

# 从抗 HBV 核苷(酸)类似物的基本结构及分类探讨联合应用的合理性

颜学兵 石银月 武桂萍 孔玮晶

核苷(酸)类似物[nucleos(t)ide analogue, NA]为继干扰素后的又一类抗 HBV 药物,随着其临床推广及应用,出现的问题也愈来愈多。由于单一应用 NA 抗 HBV 的疗效有限和耐药问题,部分学者提出了初始或耐药后 NA 联合治疗方案,但至今尚无足够的循证医学证据(EBM)证明 NA 联合治疗能够显著增加疗效并降低耐药的发生。本文就 NA 抗 HBV 联合应用的合理性问题,谈几点个人肤浅看法。

## 一、NA 结构和分类方法简述

笔者曾对上市和可能上市的 NA 进行分类、总结<sup>[1,2]</sup>,在此需要特别指出 3 点:

1. 有学者将 ETV 归类为环戊烷或烯类,不够准确,因为某种药物在结构确定的情况下,不可能同时属于烷,也属于烯类。

2. 根据耐药通道分类的方法需逐渐完善。目前发现每种 NA 的耐药变异位点有限,随着研究进展新的耐药变异位点将逐渐被发现。如 Liu 等<sup>[3]</sup>检测了 8 例 ADV-R 而发生病毒学突破的患者,从而发现了一个新的变异——rtE218G(8/8),相对于无此位点变异的病毒株,rtE218G 变异株的 ADV IC<sub>50</sub>增加了 2.3 log<sub>10</sub>拷贝/ml 且变异病毒株的复制能力(replication capacity)明显下降,因而 rtE218G 突变可能是 ADV-R 新的重要变异位点。与 TDF-R 相关的变异位点为 A194T。但 A194T 和 rtE218G 归属哪类途径尚有待于进一步明确,见表 1。

表 1 NA 耐药通道分类方法

途径	突变位点	具体药物
204	rtM204V/I	L-核苷(LAM、LdT)、环戊烷(ETV)
236	rtN236T	无环磷酸盐化合物(ADV、TDF)
共享耐药	rtA181T/V	ADV、LAM
多药耐药	L180M + M204V + N236T	ADV、LAM
?	rtE218G	ADV
?	A194T	TDF

注:LAM:拉米夫定;LdT:替比夫定;ETV:恩替卡韦;ADV:阿德福韦酯;TDF:替诺福韦酯;?:如何定义或者归属尚有待明确

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2011.03.019

基金项目:2008 年江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人培养基金;江苏省卫生厅课题(H2008026);江苏省高校自然科学基金(08KJB320017)

作者单位:221002 徐州市,徐州医学院附属医院感染病科

通讯作者:颜学兵,Email:yxbxuzhou@126.com

3. 根据药物靶向性强弱可分为第一代和第二代 NA<sup>[4]</sup>。见图 1。在抗 HIV 及抗 HCV 的 NA 基础研究中就有这种分类方法(虽未上市,但 2011 年 4 月 27 日 FDA 已经对 telaprevir 和 boceprevir 进行了听证会,2011 年 5 月 13 日 FDA 已经批准 boceprevir 上市,可能最近将批准 telaprevir 上市,临床及基础研究已经步入到第二代抗 HCV 口服药物)。一代与二代 NA 的区别是:第一代药物靶向性较差,因而用量较大,故全身不良反应较多;而第二代药物由于其靶向性较高,用量相对较小,故其肝外浓度低,对其他脏器毒副反应较低。据此分类方法,目前抗 HBV 的 NA 中属于第一代的有 LAM、LdT、ETV,而属于第二代的有 ADV 和 TDF。应用 ADV 后部分患者即使 HBV DNA 下降到检测范围内,但 ALT 仍可反复波动,可能由于 ADV 的肝内浓度相对较高,对肝脏有直接毒性(图 1)。

