

肝硬化患者HBV rtA181T突变与肝癌发生相关分析

高歌¹, 徐永红², 张凤娟¹, 韩冬梅³, 边城¹ (1.青岛大学附属医院 感染科, 山东 青岛 266003; 2.青岛大学附属医院 消化内科, 山东 青岛 266003; 3.青岛市传染病医院 临床分子生物学实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 目的 研究HBV相关肝硬化患者核苷(酸)类似物(NUCs)治疗过程中, HCC发生与HBV P区耐药突变模式及患者治疗方案的关系, 为评估HCC发生风险, 指导HBV相关肝硬化抗病毒治疗提供帮助。方法 回顾性分析2012年5月至2014年5月青岛市传染病医院收治的79例基线(治疗前)为HBV相关肝硬化患者, 既往服用NUCs出现疗效不佳或病毒学突破, 此次住院采用焦磷酸测序检测到HBV P区耐药突变患者的临床资料, 根据有无进展为HCC将病例分为肝癌组和对照组, 比较两组间在基线肝硬化水平(代偿期/失代偿期)、基线HBV DNA、基线ALT、基线AST、性别、年龄、HBsAg、HBeAg、AFP及耐药突变模式等方面的差异。根据既往初始用药, 分析初始服用阿德福韦酯(ADV)患者与初始服用拉米夫定(LAM)患者在HCC发生和病毒突变模式上的差异。结果 79例患者中, 有10例进展为HCC。肝癌组患者平均年龄[(58.30 ± 6.40)岁]大于对照组[(51.64 ± 7.69)岁]($t = 2.609$, $P = 0.011$); 肝癌组患者平均AFP水平[(566.24 ± 563.79) ng/ml]大于对照组[(17.32 ± 77.04) ng/ml]($t = -7.879$, $P = 0.000$); 肝癌组出现rtA181T突变的比例(70.0%)、年龄> 50岁患者的比例(100.0%)均显著高于对照组(分别为24.6%、52.2%)($\chi^2 = 6.488$, $P = 0.011$; $\chi^2 = 6.365$, $P = 0.012$)。初始服用ADV出现疗效不佳或病毒学突破患者HCC发生率(23.7%)显著大于初始服用LAM出现疗效不佳或病毒学突破患者(2.8%)($\chi^2 = 5.240$, $P = 0.022$)。结论 HBV相关肝硬化患者NUCs治疗过程中, HBV rtA181T突变可能与HCC的发生有关; 年龄> 50岁的HBV相关肝硬化患者, 服用ADV出现疗效不佳或病毒学突破, 需进行HBV P区耐药突变检测, 并密切监测HCC发生; 肝硬化患者初始服用ADV发生耐药突变较初始服用LAM发生耐药突变可能更容易进展为HCC。

关键词: 肝硬化; 肝炎病毒, 乙型; 核苷(酸)类似物; 突变; 肝细胞癌

Analysis on rtA181T mutant in HBV related and hepatocellular carcinoma in patients with liver cirrhosis
GAO Ge¹, XU Yong-hong², ZHANG Feng-juan¹, HAN Dong-mei³, BIAN Cheng¹ (1.Department of Infectious Diseases, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China; 2.Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China; 3.Clinical Molecular Biology, Infectious Disease Hospital of Qingdao, Qingdao 266003, China)

Abstract: Objective During hepatitis B virus-related cirrhosis patients with nucleos(t)ide analogues (NUCs) treatment, to investigate the relationship between hepatocellular carcinoma (HCC) with hepatitis B virus (HBV) mutations and patient initial taking NUCs. **Methods** The clinical data of 79 patients with baseline for HBV related liver cirrhosis, who experienced poor efficacy or virological breakthrough during NUCs treatment and genotyped by pyrosequencing for 9 mutation sites in the HBV P gene that have been previously correlated to NUC efficacy, were analyzed, retrospectively. Analysis of patients with previous drug use, drug-resistant mutation patterns. According to HCC occurred, we divided 79 patients into two groups to compare the differences in cirrhosis at baseline levels (compensated/decompensated), baseline HBV DNA, baseline alanine aminotransferase (ALT), baseline aspartate aminotransferase (AST), sex, age, HBsAg,

