

# 抗乙型肝炎病毒药物的研究进展

董铭心, 赵国明综述 李 松审校

(军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850)

**摘要:**抗病毒治疗是慢性乙型病毒性肝炎治疗的核心问题。本文对近年来抗乙型肝炎病毒药物的结构类型、作用机制、活性评估及临床应用进行了综述,并展望了应用开发的前景。

**关键词:**乙型肝炎; 抗乙型肝炎病毒药物; 核苷类似物; 免疫调节剂; 二氢嘧啶类化合物

**中图分类号:** R978.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2004)05-0296-04

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒(HBV)引起的、以肝脏炎性病变为主并可引起多器官损害的一种传染性疾病。据 1999 年 WHO 统计,全球乙型病毒性肝炎感染者约 3.5 亿,每年有 100 多万人死于与肝炎、肝硬化及肝癌有关的疾病<sup>[1]</sup>。中国属乙型病毒性肝炎高流行区,HBV 携带者约占总人口的 10%(1.3 亿),慢性肝炎患者 3 000 万,因此,乙型肝炎已成为中国重大的公共卫生问题之一。

## 1 乙型肝炎病毒及其复制过程

HBV 属嗜肝病毒科,其 DNA 分子为环状部分双链结构,包含 S, C, P 和 X 四个开放的阅读框架,分别编码膜蛋白、衣壳蛋白、聚合酶和 X 蛋白。

HBV 复制过程大约可分为 4 个阶段:(1)HBV 颗粒首先与细胞膜上的受体羧肽酶 D 结合,脱去外膜进入细胞内;(2)再经衣壳蛋白的磷酸化而脱去衣壳,HBV DNA 进入细胞核内,并在细胞核内转变成超螺旋 DNA(cccDNA)。cccDNA 是 HBV 转录的模板,它可转录 mRNA;(3)mRNA 指导合成前基因 RNA,并在细胞核外被衣壳包裹;以前基因 RNA 为模板,在细胞核外经逆转录合成 HBV DNA 负链,随后合成 HBV 正链;(4)衣壳中的 HBV 由膜包裹后分泌到细胞外以完整的病毒颗粒进入其他细胞,也可以重新脱去衣壳进入细胞核内,以维持细胞核内 cccDNA 的数量<sup>[2]</sup>。

针对 HBV 复制的特点,抗 HBV 治疗主要有以下两种策略:(1)打破免疫耐受,提高人体免疫功能,通过细胞溶解机制和非细胞溶解机制,清除细胞内的 HBV cccDNA;(2)通过长期、有效的抗 HBV 药物和治疗方法抑制新的 HBV 合成,使细胞内的 cccDNA

库得不到补充而逐渐耗竭<sup>[3,4]</sup>。

## 2 抗乙型肝炎病毒药物

目前,HBV 的完全根除是不可能的,国际上公认的短期治疗目标是抑制 HBV 复制,减轻肝脏炎症,长期治疗目标是改善肝脏组织学,阻止患者肝硬化、肝癌的进展。市场上现用来治疗乙型肝炎的药物主要有免疫调节剂和核苷类似物<sup>[5-7]</sup>。

### 2.1 免疫调节剂

**2.1.1  $\alpha$  干扰素** 1992 年,美国 FDA 批准  $\alpha$  干扰素(IFN $\alpha$ )应用于治疗慢性乙型肝炎病人,该药兼有抑制病毒复制及免疫增强功能,推荐剂量为每次皮下注射 500 万单位,每周 3 次,疗程至少 6 个月。IFN $\alpha$  抗 HBV 的机制尚未完全阐明,目前认为,其主要包括直接抗病毒作用和免疫调节作用。IFN $\alpha$  的抗病毒作用是通过激活细胞内 2'-5'寡核苷酸合成酶催化寡核苷酸合成,进而激活内源性核酸内切酶,导致病毒 mRNA 裂解,阻止 HBV 复制。其免疫调节作用表现为促进肝细胞表达人类白细胞抗原,从而促进受 HBV 感染的肝细胞被 CD8<sup>+</sup> 细胞毒淋巴细胞清除。最近发现,IFN $\alpha$  还能抑制 HBV DNA 增强子-1 活性,从而抑制其复制<sup>[8]</sup>。IFN $\alpha$  抗 HBV 的平均疗效为 30% ~ 40%。