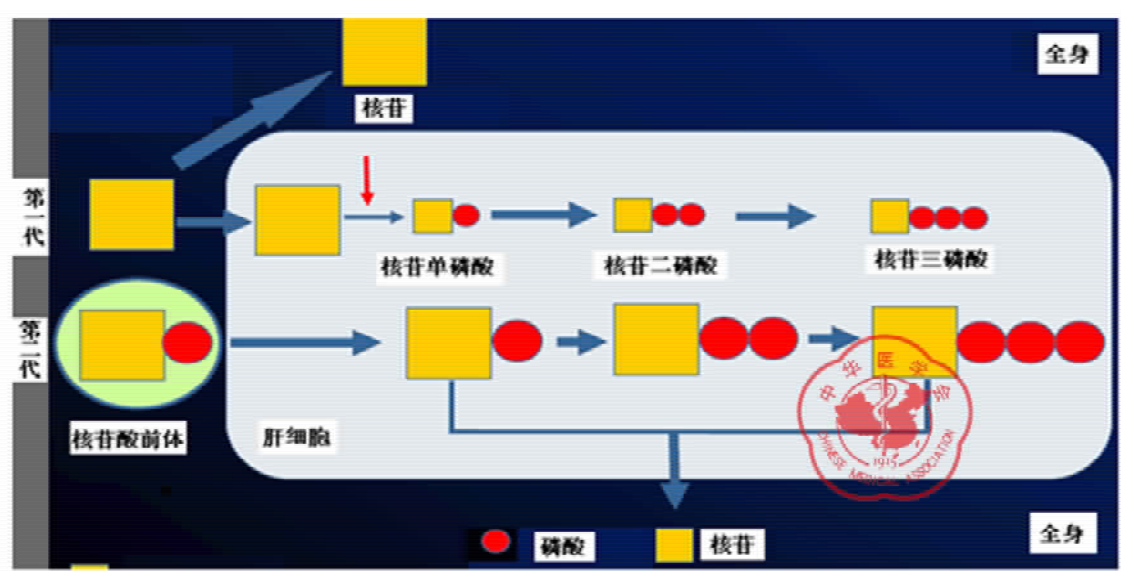


图 1 第一代和第二代 NA 示意图

除耐药通道外,其他对抗 HBV 的 NA 药物分类方法主要依据 NA 的基本结构。由于其基本结构差异,导致其在抗 HBV 治疗后引起耐药变异位点不同。目前及将来不可能穷尽每一种 NA 的耐药变异位点,故根据 NA 基本结构选择耐药后替换或联合治疗是务实易行的方法。

## 二、NA 抗 HBV 初治或耐药后联合治疗的合理性探讨

NA 有限疗效和耐药性问题已经得到国内外肝病专家的高度重视。目前,某种程度上 NA 已经到了滥用的地步,如患者年轻化、耐药后不合理的联合治疗、过多的联合治疗,尤其是 ADV 的滥用,还有医药厂家不客观的宣传等问题为将来抗 HBV 治疗及 HBV-NA 耐药株感染的公共卫生问题带来了一系列挑战。因此,希望相关专家倡议在一定范围内适当限制应用 NA。

### 1. 耐药后的联合治疗:理论上体内存在耐药且致病的病毒株,才需要治疗。

所以,应用一种 NA-R 后多主张加药或换药的观点,存在一定不足。例如,LAM-R 后只要体内无对 LAM 敏感株,再继续应用 LAM 只会增加筛选或诱导更多的 LAM-R 产生。那么,主张 LAM-R 后以 LAM + ADV 联合治疗的观点,可能是停用 LAM 后单用 ADV,由于体内残存对 LAM 敏感株(只是降低到检测下限),停用 LAM 一段时间后,LAM-R 毒株可以被 ADV 抑制,而 ADV 对 LAM 敏感株抑制能力较差或没有效果,导致单用 ADV 后病毒载量再次升高,或者一段时间后产生了 ADV-R 的病毒株仍对 LAM 有效。基于此理论,之前对 LAM-R 后加用 ADV 并继续应用 LAM 3 个月再停用 LAM 的方案显然不太合理。为了防止应用 ADV 后病毒学突破或反跳,先停用后加用 LAM 更为合理。

