾阳虚。

1.1 证型与变异

辨证论治是中医学的核心思想,同一种疾病不同证型之间有着不同的临床表现,反应了机体不同的生理、病理状态;对于拉米夫定所致的病毒变异不同证型存在一定的区别。缪锡民等^[7]报道,用拉米夫定治疗 12、18 个月时,病毒变异存在差异,瘀血阻络组最高,肝肾阴虚组次之,肝郁脾虚组和湿热中阻组最低;这可能与不同证型之间免疫功能不同有关。王振常等^[8]研究发现,肝郁脾虚证、肝肾阴虚证和脾肾阳虚证的 CD4 渐降而 CD8、CD4/CD8 渐升;湿热中阻证 CD8 明显降低而 CD4/CD8 渐高;IgM、IgG 水平在湿热中阻、瘀血阻络证高于肝郁脾虚、脾肾阳虚、肝肾阴虚证;且各证型的细胞因子及 C3 水平与正常对照组相比均有明显差异,肝郁脾虚、肝肾阴虚、脾肾阳虚组 C3 水平明显低于湿热中阻、瘀血阻络组。王见义等^[9]将初治的 515 例 CHB 患者进行研究,发现 CD4 水平在湿热中阻证中最高;CD8 水平在脾肾阳虚证中最高;血 IgM、IgG 水平在湿热中阻证中最高。

1.2 虚实与变异

中医学认为,CHB 患者中,多为湿热疫毒之邪偏胜所致。若正气盛,邪正斗争剧烈,临床表现即以实证证候为主。若机体正气不足,邪正斗争并不剧烈,无力抗邪,邪恋不去,临床表现即以虚证或虚实夹杂证候为主。因致病因素的改变(基因变异),机

体的反应性亦随之发生变化,正邪之间相互作用状态影响着中医证候之间的转换。张玮等^[10]对 48 例 HBV-YMDD 变异患者进行分析,发现实证患者变异明显高于虚证患者。杨玲等^[11]报道,CHB 虚证和实证患者的机体免疫状态不同,实证患者 HBV 前 C 区突变率明显高于虚证者。实证(湿热中阻、瘀血阻络)患者免疫功能较强,有很强的免疫应答来清除病毒,病毒发生变异可能性更高。中医学认为,HBV 是湿热难缠之邪,在疾病的发展过程中占主导地位,它可使病情迁延反复,丛生变证。湿热之渐可导致气滞、血瘀,而血瘀又是 CHB 的病理特征。湿与热、瘀互结,与毒相搏,使病情更加复杂。故而在服用拉米夫定以后有湿热、有瘀血的患者就更容易发生变证。虚证(肝郁脾虚、肝肾阴虚和脾肾阳虚)患者免疫功能低下,感染 HBV 后并没有很强的免疫应答来清除病毒,HBV 发生变异的可能性很小,但是长期应用拉米夫定的情况下,病毒自身为了逃避这种药物抑制,部分 HBV 可能发生变异,并逐渐成为优势毒株,进而产生耐药。

1.3 体质与变异

中医体质理论是中医学的基本内容之一,它是生命个体的人为研究出发点,以研究不同体质构成特点、演变规律、影响因素、分类标准,从而应用于指导疾病的预防、诊治为目的。在相同的致病因素作用下,体质的差异决定了疾病的发生、性质、发病部位、传变以及预后。CHB 患者中医体质类型分布主要以湿热质、气虚质、气郁质最为多见;其中男性以湿热质、气虚质、痰湿质多见,女性以气郁质、气虚质、湿热质多见;湿热质、气郁质以青壮年为主要发病人群,而气虚质以年老体虚者居多^[12]。罗玮敏^[13]对 129 例接受拉米夫定治疗的 CHB 患者进行研究,发现发生耐药患者中,气虚质>阴虚质>湿热质>阳虚质>痰湿质>其他体质>平和质;未发生耐药患者中,平和质>湿热质>其他体质>痰湿质、气虚质、阴虚质>阳虚质,体质类型和耐药的发生有显著关系;这可能说明了气虚质、阴虚质、痰湿质、湿热质、阳虚质可能是 CHB 患者应用拉米夫定治疗时较容易发生耐药的体质基础。

2 中医药影响病毒变异的机理探讨

2.1 调节机体免疫功能

病毒性肝炎患者机体免疫功能低下,尤其是细胞免疫功能低下,是导致发病和使病情趋向慢性化、病毒变异的重要原因,目前研究显示,中药拮抗病毒变异的机制主要与其调节机体免疫能力、改善内环