**2.1.2  $\alpha_1$  胸腺肽**  $\alpha_1$  胸腺肽(T $\alpha_1$ )可增强细胞免疫功能,提高机体对病毒的抵抗力。据报道,T $\alpha_1$  治疗慢性乙型肝炎的疗效不尽相同。在美国进行的 T $\alpha_1$  的 II 期和 III 期临床试验中,治疗反应率相差较大,分别为 75% 和 25%。尽管各项研究结果提示,T $\alpha_1$  治疗后 HBV DNA 和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)的阴转率不同,但在治疗结束后的随访过程中,病毒清除率均有逐渐上升的趋势,提示其后续作用较强。T $\alpha_1$  治疗的副作用轻微,尚未发现它可导致严重的并发症

及影响其疗效的因素。但  $T_{\alpha_1}$  有可能引起 HBV S 基因的突变,推测是  $T_{\alpha_1}$  治疗后增强了机体针对乙型肝炎表面抗原(HBsAg)的免疫应答的结果。 $T_{\alpha_1}$  为慢性乙型肝炎患者提供了新的治疗选择,但从目前的研究结果来看,其有效率还不甚理想<sup>[8]</sup>。

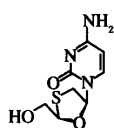
**2.1.3 疫苗** 近年研究结果表明,部分慢性乙型肝炎病人在接种了含有 HBeAg 或其他 HBV 相关蛋白疫苗后,可检测到特异性免疫反应,并取得抗病毒效果。目前,慢性乙型肝炎治疗性疫苗包括蛋白疫苗和 DNA 疫苗两种。前者包括 HBeAg 疫苗、GenHevac B 疫苗(HBsAg/前 S2 疫苗)、HBVac-HB1G 疫苗(HBsAg 免疫复合物)及 theradigm-HBD 多肽疫苗;后者包括编码 HBsAg 的 DNA 疫苗、编码 HBsAg/前 S2(S1)的质粒载体、编码乙型肝炎核心抗原(HBcAg)或 HBeAg 的逆转录病毒载体。这些 HBV 治疗性疫苗能在部分人或实验动物的体内激发特异性体液及细胞免疫,降低血清 HBV DNA 水平,缩短慢性乙型肝炎病程,并在部分实验动物中诱导出血清抗 HBsAg、抗 HBcAg 阳转。不过,目前慢性乙型肝炎的治疗性疫苗还处于探索阶段,用于人体的安全性和有效性还需深入研究。国内学者研究认为,对于慢性乙型肝炎病人经皮下注射 30  $\mu\text{g}$  或更大量的乙型肝炎疫苗(表面抗原),可使慢性乙型肝炎患者中树突细胞功能十分低下者诱发出一定的免疫应答。单用乙型肝炎疫苗,疗效还不令人满意,可采取乙型肝炎疫苗加各种佐剂或其他非特异的免疫调节剂的方法,如乙型肝炎疫苗加各种细胞因子(IL-2, IL-12, GM-CSF 等)、乙型肝炎疫苗加左旋咪唑搽剂;乙型肝炎疫苗加卡介苗(微卡、卡介苗素)、乙型肝炎疫苗加卡介苗(微卡、卡介苗素)再加潘生丁等。

**2.2 核苷类似物**

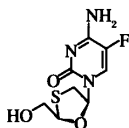
近年来,开发了多种用于治疗慢性肝炎的核苷类似物,主要作用于 HBV DNA 的聚合酶,抑制病毒 DNA 的合成。HBV 的复制具有逆转录过程,因此,原先用来治疗艾滋病的这类药物证实也有抗 HBV 活性,转而用于治疗慢性肝炎<sup>[9]</sup>。

