

拉米夫定联合日达仙治疗慢性乙型肝炎患者三年随访研究

施军平^{1,2}, 郑水凤², 过建春², 项柏康³, 刘雁², 陈群伟² (1. 浙江中医药大学 2003 级博士研究生, 杭州 310053; 2. 杭州市第六人民医院, 杭州 310014; 3. 浙江省中医院, 杭州 310006)

摘要:目的 观察拉米夫定 (LAM) 和日达仙 (ZADAXIN, Tα1) 联合治疗慢性乙型肝炎的长期疗效和安全性。方法 选择 50 例 HBV-DNA、HBeAg 阳性的慢性乙型肝炎患者, 按成组配对原则分为两组, 拉米夫定治疗组 (LAM 组) 和联合治疗组 (LAM + Tα1 组), 每组各 25 例。结果 治疗 1 年时, LAM + Tα1 组 HBeAg 血清转换率为 45.8% 明显高于 LAM 组 9.5% ($P < 0.01$); LAM + Tα1 组 HBV-DNA 阴转率、ALT 复常率和 YMDD 变异发生率分别为 83.3%, 91.7%, 0, LAM 组 HBV-DNA 阴转率、ALT 复常率和 YMDD 变异发生率分别为 61.9%, 90.5%, 4.8% ($P > 0.05$)。治疗 2 年时 LAM + Tα1 组 HBeAg 血清转换率、HBV-DNA 阴转率、ALT 复常率和 YMDD 变异发生率分别为 62.5%, 79.2%, 83.3% 和 8.3%; LAM 组分别为 28.6%, 47.6%, 52.4% 和 33.3% ($P < 0.05$)。治疗 3 年时 LAM + Tα1 组 HBeAg 血清转换率、HBV-DNA 阴转率、ALT 复常率和 YMDD 变异发生率分别为 45.8%, 62.5%, 70.8% 和 16.7%; LAM 组分别为 14.3%, 23.8%, 38.1% 和 52.4% ($P < 0.05$; $P < 0.01$)。治疗 1、2 和 3 年后 LAM + Tα1 组的完全应答率分别为 45.8%, 58.3% 和 41.7% 明显高于 LAM 组的 9.5%, 28.6% 和 14.3% ($P < 0.05$; $P < 0.01$); 两组部分应答率无明显差异 ($P > 0.05$)。LAM + Tα1 组中 1 例出现一过性轻度血清淀粉酶升高, LAM 组中 1 例出现皮疹, 其余均未出现无明显的不良反应。结论 拉米夫定与日达仙联合治疗慢性乙型肝炎, 疗效优于单一用药组, 且非常安全。

关键词: 病毒性肝炎, 乙型; 拉米夫定; 随访研究

中图分类号: R512.620.53 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2007)01-0078-04

A Long-term Observation and Follow-up for Patients with Chronic Hepatitis B after Treatment of Lamivudine with ZADAXIN (thymosin α1)