2. 初治患者的联合治疗:NA 抗 HBV 的机制为竞争性消耗或抑制 HBV DNA 聚合酶,但每种 NA 都具有链终止作用。据 DNA 末端终止测序法原理,以含有 4 种不同碱基模拟物的药物可在 HBV DNA 复制的任何一个碱基位点终止 HBV 复制,而单用一种药物如 LAM 为模拟胞嘧啶(C)的类似物,则必须在病毒复制到含有 C 核苷酸时才能终止链的合成。另外,应用含 4 种 NA 的联合治疗也可在最短时间内将病毒复制抑制到最低,而病毒载量降低愈快,发生耐药变异的可能性越低;另外,即使应用含 4 种 NA 的抑制剂,也不允许 LAM-R 病毒株出现,即体内一旦出现 LAM-R 病毒株,由于 1 片药物中含有 ADV,就可抑制对 LAM-R 而对 ADV 敏感的病毒株。

3. 联合治疗中不同 NA 合理剂量配比:从成本和效益分析上讲,联合治疗决非单纯的 LAM 100 mg + LdT 600 mg + ADV 10 mg + ETV 0.5 mg,而需要摸索出最佳的有效配比剂量。对具有相同作用机制及代谢途径的药物联合应用后会干扰其他药物作用和代谢(单一药物剂量未用到最大有效剂量时,相互间发生的干扰作用较小),不如单一应用时的作用强,但毒副作用反而会增加。2008 年 EASL 会议的 CME 最后部分,有学者认为对野生株和多重耐药病毒株进行联合治疗,强调联合应用的药物在较低浓度时才能发挥协同或增强作用,而在较高浓度时则可能发生拮抗作用。

2008 年 AASLD 会议中 Schollmeyer 报道了采用 TDF 245 mg + ETV 1 mg 联合治疗方案。对 12 例 HBV 感染所致肝硬化患者中的 11 例应用 LAM ± ADV 联合治疗后,其中 7 例患者接受 LAM + ADV 联合治疗后,换用 TDF(245 mg/d) + ETV(1 mg/d)治疗中位数时间 6 个月,未发现明显毒副作用或者肝功能失代偿,治疗后 HBV DNA 下降至  $4.6 \log_{10}$  拷贝/ml(下降范围  $1.7 \sim 7.8 \log_{10}$  拷贝/ml),其中 9 例患者的 HBV DNA < 400 拷贝/ml<sup>[5]</sup>。此方案中未联合应用 TDF 1 片(300 mg) + ETV 1 片(0.5 mg),而应用 TDF 245 mg(不足 1 片) + ETV 1 mg(2 片),其目的是适当减低 TDF 分子数同时增加 ETV 分子数,以实现 TDF 和 ETV 均可竞争到足够量或等量的 HBV DNA 聚合酶,而发挥其抗 HBV 作用。

4. 相对合理的联合治疗:假定两种药物具有相同的竞争 HBV DNA 聚合酶的能力,理论上进入体内的分子越多,竞争获得 HBV DNA 聚合酶的机会越多,要使

不同 NA 都能竞争到等量 HBV DNA 聚合酶,应使体内的摩尔数相等或者相近。根据这个原则结合表 2 中 NA 基本信息,ADV + ETV<sup>[6]</sup>、LAM + TDF 联合方案较为合理。LAM + ADV、LdT + ADV 两种方案中 ADV 在后者中的效用必定低于前者。已经发现未调整 LAM 和 ADV 单片剂量的单纯 1 + 1 联合,会增加 ADV 的毒副反应<sup>[7]</sup>。

表 2 已经上市的 NA 比较

		模拟碱基	分子量	用量 (mg)	摩尔浓度 (mol/L)	年龄限制 (岁)	活性形式
嘧啶类	LAM	C	229.26	100	0.436	>12	三磷酸盐
	LdT	T	243.23	600	2.469	>16	二磷酸盐
嘌呤类	ADV	A	501.48	10	0.02	18~65	二磷酸盐
	TDF		635.52	300	0.472		三磷酸盐
	ETV	G	295.3	0.5	0.002	>18	三磷酸盐