境,特别是细胞免疫相关。刘肆辉等^[14]对 CHB 患者 120 例加用中药干预,治疗 1 年,通过流式细胞仪检测树突状细胞(DC)的功能,发现观察组病毒变异率为 10.0%,对照组病毒变异率为 16.7%;治疗后观察组树突状细胞表型 CD1a、CD80、CD86、HLA-DR、ICAM-1,与对照组相比,差异有统计学意义。涂燕云等^[15]研究认为,拉米夫定联合疗肝 3 号有调节 CHB 患者细胞免疫水平的作用,可减少 YMDD 变异的发生。卜松其^[16]用自拟方(黄芪、叶下珠、土茯苓、虎杖、白花蛇舌草、赤芍、丹参)治疗 CHB 患者(轻度、中度)发现其拮抗耐药机制可能与中药复方参与体内细胞免疫和体液免疫过程,进而影响淋巴细胞、巨噬细胞、白细胞介素 2、干扰素、DNA 多聚酶等有关。景博琼等^[17]认为,中药方剂能减少 HBV-DNA-YMDD 变异的机理可能与清肝解毒汤能增强机体免疫力,使机体与 HBV 野生株,即未发生 YMDD 变异的乙肝病毒达到动态平衡有关。

2.2 作用于 DNA 多聚酶、核内切酶,影响病毒 P 基因减少变异,抑制病毒合成

中药除了通过调节机体免疫力影响病毒变异外,还可能直接作用病毒基因变异区,减少变异。如金祥宁等^[18]认为可能与中药汤剂中某些成分增强了拉米夫定与 P 基因位点的结合能力,从而抑制病毒的逆转录及复制过程;同时可能具有稳定 P 基因 B 区和 C 区的作用,或阻止拉米夫定对两个区域的影响,从而减少了变异的发生。陈泽雄等^[19]对 104 例 CHB 患者联用中药治疗 52 周时观察并比较两组患者血清 YMDD 情况,发现治疗组患者 YMDD 检出率为 9.6%,较对照组 25.0%低($P<0.05$),其预防变异的机制可能是辨证用药加半枝莲、蜂房、贯众、虎杖等能增强拉米夫定与 HBV 多聚酶的结合,稳定 HBV 多聚酶 C 结构域,使拉米夫定对 C 区影响减少。黄敏华等^[20]认为,自拟扶正解毒汤可能与拉米夫定产生协同作用,并具有较强的免疫调节、多靶点的抗病毒和抗肝损伤等作用,进而拮抗耐药的发生。

联合中药干预比单独使用拉米夫定的 YMDD 变异率低,抗病毒与中药的联合干预通过不同的作用靶位,抑制 HBV 的复制和表达,降低 YMDD 变异^[21]。如单味中药苦参其主要成分为氧化苦参碱,体外试验研究表明,氧化苦参碱对 HBV-DNA 转染的 HepG2-2.2.15 细胞分泌 HBsAg 和 HBeAg 有抑制作用,在一定范围内随着药物浓度增加及作用时间延长,抑制率逐渐增高^[22]。氧化苦参碱进入人体

后分布集中于肝脏,血药浓度相对较高,进入受病毒浸染的肝细胞后,能迅速封闭乙肝病毒 cccDNA 的遗传信息,暴露的离子键激活核内切酶对病毒 DNA 的复制模板进行杀灭,同时苦参素能够改变肝细胞浆的生化特性,使潜伏期的病毒失去必需的生存环境而死亡;氧化苦参碱的化学结构与嘌呤的结构类似又有所不同,其在细胞或体内可干扰乙肝病毒核酸的合成^[23]。胡晓萍等^[24]对 60 例 CHB 患者采用拉米夫定联合苦参素治疗,发现苦参素能在一定程度上提高治疗 CHB 的疗效并可减少 YMDD 变异。

3 结语

目前针对拉米夫定治疗后 HBV 所发生的病毒变异所进行的中医药防治研究取得了一定进展,主要在于联合中医药后可以有效地预防或减少病毒变异,并提高病毒的抑制率,改善肝功能以及一旦发生病毒变异后联合中药又可以有效地治疗变异等方面。中医药拮抗拉米夫定所致病毒变异大致可以归结于其能调节机体免疫力、增强拉米夫定的作用及一定的抗病毒作用,同时稳定病毒 P 基因,进而减少或抑制变异的发生。目前的研究所存在主要问题是:病例数相对较少,方法学上尚需进一步严格设计,需引进系统生物学、分子生物学、循证医学相关理论及先进的研究方法,且尽量采取大样本、多中心、高质量、随访时间足够的随机双盲对照试验及新的检测方法如基因芯片技术、DNA 测序法^[25]等进一步研究证实。这对进一步阐明中医中药作用机制,充分发挥传统医学的优势具有重要意义。

