

新型抗乙型肝炎病毒药物研究进展

张珊 孙静 邢卉春

【摘要】慢性乙型肝炎病毒(HBV)感染仍然威胁着人类健康,目前有效抗HBV药为干扰素类及核苷(酸)类,但以这两种药物为基础的治疗方案很难实现HBV感染彻底治愈,且临床治愈率有限。新型抗病毒药物的研发迫在眉睫。随着对HBV复制周期的深入认识,人们对HBV与肝细胞作用的不同靶点及免疫调节有了更深的了解。新型抗病毒药物主要针对HBV复制过程的不同环节及相关的免疫调节等方面,本文就新型抗HBV药物研发进展进行综述。

【关键词】肝炎,乙型,慢性;新型抗病毒药物;治疗;免疫调节

Progress on new anti-hepatitis B viral drugs Zhang Shan, Sun Jing, Xing Huichun. Division 3rd of Center of Hepatology, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100015, China

Corresponding author: Xing Huichun, Email: hchxing@sohu.com

【Abstract】Chronic HBV infection is still a disease threatening human health. At present, the effective antiviral drugs include interferon and nucleos(t)ide analogues. However, it is still difficult to achieve a complete cure of HBV based on these two drugs, and the clinical cure rate is limited. The development of new anti-viral drugs is urgent. With the further understanding of HBV replication cycle, we have a deeper comprehension of the different targets and immune regulation of interaction between HBV and hepatocytes. New antiviral drugs are mainly aimed at different aspects of HBV replication and related immunomodulation. This paper reviews the progress of new anti-viral drugs.

【Key words】Hepatitis B virus; Chronic hepatitis B; New anti-HBV drugs; treatment; Immune modulators

目前全球仍有2.5亿乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)携带者,该类人群为肝硬化、肝癌、肝功能衰竭等疾病的高危人群^[1],慢性HBV感染仍然是严重威胁人类健康的疾病。目前有两大类有效抗HBV药物:干扰素类及核苷(酸)类[nucleos(t)ide analogues, NAs]。这些药物可有效抑制HBV复制,使多数患者血清HBV DNA低于检测下限。但这两类药物不能直接作用于肝内共价闭合环状DNA(covalently closed circular DNA, cccDNA),故很难实现HBV感染的彻底治愈。已有相关临床试验表明,在核苷(酸)类抗病毒治疗基础上,联合或序贯干扰素治疗可使更多患者HBsAg水平下降及清除。然目前所获得的临床治愈率尚不尽人意,迫切需要新型抗病毒药物的问世。随着对HBV复制周期的深入研究,人们对HBV与肝细胞作用的不同靶点及宿主免疫调节的认识更加深入,新型抗HBV药

物的研发也有所进展。现就此方面的进展进行综述。

一、HBV复制周期特点

HBV复制周期涉及诸多步骤,而HBV颗粒与细胞相关的硫酸乙酰肝素蛋白聚糖连接是HBV复制的最初环节^[2]。HBV通过细胞受体与肝细胞结合,其中一种受体为牛磺胆酸钠共转运多肽(Na^+ /taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP),是肝细胞特异性胆汁酸转运蛋白^[3],该受体为HBV侵入细胞的重要受体,也是研究抗HBV感染的重要靶点。HBV在细胞质内脱壳成为部分双链DNA(partial double-stranded DNA, dsDNA)。dsDNA进入细胞核后形成松弛环状DNA(relaxed circular DNA, rcDNA),后通过宿主连接酶转化为高度稳定的cccDNA作为转录模板。细胞核中cccDNA转录的病毒RNA(包括3.5 kb、2.4 kb、2.1 kb、0.7 kb mRNA和pgRNA)释放到细胞质中并翻译成病毒蛋白(包括HBsAg)。转录产物之一pgRNA(病毒前基因组RNA)可组装形成新的病毒衣壳,还可作为RNA模板逆转录产生新生病毒基因组。包膜蛋白包裹成熟的衣壳和反转录产物rcDNA作为病毒粒子,出胞形成具有传染性的病毒颗粒,或者运回细胞核补充cccDNA池(胞内通路),这是建立和维持HBV感染所必需的。从HBV复制周期可看出,