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

5. 最具前景的联合治疗: 可能为 ADV + ETV 和 TDF + ETV。目前联合治疗方案有嘧啶类核苷类似物 + 嘌呤类核苷酸类, 或第一代和第二代 NA 联合, 即 ADV + LAM, LdT + ADV, 将来最有效以防治耐药发生的联合可能为 ETV + TDF, 即嘌呤类核苷类 + 嘌呤类核苷酸的联合, 也为第一代与二代 NA 的联合。

2009 年 EASL 总结新的抗 HBV 治疗策略中, 认为 ETV + TDF 联合是非常优越有效的抗 HBV 治疗方案。为探索两者联合应用的效果, 印度学者观察了 8 例 HBV 相关的失代偿期肝硬化患者, 其中 3 例曾应用 LAM 或者 LAM + ADV 联合治疗, 5 例患者未采用抗病毒治疗, 应用 ETV 0.5 mg + TDF 300 mg, 治疗前 HBV DNA 为 6.11 log<sub>10</sub> 拷贝/ml, 治疗 4.87 个月后, HBV DNA 平均载量为 2.54 log<sub>10</sub> 拷贝/ml, 其中 5 例患者 HBV DNA 水平低于检测下限, Child-Pugh 评分由 9.6 降至 6.5, 未发现不良反应<sup>[8]</sup>。另一项研究为评价 TDF + ETV 对经治的 CHB 进展期肝病患者的安全性和有效性<sup>[9]</sup>, 平均治疗时间为 10 个月, HBV DNA 下降了 3.2 log<sub>10</sub> 拷贝/ml, 86.7% (13/15) 患者的血清 HBV DNA 水平低于检测下限, 其中包括 9 例虽经抗病毒治疗 55 个月但 HBV DNA 水平未低于检测下限的患者, 以上研究提示 ETV + TDF 联合治疗可能是一种有效的挽救治疗 HBV 多重耐药的有效方案。

TDF 和 ETV 都属于“高基因屏障”的抗 HBV 药物且具有不同的耐药变异位点, 未发现交叉耐药。理论上耐药率低的药物无须联合, 但为何要联用? ETV-R 的出现需要发生 rtM204V/I 和 (或) rtL180M 即对 LAM-R, 而此类患者的最佳治疗药物为 TDF, 联合治疗方案 TDF + ETV 中的 TDF 可防止体内的 rtM204V/I 和 (或) rtL180M 的产生, 因此 TDF + ETV 可预防 ETV-R 的产生 (图 2)。

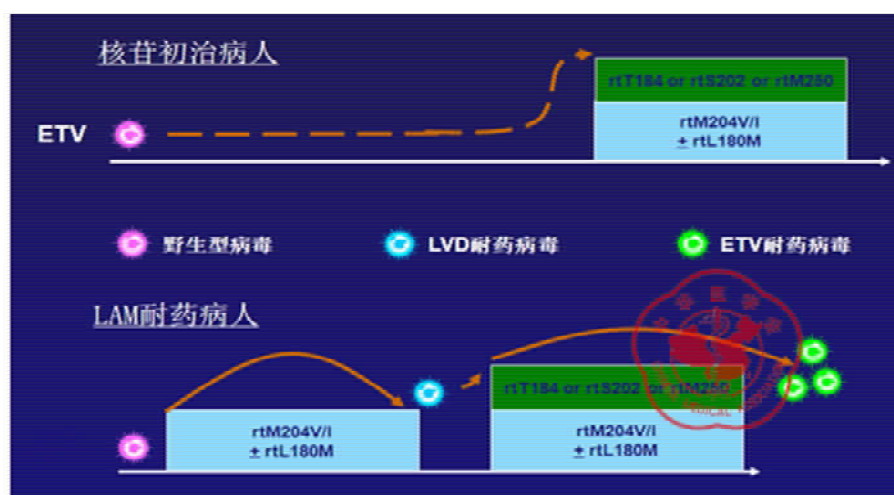


图2 ETV 发生耐药示意图

6. 联合治疗能否增加疗效:抗 HIV 和 HCV 治疗已证明联合治疗优于单一治疗。联合治疗的潜在优点:达到相加、协同的效果;潜在的缺点:增加了费用、毒性和药物的相互作用。