SHI Jun-ping^{1,2}, ZHENG Shui-feng², GUO Jian-chun², XIANG Bo-kang³, LIU Yan², CHEN Qun-wei² (1. Zhejiang Tradition Chinese Medical College, Hangzhou 310053, China; 2. Hangzhou Sixth Hospital, Hangzhou 310014, China; 3. Zhejiang Traditional Chinese Medical Hospital, Hangzhou 310006, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Current treatments for chronic hepatitis B are suboptimal. In the search for improved therapies, we compared the long-term efficacy and safety of Lamivudine (LAM) plus thymosin α1 (ZADAXIN, Tα1) with lamivudine alone for the patients with chronic hepatitis B. **METHODS** 50 patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B was divided into two groups, and received either Lamivudine (100mg daily) plus Tα1 (1.6 mg twice weekly) or Lamivudine alone. Patients were treated for 2 years and followed by an additional one year. **RESULTS** 45.8 percent of the patients achieved HBeAg seroconversion in combination group while 9.5 percent of the patients in LAM group achieved HBeAg seroconversion at the first year ($P < 0.01$), however, HBV DNA load and ALT levels decreased rapidly in two groups ($P > 0.05$). After 2 years follow-up, the patients received Tα1 plus lamivudine got higher HBeAg seroconversion than those received lamivudine monotherapy [62.5 percent vs. 28.6 percent ($P < 0.05$) and 45.8 percent vs. 14.3 percent ($P < 0.05$), respectively]. The ALT normalization was 83.3 percent vs. 52.4 percent ($P < 0.05$) and 70.8 percent vs. 38.1 percent ($P < 0.05$), respectively. And the HBV DNA levels below 1 000 copies per milliliter was 79.2 percent vs. 47.6 percent ($P < 0.05$) and 62.5 percent vs. 23.8 percent ($P < 0.01$), respectively. In the meantime, the patients received Tα1 plus lamivudine had less than those YMDD mutant received lamivudine monotherapy [8.3 percent vs. 33.3 percent ($P < 0.05$) and 16.7 percent vs. 52.4 percent ($P < 0.05$), respectively]. 45.8 percent of patients receiving Tα1 plus lamivudine achieved complete response, as compared with 9.5 percent in the group receiving lamivudine alone at the first year, and the sustained response rates were 58.3% and 41.7% vs. 28.6% and 14.3%, respectively ($P < 0.01$). No serious adverse events were recorded in the two groups. **CONCLUSION** In patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B, Lamivudine plus thymosin α1 offers superior efficacy over lamivudine alone, on the basis of HBeAg seroconversion, HBV DNA suppression, ALT normalization and YMDD mutant.

拉米夫定 (lamivudine, LAM) 是目前抗 HBV 效果比较肯定的药物之一, 可抑制 HBV-DNA 复制。由于拉米夫定的作用机制是抑制 DNA 多聚酶, 而对 HBV cccDNA 无作用, 因此 HBeAg 血清转换率低, 易出现 YMDD 变异, 停药后易反跳, 治疗时间长会出现耐药^[1,2]。肝细胞内的 HBV 能否被清除, 主要取决于机体的免疫清除能力。日达仙 (Thymosin $\alpha 1$, Ta1) 是一种具有较强免疫调节功能的 28 肽小分子蛋白, 可促进 T 细胞的成熟以及加强 T 细胞对抗原的识别, 激活干扰素和一些细胞因子, 如 IL-2 等, 并可活化 NK 细胞。有研究表明拉米夫定联合 Ta1 治疗慢性乙型肝炎患者可显著提高 HBeAg 的阴转率, 近期疗效较好^[3-4], 但 Ta1 有细胞免疫的滞后作用, 起效时间慢^[5], 其长期疗效如何, 目前报道较少见。为探讨两者联合治疗的长期疗效和安全性, 我们对 50 例慢性乙型肝炎进行了 3 年的随访研究, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 诊断标准

诊断标准根据 2000 年 (西安) 全国传染病与寄生虫病学会制定的病毒性肝炎防治方案诊断标准。

1.2 研究病例标准

1.2.1 纳入标准 凡符合慢性乙型肝炎 (轻度) 的临床诊断标准, HBV-DNA 与 HBeAg 均为阳性, 即可纳入研究对象。

1.2.2 排除标准 ①年龄 <12 岁和 >70 岁者; ②合并有心、脑、血液系统等脏器功能严重损伤者, 以及有明显出血倾向和精神病者; ③妊娠或哺乳期妇女; ④合并有其他肝炎病毒和 HIV 病毒感染者。