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2019.01.002

基金项目:北京市医院管理局扬帆计划(No. xmlx201837);“十三五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治(No. 2018ZX10302206-003-006);吴阶平医学基金会(No. LDWJPMF-103-17001)

作者单位:100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院肝病三科
通信作者:邢卉春, Email: hchxing@sohu.com

HBV复制过程中的多个环节均可作为抗病毒治疗的靶点,要治愈HBV感染,清除cccDNA最为关键。

二、新型抗HBV药物的研发

近期HBV相关的基础研究使人们对HBV生命周期有了更深刻的理解,为确定多种新的抗HBV治疗靶点奠定了理论基础。以下主要介绍作用于HBV复制周期各环节及相关免疫调节方面的新型药物研发进展。

(一) HBV入胞抑制剂

HBV侵入肝细胞的过程涉及病毒与硫酸乙酰肝素蛋白聚糖的黏附,使HBV前S1抗原与NTCP结合,感染的肝细胞进一步发生膜融合、入胞后核衣壳释放。目前研究较多的HBV入胞抑制剂为NTCP抑制剂。Mycludex B(MyrB,为一种肉豆蔻酰化前S1肽),环孢素A和衍生物是NTCP的变构抑制剂,其在不饱和浓度下不可逆地阻断受体功能,并且NTCP抑制剂的半衰期很长。

HBV入胞抑制剂可防止未感染的肝细胞从头形成cccDNA,并且可更有效地预防母婴传播或肝移植后的再感染,而不是使慢性HBV感染者消除HBV。MyrB联合或不联合聚乙二醇化干扰素治疗慢性乙型肝炎和慢性丁型肝炎的临床试验正在进行^[4-5]。一项IIa期临床试验纳入40例HBeAg阴性且HBV DNA > 2 000 IU/ml的慢性乙型肝炎非肝硬化患者,应用不同剂量(0.5~10 mg) MyrB治疗12周发现,10 mg剂量治疗组中75%患者HBV DNA下降> 1 log₁₀ IU/ml,显著高于其他低剂量组,提示MyrB在抑制HBV DNA方面有一定疗效^[6]。较高浓度MyrB还可阻断胆汁盐和NTCP底物的转运,从而出现胆汁盐代谢紊乱以及因影响其他药物代谢而出现高胆红素血症^[7]。另外,环孢素A(cyclosporin, CsA)是一种高效免疫抑制剂,被证实具有抗HBV感染作用,Xia等^[8]通过体外研究证实CsA可抑制HBV表面抗原合成及HBV复制。有研究表明CsA通过定位至NTCP受体而上调或下调NTCP合成,阻断HBV入侵宿主细胞,但不良反应也会随之出现,CsA可能会抑制胆汁转运而出现胆汁淤积症^[9]。故CsA的抗HBV作用及相关应用仍需进一步研究。

(二) 靶向cccDNA

许多研究表明,尽管cccDNA位于肝细胞核内,干扰cccDNA相对困难,靶向cccDNA的药物仍然可能实现抗HBV作用。肝细胞培养研究表明,几种细胞因子(IFN- α 、淋巴毒素- β 受体激动剂、IFN- γ 和肿瘤坏死因子- α)可通过调节某途径使POBEC3A/B脱氨酶上调,进而诱导cccDNA的非肝毒性降解。然而,这些体外培养仅部分实现了cccDNA降解^[10]。DNA切割酶包括宿主核酸内切酶(也称归巢核酸内切酶)、锌指核酸酶、转录激活样效应因子核酸酶(transcription activator-like effector nuclease, TALEN)和CRISPR相关(Cas)核酸酶,特异性靶向cccDNA切割酶

的研究正在实验模型中探索^[11]。有研究表明,在HBV感染的肝细胞或转基因小鼠中,CRISPR相关核酸酶通过靶向作用于cccDNA保守区域,可有效抑制或清除cccDNA^[12]。还有研究表明,以IFN处理感染的细胞后,CRISPR相关核酸酶(该研究应用CRISPR-Cas 9)对HBV DNA编辑效率至少为APOBEC介导的胞嘧啶脱氨基效率的15 000倍^[13]。将这些基因编辑方法有效地应用于HBV感染的肝细胞而避免损伤正常肝细胞,是目前仍需解决的问题。另外,酪氨酸-DNA磷酸二酯酶(tyrosyl-DNA-phosphodiesterase, TDP2)是一种DNA修复酶,可通过水解5'-端酪氨酸磷酸二酯键来修复由DNA拓扑异构酶介导的DNA损伤,是潜在的肿瘤治疗靶点^[14],最近还有研究认为TDP2可通过释放P蛋白而干扰HBV cccDNA合成^[15]。TDP2可能是未来治疗HBV感染的可行方法之一,目前尚处于临床前研究阶段。