2009 年 Woo 等<sup>[10]</sup>对 HBeAg 阳性 CHB 患者在 12 项临床试验中的 10 种治疗方案的疗效(均以 LAM 治疗作为参照)进行了分析比较,结果显示在所有治疗方案中,TDF 治疗组 HBV DNA 低于检测下限的发生率最高,为 86% (95% CI: 59% ~ 98%),其次为 ETV 58% (28% ~ 85%);LAM + ADV 获得 ALT 正常化的比率最高,其次为 TDF;PegIFN 获得最高的 HBeAg 血清学转换率 25% (14% ~ 36%),其次为 LAM 联合 PegIFN 24% (14% ~ 39%);TDF 获得最高的 HBsAg 消失率 19% (0 ~ 93%),其次为 PegIFN + LAM;ETV 获得最高的组织学改变率 56% (8% ~ 93%),其次为 PegIFN 50% (4% ~ 93%)。未发现任何一种治疗方案的 1 年疗效显著高于其他治疗方案,也未显示任何一种联合治疗的抗 HBV 疗效优于单一治疗,见表 3。2009 年 AASLD 更新的 CHB 防治指南中也指出:尚无一种联合治疗可明显增加持久应答率,虽然部分研究发现联合 LAM 治疗后会降低 LAM 耐药发生率,但联合治疗组耐药发生率并未显著低于联合治疗组中单一耐药率较低的药物<sup>[11]</sup>。

表3 10 种治疗方案疗效总结

项目	10 种治疗方案中疗效最高 <sup>a</sup>	10 种治疗方案中疗效第二 <sup>a</sup>
HBV DNA 低于检测范围(<300 拷贝/ml)	TDF(86%)	ETV(58%)
ALT 复常率	LAM + ADV	TDF
HBeAg 血清学转换	PegIFN(25%)	LAM + PegIFN(24%)
HBsAg 消失率	TDF(19%)	PegIFN + LAM
组织学改变	ETV(53%)	PegIFN(50%)

注:LAM:拉米夫定;ETV:恩替卡韦;ADV:阿德福韦酯;TDF:替诺福韦酯;PegIFN:聚乙二醇化干扰素;<sup>a</sup>:所研究的 10 项治疗方案比较,无统计学意义,即组间比较  $P > 0.05$



7. 联合治疗的安全性:由于 NA 不能清除 HBV,需长期治疗,故治疗前应该综合考虑患者年龄、应答率和潜在的毒副作用。2009 年更新的 AASLD 指南中建议在以下两种情况下,可考虑抗 HBV 治疗<sup>[11]</sup>:(1)5~10 年肝病相关的发病率和病死率较高,且在维持治疗时获得持久病毒抑制的可能性较大;(2)10~20 年肝病相关的发病率和病死率较高,且确定疗程内获得持久病毒抑制的可能性较大。如果未来的 20 年中肝病相关的发病率、病死率及确定疗程的治疗后获得持久应答率较低时,不建议抗 HBV 治疗。这是由于 HBV 感染自然史的不确定性,肝病相关的发病率和病死率可能在慢性 HBV 感染过程中随着病情进展而变化。CLV (克拉夫定)的临床试验发现其严重的毒副作用<sup>[12]</sup>,全球终止了 CLV 的 III 期临床试验。目前 NA 临床试验安全性的时间仅为 1~5 年,关于其长期应用安全性的资料有限。由于 NA 临床应用时间多数超过了初期临床试验的时间,因而必须高度重视其长期应用的安全性问题,单一运用尚且如此,更应高度重视联合治疗的安全性,故适当限制联合治疗是非常必要的。