HBeAg and resistance mutation patterns and other aspects of comparison, respectively. According to previous initial application LAM or ADV, patients were divided into two groups to compare the differences in HCC patients and virus mutation patterns, respectively. **Results** HCC patients were found in 12.66% (10/79) of the 79 patients. The average age of HCC group was older than that of liver cirrhosis (LC) group [(58.30 ± 6.40) years old vs. (51.64 ± 7.69) years old; $t = 2.609$, $P = 0.011$]. The serum AFP level at HCC group was higher than that at LC group [(566.24 ± 563.79) ng/ml vs. (17.32 ± 77.04) ng/ml; $t = -7.879$, $P = 0.000$]. The presence of rtA181T mutation and age > 50 years occurred more frequently in HCC group (70.0%, 100.0%) than those in LC group (24.6%, 52.2%) ($\chi^2 = 6.488$, $P = 0.011$; $\chi^2 = 6.365$, $P = 0.012$), respectively. The initial taking ADV or LAM patients were found in 48.10% (38/79) or 45.57% (36/79) of the 79 patients, respectively. HCC occurred more frequently in the initial taking ADV group (23.7%) than that in the initial taking LAM group (2.8%) ($\chi^2 = 5.240$, $P = 0.022$). **Conclusions** During HBV-related cirrhosis patients with NUCs treatment, emergence of the rtA181T mutant might be associated with occurrence of HCC. HBV-related cirrhosis patients who are older than 50 years old and initial taking ADV poor efficacy or virologic breakthrough occurs, needed to detect HBV P gene mutation and close follow-up of HCC development in the subsequent courses of antiviral therapy. An initial dose of ADV-resistant mutation in patients with cirrhosis compared with an initial dose of LAM-resistant mutation may be more likely to progress to HCC.

Key words: Cirrhosis; Hepatitis B virus; Nucleos(t)ide analogue; Mutation; Hepatocellular carcinoma

近年来,我国《慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)》^[1]明确指出应该给予HBV相关肝硬化患者积极、有效的抗病毒治疗。目前我国用于治疗慢性HBV感染的核苷(酸)类似物[nucleos(t)ide analogues, NUCs]主要有5种:拉米夫定(LAM)、阿德福韦酯(ADV)、恩替卡韦(ETV)、替比夫定(LdT)、替诺福韦酯(TDF)。这些药物能够作用于HBV P基因逆转录酶(RT)区,抑制病毒复制,但患者需要长期治疗,容易诱导病毒耐药的产生。来自日本、中国台湾的临床研究分别发现LAM耐药相关的rtM204I、rtA181T/sW172*突变能够增加肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发生风险^[2,3]。研究表明,LAM常见耐药相关突变为rtM204I/M和(或)rtL180M,ADV常见耐药相关突变为rtA181V/T和(或)rtN236T^[4,5]。有关HCC与其他耐药位点突变及患者既往NUCs服用史的相关性报道较少,本文对此进行了初步探讨,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究是在青岛市传染病医院伦理委员会批准下进行的。选择2012年5月至2014年5月青岛市传染病医院收治的HBV相关肝硬化或合并HCC患者79例,其中男性48例,女性31例,年龄(52.48

± 7.82)岁(年龄为此次入院或确诊为HCC时年龄)。

1.2 判定标准 疗效不佳:应用NUCs治疗依从性良好的患者,经过24周治疗,HBV DNA仍可检出。病毒学突破(virological breakthrough):在未更改治疗的情况下,获得部分或完全病毒学应答的患者,其HBV DNA水平较治疗中最低点上升1 log₁₀IU/ml,并在间隔1个月以上的第2次检测证实^[6]。疗效评估指标:参考《乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断评估和抗病毒治疗的综合管理》^[7]、《原发性肝癌诊疗规范(2011年版)》^[8]。

