



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2020.08.006

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.08.006

· 综述与讲座 ·

# 抗乙型肝炎病毒药物的新进展

邓铭霞 袁云庆

[关键词] 乙型肝炎病毒; 抗病毒治疗; 治愈

乙型肝炎病毒(HBV)感染可引起急性或慢性肝脏炎症,后者对人体健康影响更大且更易发展成为不可逆的严重肝脏疾病,如肝硬化或肝细胞癌。据统计慢性 HBV 感染影响了全球约 2.57 亿人,其导致的肝损伤在 2015 年造成约 88.7 万人死亡。当前针对慢性乙型病毒性肝炎(简称乙肝)的抗病毒治疗方案主要是以核苷(酸)类似物(NAs)和干扰素(IFN)- $\alpha$  为代表的药物治疗。临床上 NAs 或聚乙二醇干扰素(Peg-IFN)- $\alpha$  长期治疗持续抑制 HBV 复制能有效改善部分患者肝脏损伤,防止肝脏失代偿的发生,进而减少因发展为不可逆严重肝脏疾病而导致的死亡<sup>[1]</sup>。然而,当前的疗法很少能使患者实现“功能上的治愈”,即血清中无法检测到 HBV 表面抗原(HBsAg)与 HBV DNA,这是对 HBV 成功免疫应答和完全且持久地控制 HBV 感染的标志<sup>[1]</sup>。最近抗 HBV 药物的研发取得了许多令人瞩目的新进展。

## 一、抗 HBV 药物现状

当前的抗 HBV 治疗药物主要是 IFN- $\alpha$ (包括 Peg-IFN- $\alpha$ )和 NAs。NAs 主要为拉米夫定(LAM)、阿德福韦酯(ADV)、替比夫定(LdT)、恩替卡韦(ETV)和替诺福韦。我国《慢性乙型肝炎防治指南(2019 版)》推荐的首选 NAs 一线治疗药物为 ETV、富马酸替诺福韦酯(TDF)和富马酸丙酚替诺福韦片(TAF)<sup>[2]</sup>。

1. IFN- $\alpha$ : Peg-IFN- $\alpha$  是一种公认的抗 HBV 药物,其作为细胞因子能增强机体对 HBV 感染的免疫反应。许多 IFN 刺激基因(ISG)也已被证实可通过不同途径抑制 HBV 感染和复制<sup>[3]</sup>。研究显示,干扰素- $\alpha$  治疗能增加慢性乙肝的 HBsAg 血清转化率并延长临床缓

解期,降低发展成肝癌的风险,提高患者生存率<sup>[4]</sup>。然而,IFN- $\alpha$  和 Peg-IFN 治疗仍存在持续应答率较低(20~30%)和较多不良反应等问题<sup>[3]</sup>。

2. NAs: NAs 通过取代结构类似的核苷,使正在合成的 DNA 链延长中止,并抑制相应 DNA 聚合酶的活性,进而抑制病毒复制<sup>[5]</sup>。LAM、ADV、LdT 是较早应用于抗 HBV 治疗的 NAs 药物,在抗 HBV 治疗历史中曾发挥了重要作用。但由于患者用药 1~3 年后容易出现 HBV DNA 基因变异,进而出现耐药,并出现一些肾功能损害等不良反应,已不再作为一线抗 HBV 治疗药物。ETV 是一个强效低耐药的 HBV 复制抑制剂,不良反应也较少,因此,其目前仍是抗 HBV 治疗的首选药物。TDF 与 ETV 一样,同样显示出良好的安全性与较低的耐药率。TAF 也能有效地减少 HBV DNA 并使 ALT 恢复正常水平,同时发生不良事件较少<sup>[2]</sup>。尽管这些 NAs 表现出上述强有力的抗病毒作用,但其需要长期服用,且只能抑制 HBV 复制,很少使患者达到“功能性治愈”的目标<sup>[1]</sup>。