最近 Viganò 等<sup>[7]</sup>发现 LAM + ADV 联合治疗 5 年后明显增加了 ADV 的毒副作用。275 例 LAM-R 患者中的 10 例肝移植患者采用 LAM + ADV 联合治疗,观察 5 年后对其肾功能的影响,治疗前肾小球滤过率(GFR)  $\geq 50$  ml/min,治疗时间 > 6 个月,Cr 升高者占 11/44 (25%),而稳定者占 33/44 (75%)。44 例患者中有 9 例(20%)Cr 升高  $\geq 0.5$  mg/dl,同时应用免疫抑制药物患者 Cr > 0.8 mg/dl 的发生率明显增高,最终研究者建议将 ADV 改为隔日 1 次给药。国内有学者开展的 LAM + ADV 在肝硬化尤其是失代偿期肝硬化患者的联合治疗应该慎重,因为失代偿期肝硬化患者单用 ADV 也应注意肾功能的影响。2011 年 EASL 中 Deterding 等<sup>[13]</sup>研究发现单一应用或联合 NA 抗 HBV 治疗方案中,含 ADV 的联合治疗方案肾功能损害的发生率最高(图 3)。

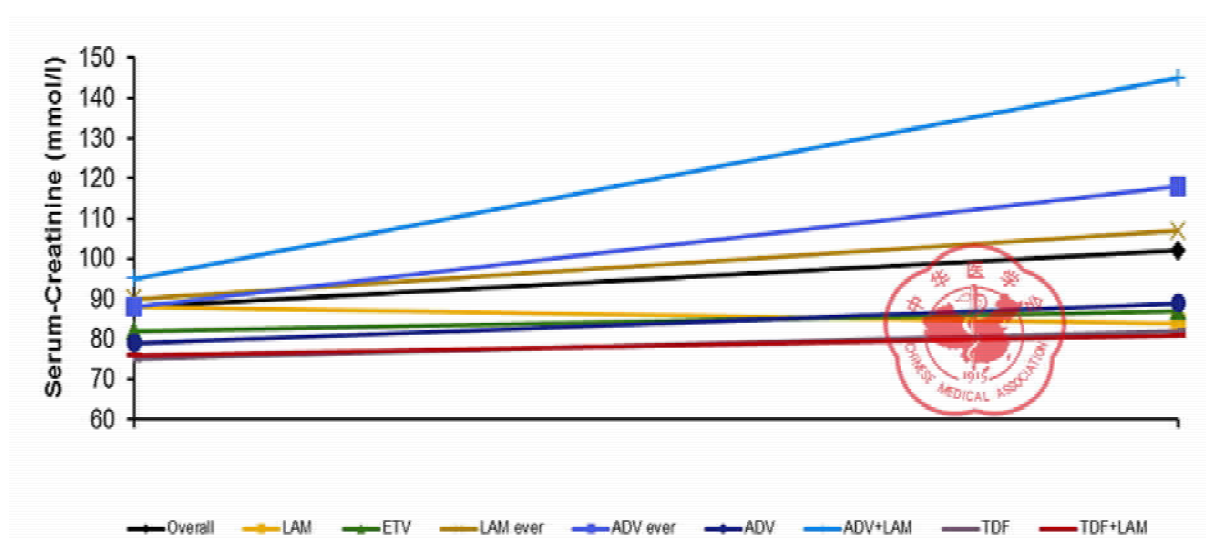


图 3 不同 NA 抗 HBV 治疗对血肌酐的影响

#### 四、结语

自 CLV 研制终止后,抗 HBV NA 的研制已经进入平台期或者抗 HBV 治疗已经步入后核苷(酸)年代,可能会进入第一类抗 HBV 的非 NA 抑制剂时代<sup>[14-15]</sup>。按照 FDA 研制药物的进程和目前 NA 的研究现状,至少最近 3~5 年内不会有新的 NA 上市。如何高效合理的应用目前已上市的 NA 为当务之急,切不可寄希望于新 NA 对已经出现耐药的 NA 有突破性的进展。

国外多个指南均已明确指出抗 HBV 的一线 NA 为 ETV 和 TDF。联合治疗尚无足够的 EBM(循证医学证据),应选用低耐药的 ETV。国内制定指南时加上“中国特色”,某种程度上为不合理治疗留下了空间。应该提倡科学且客观的指南,如尚无条件,暂时不采取 NA 抗病毒治疗不失为一种理性的选择。另外 AASLD 指南多次指出,2009 年更新的指南也再次提及不建议在 30 岁以下患者中应用 NA 进行抗 HBV 治疗,而国内指南中尚未提及,但非常可喜的是 2010 年更新版的中国慢性乙型肝炎防治指南中强调应用 NA 抗 HBV 治疗时应该严格掌握治疗适应证,尤其当患者 < 30 岁时,应当尽量避免使用 NA 治疗;谨慎选择 NA:如条件允许,开始治疗时宜选用抗病毒作用强和耐药发生率低的药物<sup>[16]</sup>。笔者建议应该去掉“条件允许”,如果不选用强效且低耐药的 NA,不久的将来会出现乙型肝炎病毒核苷(酸)类似物耐药的病毒株(HBV-NA-R)的公共卫生问题。