1.3 入组标准 ①既往治疗过程中使用NUCs抗病毒治疗疗程≥ 24周,出现疗效不佳或病毒学突破,此次入院行焦磷酸测序检测到HBV P区耐药位点突变,且其比率≥ 30%;②在使用NUCs抗病毒治疗之前已确诊为HBV相关肝硬化;③在使用NUCs抗病毒出现疗效不佳或病毒学突破之前未检出HCC;④排除合并有甲型、丙型、丁型、戊型肝炎病毒感染,人类免疫缺陷病毒感染,酒精性肝病,非酒精性脂肪肝,自身免疫性肝病,药物性肝炎等。

1.4 方法 采用回顾性研究方法,根据住院记录、门诊病历、电话随访及各项检查结果,收集符合入选标准患者的资料。根据有无进展为HCC将病例分为两组,进展为HCC患者设为肝癌组,未进展为HCC

者为对照组,比较两组患者在基线肝硬化水平(代偿期/失代偿期)、基线HBV DNA、基线ALT、基线AST、性别、年龄、HBsAg、HBeAg、AFP及耐药突变模式等方面的差异。根据既往初始用药,分析初始服用ADV患者与初始服用LAM患者在HCC发生和病毒突变模式上的差异。

1.5 检测方法 HBV P区耐药突变检测采用焦磷酸测序技术(pyrosequencing)进行DNA测序。仪器主要有杭州博日科技有限公司PCR仪,型号为TC-96/G/H(b);德国QIAGEN公司焦磷酸测序仪,型号为PyroMark Q24。试剂主要有日本TaKaRa生产Taq DNA polymerase(Hot Start)、美国GE Healthcare生产strep-tavidin sepharose HP、德国QIAGEN生产PyroMark Gold Q96 Reagent等。HBsAg及HBeAg采用化学发光微粒子免疫检测法,试剂盒购自美国雅培公司。HBV DNA采用荧光定量PCR,试剂为HBV核酸定量检测试剂盒,来源于凯杰生物工程(深圳)有限公司,仪器为美国Stratagene公司PCR扩增仪,其型号为Mx3000p。ALT、AST采用全自动生化分析仪Aeroseet检测。

1.6 统计学处理 采用SPSS 17.0软件进行统计分析。定量资料采用单样本Kolmogorov-Smirnov检验正态性($P > 0.05$ 表示服从近似正态分布)。符合正态分布的资料用 $\bar{x} \pm s$ 描述,采用 t 检验进行比较;不符合正态分布的资料以 $P_{50}(Q_L, Q_U)$ 描述,采用Mann-Whitney检验分析;两组间定性资料的比较采用 χ^2 检验或Fisher's精确概率法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 突变模式及既往用药比较 79例HBV相关肝硬化或合并HCC患者根据既往用药情况分为12组,患者既往用药情况及耐药突变模式见表1。

2.2 肝癌组与对照组在临床变量和病毒学变量方面的比较 79例患者中有10例进展为HCC(表2)。对可能与HCC发生相关的临床因素或病毒学因素进行单因素分析,记时间a(年)为从使用NUCs首次发现疗效不佳或病毒学突破至本次入院或确诊为HCC时间,不足1年忽略不计。记时间b(年)为从确诊

为HBV相关肝硬化至本次入院或确诊为HCC时间,不足1年忽略不计。肝癌组平均年龄及AFP水平显著高于对照组,差异均有统计学意义($t = 2.609$, $P = 0.011$; $t = -7.879$, $P = 0.000$)。肝癌组中,患者年龄 > 50 岁的比例100.0%(10/10)、出现rtA181T突变的比例70.0%(7/10)均显著高于对照组(分别为52.2%、24.6%),差异均有统计学意义($P = 0.012$ 、0.011)。其余变量间差异均无统计学意义,见表3。