## 二、抗 HBV 新药的研究进展

HBV 是一种具有包膜的嗜肝病毒,其基因组由结构复杂的部分环状双链 DNA 组成<sup>[5]</sup>。由于 HBV 生活周期的独特性及 HBV 对宿主免疫系统的抑制作用,治愈 HBV 感染极具挑战。据此,针对病毒生活周期及 HBV 免疫应答做出干预成为治愈 HBV 感染的主要策略<sup>[9]</sup>。近年来根据这两条策略发展了多种乙肝抗病毒创新疗法(表 1)。

### 1. 直接抗病毒药物

直接抗病毒药物可干扰病毒生活周期各个阶段,根据抗病毒机制主要分为以下 5 个机制:阻止病毒进入细胞、抑制 cccDNA 产生或使其失活降解、抑制病毒基因表达、抑制核衣壳组装、抑制 HBsAg 释放<sup>[7]</sup>(图 1)。

(1)阻止病毒进入细胞:钠离子-牛磺胆酸共转运多肽(NTCP)位于肝细胞基底外侧膜,被认为是 HBV 进入细胞的功能性受体<sup>[8]</sup>,其一经发现即成为防止病

基金项目:浙江省科技厅重点研发计划(2020C03046);浙江省科技厅公益技术研究社会发展项目(LGF18H310002)

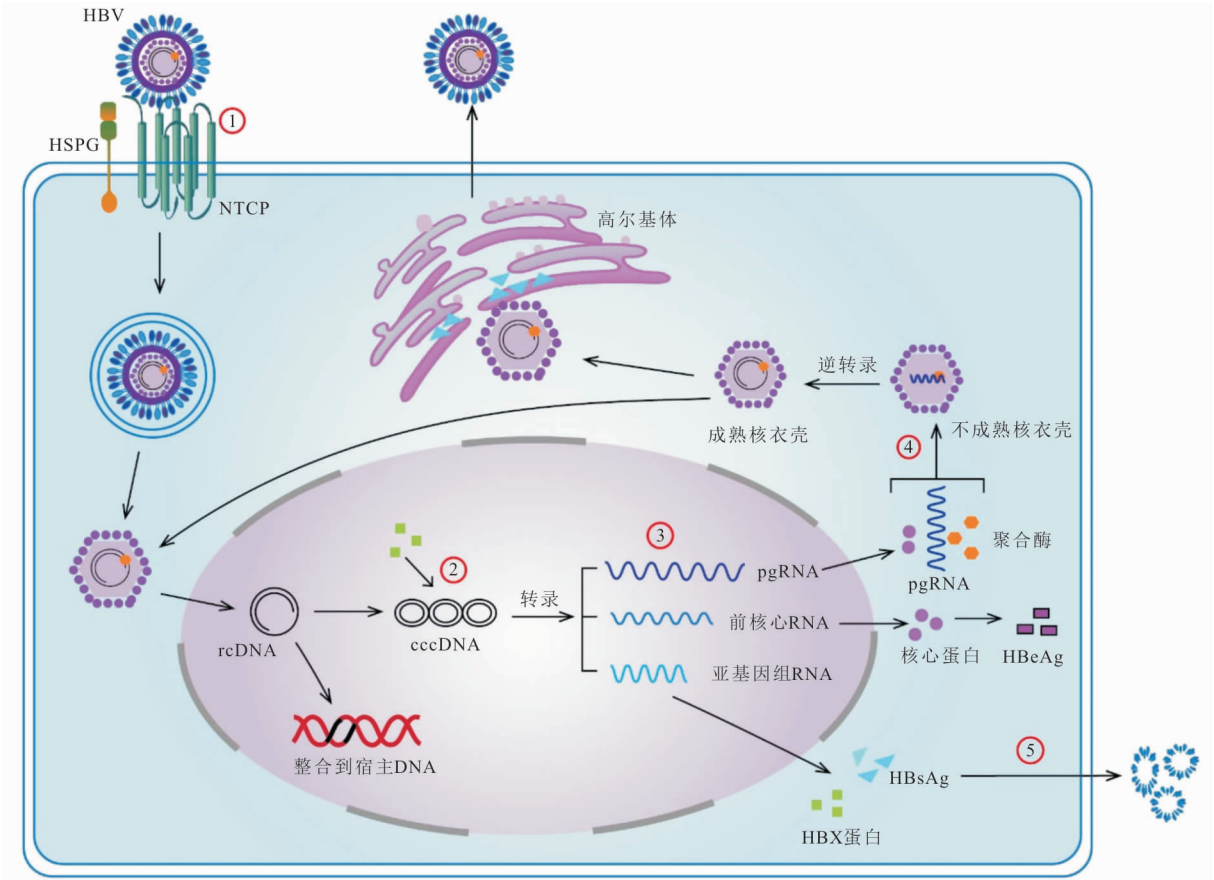
作者单位:310003 杭州,浙江大学医学院第一附属医院感染科 传染病诊治与治疗国家重点实验室