**2.2.1 拉米夫定** 拉米夫定(lamivudine)是第一个被美国 FDA 批准用来治疗乙型肝炎的核苷类化合物,它作为链终止剂,靶向作用于 HBV 逆转录酶,在细胞内磷酸化为三磷酸酯形式,结合在病毒 DNA 链的 3'端。拉米夫定有很强的抑制病毒复制能力,但长期用药会导致 HBV 的 YMDD 区发生变异,产生耐药性。依曲西他滨(entricitabine)是拉米夫定的 5-氟代衍生物,据报道,在抗 HBV 上,拉米夫定和依曲西他滨有交叉耐药性。II 期临床试验结果表明,依曲西他滨有较好的降 HBV DNA 和丙氨酸转氨酶(ALT)效果,未观察到药物相关的严重不良反应<sup>[10]</sup>。

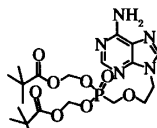
**2.2.2 阿德福韦地酯** 阿德福韦地酯(adefovir dipivoxil)于 2002 年被美国 FDA 批准用于治疗慢性乙型肝炎。该药属开环核苷酸类似物,具有广谱抗病毒活性,对逆转录病毒、痘病毒、疱疹病毒和嗜肝病毒均有很强的抑制作用。阿德福韦地酯含有磷酰基,进入 HBV 感染的细胞内不必经 HBV 胸苷激酶磷酸化为活性代谢物,故不会发生病毒突变株。在 III 期临床试验中,某些患者连续服药 6 年也未观察到耐药性的现象。它适用于对拉米夫定产生耐药的患者。Ly582563(MCC-478)为阿德福韦地酯的衍生物,体外实验对 HBV 有很强的抑制作用,但对 HIV 无作用,对 YMDD 变异株仍有抑制作用。动物实验的毒性比阿德福韦地酯低。目前,正在进行慢性乙型肝炎病人的药代动力学研究,II 期临床试验正在进行中<sup>[11]</sup>。



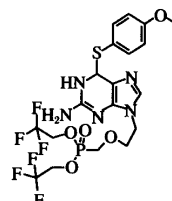
拉米夫定



依曲西他滨



阿德福韦地酯



Ly582563

**2.2.3 恩替卡韦** 恩替卡韦(entecavir)的作用靶点也是 HBV DNA 聚合酶,通过抑制该酶,从而抑制前基因 RNA 逆转录复制 HBV DNA 负链,进而抑制正链的合成,以阻断 HBV DNA 的装配和延伸。II 期临

床试验表明,恩替卡韦不仅有较强的抗病毒能力,而且由于作用机制不同,长期应用耐药的发生率也较低。其他相关的研究显示,它是很有希望的新型核苷类抗病毒药物,对肝细胞内 cccDNA 有直接抑制

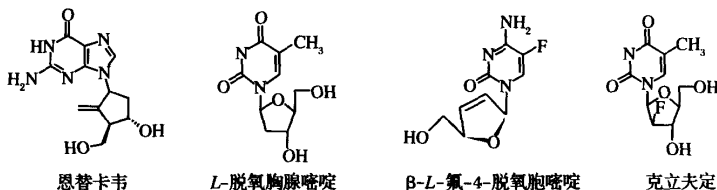
作用,可有效地治疗慢性乙型肝炎,目前正在评估其长期应用的有效性和安全性<sup>[12]</sup>。

**2.2.4 L-脱氧胸腺嘧啶** L-脱氧胸腺嘧啶(L-dT)在体外实验和土拨鼠动物模型中,对HBV和土拨鼠肝炎病毒有很强的抑制作用。药代动力学研究表明,L-dT剂量为25~400mg,药物剂量与 $c_{max}$ 和AUC呈线性相关。35例慢性乙型肝炎病人采用逐步增加剂量的方法,分别给予25,50,100,200和400mg·d<sup>-1</sup>,服用4周,停药后随访12周。在第4周结束时,以上5组的血清HBV DNA载量分别下降每毫升(2.4±0.3),(2.7±0.2),(3.1±0.1),(2.9±0.2)和(3.63±0.3)log拷贝。根据HBV复制动力学模型分析,在治疗第1周(第一项)均见病毒量明显下降。各剂量组差别不大。但于第2~4周(第二项)则可见到剂量与病毒量降低之间明显的关系。认为第二