2.3 既往初始用药与HCC发生及HBV P区耐药突变 79例患者中,1例初始服用ETV、4例初始服用LdT、36例初始服用LAM、38例初始服用ADV出现疗效不佳或病毒学突破。初始ADV患者HCC发生率(23.7%)显著大于初始LAM患者(2.8%),差异有统计学意义($P = 0.022$);初始ADV患者出现rtA181V、rtA81T突变的发生率显著高于初始LAM患者,差异均有统计学意义(P 均=0.000);初始ADV患者出现rtL180M、rtM204V、rtM204I突变的发生率显著低于初始LAM患者,差异均有统计学意义($P = 0.000$ 、0.003、0.011),见表4。

3 讨论

肝硬化是HCC发生的重要危险因素,HCC是HBV相关肝硬化的重要临床结局。研究显示,有效的抗病毒治疗对改善HBV相关肝硬化临床结局具有重要意义^[9]。但抗病毒过程中产生的耐药,不仅使已取得的疗效丧失,还可增加HCC的发生率^[6]。焦磷酸测序法是目前HBV NUCs耐药突变检测的常用工具,其检测突变灵敏度高,可检测到比例低至2%的突变株^[10]。笔者收集采用焦磷酸测序法检测到HBV P区耐药位点突变比率 $\geq 30\%$ 的患者,特异性强,可信度高。已有学者发现HBV DNA P基因RT区耐药突变,如rtA181T、rtM204I,少数可引起S基因删除突变及错义突变^[5]。Hsieh等^[11]研究证实,前-S1区删除突变以及前-S2区删除突变伴起始密码子突变的大蛋白(large protein, LP)可诱导肝细胞氧化应激及DNA损伤、肝细胞基因组不稳定,从而促进肝癌发生。Yeh等^[3]使用一种高度灵敏的基因突变检测方法,对123例LAM耐药的CHB患者平

表 1 79例HBV相关肝硬化或合并HCC患者既往用药情况及耐药突变模式

组别	用药情况	病例数	突变模式	例数
1	LAM单药	13	rtA181T	1
			rtM204I	4
			rtA181V + rtA181T	1
			rtL180M + rtM204I	4
			rtL180M + rtM204V	3
2	ADV单药	24	rtA181V	4
			rtA181T	4
			rtM204I	2
			rtN236T	2
			rtA181V + rtA181T	7
			rtA181V + rtN236T	1
			rtA181T + rtN236T	1
			rtA181V + rtA181T + rtN236T	2
			rtV173L + rtA181V + rtA181T + rtN236T	1
3	LdT单药	4	rtM204I	3
			rtT184 + rtM204I	1
4	LAM单药出现病毒学突破序贯ETV	2	rtL180M + rtM204V	1
			rtL180M + rtS202 + rtM204V	1
5	LAM单药出现疗效不佳或病毒学突破序贯/联合ADV	9	rtM204V	1
			rtM204I	1
			rtV173L + rtM204V	1
			rtL180M + rtM204V	1
			rtL180M + rtM204I	3
			rtM204I + rtN236T	1
6	ADV单药出现疗效不佳或病毒学突破序贯/联合ETV	8	rtL180M + rtM204V + rtM204I	1
			rtA181V	2
			rtA181V + rtA181T	1
			rtL180M + rtA181V + rtM204V	1
			rtL180M + rtS202 + rtM204V	1
			rtL180M + rtM204V + rtN236T	1
			rtL180M + rtA181V + rtA181T + rtM204V	1
7	ADV单药出现疗效不佳或病毒学突破序贯/联合LdT/LAM	5	rtL180M + rtA181V + rtS202 + rtM204V	1
			rtA181T	1
			rtM204I	1
			rtL180M + rtM204V	1
			rtA181V + rtA181T	1
8	序贯使用ETV、ADV + LAM、LAM	1	rtL180M + rtA181V + rtM204I	1
			rtM204I	1
9	LAM单药出现疗效不佳或病毒学突破序贯/联合ADV后予ADV + ETV	10	rtL180M + rtA181V	1
			rtL180M + rtM204V	3
			rtA181V + rtA181T	1
			rtA181V + rtN236T	1
			rtL180M + rtA181V + rtM204V	1
			rtL180M + rtS202 + rtM204V	3
10	ADV单药疗效不佳联合LAM病毒学突破序贯ETV	1	rtA181V + rtA181T + rtM204I	1
11	LAM单药病毒学突破序贯ETV病毒学突破序贯ADV	1	rtA181V + rtA181T	1
12	依次予LAM、LAM + ADV、ETV、LdT + ADV	1	rtL180M + rtM204V	1

