

· 述评 ·

慢性乙型肝炎治疗的过去、现在和未来

成军

Blumberg 博士在 1963 年通过蛋白电泳技术,在来源于澳大利亚的一份血样中发现了一种新型的抗原,并命名为澳大利亚抗原(Australia antigen, AuAg),后来证实这种 AuAg 与乙型肝炎(hepatitis B, HB)相关,事实上属于乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)的表面抗原,从而开启了乙型肝炎研究的新时代^[1]。也正是因为这一重要发现,Blumberg 博士获得了诺贝尔医学奖。在此后的 50 多年里,乙型肝炎研究领域出现了许多重要发现和进展,包括一系列的诊断技术的应用。上个世纪 80 年代出现的杂交瘤技术和分子克隆技术,促进了乙型肝炎病原学研究的不断进步。酵母细胞表达的重组乙肝疫苗在 HBV 感染高流行区的预防控制方面发挥了重要作用。同时,临床医师对乙型肝炎患者自然史的研究,也成为医学界临床疾病研究的一个典范^[2]。

关于乙型肝炎的临床治疗研究,在上个世纪临床抗病毒治疗之前,中医中药发挥了十分重要的历史作用。祖国医学对于肝病具有悠久的历史性的认识,积累了丰富的经验,在肝病治疗的临床上具有重要的地位。从祖国医学发展而来的一系列的保肝、降酶、抗炎、抗纤维化,甚至是抗病毒和抗肿瘤的药物治疗在特定历史阶段发挥了十分重要的功能,有些治疗方法和治疗药物,一直到现在都还在临床肝病的治疗中发挥重要的作用^[3-4]。直到上个世纪 80 年代中叶,重组人干扰素 α (IFN- α)作为一种免疫调节和抗病毒药物引入到慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的治疗中,发挥了历史性的作用。其后,为了改善 IFN- α 在血液中半寿期太短的生物学特点,应用体外聚乙二醇进行化学修饰,形成的聚乙二醇化干扰素(PegIFN)取得了更好的疗效。干扰素类治疗慢性乙型肝炎的机制很复杂,可直接抗病毒和通过免疫调节机制治疗 CHB,其特点是治疗 1 年、停药半年后 HBeAg 阳性的患者,大约 30% 可以实现 HBeAg 的血清学转换^[5-6]。1989 年,针对 HBV 聚合酶/逆转录酶的核苷类似物拉米夫定(LAM)这种口服抗病毒治疗药物的上市,又将慢性乙型肝炎的抗病毒治疗研究掀开了新的一页^[7]。此后,针对 HBV 聚合酶治疗位点,又出现了阿德福韦酯(ADV)^[8]、替比夫定(LdT)^[9]、恩替

卡韦(ETV)^[10]以及替诺福韦酯(TDF)^[11],有些国家和地区还批准了克立夫定(CLV)^[12]和恩曲他滨(ETC)^[13]等口服核苷(酸)类似物[nucleos(t)ide analogues, NUCs]抗病毒治疗药物,从而在临床上开始了口服抗病毒治疗的新时代。NUCs 治疗 CHB 的特点是口服方便、抑制 HBV DNA 复制的效果快速而明显,通过抗病毒治疗可使处于不同阶段的 CHB 患者减缓了疾病进展,减少了肝硬化(LC)、肝细胞癌(HCC)的发生,减少了终末期肝病患者的并发症、延长了生存期、提高了生存质量。因此,仍然是目前 CHB 患者主要的治疗手段。但是,NUCs 的作用机制和作用特点,决定了其在 CHB 抗病毒治疗中应用的局限性。NUCs 主要是抑制 HBV RNA 至 HBV DNA 的逆转录环节,而对肝细胞核中所谓的 HBV cccDNA 无直接的抑制和清除作用,因此,这种治疗的效果具有明显的局限性,需要长期治疗,停药后复发,长期使用有些药物出现耐药,药物治疗不能彻底阻断疾病进展,不能杜绝 HCC 的发生,且长期治疗产生巨大的经济负担。因此,关于 CHB 抗病毒治疗,还必须从全新的策略来设计,以清除体内病毒为目标的治疗策略和治疗药物将是 CHB 治疗研究的主要发展方向。

从 HBV 的生活周期分子生物学特点和抗病毒治疗研发的过程来看,要根除 HBV 感染,从多个角度切入都有发展前景。通过几十年的努力,抗人免疫缺陷病毒(HIV)的治疗药物研发取得了长足的进展。近年来,针对丙型肝炎病毒(HCV)的药物研发也取得了相当的进展,可以采用全口服药物,在短至 8 周的疗程里能够治愈 95% 以上的慢性丙型肝炎(CHC)患者。因此,国际上主要的抗病毒治疗药物研发公司,都把主要的研发力量投入到抗 HBV 新药的研发中,可以期待,3~5 年后,将会出现一大批不同作用机制和作用靶点的抗 HBV 治疗药物;同时可以预测,CHB 的抗病毒治疗也将迎来全口服清除肝脏 HBV 的全新治疗策略和治疗药物。