(三) 靶向病毒转录物

RNA干扰抑制HBV复制已在体外进行了广泛评估,并在动物模型中得以验证。小干扰RNA(siRNA)结合并灭活宿主或病毒mRNA,阻止蛋白质翻译,导致基因沉默。siRNA制剂目前处于临床前评估和(或)早期临床试验中。II期临床试验初步显示,单剂量ARC-520联合恩替卡韦可使HBeAg阳性和HBeAg阴性患者血清HBV DNA水平显著持久下降,HBeAg阳性患者HBsAg水平降低,但HBeAg阴性患者无显著下降^[16]。siRNA可作用于来自cccDNA所有转录产物的末端,但siRNA对HBeAg阴性患者的HBsAg水平影响较小,可能因整合的HBV DNA的病毒转录物序列发生改变。而另一项IIa临床试验表明,HBeAg阴性患者应用ETV联合2 mg ARC-520治疗可使HBsAg水平较基线下降22%,随访期无明显不良反应^[17]。ARC-521是第二代siRNA,可使所有来源的HBsAg沉默,包括来自整合的HBV DNA和cccDNA。但其确切疗效及具体临床应用仍需进一步探索。另外,ARB-1467是一种新型干扰RNA,能够降低所有HBV转录产物和HBV抗原,并有较高的安全性和耐受性。一项IIa期研究^[18]表明在HBV阴性的HBeAg阳性和阴性的患者中,用HBcrAg和HBV RNA下降来评估不同ARB-1467剂量的活性,双周用药和高剂量(0.4 mg/kg) ARB-1467组较单周用药或低剂量组(0.2 mg/kg)可显著降低HBsAg表达而无明显药物不良反应,同时还发现HBcrAg或HBV RNA下降与HBsAg下降无明确相关性,而基线HBsAg水平与应答显著相关。

与RNA互补的反义寡核苷酸可通过蛋白质翻译的空间阻断和(或)核糖核酸切割酶H对RNA的降解来阻断病毒蛋白表达,从而起到基因沉默作用。体外和体内临床前评估已显示其抑制病毒复制和降低病毒抗原负荷的潜力。Billioud等^[19]通过引入这种短的反义寡核苷酸在体内治疗4周后,HBsAg浓度呈剂量依赖性(\geq 11 mg/kg/周)降

低,但与恩替卡韦联合治疗并不比单用恩替卡韦疗效更好,初次注射4周后患者HBsAg浓度恢复到基线水平。上述研究提示siRNA和反义寡核苷酸治疗HBV感染有一定疗效,但需进一步改进稳定的药物传递系统,并在具有持久终点的异质人群中进行更大规模的临床试验。

(四) 核衣壳装配和pgRNA包装

pgRNA(病毒前基因组RNA,为病毒复制模板)的核衣壳形成和包装是病毒生命周期的关键步骤。因此,开发针对该过程的抑制剂或调节剂具有较好的应用前景。HBV核心蛋白涉及病毒生命周期的许多方面,包括病毒基因组转运到细胞核、脱壳释放rcDNA、聚合酶蛋白和pgRNA的包装、衣壳装配、逆转录的调节以及与包膜蛋白的相互作用。