通讯作者:袁云庆, E-mail: qiuqy@zju.edu.cn

表 1 进入临床研究的抗 HBV 部分新药的作用机制和研究阶段

药物名称	作用机制	研究阶段	参考文献 <sup>a</sup>
直接抗病毒药物:靶向病毒干扰 HBV 生活周期			
Myrcludex B(bulevirtide)	与 NTCP 受体结合阻止病毒进入细胞	临床 II 期	[7]
ARO-HBV(JNJ-3989)	RNA 干扰抑制病毒基因表达	临床 I / II 期	[13]
Vir-2218	RNA 干扰抑制病毒基因表达	临床 II 期	NCT04412863
DCR-HBVS	RNA 干扰抑制病毒基因表达	临床 I / II 期	NCT03772249
GSK3389404	反义寡核苷酸抑制病毒基因表达	临床 I 期	[14]
GSK3228836	反义寡核苷酸抑制病毒基因表达	临床 II 期	NCT04449029
JNJ-56136379	抑制核衣壳组装	临床 II 期	[16], NCT03361956
NVR 3-778	抑制核衣壳组装	临床 I 期	[17]
ABI-H0731	抑制核衣壳组装	临床 II 期	[18], NCT03577171
ABI-H2158	抑制核衣壳组装	临床 I 期	NCT03714152
EDP-514	抑制核衣壳组装	临床 I 期	NCT04008004
ABI-H3733	抑制核衣壳组装	临床 I 期	NCT04271592
ZM-H1505R	抑制核衣壳组装	临床 I 期	NCT04220801
REP 2139	抑制 HBsAg 的释放	临床 II 期	[20-21]
REP 2165	抑制 HBsAg 的释放	临床 II 期	[21]
间接抗病毒药物:靶向宿主免疫系统激活抗 HBV 免疫			
inarigivir	激活 RIG-I 信号	临床 II 期	[13]
GS-9620	激活 TLR-7 信号	临床 II 期	[7,24]
GS-9688	激活 TLR-8 信号	临床 II 期	NCT03491553
TG1050	治疗性疫苗	临床 I 期	[27]
JNJ-64300535	治疗性疫苗	临床 I 期	NCT03463369
INO-1800	治疗性疫苗	临床 I 期	NCT02431312
HB-110	治疗性疫苗	临床 I 期	NCT00513968

注:<sup>a</sup>:部分药物无对应临床试验的参考文献,提供了临床试验注册号,可于 ClinicalTrials. gov/https://clinicaltrials. gov/查询了解



注:①为阻止病毒进入细胞的主要靶点;②为抑制 cccDNA 产生或使其失活降解的主要靶点;③为抑制病毒基因表达的主要靶点;④为抑制核衣壳组装的主要靶点;⑤为抑制 HBsAg 释放的主要靶点。HSPG:硫酸乙酰肝素蛋白多糖;rcDNA:松弛环状 DNA;pgRNA:前基因组 RNA