注：LAM：拉米夫定；ADV：阿德福韦酯；LdT：替比夫定；ETV：恩替卡韦

均随访（26.2 ± 16.4）个月，发现年龄 > 50岁、肝硬化、rtA181T突变与肝脏发生严重后果尤其是肝癌的发生明显相关。本研究显示肝硬化基础上

的肝癌患者rtA181T突变发生率显著高于非肝癌患者。这一结论亦支持先前的动物研究和临床研究。因HBV S基因与HBV P基因开放读码框架（open

表 2 10例进展为HCC患者相关信息

编号	性别	入院年龄 (岁)	诊断肝癌时的年龄 (岁)	此次入院检测到突变模式	肝硬化诊断时间	初始服药时间	首次发现疗效不佳或病毒学突破时间	肝癌诊断时间	入院时间	初始服药
1	男	52	52	rtA181V + rtA181T	2006.05	2006.05	2007.05	2012.08	2012.08	ADV
2	男	51	51	rtL180M + rtM204V + rtN236T	2002.08	2006.06	2007.02	2012.08	2012.08	ADV
3	女	73	73	rtL180M + rtA181V + rtA181T + rtM204V	2004.03	2004.03	2005.04	2012.10	2012.10	ADV
4	男	63	61	rtV173L + rtA181V + rtA181T + rtN236T	2009.08	2010.02	2010.10	2010.10	2012.10	ADV
5	男	61	61	rtA181T	2009.04	2009.04	2013.05	2013.05	2013.05	ADV
6	男	54	54	rtA181V + rtA181T + rtN236T	2008.07	2008.07	2013.05	2013.05	2013.05	ADV
7	男	54	54	rtA181T	2005.05	2008.06	2013.03	2013.03	2013.06	ADV
8	女	58	58	rtA181T	2010.08	2010.08	2011.06	2013.03	2013.07	ADV
9	男	51	51	rtA181V	2009.05	2009.05	2013.03	2013.03	2013.07	ADV
10	男	58	58	rtL180M + rtM204V	2009.04	2009.04	2013.10	2013.10	2013.10	LAM