HBV前核心/核心蛋白已成为有希望的直接抗病毒作用靶点。随着对核心蛋白三维结构的认知,目前已经开发出几类称为核心蛋白质组装调节剂的非核苷小分子,包括苯丙烯酰胺和杂芳基二氢嘧啶衍生物。这些分子可以加强蛋白质-蛋白质相互作用,抑制pgRNA衣壳化,并阻断正链DNA的合成^[20-21]。苯丙烯酰胺以AT-61和AT-130为代表,可选择性阻断pgRNA衣壳化而抑制病毒复制。Bay 41-4109为杂芳基二氢嘧啶衍生物代表,通过抑制核衣壳形成及降低核心蛋白的半衰期而干扰HBV核衣壳稳定性而发挥抑制病毒的作用,目前尚处于临床I期研究阶段。NVR3-778可改变核心蛋白构象,其首次剂量Ib期研究显示血清HBV DNA、HBV RNA和HBsAg的下降与聚乙二醇化干扰素联合应用的效果更为显著^[22]。

JNJ-56136379(JNJ-379)是一种新型衣壳组装调节剂,JNJ-379与HBV核心蛋白结合,干扰HBV衣壳的组装,并通过干扰衣壳脱壳而抑制新cccDNA的形成。近期一项研究表明^[23],在初始治疗的慢性乙型肝炎非肝硬化患者中,JNJ-379 75 mg/次、1次/d剂量组治疗4周后HBV DNA水平较基线下降约3 log₁₀IU/ml,而25 mg/次、1次/d剂量组下降约2 log₁₀IU/ml,显著高于安慰剂组,且表现出较高的安全性和可耐受性。

AB-423是一种氨基磺胺类的HBV衣壳抑制剂,尚处于I期临床研究阶段。在细胞培养模型中,AB-423对HBV复制有较强的抑制作用。在一种新的感染模型中,AB-423可能通过干扰衣壳脱衣过程而阻止包涵体rcDNA向cccDNA转化。AB-423在小鼠体内的药代动力学研究显示明显的全身性分布和较高的肝脏蓄积。在小鼠模型体内注射AB-423 7 d后,血清HBV DNA水平呈剂量依赖性降低,与ETV或ARB-1467联合使用后,抗病毒活性明显增强,与体外联合研究结果一致^[24]。AB-423相关研究进一步评估其对CHB患者的安全性、药代动力学和抗病毒活性,表明其是一种具有潜力的新型抗病毒药物。

(五) 靶向HBsAg

HBsAg可能对T细胞有直接免疫调节作用,HBV可利用HBsAg亚病毒颗粒介导免疫耐受。HBsAg过度产生的原因及其在HBV发病机制中的作用尚未明确。通过抑制cccDNA转录或病毒mRNA翻译来抑制病毒基因表达的策略可以降低血清HBsAg水平。

核酸聚合物(nucleic acid polymers, NAPs)通过抑制感染的肝细胞中亚病毒颗粒的释放来减少HBsAg的分泌,可部分恢复免疫应答。REP 2055和REP 2139为这类药物的代表,有两项相关研究^[25]显示8例患者接受REP 2055单药治疗,12例患者接受REP 2139-Ca单药治疗,其中9例转为聚乙二醇化干扰素α-2a或胸腺素α-1短期联合治疗。在这两项研究中,接受NAP单药治疗的患者血清HBsAg均下降(2~7) log₁₀IU/ml,血清HBV DNA下降(3~9) log₁₀IU/ml,出现血清抗-HBsAb(10~1 712 mIU/ml)。其中9例转为免疫治疗(聚乙二醇化干扰素或胸腺素α-1)的患者中有8例发生HBsAg清除,9例患者在停止治疗前血清抗-HBsAb滴度均有显著提高。在替诺福韦酯和聚乙二醇化干扰素联合REP 2139或REP 2165的试验性研究中亦观察到类似结果。另一项研究显示^[26],12例HBsAg阳性且无肝硬化患者接受REP 2139-Ca治疗,再给予聚乙二醇化干扰素或胸腺素α治疗。患者HBV DNA和HBsAg浓度下降,其中4例患者HBsAg转阴。但这些结果尚待更大样本研究进行验证,且必须解决细胞内HBsAg滞留导致的细胞毒性问题。