参考文献

- [1] 乙型肝炎病毒耐药专家委员会. 乙型肝炎病毒耐药专家共识[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2009, 3(1): 43-47.
- [2] 拉米夫定临床应用专家指导小组. 2003 年拉米夫定临床应用专家共识[J]. 中华传染病杂志, 2003, 21(4): 303-304.
- [3] 李筠, 白云峰, 周双男. 中医及中西医结合干预拉米夫定耐药的研究进展[J]. 传染病信息, 2008, 21(3): 147-149.
- [4] 兰青. 拉米夫定与乙型肝炎病毒 YMDD 变异的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(6): 918-920.
- [5] 徐杰, 刘双燕. 长期应用拉米夫定诱发 YMDD 变异相关影响因素分析[J]. 吉林医学, 2010, 31(34): 6241-6242.
- [6] 邢练军, 李光. 乙肝辨证分型与病毒复制关系的初步研究[J]. 辽宁中医杂志, 2001, 28(12): 710.
- [7] 缪锡民, 章亮. 慢性乙型肝炎 YMDD 变异与中医证型的临床研究[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(6): 702-703.
- [8] 王振常, 毛德文, 黄彬, 等. 慢性乙型肝炎中医证型与免疫功能关系的初步研究[J]. 广西中医药, 2009, 32(4): 8-11.
- [9] 王见义, 韩向晖, 王灵台, 等. 慢性乙型肝炎中医证型与免

疫功能的相关性研究[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(9): 35-36.

- [10] 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.
- [11] 杨玲, 盛国光, 李瀚旻, 等. 慢性乙型肝炎 HBV 前 C 区基因突变与中医虚实证的关系[J]. 中西医结合肝病杂志, 1998, 8(3): 131-133.
- [12] 黄育华, 高丹. 慢性乙型肝炎的中医体质规律研究[J]. 中西医结合肝病杂志, 2012, 22(5): 271-272.
- [13] 罗玮敏. 中医体质与慢性乙型肝炎患者耐药相关性的研究[J]. 中外健康文摘, 2011, 8(48): 73-74.
- [14] 刘肆辉, 张永华, 郭艳, 等. 辨证施治对拉米夫定治疗慢性乙肝增效作用及其对树突状细胞功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(12): 2752-2756.
- [15] 涂燕云, 张红星, 陈枝俏, 等. 拉米夫定联合治疗 3 号对乙型肝炎病毒 YMDD 变异的影响及机制分析[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(5): 730-732.
- [16] 卜松其. 联合中药治疗对拉米夫定耐药率影响的初步观察[J]. 实用中医内科杂志, 2009, 23(5): 76-77.
- [17] 景博琼, 王宏峰, 徐菲莉. 拉米夫定联合清肝解毒汤对肝郁脾虚型慢性乙型肝炎多聚酶基因变异的影响[J]. 地方病通报, 2010, 25(2): 20-22.
- [18] 金祥宁, 郑海文, 李旭升, 等. 拉米夫定联合扶正复肝方治疗慢性乙型肝炎及对 YMDD 变异的临床研究[J]. 实用中西医结合临床, 2007, 7(5): 15-16.
- [19] 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.
- [20] 黄敏华, 陈建平, 徐夷, 等. 自拟扶正解毒汤联合拉米夫定治慢性乙型肝炎过程中 YMDD 变异 45 例[J]. 江西中医药, 2009, 40(3): 32-33.
- [21] 白松林, 扈晓宇, 钟森. 拉米夫定联合中药干预慢性乙型肝炎发生 YMDD 变异的系统评价[J]. 浙江中西医结合杂志, 2008, 18(11): 715-716.
- [22] Zeng Z, Wang GJ, Si CW. Basic and clinical study of oxyma-trine on HBV infection[J]. J Gastroenterol Hepatol, 1999, 14(Suppl): 295-297.
- [23] 杨林, 王化猛, 张学武, 等. 治疗慢性乙型肝炎选择联合应用拉米夫定与苦参素的基础研究[J]. 中医临床研究, 2010, 2(14): 11-13.
- [24] 胡晓萍, 赵中夫. 拉米夫定联合苦参素治疗慢性乙型肝炎疗效及对 YMDD 变异的影响[J]. 山西中医学院学报, 2009, 10(6): 61-63.
- [25] 王秋平. 乙型肝炎病毒 YMDD 变异检测方法的新进展[J]. 中华医院感染学杂志, 2011, 21(1): 209-210.

(收稿日期: 2012-12-31; 修回日期: 2013-01-13)

[编辑: 黄健]