从 HBV 生活周期研究结果来看,肝细胞核中的 HBV cccDNA 无疑是一种重要的治疗靶标。曾有研究推算,在没有外界干预的条件下,肝细胞核中的 HBV cccDNA 半寿期很长,可达 14.3 年。其实这一结果是在没有干预 HBV cccDNA 不断消耗、不断补充的条件下的一个数学模型推算结果。实际上,如果阻断了肝脏内 HBV cccDNA 的补充来源,加速 HBV cccDNA 的降解,HBV cccDNA 在短期内得到控制是完全有可能的。不对这一结果进行细致分析,则会造

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.01.001

作者单位: 100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院肝病中心

通讯作者: 成军, Email: chengj0817@sina.cn

成针对这一环节新药研发的信心不足。HBV cccDNA 是 HBcAg、HBV RNA、HBV DNA P 以及宿主细胞的组蛋白 (histone) 等结合在一起, 缠绕形成迷你染色体 (minichromosome), 期间, HBcAg 蛋白 N- 末端介导的同二聚体的装配和多聚体的形成, C- 末端富含精氨酸区域与 HBV RNA 的结合, 都是重要环节, HBcAg 的磷酸化修饰, 也是重要的调节机制。HBV RNA 的结合、包裹、逆转录等环节, 以及此后的 HBV DNA 甲基化修饰, 组蛋白的乙酰化修饰, 伴侣蛋白分子的结合等, 都与 HBV cccDNA 的形成和转录活性有关。关于以 HBV cccDNA 为靶点的治疗药物研发是一个重点, Cai 等^[14]报道 CCC-0975 和 CCC-0346 可以减少 HBV cccDNA 的合成。HBcAg 与子代 HBV DNA 结合成的核颗粒与未经糖基化修饰 HBsAg 大蛋白胞浆末端部分的结合, 是形成病毒颗粒的重要环节, 此后 HBsAg 的糖基化修饰, 与病毒颗粒的装配有关, 因此, HBsAg 糖基化修饰的糖基化酶 (glucosidase) 抑制剂也具有很好的发展前景^[15]。另外, 针对 HBV 感染肝细胞的机制, NTCP 和 Myrcludex-B 表现出阻断 HBV 感染肝细胞的环节。HBcAg 蛋白与前基因组 HBV RNA 的结合和包裹是核颗粒形成的一个重要环节。研究表明, Heteroaryldihydropyrimidines 可以阻断 HBcAg 与前基因组 HBV RNA 的结合和包裹, 其代表性药物是 Bay 41-4109, 可以阻断病毒核壳的形成, 成为治疗药物研发的又一个热点^[16]。关于 HBsAg 的分泌, 一系列新型的 triazolopyrimidine 抑制剂, 可以有效抑制 HBsAg 的分泌, 从而能够抑制 HBV 颗粒的释放。目前开发中的核酸聚合物, amphipathic oligonucleoside, 即 Rep 9AC' 可以阻断 HBsAg 的分泌过程^[17]。

病毒是简单的生物, 要完成其生活周期, 必须要借助宿主细胞的一些成分。因此, 抗 HBV 新药的研发, 针对宿主细胞对 HBV 复制不可或缺的成分的研究也可以取得突破。如 TLR7 和 TLR9 在体内激活 pDC 中具有十分重要的作用, 因此, 针对 TLR7 的激动剂 (agonist) 研发进展很快。例如 GS-9620 已经进入 I 期临床研究过程中^[18]。针对 HBV 感染免疫的特点, IL-7、IL-21 也具有研发前景。PD-1/PDL-1 分子在 HBV 感染免疫中具有十分重要的意义, 因此探索 PD-1/PDL-1 阻断剂的抗 HBV 治疗作用的研究也很重要^[19]。针对 Tregs 治疗性的蛋白、核酸疫苗的研究也有进展。针对 HBV 的 RNAi 技术^[20]、APOBEC3G 的 RNA 编辑技术^[21], 还有针对 HBV 的 CRISPR/Cas9 等^[22]生物技术的研发也有一些令人鼓舞的研究进展。

虽然还很难根据目前针对病毒和宿主的新药研发最新进展, 非常清楚地预测将来抗 HBV 治疗的策略和药物究竟是什么, 但有一点是非常清楚的, 即在不久的将来, 抗 HBV 治疗的临床药物研发, 将很快进

入到全口服、清除病毒治疗的新时代。那么目前我们应对的策略, 就是继续应用乙肝疫苗保护易感人群, 使用可及的抗 HBV 药物, 最大程度地抑制 HBV 复制, 减少疾病进展; 同时, 我们还要加强 HBV 生活周期的分子生物学的基础研究, 寻找新的靶点和新型治疗药物, 为最终治愈 CHB, 做出我们应有的贡献。HIV 和 HCV 新药研发的黄金时代已经过去, HBV 新药研发正当其时。我们坚信, CHB 患者抗病毒治疗的全新时代即将到来!