(六) 对HBV的免疫应答和对免疫调节疗法的影响

固有免疫和获得性免疫应答协调发挥作用对控制HBV感染具有重要意义。在慢性HBV感染中,先天炎症反应和细胞因子的激活较弱^[27]。在急性肝炎患者的自然杀伤细胞中可检测到IFN-γ,而在慢性肝炎患者中则不足以检测到。在HBV感染者中,HBV特异性T细胞(可能在肝脏炎症中起作用)功能失调,且在慢性HBV感染者中这部分T细胞可能缺失或耗尽^[28]。T细胞表型的耗尽归因于持续的抗原暴露和T细胞抑制反应表达增强^[29],为旨在减少HBsAg产生的相关研究提供理论依据。慢性乙型肝炎患者的B细胞功能障碍表现并不明显,但也有专家提出B细胞在慢性HBV感染的免疫控制中起作用。因此,已有专家提出几种可能的免疫调节靶向机制,可能通过产生或恢复HBV特异性免疫反应,抑制HBV复制和HBsAg产生以获得免疫控制。免疫调节疗法的主要问题是可能引起不受控制的肝炎暴发和自身免疫紊乱。

1. 病原体识别受体:先天性免疫系统的感知离不开病原识别受体。Toll样受体(Tol-like receptor, TLRs)是一种重要的病原体识别受体,通过接触特异性配体刺激天然免疫和适应性免疫反应。HBV通过下调TLRs来逃避先天免疫反应。TLR激动剂为一种新的治疗方法,可诱导产生内源性

干扰素及其他先天反应,从而抑制HBV复制。有研究试图利用TLR 7、TLR 8或TLR 9激活肝内固有免疫应答。研究比较多的是针对TLR 7的药物。TLR 7可由RNA病毒激活,或被多个小分子刺激。Toll样受体7的口服激动剂GS-9620可刺激干扰素 α 的产生,在感染HBV的黑猩猩研究中发现,GS-9620不仅可使血清HBV DNA和HBsAg水平下降,还可使肝内HBV DNA含量下降^[30]。在感染HBV的土拨鼠研究中也观察到相似结果^[31],但在人类并未观察到类似结果^[32-33]。动物模型与人类相关研究结果存在的差异表明,在药物开发的早期阶段检测药物针对人类的疗效具有重要意义。

2. 干扰素基因激动剂的刺激物:干扰素(interferon, IFN)基因的刺激因子可通过与多种细胞质DNA受体的衔接来识别细菌第二信使,是一种病原识别受体,有可能是固有免疫应答潜在的药理活性靶点^[34]。相关研究显示视黄酸诱导蛋白1可诱导干扰素及细胞因子产生,还可抑制HBV复制^[35]。SB 9200作为二核苷酸SB 9000的口服前体药物,认为能够促进视黄酸诱导蛋白1和含寡聚化结构域蛋白2的核苷酸结合,致使感染病毒的细胞产生IFN介导的免疫应答;另外,SB 9200与这些蛋白的结合还可以通过在空间上阻断RNA聚合酶而抑制pgRNA的产生,从而直接抑制HBV核酸合成^[36]。一项研究^[36]观察了SB 9200对慢性HBV感染土拨鼠模型的免疫刺激和直接抗病毒作用,每日口服15 mg/kg和30 mg/kg,治疗12周后两组模型血清HBV DNA分别下降2.2 log₁₀GE/ml和3.7 log₁₀GE/ml,而HBsAg下降0.5 log₁₀ng/ml和1.6 log₁₀ng/ml。证实SB 9200还可降低HBV DNA及HBsAg水平,但治疗结束后易发生病毒学反弹,仍需相关临床试验以进一步研究。

3. 恢复HBV特异性细胞免疫功能:慢性HBV感染者因共抑制受体的过度表达导致T细胞介导的免疫反应缺乏,表现为HBV特异性CD8⁺ T淋巴细胞的耗竭。程序性细胞死亡蛋白1(PD-1)和其配体PD-L1/2均在T细胞上表达,并在T细胞调节中起作用。PD-1和PD-L1/2拮抗剂单独或联合核苷(酸)类似物或疫苗治疗研究均可使HBV特异性T细胞应答增加。BMS-936558和MK-3475为此类药物的代表,一项HBV感染的土拨鼠模型研究证实,该类药物的可促进T细胞反应,抑制病毒复制,少数中cccDNA甚至消除^[37]。但可能引起严重的肝炎活动和自身免疫功能紊乱以及致命的靶器官损伤^[38],故此类药物针对慢性乙型肝炎患者的临床试验较少,但其在肿瘤患者中已显示出对肿瘤消退的积极作用,但不良反应率偏高^[39]。PD-1拮抗剂的抗HBV作用可能仅限于不伴有肿瘤的慢性乙型肝炎患者,而第二代PD-1抑制剂可能具有更高的选择性和更优的应用前景。