图 1 HBV 生活周期及药物主要作用靶点

毒进入细胞的主要靶点。Myrcludex B 是一种模拟 HBV NTCP 结合域的合成肽,能够竞争性抑制 HBV 进入宿主细胞。它在临床试验中也呈现了较好的抗 HBV 作用<sup>[7]</sup>。单克隆抗体也可通过阻断前 S1 蛋白与 NTCP 的特异性结合阻止 HBV 进入细胞<sup>[9]</sup>。环孢菌素衍生物能在不干扰 NTCP 转运蛋白活性的情况下抑制 HBV 入侵,这表明阻止 HBV 进入细胞可以在功能上与胆汁酸转运分开,这对减少药物相关的不良反应十分有益<sup>[10]</sup>。

(2)抑制 cccDNA 的产生或使其失活降解:cccDNA 是由 HBV 蛋白连接的松弛环状 DNA 基因组在宿主细胞核转变而成的质粒样游离基因,其重要功能是作为所有病毒 RNA 的模板,进而形成新的病毒体。cccDNA 半衰期较长,其在细胞中的持续存在是治愈 HBV 感染的主要障碍<sup>[11]</sup>。治愈 HBV 的最可靠方法是清除或永久沉默 cccDNA。靶向 cccDNA 的疗法需要了解 cccDNA 的分子生物学机制。宿主蛋白参与 cccDNA 生成的多个关键环节。干预宿主蛋白能有效抑制 cccDNA 产生,但较多的不良反应限制了该方法的发展<sup>[7]</sup>。因为 HBx 对 HBV 进入宿主细胞时取消 cccDNA 的沉默是必须,故其可能成为一个治疗靶点。使用基因编辑技术设计的核酸酶能靶向 cccDNA,是使其失活降解的新工具,如锌指核酸酶和转录激活样内切核酸酶。但肝细胞递送、脱靶效应等问题仍需进一步研究解决<sup>[7]</sup>。

(3)抑制病毒基因表达:抑制病毒基因表达主要是通过 RNA 干扰 (RNAi) 和反义寡核苷酸 (ASO) 技术实现。基于 RNAi 的治疗可以高特异性直接靶向 HBV 转录本,导致病毒抗原减少,进而可能允许免疫重建和功能性治愈<sup>[12]</sup>。ARO-HBV (JNJ-3989) 包含两个直接与 N-乙酰半乳糖胺共轭的小干扰 RNA,能够使 cccDNA 和宿主整合病毒 DNA 形成的所有 mRNA 沉默。有关临床试验结果显示,ARO-HBV 与 NAs 的联合治疗能有效降低 HBsAg 水平且安全性与耐受性良好<sup>[13]</sup>。反义寡核苷酸是小的单链核酸序列,可高选择性地结合到目标 RNA 上,通过 RNase h 依赖途径触发降解。目前正在开发的一种用于治疗慢性 HBV 感染的 ASO 为 GSK3389404,已经证实其在健康受试者的初步临床试验中具有可接受的安全性和药代动力学特征<sup>[14]</sup>,为其进一步临床研究提供了基础。

(4)抑制核衣壳组装:核衣壳对病毒基因组进行包装,同时也是 HBV 前基因组 RNA 逆转录的场所,更承担着胞内运输等功能,对维持 HBV 复制周期起重要作用。在其组装过程,核心蛋白同型二聚体包裹 HBV 前基因组 RNA 和聚合酶,初步形成具有生物活性的不成熟 HBV 核衣壳,前基因组 RNA 在不成熟 HBV 核衣