项时病毒的消除在决定疗效时的重要性。35例服用L-dT 4周,无明显不良反应,安全性好。最近一项体外研究表明,它对拉米夫定产生耐受的患者无效,目前,正进行III期临床试验。

**2.2.5 β-L 氟-4-脱氧胞嘧啶** β-L 氟-4-脱氧胞嘧啶(β-LFd4C)体外实验对HBV和HIV均有抑制作用,活性比拉米夫定强。口服吸收后经磷酸化成为三磷酸化合物,在细胞内的 $t_{1/2}$ <20h。给健康志愿者口服5~100mg,其 $c_{max}$ 和AUC呈线性相关,口服5mg,血药浓度可达2.0 μmol·L<sup>-1</sup>。目前,正在进行II期临床试验。

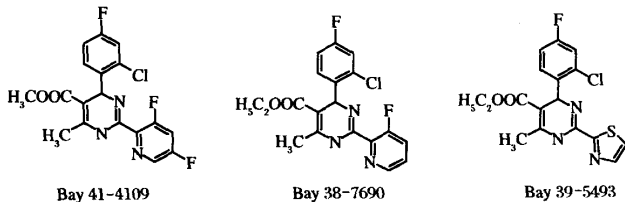
**2.2.6 克立夫定** 克立夫定(clevudine)也是通过三磷酸形式来抑制HBV-DNA聚合酶,它对病毒的抑制作用可持续到停药后6个月,且未发现耐药变异。目前,正在进行II期临床试验<sup>[13]</sup>。



**3 非核苷类抑制剂**

HBV的联合治疗要求寻找不同于那些作用于病毒DNA聚合酶的新的抗病毒药物,目前已开发出一些药物,其抑制HBV的机制与核苷和核苷酸类似物抑制剂不同,作用靶点不是病毒DNA聚合酶。德国拜耳公司合成的二氢嘧啶类化合物 Bay 41-4109,

Bay 38-7690 和 Bay 39-5493,被证明有很强的体内抑制HBV复制能力,这类药物的作用机制是通过阻止或干扰病毒的核酸衣壳形成过程来抑制病毒DNA复制的<sup>[14]</sup>。病毒体对这些抑制剂产生耐药性相对不太可能,但是这一抑制作用过程对宿主有关的其他系统是否具有毒性尚待进一步研究。



**4 结语**

由于HBV的一切活动都与宿主细胞有着密切联系,HBV在细胞内的寄生过程及后果不仅直接或间接影响宿主细胞的功能,而且也影响机体的整体功能,因而抑制HBV的复制循环过程不可避免地会影响正常细胞的功能,产生不良反应。因此,新一代抗乙型肝炎药物要疗效确切、作用机制明确、治愈率高、毒副作用小而又无“反跳”现象。为了更有效地抑制病毒复制,降低耐药性的发生,联合用药是今后

的研究方向。更应开发作用于不同靶点的药物和研究提高宿主对HBV免疫应答的药物,以便于彻底清除HBV<sup>[15,16]</sup>。

**参 考 文 献**

[1] Kao JH, Chen DS. Global control of hepatitis B virus infection[J]. *Lancet Infect Dis*, 2002, 2(7): 395 - 403.