除上述药物以外,尚有处于研究中的慢性乙型肝炎治疗药物,例如凋亡抑制蛋白抑制剂(比立那帕、HGS1029等),其可通过作用于细胞凋亡抑制蛋白(cellular inhibitor of apoptosis protein, cIAP)激活肿瘤坏死因子受体及其他

死亡受体,从而激活下游细胞凋亡通路,促进感染HBV的肝细胞凋亡,以达到治疗目的。

4. 治疗性疫苗:接种治疗性疫苗是通过刺激或增强宿主免疫应答以恢复免疫控制,持续抑制HBV复制进而实现HBsAg清除。治疗性疫苗有多种,包括具有或不具有佐剂的常规HBsAg疫苗、HBsAg和抗-HBsAb的免疫复合物、DNA疫苗、T细胞疫苗、表达HBV抗原的凋亡细胞及表达HBV蛋白的病毒载体等。治疗性疫苗接种难以突破其耐受性,且对HBV DNA载量高的患者可能效果较差,可能导致肝硬化患者有更高的肝炎再发风险,针对不同HBV蛋白或腺病毒疫苗载体(TG-1050)的新型疫苗策略正在研究中^[40]。NAs治疗慢性乙型肝炎可以抑制HBV复制从而增强HBV特异性T细胞应答。GS-4774为表达HBV S/C/X融合蛋白的热激活酵母疫苗,近期有研究表明其在健康志愿者中可诱导HBV特异性T细胞应答,但在以NAs实现病毒学抑制的慢性乙型肝炎患者和未使用NAs的患者中并未实现HBsAg下降和消失^[41-43]。另外,ABX-203、DV-601等治疗性疫苗正处于临床试验阶段。

三、结语

新型药物的研发有望带来更有效的抗HBV治疗策略。对HBV生命周期和宿主对HBV免疫应答的理解进一步加深,有助于发现和设计针对HBV复制周期多个步骤的抗病毒药物或治疗方案,以恢复对HBV的免疫应答。作用于不同靶点的新药开发可提高治愈乙型肝炎患者的可能性。目前多数抗HBV新药尚处于临床前期,进入临床试验阶段仍需克服很多困难。但在多方而共同努力下,一定会有真正高效安全的抗HBV新药进入临床,最终根治慢性乙型肝炎。

参 考 文 献

- [1] Schweizer A, Horn J, Mikolajczyk RT, et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013[J]. Lancet, 2015,386(1003):1546-1555.
- [2] Verrier ER, Colpitts CC, Bach C, et al. A targeted functional RNA interference screen uncovers glypican 5 as an entry factor for hepatitis B and D viruses[J]. Hepatology, 2016,63(1):35-48.
- [3] Yan H, Zhong G, Xu G, et al. Sodium taurocholate cotransporting polypeptide is a functional receptor for human hepatitis B and D virus[J]. Elife, 2012,1:e00049.
- [4] Blank A, Markert C, Hohmann N, et al. First-in-human application of the novel hepatitis B and hepatitis D virus entry inhibitor myrludex B[J]. J Hepatol, 2016,65(3):483-489.
- [5] Urban S, Bartenschlager R, Kubitz R, et al. Strategies to inhibit entry of HBV and HDV into hepatocytes[J]. Gastroenterology, 2014,147(1):48-64.
- [6] Blank A, Markert C, Hohmann N, et al. First-in-human application of