壳内完成逆转录,进而形成成熟的核衣壳<sup>[15]</sup>。目前很多靶向核衣壳组装的药物已经进入临床试验。HBV 衣壳装配调节剂 JNJ-56136379 和 NVR 3-778 在慢性 HBV 感染患者的 I 期研究中显示出良好的耐受性与抗病毒活性<sup>[16-17]</sup>。ABI-H0731 同样可抑制核衣壳组装,也已在临床试验中被证实能降低 HBV DNA 和 RNA 水平,且未发生任何治疗性不良事件<sup>[18]</sup>。

(5)抑制 HBsAg 释放:抑制 HBsAg 释放有助于恢复其介导的免疫抑制,能有效控制 HBV 感染<sup>[19]</sup>。核酸聚合物 REP 2139 是一种正在研究的分泌抑制剂,能够阻断肝细胞中亚病毒颗粒的组装进而抑制 HBsAg 释放。临床试验结果显示,REP 2139 与 Peg-IFN- $\alpha$ -2a 联合使用能在治疗 1 年后实现对大部分患者的感染控制并使其血清氨基转移酶恢复正常,且安全性和耐受性良好<sup>[20]</sup>。REP 2165 是一种 REP 2139 类似物,含有 3 个等距分布的未修饰核糖腺苷。一项 II 期随机试验结果显示在 TDF + pegIFN 中添加 REP 2139 或 REP 2165 不会改变患者耐受性,并且显著增加 HBsAg 清除率和血清转化率<sup>[21]</sup>。

## 2. 间接抗病毒药物

间接抗病毒药物靶向宿主免疫系统通过激活针对 HBV 的免疫应答实现抗病毒作用。免疫反应包括固有免疫及适应性免疫,前者主要由组织屏障和固有免疫细胞组成,后者由体液免疫和细胞免疫组成。HBV 表现出对宿主的免疫功能抑制,同时还能建立免疫耐受使自己逃脱免疫防御与清除<sup>[5]</sup>。因此,通过适当激活宿主的固有免疫与适应性免疫,可能能够促进 HBV 感染清除的完全治愈。

(1)激活固有免疫系统:针对固有免疫系统疗法主要利用细胞因子直接抗病毒效应和模式识别受体激活。传统抗 HBV 药物 IFN- $\alpha$  是常见的细胞因子<sup>[3]</sup>;研究结果发现 TNF 和 IFN- $\gamma$  能通过脱氨基作用减少 cccDNA<sup>[7]</sup>。同时,模式识别受体介导的固有免疫激活能抑制人肝细胞衍生细胞中 HBV 的复制,例如视黄酸诱导型基因 I (RIG-I) 和 Toll 样受体 (TLR)<sup>[22]</sup>。RIG-I 激动剂 inarivir 激活 IFN 信号通路,进而引起宿主对 HBV 的天然 IFN 反应,一项临床试验结果显示其能有效降低 HBV DNA 和 HBV RNA 水平,并使部分患者 HBsAg 水平出现下降<sup>[13]</sup>。GS-9620 能激活 TLR-7 信号,一项动物实验结果表明 GS-9620 能促进 IFN- $\alpha$  等细胞因子产生,进而激活 IFN 刺激基因、T 淋巴细胞和自然杀伤细胞,诱导 HBV 感染的肝细胞凋亡,使血清 HBsAg、HBeAg 和 HBV DNA 水平降低<sup>[23]</sup>。而在 II 期临床试验中,GS-9620 虽然表现出良好的安全性,但其抗病毒效果不佳,可能与给药剂量太低有关<sup>[7,24]</sup>。