1.2.3 剔除病例标准 ①观察期间因资料不全, 无法进行效果判断者; ②观察期间发生严重不良反应而被迫中止者; ③观察期间再使用其他抗病毒药物或免疫调节剂者。

1.3 分组和方法

将 2001 年 2 月至 2002 年 4 月在我院住院或门诊诊治的 50 例慢性乙肝患者, 按成组配对原则分为拉米夫定治疗组 (LAM 组) 和联合治疗组 (LAM + Ta1 组), 每组各 25 例。LAM 组拉米夫定片 (苏州葛兰素史克生产) 100mg, 口服, 每日一次, 至少用 2 年。LAM + Ta1 组拉米夫定片 100mg, 口服, 每日一次, 至少用 2 年, 同时给予日达仙 (美国赛生公司生产), 1.6mg, 皮下注射, 每周两次, 连续使用 27 周。停药标准是: ①治疗 1 年, ALT 或 TB 仍不正常者, 且 HBV-DNA 水平定量未下降 2 copies 以上; ②发生 HBV-YMDD 变异者; ③血清学转换半年者。开始 3 个月每周复查肝功能、生化、血常规、乙肝三系和 HBV-DNA, 之后每 3 个月复查上述指标一次; 1 年后开始每 3 个月检测 HBV-YMDD 变异, 追踪 3 年。

1.4 观察项目及检测方法

1.4.1 肝功能和血液生化 用日立 7060 全自动生化仪检测。

1.4.2 血清 HBV 标记物检测 HBsAg, HBeAg 抗 HBe, 抗 HBe 采用罗氏 2010 化学发光法测定。

1.4.3 HBV-DNA 定量和 YMDD 变异检测 均采用荧光定量

PCR 技术测定, PCR 荧光试剂盒由广州中山大学达安生物工程有限公司提供。

1.5 疗效判断

①完全应答: ALT 复常, HBeAg 血清转换, HBV-DNA 转阴; ②部分应答: ALT 复常, 未出现 HBeAg 血清转换, HBV-DNA 转阴; ③无应答: 未达上述标准。

1.6 统计学方法

应用 SPSS10.0 分析软件包, 计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 描述; 配对资料采用 t 检验; 率的比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 失访及停药情况

共失访 5 例, 其中 LAM + Ta1 组 1 例, 由于经济问题终止治疗; LAM 组 4 例中有 1 例服用 1 周后出现皮疹而停用, 1 例自行停药后转变为重型肝炎和 2 例后联用干扰素而不做统计。治疗 2 年后, LAM + Ta1 组中有 6 例, LAM 组中有 4 例符合停药标准而停用, 有 2 例因出现 YMDD 变异改用阿德福韦酯。

2.2 患者治疗前基本情况

治疗前 LAM + Ta1 组共 24 例, 男 22 例, 女 2 例, 年龄 (29.9 ± 8.7) 岁, ALT 为 (133.5 ± 78.6) U/L, HBV-DNA 定量对数值为 8.26 ± 0.94 ; LAM 组共 21 例, 男 18 例, 女 3 例, 年龄 (27.0 ± 5.8) 岁, ALT 为 (112.9 ± 43.4) U/L, HBV-DNA 定量对数值为 8.42 ± 0.55 , 两组具有可比性 ($P > 0.05$)。

2.3 血清 HBeAg 抗 HBe、HBV-DNA 的变化和 YMDD 变异情况

治疗 1 年时, LAM + Ta1 组 HBeAg 阴转率和血清转换率分别为 50%, 45.8% 明显高于 LAM 组 19%, 9.5% ($P < 0.01$); LAM + Ta1 组 HBV-DNA 阴转率和 YMDD 变异发生率分别为 83.3%, 0, LAM 组分别为 61.9%, 4.8%, 两组无显著性差异 ($P > 0.05$)。治疗 2 年时 LAM + Ta1 组 HBeAg 血清转换率、HBV-DNA 阴转率和 YMDD 变异发生率分别为 62.5%, 79.2% 和 8.3%; LAM 组分别为 28.6%, 47.6% 和 33.3% ($P < 0.05$)。治疗 3 年时 LAM + Ta1 组 HBeAg 血清转换率、HBV-DNA 阴转率和 YMDD 变异发生率分别为 45.8%, 62.5% 和 16.7%; LAM 组分别为 14.3%, 23.8% 和 52.4% ($P < 0.05$; $P < 0.01$)。见表 1, 表 2。

2.4 血清 ALT 变化情况

两组在治疗 1 年 ALT 复常率分别为 91.7% 和 90.5% ($P > 0.05$), 但 2 年后两组患者均出现不同程度的 ALT 反跳, 但 LAM + Ta1 组显著低于 LAM 组 ($P < 0.01$); LAM + Ta1 组 2, 3 年 ALT 复常率分别为 83.3% 和 70.8%, 低于 LAM 组的 52.4% 和 38.1% ($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 综合疗效评价