[2] Lai CL, Ratziu V, Yuen MF, et al. Viral hepatitis B[J]. *Lancet*, 2003, 362(9401): 2089 - 2094

[3] Feld J, Locarnini S. Antiviral therapy for hepatitis B virus in-

- fections: new targets and technical challenges[J]. *J Clin Virol*, 2002, 25(3): 267-283.
- [4] Jung MC, Pape GR. Immunology of hepatitis B infection [J]. *Lancet Infect Dis*, 2002, 2(1): 43-50.
- [5] De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use[J]. *J Clin Virol*, 2004, 30(2): 115-133.
- [6] Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection - natural history and clinical consequences[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(11): 1118-1129.
- [7] Humphries JC, Dixon JS. Antivirals for the treatment of chronic hepatitis B: current and future options[J]. *Intervirology*, 2003, 46(6): 413-420.
- [8] Heider U, Fleissner C, Zavrski I, et al. Treatment of refractory chronic lymphocytic leukemia with Campath-1H in combination with lamivudine in chronic hepatitis B infection[J]. *Eur J Haematol*, 2004, 72(1): 64-66
- [9] Karrayiannis P. Hepatitis B virus: old, new and future approaches to antiviral treatment[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2003, 51(4): 761-785.
- [10] Chen RY, Edwards R, Shaw T, et al. Effect of the G1896A procore mutation on drug sensitivity and replication yield of lamivudine-resistant HBV *in vitro* [J]. *Hepatology*, 2003, 37(1): 27-35.
- [11] Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV. Treatment of HBeAg negative chronic hepatitis B with new drugs (adefovir and others) [J]. *J Hepatol*, 2003, 39(Suppl): S172-S176.
- [12] Honkoop P, De Man RA. Entecavir: a potent new antiviral drug for hepatitis B [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2003, 12(4): 683-688.
- [13] Chong Y, Chu CK. Understanding the unique mechanism of L-FMAU (clevudine) against hepatitis B virus: molecular dynamics studies [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2002, 12(23): 3459-3462.
- [14] Deres K, Schroder CH, Paessens A, et al. Inhibition of hepatitis B virus replication by drug-induced depletion of nucleocapsides [J]. *Science*, 2003, 299(5608): 893-896.
- [15] Papatheodoridis GV, Hadziyannis SJ. Review article: current management of chronic hepatitis B [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004, 19(1): 25-37.
- [16] Halfon P, Pol S, Bourliere M, et al. Nucleoside analogues resistance in the treatment of chronic hepatitis B virus infection [J]. *Rev Med Interne*, 2003, 24(12): 786-793.

## 主动靶向微粒药物载体治疗肿瘤的基础和新进展

彭涛<sup>1</sup>, 丁敬敏<sup>2</sup> 编译 王林<sup>1</sup> 审校

(1. 军事医学科学院放射医学研究所, 北京 100850; 2. 常州工程职业技术学院, 江苏常州 213004)

**摘要:**配体衍生化的微粒药物载体可以选择性地将微粒靶向特定细胞, 因此可以进行集中药物输送。微粒药物载体具有高载荷、不需要与药物共价结合和可以保护药物不与酶作用而失活的优点。内在化配体和靶向血管内肿瘤细胞和肿瘤血管内皮细胞的微粒药物载体在动物模型上表现出了好的效果。一些主动靶向微粒载体已经或即将进行临床试验。具有严格细胞选择性的细胞渗透肽的发现表明, 这一方法在不久的将来会取得进一步的完善。

**关键词:**微粒药物载体; 肿瘤; 主动靶向

**中图分类号:** R979.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2004)05-0299-04

通过物理方式载有药物的主动靶向微粒(以下称为微粒药物载体)可以在体内将药物输送至靶细胞, 因此可以优化药物的治疗效果, 并可减少副作用。这一方法主要用于肿瘤的治疗。使用可以与靶细胞上表达的特定受体结合的配体对微粒进行衍生化可以得到主动靶向药物载体。与受体结合后, 配体微粒复合物可以通过内化作用进入细胞(内在化配体)或保持在细胞表面而无内化作用(非内在化配

体)。主动靶向微粒是第二代的微粒药物载体, 第一代只包含微粒而无配体衍生化。非靶向微粒药物由于被动靶向作用而表现出相应的肿瘤选择性, 一些药物已被用于临床。主动靶向被认为可以导致药物更高的肿瘤内聚集, 从而使细胞内药物浓度升高。

### 1 微粒药物载体的类型

微粒药物载体是分子组装物, 它将药物储藏于内部的承载区从而使药物与环境隔离, 因此可以更