GS-9688 是 TLR-8 的激动剂,细胞实验和动物实验都显示出其具有良好的抗 HBV 疗效,有关临床实验正在开展中<sup>[30-31]</sup>。

(2)激活适应性免疫系统:免疫检查点[包括程序性死亡受体-1(PD-1)]抑制剂在恶性肿瘤中的成功应用证实了其在激活人体特异性免疫并清除病原体成分的关键作用。抗 PD-1 疗法已被证实能够使受损的 HBV 特异性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞反应部分恢复<sup>[7]</sup>。这些都为靶向 PD-1 作为抗 HBV 药物的新开发策略提供了理论支持。与此同时,一些针对 HBV 治疗性疫苗的研究也正在开展中。其中,基于腺病毒的 HBV 治疗性疫苗 TG1050 表达 HBV 聚合酶及核心和表面抗原域,临床试验证实其能够诱导 HBV 特异性细胞免疫反应且具有良好的安全性<sup>[27]</sup>。应用基因工程技术同样能有效激活适应性免疫,靶向 HBV 的嵌合抗原受体 T 细胞(TCR-T)或 T 细胞受体嵌合型 T 细胞(CAR-T)疗法能够解决 HBV 感染患者的 T 淋巴细胞受损问题,并有效控制 HBV 感染,但还需要进一步研究攻克该疗法的技术难关以开展相关的临床试验<sup>[10]</sup>。

### 三、总结与展望

目前抗 HBV 药物 IFN- $\alpha$  和 NAs 虽能控制 HBV 复制,但很少能实现功能性治愈,且长期使用也会导致产生不良反应与耐药突变的问题。完全抑制病毒的感染与产生和 HBsAg 的生成与释放并适当激活免疫系统是实现 HBV 功能性治愈需达到的目标<sup>[7]</sup>。研究人员正在不断地攻克这一难关,开发出针对 HBV 生活周期与免疫调控的以治愈为目标的创新疗法。最近已研发出针对 cccDNA 的产生、稳态、降解及病毒复制周期的其他干涉治疗手段<sup>[6]</sup>,不少抗 HBV 新药也已进入临床试验并展现出良好的安全性与抗病毒活性(表 1)。我们期待 HBV 感染功能性治愈这一目标能够早日实现。