表 3 肝癌组与对照组在临床变量和病毒学变量方面的比较

变量	肝癌组 (n = 10)	对照组 (n = 69)	统计量	P ^c
基线HBV DNA (拷贝/ml, $\bar{x} \pm s$)	4.80 ± 1.03	5.42 ± 1.18	$t = -1.574$	0.120
基线ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$)	77.60 ± 45.50	117.32 ± 162.82	$t = 0.763$	0.448
基线AST (U/L, $\bar{x} \pm s$)	63.90 ± 36.57	91.22 ± 126.42	$t = 0.676$	0.501
基线为失代偿期肝硬化[例 (%)]	3 (30.0)	8 (11.6)	$\chi^2 = 1.172$	0.279
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	58.30 ± 6.40	51.64 ± 7.69	$t = 2.609$	0.011
AFP (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)	566.24 ± 563.79	17.32 ± 77.04	$t = -7.879$	0.000
HBsAg定量 (IU/ml, $\bar{x} \pm s$)	7601.30 ± 2720.56	6933.42 ± 2386.07	$t = 0.813$	0.419
HBsAg定量[S/CO, P ₅₀ (Q _L , Q _U)]	2.73 (0.37, 344.13)	31.31 (1.12, 375.20)	$U = 291.00$	0.426
时间a[年, P ₅₀ (Q _L , Q _U)]	0.00 (0.00, 5.00)	1.00 (0.00, 5.00)	$U = 303.00$	0.509
时间b (年, $\bar{x} \pm s$)	5.30 ± 2.71	5.71 ± 3.18	$t = -0.388$	0.699
男性[例 (%)]	8 (80.0)	40 (58.0)	$\chi^2 = 0.974$	0.324
年龄 > 50岁[例 (%)]	10 (100.0)	36 (52.2)	$\chi^2 = 6.365$	0.012
rtL180M[例 (%)]	3 (30.0)	27 (39.1)	$\chi^2 = 0.043$	0.836
rtA181V[例 (%)]	5 (50.0)	25 (36.2)	$\chi^2 = 0.240$	0.624
rtA181T[例 (%)]	7 (70.0)	17 (24.6)	$\chi^2 = 6.488$	0.011
rtM204V[例 (%)]	3 (30.0)	20 (29.0)	$\chi^2 = 0.000$	1.000
rtN236T[例 (%)]	3 (30.0)	7 (10.1)	$\chi^2 = 1.577$	0.209
合并糖尿病[例 (%)]	1 (10.0)	13 (18.8)	$\chi^2 = 0.058$	0.809
HBsAg阴性[例 (%)]	4 (40.0)	16 (23.2)	$\chi^2 = 0.568$	0.451

注: χ^2 均为校正后的数值; ^c经Bonferroni法校正, $P < 0.025$ 为差异有统计学意义

表4 既往初始用药与HCC发生及HBV基因突变[例 (%)]

组别	例数	HCC	rtL180M	rtA181V	rtA181T	rtM204V	rtM204I	rtN236T
初始ADV	38	9 (23.7)	7 (18.4)	24 (63.2)	20 (52.63)	6 (15.8)	5 (13.2)	8 (21.1)
初始LAM	36	1 (2.8)	23 (63.9)	6 (16.7)	4 (11.1)	17 (47.2)	14 (38.9)	2 (5.6)
χ^2		5.240 ^a	15.854	16.576	14.543	8.527	6.414	2.588 ^a
P ^b		0.022	0.000	0.000	0.000	0.003	0.011	0.108

注: ^a校正的 χ^2 值; ^b经Bonferroni法校正, $P < 0.025$ 为差异有统计学意义

reading frame, ORF) 重叠, 部分P基因RT区耐药突变 (如rtA181T) 与S基因突变共存, 包括终止密

码子突变^[12]。部分rtA181T突变患者在重叠的S ORF观察到能够导致前-S/S蛋白截短的sW172*突变^[13]。

先前的部分研究报道,截短的前-S/S突变体具有反式转录激活作用,截短的前-S2突变体能够反式激活肝癌细胞的染色体整合HBV基因组。这些突变体能够反式激活包括致癌蛋白等的启动子^[14,15]。只有当提前终止密码子存在于S基因的反式激活区域内,反式激活才能发生^[16]。S基因rtA181T/sW172*突变的提前终止密码子位于反式激活区的边境附近,可导致HBsAg分泌受阻并激活猿猴病毒40、原癌基因c-myc启动子等,成为致癌因素^[17,18]。据此,笔者认为HBV相关肝硬化患者NUCs治疗过程中,HBV rtA181T突变可能与HCC的发生具有相关性。日本学者^[2]研究发现LAM耐药相关的rtM204I突变是乙型肝炎相关HCC发生的独立危险因素。Yang等^[19]研究认为,感染基因C型合并有原发rtM204突变的HBV是HBV相关肝硬化患者进展为HCC的独立危险因素。本研究中10例HCC患者无1例出现rtM204I突变,考虑可能原因一方面是rtM204I突变发生率低,另一方面是本研究只观察HBV P区耐药位点突变率 $\geq 30\%$ 的患者,灵敏度不高。本研究中肝癌组患者与对照组患者rtL180M、rtM204V、rtA181V、rtN236T突变发生率差异均无统计学意义,至于这些位点突变是否与HCC发生具有相关性尚需进一步研究。