- the novel hepatitis B and hepatitis D virus entry inhibitor myrcludex B[J]. *J Hepatol*,2016,65(3):483-489.
- [7] Nkongolo S, Ni Y, Lempp FA, et al. Cyclosporin A inhibits hepatitis B and hepatitis D virus entry by cyclophilin-independent interference with the NTCP receptor[J]. *J Hepatol*,2014,60(4):723-731.
 - [8] Xia WL, Shen Y, Xie HY, et al. The effect of cyclosporine A on hepatitis B virus replication in vitro[J]. *Chin J Inf Dis*,2006,24(6):367-371.
 - [9] Nkongolo S, Ni Y, Lempp FA, et al. Cyclosporin A inhibits hepatitis B and hepatitis D virus entry by cyclophilin-independent interference with the NTCP receptor[J]. *J Hepatol*,2014,60(4):723-731.
 - [10] Lucifora J, Xia Y, Reisinger F, et al. Specific and nonhepatotoxic degradation of nuclear hepatitis B virus cccDNA[J]. *Science*, 2014,343(6176):1221-1228.
 - [11] Ely A, Moyo B, Arbutnot P. Progress with developing use of gene editing to cure chronic infection with hepatitis B virus[J]. *Mol Ther*,2016,24(4):671-677.
 - [12] Kennedy EM, Bassit LC, Mueller H, et al. Suppression of hepatitis B virus DNA accumulation in chronically infected cells using a bacterial CRISPR/Cas RNA-guided DNA endonuclease[J]. *Virology*,2015,476:196-205.
 - [13] Seeger C, Sohn JA. Complete spectrum of CRISPR/Cas 9-induced mutations on HBV cccDNA[J]. *Mol Ther*,2016,24(7):1258-1266.
 - [14] Gómez-Herreros F, Romero-Granados R, Zeng Z, et al. TDP2-dependent non-homologous end-joining protects against topoisomerase II -induced DNA breaks and genome instability in cells and in vivo[J]. *PLoS Genet*,2013,9(3):e1003226.
 - [15] Kniger C, Wingert I, Marsmann M, et al. Involvement of the host DNA-repairenzyme TDP2 in formation of the covalently closed circular DNA persistence reservoir of hepatitis B viruses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2014,111(40):e4244-e4253.
 - [16] Gish RG, Yuen MF, Chan HL, et al. Synthetic RNAi triggers and their use in chronic hepatitis B therapies with curative intent[J]. *Antiviral Res*,2015,121:97-108.
 - [17] Ozcan G, Ozpolat B, Coleman RL, et al. Preclinical and clinical development of siRNA-based therapeutics[J]. *Adv Drug Deliv Rev*,2015,87:108-119.
 - [18] Kosh Agarwal, Ed Gane, Wendy Cheng, et al. HBcrAg, HBV-RNA declines in a phase 2a study evaluating the multi-dose activity of ARB-1467 in HBeAg-positive and negative virally suppressed patients with hepatitis B[J]. *Hepatology*,2017,66(1):S688-S689.
 - [19] Billioud G, Carrillo M, Gao D, et al. In vivo inhibition of HBV antigenemia and viremia by antisense oligonucleotides[R]. 65th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases; Boston MA, USA, 2014.
 - [20] Klumpp K, Lam AM, Lukacs C, et al. High-resolution crystal structure of a hepatitis B virus replication inhibitor bound to the viral core protein[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2015,112(49):15196-151201.
 - [21] Venkatakrishnan B, Katen SP, Francis S, et al. Hepatitis B virus capsids have diverse structural responses to small-molecule ligands bound to the heteroaryldihydropyrimidine pocket[J]. *J Virol*,2016,90(8):3994-4004.
 - [22] Yuen MF, Kim DJ, Weilert F, et al. NVR 3-778, a first-in-class HBV core inhibitor, alone and in combination with peginterferon (PegIFN), in treatment-naïve HBeAg-positive patients: early reductions in HBV DNA and HBeAg[J]. *J Hepatol*,2016,64(6):183-212.
 - [23] Fabien Z, Jeysen ZY, Joris JV, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and antiviral activity of JNJ-56136379, a novel HBV capsid assembly modulator, in non-cirrhotic, treatment-naïve patients with chronic hepatitis B[R]. AASLD: The Liver Meeting® 2017, Washington DC.
 - [24] Mani N, Cole AG, Phelps JR, et al. Preclinical profile of AB-423, an inhibitor of hepatitis B virus pregenomic RNA encapsidation[J]. *Antimicrob Agents Chemothe*, 2018,62(6):e00082-18.
 - [25] Al-Mahtab M, Bazinet M, Vaillant A. Safety and efficacy of nucleic acid polymers in monotherapy and combined with immunotherapy in treatment-naïve bangladeshi patients with HBeAg+ chronic hepatitis B infection[J]. *PLoS One*,2016,11(6):e0156667.
 - [26] Jansen L, Vaillant A, van Dort K, et al. Serum HBV-RNA levels decline significantly in chronic hepatitis B patients dosed with the nucleic-acid polymer REP 2139-Ca[R]. 2015 International Liver Congress: 50th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL); Vienna, Austria, 2015.
 - [27] Bertoletti A, Ferrari C. Innate and adaptive immune responses in chronic hepatitis B virus infections: towards restoration of immune control of viral infection[J]. *Gut*,2012,61(12):1754-1764.
 - [28] Tan A, Koh S, Bertoletti A. Immune response in hepatitis B virus infection[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*,2015,5(8):a021428.
 - [29] Mason WS, Gill US, Litwin S, et al. HBV DNA integration and clonal hepatocyte expansion in chronic hepatitis B patients considered immune tolerant[J]. *Gastroenterology*,2016,151(5):986-998. e4.
 - [30] Lanford RE, Guerra B, Chavez D, et al. GS-9620, an oral agonist of Toll-like receptor-7, induces prolonged suppression of hepatitis B virus in chronically infected chimpanzees[J]. *Gastroenterology*,2013,144(7):1508-1517.
 - [31] Menne S, Tumas DB, Liu KH, et al. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the woodchuck model of chronic hepatitis B[J]. *J Hepatol*, 2015,62(6):1237-1245.
 - [32] Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, et al. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *J Hepatol*,2015,63(2):320-328.
 - [33] Janssen HL, Brunetto MR, Kim YJ, et al. Safety and efficacy of GS-9620 in virally-suppressed patients with chronic hepatitis B [Abstract]. *Hepatology*,2016,64:913A-914A.
 - [34] Guo F, Han Y, Zhao X, et al. STING agonists induce an innate antiviral immune response against hepatitis B virus[J]. *Antimicrob Agents Chemothe*,2015,59(2):1273-1281.
 - [35] Sato S, Li K, Kameyama T, et al. The RNA sensor RIG-I dually functions as an innate sensor and direct antiviral factor for hepatitis B virus[J]. *Immunit*,2015,42(1):123-132.
 - [36] Korolowicz KE, Iyer RP, Czerwinski S, et al. Antiviral efficacy and host innate immunity associated with SB 9200 treatment in the woodchuck model of chronic hepatitis B[J]. *PLoS*