### 参 考 文 献

- [1] Tang L, Zhao Q, Wu S, et al. The current status and future directions of hepatitis B antiviral drug discovery [J]. Expert Opin Drug Discov, 2017, 12(1): 5-15.
- [2] 王贵强,王福生,庄辉.慢性乙型肝炎防治指南年版[J].中国肝脏病杂志电子版,2019,11(4):5-27.
- [3] Tan G, Song H, Xu F, et al. When Hepatitis B Virus Meets Interferons [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 1611.
- [4] 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 (Baltimore, Md), 2004, 39(3): 804-810.
- [5] 李兰娟,任红,高志良,等.传染病学(第八版)[M]. 2013. 38-39.
- [6] Alter H, Block T, Brown N, et al. A research agenda for curing chronic hepatitis B virus infection [J]. Hepatology, 2018, 67(3): 1127-1131.
- [7] Fanning GC, Zoulim F, Hou J, et al. Therapeutic strategies for hepatitis B virus infection: towards a cure [J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18(11): 827-844.
- [8] 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, 3: 10.
- [9] Li D, He W, Liu X, et al. A potent human neutralizing antibody Fc-dependently reduces established HBV infections [J]. Elife, 2017, 6: e26738.
- [10] Shimura S, Watashi K, Fukano K, et al. Cyclosporin derivatives inhibit hepatitis B virus entry without interfering with NTCP transporter activity [J]. J Hepatol, 2017, 66(4): 685-692.
- [11] Nassal M. HBV cccDNA: viral persistence reservoir and key obstacle for a cure of chronic hepatitis B [J]. Gut, 2015, 64(12): 1972-1984.
- [12] Wooddell CI, Rozema DB, Hossbach M, et al. Hepatocyte-targeted RNAi therapeutics for the treatment of chronic hepatitis B virus infection [J]. Mol Ther, 2013, 21(5): 973-985.
- [13] Smolders EJ, Burger DM, Feld JJ, et al. Review article: clinical pharmacology of current and investigational hepatitis B virus therapies [J]. Aliment Pharmacol Ther, 2020, 51(2): 231-243.
- [14] Han K, Cremer J, Elston R, et al. A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, First-Time-in-Human Study to Assess the Safety, Tolerability, and Pharmacokinetics of Single and Multiple Ascending Doses of GSK3389404 in Healthy Subjects [J]. Clin Pharmacol Drug Dev, 2019, 8(6): 790-801.
- [15] Nijampatnam B, Liotta DC. Recent advances in the development of HBV capsid assembly modulators [J]. Curr Opin Chem Biol, 2019, 50: 73-79.
- [26] Zoulim F, Lenz O, Vandenbossche JJ, et al. JNJ-56136379, an HBV Capsid Assembly Modulator, is Well-Tolerated and Has Antiviral Activity in a Phase 1 Study of Patients with Chronic Infection [J]. Gastroenterology, 2020, 159(2): 521-533.
- [17] Yuen MF, Gane EJ, Kim DJ, et al. Antiviral Activity, Safety, and Pharmacokinetics of Capsid Assembly Modulator NVR 3-778 in Patients with Chronic HBV Infection [J]. Gastroenterology, 2019, 156(5): 1392-1403.
- [18] Yuen MF, Agarwal K, Gane EJ, et al. Safety, pharmacokinetics, and antiviral effects of ABI-H0731, a hepatitis B virus core inhibitor: a randomised, placebo-controlled phase 1 trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatology, 2020, 5(2): 152-166.
- [19] Soriano V, Barreiro P, Benitez L, et al. New antivirals for the treatment of chronic hepatitis B [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2017, 26(7): 843-851.
- [20] Bazinet M, Pantea V, Cebotarescu V, et al. Safety and efficacy of REP 2139 and pegylated interferon alpha-2a for treatment-naïve patients with chronic hepatitis B virus and hepatitis D virus co-infection (REP 301 and REP 301-LTF): a non-randomised, open-label, phase 2 trial [J]. Lancet Gastroenterol Hepatol, 2017, 2(12): 877-889.
- [21] Bazinet M, Pantea V, Placinta G, et al. Safety and Efficacy of 48 Weeks REP 2139 or REP 2165, Tenofovir Disoproxil, and Pegylated Interferon Alfa-2a in Patients With Chronic HBV Infection Naïve to Nucleos(t)ide Therapy [J]. Gastroenterology, 2020, 158(8): 2180-2194.
- [22] Guo H, Jiang D, Ma D, et al. Activation of pattern recognition receptor-mediated innate immunity inhibits the replication of hepatitis B virus in human hepatocyte-derived cells [J]. J Virol, 2009, 83(2): 847-858.
- [23] 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.
- [24] Janssen HLA, Brunetto MR, Kim YJ, et al. Safety, efficacy and pharmacodynamics of vesatolimod (GS-9620) in virally suppressed patients with chronic hepatitis B [J]. J Hepatol, 2018, 68(3): 431-440.
- [25] Mackman RL, Mish M, Chin G, et al. Discovery of GS-9688 (Seligantolimod) as a Potent and Selective Oral Toll-Like Receptor 8 Agonist for the Treatment of Chronic Hepatitis B [J]. J Med Chem, 2020, 10: 1021.
- [26] Daffis S, Balsitis S, Chamberlain J, et al. Toll-Like Receptor 8 Agonist GS-9688 Induces Sustained Efficacy in the Woodchuck Model of Chronic Hepatitis B [J]. Hepatology, 2020, 10: 1002.
- [27] Zoulim F, Fournier C, Habersetzer F, et al. Safety and immunogenicity of the therapeutic vaccine TG1050 in chronic hepatitis B patients: a phase 1b placebo-controlled trial [J]. Hum Vaccin Immunother, 2020, 16(2): 388-399.

(收稿日期:2020-06-12)

(本文编辑:余晓曼)