治疗 1、2 和 3 年后 LAM + Ta1 组的完全应答率明显高于 LAM 组, ($P < 0.01$); 两组部分应答率无明显差异 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 1 两组患者治疗 1,2和 3年血清 HBeAg 抗 HBe 的转换情况

Tab 1 HBeAg seroconversion of two groups treatment after 1, 2 and 3 years

组 别	n	HBeAg(-)			HBeAg(-) /HBeAb(+)		
		1年	2年	3年	1年	2年	3年
LAM + Ta1 组	24	12 (50.0 %)	16 (66.7 %)	14 (58.3 %)	11 (45.8 %)	15 (62.5 %)	11 (45.8 %)
LAM组	21	4 (19.0 %)	7 (33.3 %)	6 (28.6 %)	2 (9.5 %)	6 (28.6 %)	3 (14.3 %)
χ^2		4.68	4.98	4.02	7.19	5.18	5.20
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.01	<0.05	<0.05

表 2 两组患者治疗 1,2和 3年血清 HBV-DNA变化和 YMDD变异情况

Tab 2 HBV-DNA loss and YMDD mutan of two groups treatment after 1, 2 and 3 years

组 别	n	HBV-DNA(-)			YMDD变异		
		1年	2年	3年	1年	2年	3年
LAM + Ta1 组	24	20 (83.3 %)	19 (79.2 %)	15 (62.5 %)	0	2 (8.3 %)	4 (16.7 %)
LAM组	21	13 (61.9 %)	10 (47.6 %)	5 (23.8 %)	1 (4.8 %)	7 (33.3 %)	11 (52.4 %)
χ^2		3.14	4.26	6.79	0.005	4.38	5.63
P		>0.05	<0.05	<0.01	>0.05	<0.05	<0.05

表 3 两组患者治疗 1,2和 3年血清 ALT的变化

Tab 3 ALT normalization of two groups treatment after 1, 2 and 3 years

组 别	n	ALT(u /L)			ALT复常率		
		1年	2年	3年	1年	2年	3年
LAM + Ta1 组	24	27.5 ±12.3	53.1 ±17.4	72.8 ±27.6	22 (91.7 %)	20 (83.3 %)	17 (70.8 %)
LAM组	21	31.7 ±15.6	85.3 ±20.9	122.7 ±42.7	19 (90.5 %)	11 (52.4 %)	8 (38.1 %)
χ^2 / t		$t=0.99$	$t=4.01$	$t=4.58$	$\chi^2=0.15$	$\chi^2=5.01$	$\chi^2=4.86$
P		>0.05	<0.01	<0.01	>0.05	<0.05	<0.05

表 4 两组综合疗效比较

Tab 4 The sustained response rates of two groups treatment after 1, 2 and 3 years

组 别	n	1年应答率		2年应答率		3年应答率	
		完全应答	部分应答	完全应答	部分应答	完全应答	部分应答
LAM + Ta1 组	24	11 (45.8 %)	8 (33.3 %)	14 (58.3 %)	4 (16.7 %)	10 (41.7 %)	4 (16.7 %)
LAM组	21	2 (9.5 %)	11 (52.4 %)	6 (28.6 %)	4 (19.0 %)	3 (14.3 %)	3 (14.3 %)
χ^2		7.19	1.67	4.02	0.03	4.22	0.04
P		<0.01	>0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05

2.6 不良反应

治疗过程中,LAM + Ta1 组中 1 例出现轻度血清淀粉酶升高,2周后恢复正常。LAM组中 1 例服用 1 周后出现皮疹,停用后消失,其余均未出现明显的不良反应。治疗过程中血细胞无明显变化,肾功能也无改变。