令人吃惊的是,笔者在收集病例时发现大多数肝癌患者既往首次用药均为ADV,进一步分析发现,79例患者中,初始服用ADV患者HCC发生率(23.7%)显著大于初始服用LAM患者(2.8%),差异有统计学意义($P = 0.022$)。随着临床对抗病毒耐药问题的逐渐重视,LAM临床初始应用较前减少,ADV耐药发生率相对较低,且因其价廉、不良反应较少,在基线病毒量较低的HBV相关肝硬化患者初始治疗过程中仍有广泛应用。随着ADV临床使用时间的延长,与之相关的耐药突变发生率亦逐年增多。先前的大量研究主要集中在对ADV耐药患者的挽救治疗上,关于ADV耐药后可能与疾病严重临床结局关系的研究则较少。Fung等^[20]研究发现,ADV耐药突变的出现可能会导致严重的肝脏失代偿。本研究通过回顾分析10例肝癌患者的

用药史,发现有9例患者既往初始服用ADV出现疗效不佳或病毒学突破。笔者进一步分组研究发现,初始服用ADV患者出现rtA181T突变的发生率显著高于初始服用LAM的患者,可能是因为患者在初始应用ADV出现疗效不佳或病毒学突破时,已经筛选出了能够加重病情、具有潜在致癌性的rtA181T突变,从而增加了患者进展为HCC的风险。笔者认为,HBV相关肝硬化患者初始服用ADV发生耐药突变较初服用LAM发生耐药突变可能更容易进展为HCC。

另外,本研究中肝癌组与对照组中HBsAg、HBeAg水平差异无统计学意义。肝癌组中HBeAg阴性率(40.0%)高于对照组(23.2%),但差异无统计学意义。Papatheodoridis等^[21]通过大量文献分析,认为对于经治的CHB患者,肝硬化、基线HBeAg阴性、病毒学突破能够增加HCC发生风险,同时指出HBeAg阴性常见于老年肝硬化患者,可能是由于老年、肝硬化等因素使得HBeAg阴性间接成为HCC发生的危险因素。关于HBeAg阴性是否为HCC发生的独立危险因素尚需进一步研究。肝癌组患者平均年龄、AFP平均水平显著大于对照组患者,差异均有统计学意义($P = 0.011$ 、 0.000);肝癌组中年龄 > 50 岁的比例(100.0%)显著大于对照组(52.0%),差异有统计学意义($P = 0.012$);这些结论也支持目前大家认可的年龄及AFP水平与HCC发生相关。

综上所述,笔者建议年龄 > 50 岁的HBV相关肝硬化患者,服用ADV出现疗效不佳或病毒学突破,需进行HBV P区耐药突变检测,对于检测到rtA181T突变(突变比率 $\geq 30\%$)的患者,应该密切监测HCC发生。肝硬化患者初始服用ADV发生耐药突变较初服用LAM耐药突变可能更容易进展为HCC。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病学会,中华医学会感染病学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中国肝脏病杂志(电子版),2011,3:40-56.
- [2] Hosaka T, Suzuki F, Kobayashi M, et al. Development of HCC in patients receiving adefovir dipivoxil for lamivudine-resistant hepatitis B virus mutants[J]. Hepatol Res,2010,40:145-152.