- One,2016,11(8):e0161313.
- [37] Liu J, Zhang E, Ma Z, et al. Enhancing virusspecific immunity in vivo by combining therapeutic vaccination and PD-L1 blockade in chronic hepadnaviral infection[J]. PLoS Pathog,2014,10(1):e1003856.
- [38] Johnson DB, Balko JM, Compton ML, et al. Fulminant myocarditis with combination immune checkpoint blockade[J]. N Engl J Med,2016,375(18):1749-1755.
- [39] Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer[J]. N Engl J Med,2012,366(26):2443-2454.
- [40] Martin P, Dubois C, Jacquier E, et al. TG1050, an immunotherapeutic to treat chronic hepatitis B, induces robust T cells and exerts an antiviral effect in HBV-persistent mice[J]. Gut,2015,64(12):1961-1971.
- [41] Gaggar A, Coeshott C, Apelian D, et al. Safety, tolerability and immunogenicity of GS-4774, a hepatitis B virus-specific therapeutic vaccine, in healthy subjects: a randomized study[J]. Vaccine,2014,32(39):4925-4931.
- [42] Lok AS, Pan CQ, Han SH, et al. Randomized phase II study of GS-4774 as a therapeutic vaccine in virally suppressed patients with chronic hepatitis B[J]. J Hepatol,2016,65(16):509-516.
- [43] Janssen HL, Yoon SK, Yoshida EM, et al. Safety and efficacy of GS-4774 in combination with TDF in patients with chronic hepatitis B [Abstract]. Hepatology,2016,64:122A.
- (收稿日期: 2018-09-04)
(本文编辑: 孙荣华)

张珊, 孙静, 邢卉春. 新型抗乙型肝炎病毒药物研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2019,13(1):6-11.