#### 参 考 文 献

- 1 颜学兵,周培培,王磊. 对乙型肝炎病毒耐药专家共识的几点看法. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2008,2(3): 205-209.
- 2 颜学兵,周培培,王磊. 从核苷类似物基础结构分析其运用和发展方向. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2010,4(1):102-107.
- 3 Liu LJ, Wang JH, Du SC, et al. A novel hepatitis B virus mutation with resistance to adefovir dipivoxil in patients with chronic hepatitis B. 44th EASL. Copenhagen, Denmark, 2009.
- 4 Stranding D, Lanford R, Cretton-Scott E, et al. Potent antiviral activity of second generation nucleoside inhibitors, IDX102 and IDX184, in HCV-infected chimpanzees. EASL, Milan, Italy, 2008.
- 5 Schollmeyer J, Lutgehetmann M, Volz T, et al. Combination of entecavir and tenofovir as a rescue therapy is safe and highly efficient in cirrhotic HBV mono-infected patients with the history of multiple previous treatment failures. 59th AASLD, San Francisco, CA, 2008.
- 6 Schollmeyer J, Lutgehetmann M, Volz T. Switching to adefovir plus entecavir is effective and leads to strong viral suppression in HBV mono-infected patients failing sequential or combination therapy with lamivudine and adefovir. 59th AASLD, San Francisco, CA, 2008.
- 7 Viganò M, Lampertico P, Iavarone M, et al. High risk of renal impairment during long-term adefovir and lamivudine combination therapy in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. 44th EASL, Copenhagen, Denmark, 2009.
- 8 Amarapurkar D. Efficacy of combination of entecavir & tenofovir in hepatitis B virus related decompensated chronic liver disease. 44th EASL, Copenhagen, Denmark, 2009.
- 9 Manns M, Jeffers L, Dalekos G, et al. Safety and efficacy of 96 weeks of tenofovir disoproxil fumarate therapy in lamivudine experienced patients. 44th EASL, Copenhagen, Denmark, 2009.
- 10 Woo G, Tomlinson G, Pham B, et al. Bayesian mixed treatment comparison meta-analysis of outcomes of treatment for chronic hepatitis B in HBeAg-Positive patients. 44th EASL, Copenhagen, Denmark, 2009.
- 11 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. Hepatology,2009,50(3):661-662.
- 12 Seok JI, Lee DK, Lee CH, et al. Long-term therapy with clevudine for chronic hepatitis B can be associated with myopathy char-

acterized by depletion of mitochondrial DNA. Hepatology, 2009, 49(6):2080-2086.

- 13 Deterding K, Lampel N, Reijnders J, et al. Prevalence and severity of kidney dysfunction in patients with chronic hepatitis B in Europe; data from the European virgil cohort. 46th EASL, Berlin, Germany, 2011.
- 14 SciClone Pharmaceuticals. SciClone provides promising results from its phase 2A clinical trial using SCV-07 as a monotherapy in patients with chronic hepatitis C infection. Press Release. 2008.
- 15 Imquest Life Sciences. Imquest presents data on the anti-hepatitis B virus activity of pyrimidinediones at the 13th ISVHLD meeting in Washington D. C. press release, 2009.
- 16 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 版). 中国医学前沿杂志(电子版), 2011, 3(1):66-82.

(收稿日期:2011-04-01)

(本文编辑:孙荣华)

颜学兵, 石银月, 武桂萍, 等. 从抗 HBV 核苷(酸)类似物的基本结构及分类探讨联合应用的合理性 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2011, 5(3):364-371.