- [3] Yeh CT, Chen T, Hsu CW, et al. Emergence of the rtA181T/sW172* mutant increased the risk of hepatoma occurrence in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B[J]. BMC Cancer, 2011, 21: 398.
- [4] Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B[J]. Hepatology, 2007, 45: 507-539.
- [5] Liaw YF, Leung N, Kao JH, et al. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update[J]. Hepatol Int, 2008, 2: 263-283.
- [6] 参加乙型肝炎耐药讨论会专家. 核苷和核苷酸类药物治慢性乙型肝炎的耐药及其管理[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2012, 6: 643-650.
- [7] 科技部十二重大专项联合课题组专家. 乙型肝炎病毒相关肝硬化的临床诊断、评估和抗病毒治疗的综合管理[J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2014, 2: 72-82.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版)[J]. 临床肿瘤学杂志, 2011, 16: 929-946.
- [9] Lok AS. Hepatitis: long-term therapy of chronic hepatitis B reverses cirrhosis[J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2013, 10: 199-200.
- [10] Ijaz S, Arnold C, Dervisevic S, et al. Dynamics of lamivudine resistant hepatitis B virus during adefovir monotherapy versus lamivudine plus adefovir combination therapy[J]. J Med Virol, 2008, 80: 1160-1170.
- [11] Hsieh YH, Su JJ, Wang HC, et al. Pre-S mutant surface antigens in chronic hepatitis B virus infection induce oxidative stress and DNA damage[J]. Carcinogenesis, 2004, 25: 2023-2032.
- [12] Yeh CT. Development of HBV S gene mutants in chronic hepatitis B patients receiving nucleotide/nucleoside analogue therapy[J]. Antivir Ther, 2010, 15: 471-475.
- [13] Warner N, Locarnini S. The antiviral drug selected hepatitis B virus rtA181T/sW172* mutant has a dominant negative secretion defect and alters the typical profile of viral rebound[J]. Hepatology, 2008, 48: 88-98.
- [14] Caselmann WH, Meyer M, Kekulé AS, et al. A trans-activator function is generated by integration of hepatitis B virus preS/S sequences in human hepatocellular carcinoma DNA[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87: 2970-2974.
- [15] Kekule AS, Lauer U, Meyer M, et al. The preS2/S region of integrated hepatitis B virus DNA encodes a transcriptional transactivator[J]. Nature, 1990, 343: 457-461.
- [16] Lauer U, Weiss L, Hofschneider PH, et al. The hepatitis B virus pre-S/S(t) transactivator is generated by 3' truncations within a defined region of the S gene[J]. J Virol, 1992, 66: 5284-5289.
- [17] Lai MW, Yeh CT. The oncogenic potential of hepatitis B virus rtA181T/surface truncation mutant[J]. Antivir Therapy, 2008, 13: 875-879.
- [18] Lai MW, Huang SF, Hsu CW, et al. Identification of nonsense mutations in hepatitis B virus S gene in patients with hepatocellular carcinoma developed after lamivudine therapy[J]. Antivir Ther, 2009, 14: 249-261.
- [19] Yang JH, Zhang H, Chen XB, et al. Relationship between hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus genotype with spontaneous YMDD mutations[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19: 3861-3865.
- [20] Fung SK, Andreone P, Han SH, et al. Adefovir-resistant hepatitis B can be associated with viral rebound and hepatic decompensation[J]. J Hepatol, 2005, 43: 937-943.
- [21] Papatheodoridis GV, Lampertico P, Manolakopoulos S, et al. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients receiving nucleos(t)ide therapy: A systematic review[J]. J Hepatol, 2010, 53: 348-356.

收稿日期: 2014-10-08

· 消息 ·

本刊对来稿中名词术语的要求

医学名词应该使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未审定的学科名词, 可选用最新版医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词, 可选用最新版《医学主题词表(MeSH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对无通用译名的名词术语于文内第一次出现时应注明原词。冠以外国人名体的征、病名、试验、综合征等, 人名可以用中译文, 但人名后不加“氏”(单字名除外); 也可用外文, 但人名后不加“s”。

文中尽量少用缩略语。已被公知公认的缩略语可以直接使用, 如CT、CDFI等。尚未被公知公认的缩略语以及原词过长、在文中多次出现者, 若为中文可于文中第一次出现时写出全称, 在圆括号里写出缩略语; 若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称, 在圆括号内写出外文全称及其缩略语。不超过4个汉字的名词不宜使用缩略语。西文缩略语不得拆开转行。

本刊编辑部