3 讨论

拉米夫定具有抑制病毒的逆转录酶和 DNA聚合酶的作用,能快速降低血清 HBV-DNA水平,但是对 HBeAg的血清转换效果不理想,且需要长期用药,容易出现病毒变异,停药后也易出现反跳。因此有许多学者主张使用拉米夫定的同时联合应用免疫调节剂,希望在增强机体的免疫清除功能,提高抗 HBV疗效的同时,尽可能减少不良反应。Ta1 是由人工合成的 28 个氨基酸组成的多肽,纯度高,生物活性强,是一种强有力的免疫调节剂;具有抗病毒的活性,提高主要组织相容性抗原 (MHC)的表达。本研究提示单独使用 LAM 后 HBeAg转阴率与国内外报道接近。两者联合治疗,HBeAg转阴率和 HBeAg的血清转换率明显高于单纯使用 LAM,有

很显著的统计学意义,可见 Ta1 能明显地促进 LAM 的抑制乙肝病毒蛋白表达的作用。本研究也显示联合治疗组和 LAM组均能显著降低血清 HBV-DNA和 ALT水平,治疗 1 年时两组结果相仿。但是,随着时间的延长,两组均出现不同程度的 HBV-DNA和 ALT水平的反弹,但联合治疗组两者水平均低于 LAM组,而且仍然保持较高的 HBeAg转阴率和转换率,这可能是 Ta1 可以调节机体的细胞免疫,促进淋巴细胞的成熟,增强辅助性 T淋巴细胞、NK细胞的活性,诱导毒性 T淋巴细胞的活性,清除感染的肝细胞,直接导致 cccDNA 的减少,从而使得病毒蛋白的表达减少^[6-7]。综合疗效分析,联合治疗组完全应答率明显高于单一治疗组,说明 LAM联合 Ta1 更有效地改善肝功能和更持久地抑制乙肝病毒的复制。单一使用 LAM组,治疗 3 年时,有 52.4%患者发生 YMDD变异,与国内外报道一致,但联合治疗后明显降低,仅有 16.7%患者发生 YMDD变异,Ta1 是否能阻止 YMDD变异的出现,需要进一步的研究。

在治疗过程,联合治疗组未发现严重的不良反应,无一

例出现病情加重。因此我们认为 LAM联合 T α 1 可以提高慢性乙肝患者 HBeAg的转阴率和转换率,可快速降低 HBV-DNA的水平,抑制 YMDD变异株的发生,减少停药后的反弹,是一种安全、有效的治疗慢性乙肝方法。

参考文献

- [1] YAO G, WANG B, CUI Z, *et al.* A randomized double-blind placebo-controlled study of lamivudine in the treatment of patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. Chin Med J(中华医学杂志), 1999, 112: 387-391.
- [2] ALLEN MI, DESLAURIERS M, ANDREWS CW, *et al.* Identification and characterization of mutations in hepatitis B virus resistant to lamivudine[J]. Hepatology, 1998, 27: 1670-1677.
- [3] LIN Bing-liang, HUANG Gui-mei, ZHANG Xiao-hong, *et al.* Thymosin- α 1 improving efficacy of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B[J]. Chin J Infect Dis(中华传染病杂

志), 2003, 21(3): 217-220. (in Chinese)

- [4] RASIG, PIER I C, SINIBAL D B, *et al.* Combination therapy in the treatment of chronic viral hepatitis and prevention of hepatocellular carcinoma[J]. Int Immunopharmacol, 2003, 3(8): 1169-1176.
- [5] MUTCHNICK MG, LINDSAY KL, SCHILLER, *et al.* Thymosin alpha treatment of chronic hepatitis B: results of a phase III multicenter, randomized, double-blind and placebo controlled study[J]. J Viral Hepat, 1999, 6: 397-403.
- [6] SUGAHARA S, ICHIDA T, YAMAGUCHI S, *et al.* Thymosin- α 1 increases intrahepatic NKT cells and CTLs in patients with chronic hepatitis B[J]. Hepatol Res, 2002, 24: 346-354.
- [7] AMARA P D, DAS H S. Thymosin alpha in the treatment of chronic hepatitis B: an uncontrolled open-label trial[J]. Indian J Gastroenterol, 2002, 21(2): 59-61.

收稿日期: 2006-03-10