参考文献

- 1 Alter HJ, Blumberg BS. Further studies on a "new" human isoprecipitin system (Australia antigen)[J]. *Blood*, 1966, 27(3): 297-309.
- 2 成军主编. 现代肝炎病毒分子生物学[M]. 北京: 科学出版社. 2 版. 2012: 1-220.
- 3 Wang Q, Du HB, Li M, et al. MAPK signal transduction pathway regulates, a novel mechanism of HSC-T6 cell apoptosis induced by FUZHENGHUAYU Tablet[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013: 368103.
- 4 Xie W, Shi G, Zhang H, et al. A randomized, multi-central, controlled study of patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B treated by adefovir dipivoxil or adefovir dipivoxil plus bicyclol[J]. *Hepatol Int*, 2012, 6(2): 441-448.
- 5 van Zonneveld M, Honkoop P, Hansen BE, et al. Long-term follow-up of alpha-interferon treatment of patients with chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2004, 39(3): 804-810.
- 6 Ratnam D, Dev A, Nguyen T, et al. Efficacy and tolerability of pegylated interferon- α 2a in chronic hepatitis B: a multicenter clinical experience[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(9): 1447-1453.
- 7 Akyuz F, Kaymakoglu S, Demir K, et al. Lamivudine monotherapy and lamivudine plus interferon alpha combination therapy in HBeAg negative chronic hepatitis B not responding to previous interferon alpha monotherapy[J]. *Acta Gastroenterol Belg*, 2007, 70(1): 20-24.
- 8 Lee YB, Jung EU, Kim BH, et al. Tenofovir monotherapy versus tenofovir plus lamivudine or telbivudine combination therapy in treatment of lamivudine-resistant chronic hepatitis B[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2015, 59(2): 972-978.
- 9 Chien RN, Peng CY, Kao JH, et al. Higher adherence with 3-year entecavir treatment than lamivudine or telbivudine in treatment-naïve Taiwanese patients with chronic hepatitis B[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2014, 29(1): 185-192.
- 10 Sheen E, Trinh HN, Nguyen TT, et al. The efficacy of entecavir therapy in chronic hepatitis B patients with suboptimal response to adefovir[J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011, 34(7): 767-774.
- 11 Kurashige N, Hiramatsu N, Ohkawa K, et al. Factors contributing to antiviral effect of adefovir dipivoxil therapy added to ongoing lamivudine treatment in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B[J]. *J Gastroenterol*, 2009, 44(6): 601-607.
- 12 Dimou E, Papadimitropoulos V, Hadziyannis SJ. The role of entecavir in the treatment of chronic hepatitis B. *Ther Clin Risk Manag*, 2007, 3(6): 1077-1086.
- 13 Si-Ahmed SN, Pradat P, Zoutendijk R, et al. Efficacy and tolerance of a combination of tenofovir disoproxil fumarate plus emtricitabine in patients with chronic hepatitis B: a European multicenter study[J]. *Antiviral Res*, 2011, 92(1): 90-95.
- 14 Cai D, Mills C, Yu W, et al. Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus

- covalently closed circular DNA formation[J]. Antimicrob Agents Chemother,2012,56(8):4277-4288.
- 15 Norton PA, Menne S, Sinnathamby G, et al. Glucosidase inhibition enhances presentation of de-N-glycosylated hepatitis B virus epitopes by major histocompatibility complex class I in vitro and in woodchucks[J]. Hepatology,2010,52(4):1242-1250.
 - 16 Wu GY, Zheng XJ, Yin CC, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication by Bay 41-4109 and its association with nucleocapsid disassembly[J]. J Chemother,2008,20(4):458-467.
 - 17 Block TM, Gish R, Guo H, et al. Chronic hepatitis B: What should be the goal for new therapies?[J]. Antiviral Res,2013,98(1):27-34.
 - 18 Fosdick A, Zheng J, Pflanz S, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of GS-9620, a novel Toll-like receptor 7 agonist, demonstrate interferon-stimulated gene induction without detectable serum interferon at low oral doses[J]. J Pharmacol Exp Ther,2014,348(1):96-105.
 - 19 Ozao-Choy J, Ma G, Kao J, et al. The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies[J]. Cancer Res,2009,69(6):2514-2522.
 - 20 Chinnappan M, Singh AK, Kakumani PK, et al. Key elements of the RNAi pathway are regulated by hepatitis B virus replication and HBx acts as a viral suppressor of RNA silencing[J]. Biochem J,2014,462(2):347-358.
 - 21 Kitamura K, Wang Z, Chowdhury S, et al. Uracil DNA glycosylase counteracts APOBEC3G-induced hypermutation of hepatitis B viral genomes: excision repair of covalently closed circular DNA[J]. PLoS Pathog,2013,9(5):e1003361.
- (收稿日期: 2014-01-30)
(本文编辑: 孙荣华)

成军. 慢性乙型肝炎治疗的过去、现在和未来[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(1): 1-3.

